



Termoregulering under ekstremlastning, betydningen av ernæring

Hilde Kristin Teien

Mai 2014

Termoregulering under ekstremlastning, betydningen av ernæring

Av

Hilde Kristin Teien

Masteroppgave i Biomedisin
Fakultet for helsefag
Masteroppgave, 60 studiepoeng

Utført ved Forsvarets Forskningsinstitutt, avdeling for Beskyttelse og
Samfunnssikkerhet

Veileder: Per Kristian Opstad

Mai 2014

Forord

Denne masteroppgaven er en del av utdanningen for master i Biomedisin ved Høyskolen i Oslo og Akershus (HiOA). Arbeidet med masteroppgaven ble gjennomført i perioden juni 2012 til mai 2014.

Denne oppgaven ble utført ved Forsvarets forskningsinstitutt (FFI), avdeling beskyttelse og samfunnssikkerhet. Veileder for denne oppgaven har vært forsker og Dr. Per Kristian Opstad. Jeg er meget takknemlig for at jeg fikk muligheten til å utføre masteroppgave ved FFI og jobbe med en oppgave innenfor et så interessant og aktuelt tema.

Først og fremst vil jeg rette en stor takk til min veileder ved FFI, Per Kristian Opstad. Tusen takk for at du har delt din kunnskap med meg, bidratt med forberedelser og for at du stilte opp som forsøksleder. Ikke minst takk for at du alltid tok deg tid til å svare på mine utallige spørsmål eller ta en diskusjon når jeg hadde behov for det.

En stor takk til forsker Espen Mariussen (FFI) og forsker Elisabeth Madslie (FFI) for at dere tok dere tid i en travel jobbhverdag til å lese igjennom oppgaven, komme med råd og skrivetips. Takk også til forsker Joakim Flathagen (FFI) og forsker Sissel Forseth (FFI) for å lese korrektur. Jeg vil også takke min venninne Cecilie Morland for diskusjoner og alle råd om akademisk skriving. Ellers takk til kollegaer ved FFI for støtte og motivasjon. Spesielt takk til alle dere på biblioteket ved FFI for bidrag med å spore opp artikler og gamle rapporter.

Jeg vil også rette en stor takk til Anita Gudveig Larsen og Anne Myran ved FFI for god assistanse under felt- og kontrollforsøkene. Uten dere hadde det ikke vært mulig å utføre disse forsøkene. Jeg vil også takke Ingjerd Thrane (FFI) for klargjøring av blodprøveglass til felt- og kontrollforsøk og svar på spørsmål om laboratoriearbeid. Takk til Elin Aschim (HiOA) for svar på statistikk spørsmål, og Toril Tefre (HiOA) for god tilrettelegging.

En stor takk til Hærens Krigsskole for deres samarbeid som muliggjorde utførelsen av denne studien. Spesielt takk til Bjørnar Dullum for hjelp til å rigge til under feltforsøket, svar på alle spørsmål, bidrag med bilder og informasjon om stridskurset. Takk til kadettene som stilte opp i studien. Uten deres samtykke og bidrag hadde det ikke vært mulig å utføre denne studien.

Sist men ikke minst, takk til min kjære Terje for støtten underveis med oppgaven. Uten deg hadde det ikke vært gjennomførbart. Takk til våre tre barn Adrian, Leander og Aurora som har holdt ut med en stresset, distre og litt mer fraværende mamma enn normalt.

Sammendrag

Aksidentell hypotermi er noe alle kan oppleve i alle sesonger av året. Det har særlig vært et problem under militære øvelser og operasjoner. Tidligere studier har funnet nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur etter ekstrembelastning, noe som øker faren for hypotermi. Årsakene bak denne observasjonen er foreløpig ukjent. Det er forslått at dette kan skyldes nedsatt set-point eller utmattelse av termoregulerende responser.

Formålet med studien var å undersøke om: i) stress i forbindelse med soldattrening medfører endringer i kjernetemperatur og hudtemperatur, og ii) eventuelle endringer i kjernetemperatur er assosiert med endringer i set-point (kroppens termostat). I tillegg ønsket vi å undersøke om ett døgn med ekstra ernæring (6070 kcal) påvirker endringer i kroppstemperatur under ekstrembelastning.

Atten soldater (kadetter) ved Hærens Krigsskole ble forespurt om å delta i studien. Kadettene gjennomgikk et 7 dager langt fysisk og mentalt krevende stridskurs. Av medisinske grunner måtte flere soldater avbryte kurset underveis og noen måtte ekskluderes på grunn av tekniske feil med målingene. Det endelige antall kadetter inkludert i statistisk analyse ble derfor ti. Disse kadettene var delt inn i to grupper; en gruppe (BMI: $24,6 \pm 1,5 \text{ kg/m}^2$; $n = 6$) som fikk tilført ekstra ernæring på dag 6 (6070 kcal) og én gruppe (BMI: $24,0 \pm 0,7 \text{ kg/m}^2$; $n = 4$) som kun fikk basisernæring (750 kcal/dag). Soldatene gjennomgikk et stressforsøk med ergometersykelbelastning ved stridskursets slutt (dag 7). Under dette forsøket ble rektaltemperatur (kjernetemperatur), hudtemperatur og hjertefrekvens monitorert regelmessig. Stoffskifte hormoner (T4 (tyroksin), T3 (trijodotyranin) og TSH (tyreoideastimulerende hormon)) ble målt i serum, for å undersøke om tilførsel av ernæring gav mindre fall i tyreoideahormoner. Kroppssammensetning ble målt med InBody 720, for å undersøke om tilførsel av ernæring gav endring i kroppsvekt. Kontrollforsøket ble gjennomført fire-fem måneder etter stridskurset, i en periode hvor soldatene var uthvilt. Det ble innhentet informert samtykke fra alle kadettene og godkjenning av regional etisk komité før utførelse av feltstudien.

Stress i forbindelse med soldattrening gav reduksjon i kjernetemperatur ($p = 0,029$) kombinert med økning i hudtemperatur. Det var en klar sammenheng mellom stress og økning i fottemperatur i både forsøksgruppen (FG) $6,2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ($p = 0,00001$) og kontrollgruppen (KG) $4,2 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1,2 \text{ }^\circ\text{C}$ ($p = 0,005$). Tilførsel av ekstra ernæring gav signifikant økning i kjernetemperaturen på $0,4 \text{ }^\circ\text{C}$, men ingen forskjell i hudtemperatur sammenlignet med kontrollgruppen. Stress gav klar reduksjon i T3 i begge grupper sammenlignet med normalsituasjon. Kun KG viste reduksjon i T4 dag 7 ($p = 0,009$). Tilførsel av ernæring gav lavere reduksjon i T3 ($p = 0,008$), men ingen signifikant endring i T4 og TSH sammenlignet med kontrollgruppen. Begge grupper hadde en klar reduksjon i kroppsvekt ($p = 9 \times 10^{-8}$) og fettmasse ($p = 2 \times 10^{-6}$), der vekttapet hovedsakelig skyldes tap av fettmasse. Tilførsel av ernæring

gav redusert vekttap ($p = 0,041$) sammenlignet med KG. FG hadde et gjennomsnittlig vekttap på 4,5 kg (6,7-4,2 kg) og KG et gjennomsnittlig vekttap på 5,4 kg (6,0-3,0 kg). Med hensyn på hjerterefrekvens var det ingen signifikant effekt av stress eller ernæring.

Studien viser at stress påvirker både kjerne- og hudtemperatur og at påvirkningen på hudtemperaturen ikke lar seg endre av økt ernæring siste døgnet. Nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur kan skyldes nedsatt set-point, men mest sannsynlig skyldes det økt vasodilatasjon som følge av endringer i konsentrasjonen av signalmolekyler og reseptorer på målcellene. Tilførsel av ernæring kan ha bidratt til forskjellen i kjernetemperatur mellom FG og KG, men effekten av fysisk aktivitet kan ikke utelukkes. Reduksjon i tyreoidehormoner T4 og T3 kan ha bidratt til nedsatt kjernetemperatur, men mest sannsynlig skyldes det en kombinasjon av flere faktorer. Forskjellen mellom FG og KG med hensyn på redusert kroppsvekt, som hovedsakelig skyldes tap av fettmasse, kan ikke forklare et eventuelt nedsatt set-point. Tap av fettmasse kan ha bidratt til økt varmetap som følge av mindre isolasjon til omgivelsene. Forskjell i ernæring på 6070 kcal siste døgnet under stridskurset hadde ingen signifikant effekt på hjerterefrekvensen.

Redusert kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur under stress (ekstrembelastning) kan innebære større fare for generell hypotermi. På den annen side kan økt hudtemperatur gi noe bedre beskyttelse mot frost- eller kuldeskader i ekstremiteter.

English Summary

Accidental hypothermia is a condition that everybody may experience and that occur in all seasons and locations. Hypothermia has been a problem in military conflicts and exercises. Reduced core temperature combined with increased skin temperature has been observed among cadets at of the Norwegian Military Academy after exposed to stressors. Whether this is due to lowered hypothalamic set-point for core temperature or fatigue of thermoregulatory responses is not established.

The aim of this study was to investigate if i) multiple stress during soldier training causes an alteration in the core and skin temperature and ii) the alteration in the core temperature are associated with alteration in set-point. In addition we wanted to investigate if one day with extra nutrition (6070 kcal) would influence the core temperature.

Eighteen cadets of the Norwegian Military Academy participated in the study. The cadets performed a seven day physically and mentally demanding ranger training course. Some cadets withdrew from the course due to medical issues or challenges regarding analytical measurements. In total ten cadets were included in the statistical analyses. These cadets were divided into two groups; one group (BMI: $24.6 \pm 1.5 \text{ kg/m}^2$; $n = 6$) that received additional nutrition on day 6 (6070 kcal) and one group (BMI: $24.0 \pm 0.7 \text{ kg/m}^2$; $n = 4$) that recieved only the daily basic ration (750 kcal/day). The cadets performed a stress experiment which was a bicycle exercise at the end of the ranger training course (day 7). The rectal (core) and skin temperature and heart rate were recorded regulatory in the experiment. Tyroxin (T4) and trijodothyronine (T3) and thyroid-stimulating hormone (TSH) were analyzed in serum to find the importance of additional nutrition on day 6. Body composition was investigated before and after the course, using InBody 720. The control experiment was carried out four to five months after the ranger training course. The research performed in this thesis was approved by The Regional Committees for Medical and Health Research Ethics (REC). The cadets were fully informed about the purpose and the procedures of the study and were allowed to withdraw from the research program at any time.

Stress during soldiers training resulted in reduction in rectal temperature ($p = 0.029$) combined with increasing of skin temperature. A clear relationship between stress and increased feet temperature in the experiment group (EG) $6.2 \pm 2.1 \text{ }^\circ\text{C}$ ($p = 0.00001$) and control group (CG) $4.2 \pm 1.2 \text{ }^\circ\text{C}$ ($p = 0.005$) was observed. Additional nutrition provided a significant increased effect in core temperature ($0.4 \text{ }^\circ\text{C}$), but no difference was observed in skin temperature compared to the control group. Stress resulted in a reduction in T3 in both groups compared to situation with no stress. Only the CG showed reduction in T4 on day 7 ($p = 0.009$). Additional nutrition during day 6 showed a lower reduction in T3 ($p = 0.008$), but no significant difference for T4 and TSH was observed when compared to CG. A significant

reduction in the bodyweight and fat mas was noted for both groups; $p = 9 \times 10^{-8}$ and $p = 2 \times 10^{-6}$, respectively, where weight loss was mainly due to reduction in fat mas. Additional nutrition provided reduced body weight loss ($p = 0,041$) compared with CG. EG and CG had an average weight loss of 4.5 kg (6.7-4.2 kg) and 5.4 kg (6.0-3.0 kg), respectively. No changes were found for heart rate due to nutrition or stress.

This study showed that multiple stressors have an impact on both the core and the skin temperature. Also, additional nutrition during the last day of the ranger training course did not have an impact on the skin temperature. The observed reduction of the core temperature combined with an increase in skin temperature may be due to a reduced set-point. However, this observation may be due to an increase in vasodilation in response to changes in the concentration of signal molecules and receptors on the target cells. Additional nutrition can contribute to the observed differences in core temperature between the experimental and control groups, but the effect of physical activity can not be excluded. The reduced core temperature can further be explained by the observed reduction in the thyroid hormone concentrations (T3 and T4), but other, or a combination of, factors can not be excluded. The difference between the EG and CG regarding the observed changes in body weight is mainly due to loss of fat, which does not causes a reduced set-point. The loss of fat mass may contribute to increased heat loss due to reduced insulation of the body to the colder environment. Additional nutrition provided only one day (i.e. day 6) (6070 kcal) had no significant impact of the heart rate.

This study suggests that reduced core temperature, in combination with an increased skin temperature, can cause a higher vulnerability of the cadets to be become hypothermic. On the other hand, increased skin temperature can proved an improved protection against frostbites or cold injuries in extremities.

Forkortelser

A	Adrenalin
ATP	Adenosin trifosfat
AVAs	Arteriovenøse anastomoser
AV	Avhengig variabel
BIA	Bioelektrisk impedans analyse
BMI	Kroppsmasse indeks
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate/ syklisk adenosin monofosfat
CIVD	Cold-induced vasodilation/ kuldeindusert vasodilasjon
CO ₂	Karbondioksid
DA	Dopamin
DMH	Dorsomedial hypothalamus
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry/ dobbel røntgenabsorpsjonsmetri
EIA	Enzymimmunoassay
ELISA	Enzym linked immunosorbent assay
EMIT	Enzymmultiplied immunoassay technique
EPOC	Excess postexercise O ₂ -consumtion/ økt O ₂ -opptak etter tungt arbeid
ERY	Erytrocytter
ESBL	Ergometersykelbelastning
FFI	Forsvarets forskningsinstitutt
FFM	Fettfrimasse
FG	Forsøksgruppe
FM	Fettmasse
GI	Gastrointesinal
GR.1	Gruppe 1
GR.2	Gruppe 2
GRA	Granulocytt
HCT	Hematokrit
Hgb	Hemoglobin
H ₂ O ₂	Hydrogenperoksid
HR	Heartrate/ Hjertefrekvens
IEMA	Immunezymometric assay
K	Kontrollforsøk
Kcal	Kilokalorier
KG	Kontrollgruppe
KI	Konfidensintervall
LYM	Lymfocytt
MANOVA	Multivariate analysis of variance
MnPO	Median preoptic nucleus
MON	Monocytt

MPO	Medial preoptic area
MST	Mean skin temperature /middel hudtemperatur
NA	Noradrenalin
nm	nanometer (10^{-9} meter)
NPY	Nevropeptid Y
NO	Nitrogenoksid
O ₂	Oksygen
POAH	Preoptisk-anterior hypothalamus/ preoptisk kjerne i fremre del av hypothalamus
RBC	Røde blodceller
REK	Regional etisk komite
RIA	Radioimmunoassay
rMR	rostral medullary raphe region
s	Stressforsøk
SCN	Suprachiasmatiske kjerne
SD	Standardavvik
SMM	Skjelettmuskelmasse
SNS	Sentralnervesystemet
SPSS	Statistical package for the social sciences/ statistiskprogramvarepakke for statistiske analyser
SNA	Sympatisk nerveaktivitet (i hud)
T3	Trijodotyronin
T4	Tyroksin
TBG	Tyroksinbindene globulin
TBW	Totalt mengde kroppsvann
TSH	Tyreoidestimulerende hormon
TRH	Tyrotropin frigjørende hormon
Tset	Set-point-temperatur
VIP	Vasoaktivt intestinalt peptid
VO ₂ -maks	Maksimalt oksygenopptak
μl	Mikroliter (10^{-6} liter)
α	Alfa
β	Beta
Δ	Endringer
~	Omtrent

Innhold

Forord		ii
Sammendrag		iii
English Summary		v
Forkortelser		vii
1	Innledning	1
1.1	Kulde og yteevne	1
1.2	Hypotermi i militær sammenheng	2
1.3	Regulering av kroppstemperatur	3
1.3.1	Hormonelle påvirkninger på kjernetemperaturen og set-pointet	3
1.3.2	Hypotalamus og set-point-temperatur	5
1.3.3	Temperatursensitive sensorer i hud	7
1.4	Hypotermi under ekstrembelastning	9
1.4.1	Studier på endring av termoregulering	9
1.4.2	Følgene av negativ energibalanse	10
1.4.3	Fysisk aktivitet	11
1.4.4	Utmattelse av termoreguleringen	11
1.5	Varmetap - kuldestress	12
1.5.1	Varmetransport	13
1.5.2	Finjustering av kjernetemperaturen	13
1.5.3	Tilpasning til kulde	14
1.6	Metabolismen og kuldetoleranse	15
1.6.1	Betydningen til tyreoiderhormonene	15
1.6.2	Produksjon og regulering av tyreoiderhormoner	16
2	Metodeteori	18
2.1	Krigsskolens stridskurs	18
2.2	Måling av kroppstemperatur	20
2.2.1	Måling av kjernetemperatur	20
2.2.2	Måling av hudtemperatur og middelhudtemperatur	21
2.3	Maksimalt oksygenopptak (VO_2 -maks)	21
2.4	Måling av kroppssammensetning	22
2.5	Hematologiske forandringer	23
2.6	Immunoassy	24
2.6.1	Immunoenzymometric assays (IEMA)	25
2.6.2	Enzymimmunoassay (EIA)	26

2.7	Multivariat analyse av varians (MANOVA) for repeterte målinger	26
2.8	Formål med denne studien	28
3	Materiale og metode	29
3.1	Studiedesign	29
3.1.1	Stridskurset	29
3.1.2	Stressforsøket	30
3.1.3	Kontrollforsøk	30
3.2	Forsøkspersoner	30
3.2.1	Kosttilskudd	31
3.3	Etiske forhold	32
3.4	Ergometerbelastning	32
3.5	Kjernetemperatur og hudtemperatur	33
3.6	Blodprøver og analyser	34
3.6.1	Analyse av hematologiske blodverdier	35
3.6.2	Analyse av tyroksin (T4)	35
3.6.3	Analyse av trijodotyronin (T3)	35
3.6.4	Analyse av tyreoidestimulerende hormon (TSH)	36
3.6.5	Analysepresisjon	36
3.7	Kroppssammensetning	37
3.8	Hjertefrekvens	37
3.9	Statistiske analyser	37
4	Resultater	39
4.1	Endringer i kjernetemperatur og hudtemperatur	39
4.2	Hormonelle endringer	44
4.3	Kroppssammensetning	45
4.4	Hjertefrekvens	47
4.5	Hematologiske blodverdier	49
5	Diskusjon	51
5.1	Endringer i kjernetemperatur og hudtemperatur	51
5.1.1	Effekten av kalori restriksjon	52
5.1.2	Effekten av fysisk aktivitet	54
5.1.3	Hvilke faktorer påvirker endringene i hudtemperatur?	56
5.1.4	Effekten av søvn mangel	57
5.1.5	Effekt av adaptasjon	58
5.1.6	Endokrine og sentralnervøse effekter	59
5.2	Tyreoidahormoner	60
5.3	Kroppssammensetning	61

5.4	Hjertefrekvens	62
5.5	Hematologiske endringer	62
5.6	Stridskurset som modell - utfordringer ved feltforsøk	63
5.7	Konklusjon	63
5.8	Videre studier	64
Referanser		65
Appendix		76

1 Innledning

Generell kroppsnedkjøling (hypotermi) forekommer i mange forskjellige situasjoner og i alle sesonger av året, selv ved lufttemperaturer over null grader celsius [1]. Hypotermi defineres forskjellig i ulike fagmiljø. Fysiologer vil ha en annen tilnærming enn for eksempel klinikere. Fysiologisk omtales nedsatt set-point-temperatur¹ det vil si regulert hypotermi [3] som en kjernetemperatur² som i aktive faser er observert under 36,8 °C [5]. Klinisk er hypotermi definert til kjernetemperatur under 35 °C [6]. Man skiller mellom aksidentell- og terapeutisk hypotermi. Aksidentell hypotermi forekommer når en person utilsiktet er nedkjølt til under 35 °C [7], mens terapeutisk hypotermi vil si at man under kontrollerte forhold tvinger kroppstemperaturen under normal kjernetemperatur [3]. Aksidentell hypotermi er en trussel mot liv og helse. Flere har omkommet som følge av hypotermi, for eksempel tynnkledde og berusede personer på vei hjem fra fest eller turgåere som blir overrasket av dårlig vær [7-10]. I tillegg er mange drukningsulykker forårsaket av hypotermi. Kaldt vann er definert til vanntemperatur under 25 °C [11], og det gjelder hele året i Norge. Normalt sett vil små endringer i kjernetemperaturen ikke ha noen klinisk betydning, men man kan være mindre motstandsdyktig for hypotermi [6]. Symptomene på hypotermi kan variere betydelig, selv ved samme kjernetemperatur [12]. Tidlige symptomer inkluderer i) frysninger, ii) skjelving, iii) likegyldighet, iv) sosial tilbaketrekking og v) passivitet. Ved dypere hypotermi ses forvirring eller tretthet, utydelig tale, og en forandring i oppførsel [12]. Alvorlig hypotermi er assosiert med forstyrrelser i hjerterytmen, noe som krever umiddelbar behandling med oppvarming og gjenoppretelse av normal temperatur [13].

1.1 Kulde og yteevne

For personer som arbeider og oppholder seg i kulde (< 15 °C) er det viktig å vite om faren for og følgene av hypotermi [14;15]. Nedkjøling (hypotermi) påvirker mange reaksjoner og funksjoner i kroppen hvorav nervesystemet påvirkes først. Metabolismen (stoffskiftet) reduseres og mange cellefunksjoner avtar. Dette medfører at menneskets yteevne nedsettes i form av redusert utholdenhet, muskelstyrke, hastighet, koordinasjon og motoriske ferdigheter. Sistnevnte kan redusere evnen til å utføre manuelt arbeid noe som særlig er kritisk for soldater i strid [15;16].

¹ Set-point-temperatur vil si temperaturen som det koordinerende reguleringscenteret i hypotalamus regulerer kroppstemperaturen etter, er kroppens "termostat". Det er en innebygd referanse temperatur, en temperatur norm på 37 °C [2].

² Kjernetemperaturen referer til dyp kroppstemperatur, dvs. temperaturen til organene i bryst- og bukhulen, sentralnervesystemet og kraniehulen [2;4].

1.2 Hypotermi i militær sammenheng

Soldater er en gruppe mennesker som er spesielt avhengig av god mental- og fysisk funksjonsevne for å kunne yte godt under militære operasjoner i ulike klimasoner. Kulderelaterte skader, spesielt kulde-/frostskafer i ytre ekstremiteter er et stadig tilbakevendende problem ved militære operasjoner, og under trening i kjølige og fuktige omgivelser til alle årstider [17]. Kuldeskafer omfatter frostskafer³, hypotermi og andre skader som er forbundet med nedkjøling av menneskekroppen [15], og oppstår i vev som har redusert temperatur på 0-15 °C over tid [20].

Taktiske bevegelser kan kreve delvis eller nesten helt senkning i små innsjøer, elver, myrer etc. Under Krigsskolens stridskurs som utføres årlig i juni måned utsettes soldatene (kadettene) for nedsenkning i vann under flere av de militære aktivitetene. I tillegg kan lufttemperaturen om natten under stridskurset være ned i 0-5 °C og kadettene kan utsettes for vind, regn og sludd (Figur 1).



Figur 1 Taktiske bevegelser kan kreve delvis eller nesten helt nedsenkning i små innsjøer, elver, myrer etc. Faktorene som påvirker den termiske effekten av senkning i vann er varigheten og dybde (eks. føtter, kne eller til brystet), vanntemperatur og strømminger i vannet. Foto: Forsvaret/Torgeir Haugaard 1999, Krigsskolens stridskurs.

Faktorene som påvirker kroppstemperaturen ved nedsenkning i vann er: i) varigheten, ii) hvor stor del av kroppen som er nedsenket (f.eks. føtter, kne eller til brystet), iii) vanntemperatur og iv) strømminger i vannet [21]. Er vanntemperaturen under 20 °C oppstår et netto varmetap selv ved maksimal muskelskjelving på grunn av vannets gode evne til å lede varme [6]. Trening i våte omgivelser utgjør en klar risiko for å utvikle hypotermi [5]. Hypotermi som følge av nedsenkning i vann beskrives som nedsenkings-hypotermi [11].

Effekten av kulde på mennesker er sannsynligvis best dokumentert i militærhistoriske årbøker.

Hypotermi har opp igjennom hele historien vært et problem for militære. Det er beskrevet mange

³ Frostskafer defineres med < -4 °C i vevet [18]. Frysepunktet til menneskevev er 0,6 °C [19]. Iskrystaller i cellene fører til mekaniske og osmotiske skader [20], cellemembranen ødelegges [4].

militære slag hvor et stort antall soldater har omkommet som følge av vinterkulde. Et eksempel er Krimkrigen i 1845-1855 der mer enn 1000 franske soldater døde i skyttergravene som følge av kulde. I den 2. verdenskrig led minst 100.000 tyskere og 90.000 tusen amerikanere av kuldeskader. Ved Goose Green i Falklandskrigen i 1982 falt temperaturen på nettene til $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, og det resulterte i mange tilfeller med hypotermi, lokal nedkjøling og såkalt skyttergravsfot (en tilstand med smerter i føttene som følge av lang tid med beina i vann, gjørme etc.) [1]. Til tross for dette, er det relativt få studier som undersøker hvordan termoreguleringen påvirkes under slike ekstreme situasjoner.

1.3 Regulering av kroppstemperatur

Regulering av kroppstemperaturen (kjerne-, muskel- og hudtemperatur) er nødvendig for å opprettholde kroppens indre likevekt, og kontrolleres primært av bestemte signalveier i hjernen [22]. Gjennomsnittstemperaturen er normalt ca. $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, og reguleres innenfor et snevert område ($35\text{-}41\text{ }^{\circ}\text{C}$) ved to parallelle prosesser: 1) fysiologiske og 2) adferdsrelatert temperaturregulering [23].

Fysiologiskregulering består både av skjelving og endringer i signalmolekyler (hormoner og metabolitter) [24]. Kjernetemperaturen bestemmes av en dynamisk likevekt mellom de faktorene som tilfører og de som fjerner kroppsvarme. Varmeutvekslingen mellom kroppen og omgivelsene bestemmes av fire omgivelsesparametere: 1) Temperatur (luft- og hudtemperatur), 2) lufthastighet (vind), 3) stråling og 4) fuktighet (relativ luftfuktighet) [13;25;26].

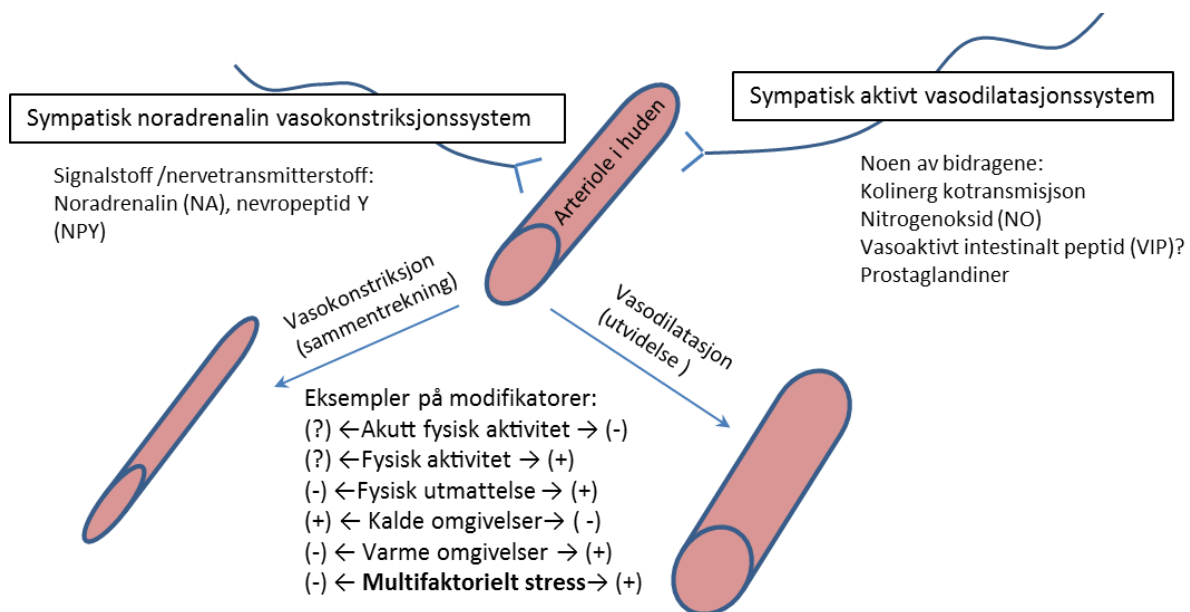
De fleste biokjemiske reaksjoner i kroppens celler er temperaturavhengig, og har høyest effektivitet ved $37\text{-}39\text{ }^{\circ}\text{C}$. Selv små forandringer i kroppstemperaturen kan endre de molekylære egenskapene til blant annet enzymer og andre proteiner, og vil dessuten påvirke cellenes diffusjonskapasitet. Dette kan medvirke til svekket mental- og fysisk-ytteevne. Selv en reduksjon i kjernetemperatur på $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ vil kunne redusere cellens energiomsetning, med påfølgende fall i ATP-produksjon [22].

Kompensatoriske prosesser settes derfor i gang i kroppen for å hindre at kjernetemperaturen endres [26;27].

1.3.1 Hormonelle påvirkninger på kjernetemperaturen og set-pointet

Kjernetemperaturen reguleres av sentralnervesystemet (SNS) og en rekke hormoner og metabolitter, bl.a. prostaglandiner, interleukiner, tyreoidhormoner (se kapittel 1.6 side 15), katekolaminer og steroider [4]. Det er vist at en rekke av de hormonene som påvirker varmeproduksjonen i kroppen endres under ekstrembelastning. Basalnivået av katekolaminer (noradrenalin (NA), adrenalin (A) og dopamin (DA)) er økt under militære øvelser med vedvarende hard fysisk aktivitet [28;29]. Frigivelse av NA fra det sympatiske nervesystemet sammen med neuropeptid Y (NPY) fører til kuldeindusert vasokonstriksjon, det vil si sammentrekning av veggene i blodårene [se 30 for oversikt] (Figur 2). Det er vist at svekket vasokonstriksjon hos eldre skyldes redusert NA-frigivelse og nedregulering av adrenerge reseptorer (tre hovedtyper: 1) alfa1 (α_1), 2) alfa 2 (α_2) og 3) beta (β), som alle har subtyper).

I tillegg har man sett at reseptorene har nedsatt følsomhet for eksogent NA under lokal kjøling i huden [31;32].



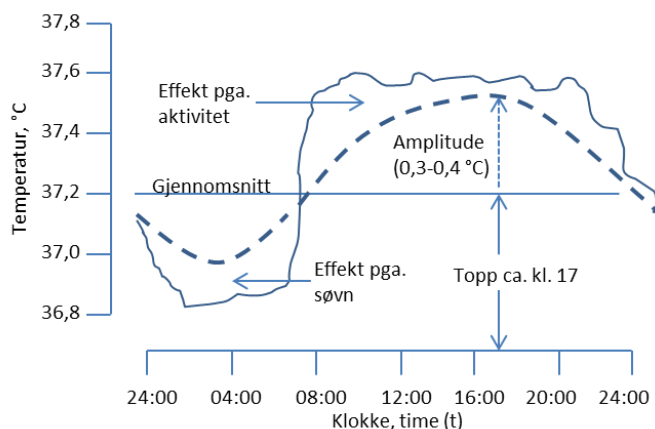
Figur 2 Sirkulasjonen i hud styres av to forskjellige forgreininger av det sympatiske nervesystemet. Figuren viser hovedbidragsyttere i nervestyrtsammentrekning (vasokonstriksjon) og -utvidelse (vasodilatasjon) av blodårene i huden (arteriolene - de minste forgreiningene av arteriene). I tillegg er det gitt eksempler på situasjoner som fører til endringer i vasokonstriksjon og vasodilatasjon. Det er fremdeles mye som ikke er klart med hensyn på endringer i blodstrømmen i hud [se 30 for oversikt]. Modifisert fra Charkoudian 2010 [30].

Det er SNS som synkroniserer og regulerer de forskjellige rytmene til cellene i kroppen. De biologiske rytmene regulerer igjen hormonsekresjonen etter et bestemt mønster [4]. Den mest kjente rytmen er døgnrytmen [33]. Flere hormoner (f.eks. melatonin) produseres i størst grad til visse tider av døgnet, mens andre har liten variasjon i utskillelsen i løpet av døgnet [34]. Melatonin blir hovedsakelig produsert i epifysen⁴ mens vi sover (når det er mørkt). Når vi er våkne, eller blir påvirket av lys, minsker produksjonen [36]. Melatoninet synkroniserer de biologiske rytmene slik at disse tilpasses lys og mørke i løpet døgnet [37]. Menneskets kjernetemperatur er nøye regulert og fluktuerer med ca. 0,5-1,0 °C i løpet av døgnet (Figur 3).

Kjernetemperaturen er høyest på ettermiddagen og kvelden, og lavest på natten under siste halvdel av søvnen, ved tre-fire tiden. Endring i blodstrømmen til hud følger døgnrytmen. Kroppen har generelt

⁴ Epifysen er en endokrin kjertel som ligger i taket til diencefalon, en del av forhjernen. Sideveggene i diencefalon kalles thalamus, og under thalamus ligger hypothalamus (hypo = under). Under hypothalamus ligger hypofysen [2]. Epifysen er kjent for å skille ut melatonin, og kan fungere som en tids enhet for å holde indre hendelser synkronisert med lys-mørke syklusen i omgivelsene [35].

økt vasodilatasjon (det vil si utvidelse av blodårene) på kvelden før man sover for å kvitte seg med varme, og økt vasokonstriksjon på morgenen for å konservere varmen [38]. Nedgangen i kjernetemperatur om kvelden og økning i vasodilatasjon i ekstremiteter skyldes sannsynligvis sekresjon av melatonin [38]. Kjernetemperaturen er på sitt laveste like etter at melatoninnivået er på sitt høyeste [39], og det er vist at melatonin induserer hypotermi [40]. Det er ikke publisert noen studier hvor det er sett på konsentrasjonen av melatonin under situasjoner med flere stressfaktorer.



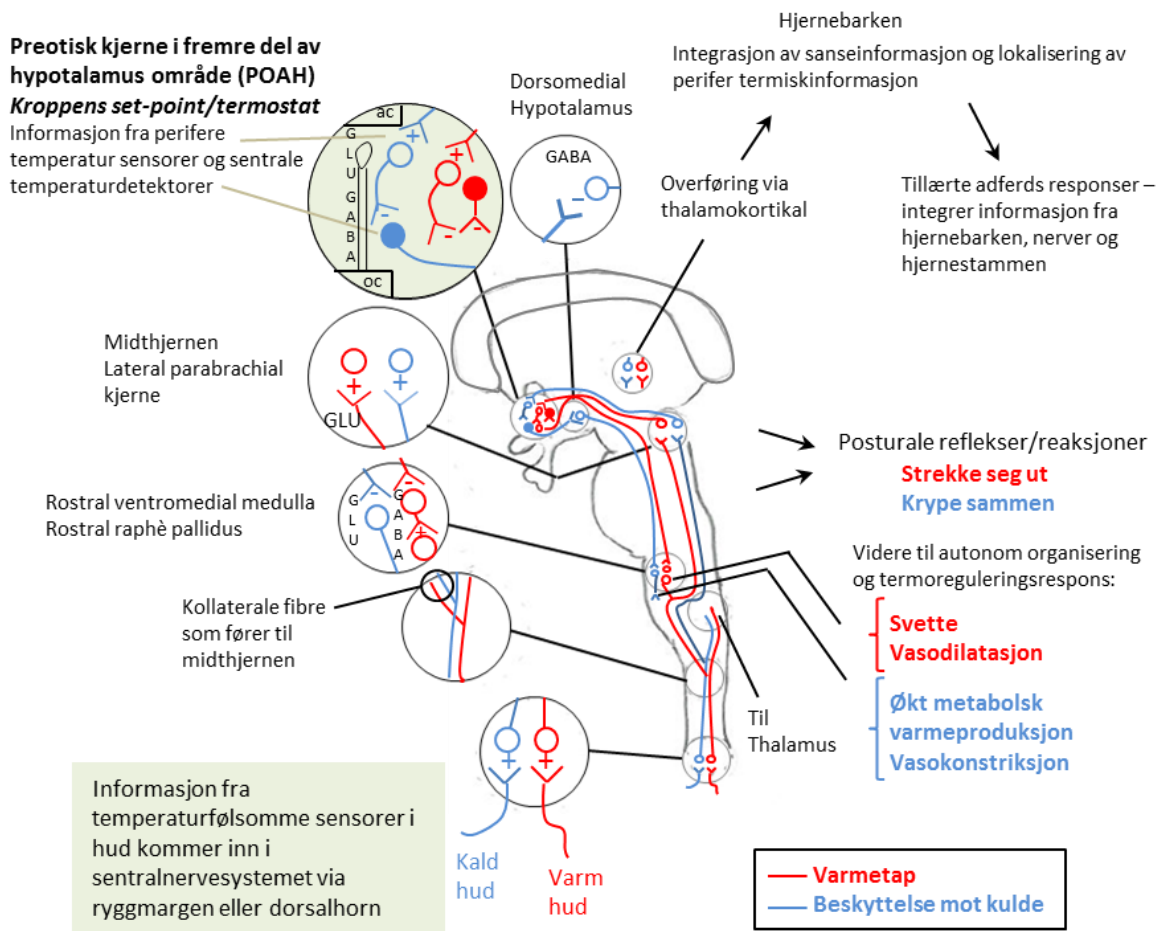
Figur 3 Illustrasjon av menneskets kjernetemperatur gjennom døgnet under normale forhold (full linje) og ved konstante forhold det vil si ingen påvirkninger av aktivitet, omgivelser eller søvn (stiplet linje). Døgnvariasjoner forekommer, men de er veldig små, ~ 1 °C. Grafen angir ikke eksakte mål. (Modifisert fra Reilly et al. 2009 [41]).

1.3.2 Hypotalamus og set-point-temperatur

Hypotalamus og hjernestammen er de delene av hjernen som har størst betydning for regulering av kroppens indre miljø. Hypotalamus virker som et bindeledd mellom nervesystemet og det endokrine systemet, og fungerer som et overordnet kontrollsentert for det autonome nervesystemet (sympatiske og parasympatiske). Justering av kroppstemperaturen krever aktivering av forskjellige deler av det sympatiske nervesystemet. Det koordinerende senteret for forskjellige termoreguleringsprosesser og kroppens set-point-temperatur er lokalisert i preoptisk kjerne i fremre del av hypotalamus (POAH) [24;27]. Dette reguleringssenteret spiller den største rollen i å opprettholde den termiske balansen i kroppen og fungerer som kroppens termostat [2]. Menneskets termoreguleringsystem reguleres ved negativ "feedback", det vil si at kontrollsentert i hypotalamus mottar informasjon om endringer i kroppstemperatur og setter deretter i gang responser som påvirker kroppstemperaturen [42] (Figur 4). Varmeregulerendemekanismer blir hovedsakelig aktivert på to måter: 1) ved temperaturfølsomme sanseceller i huden, organer og kar som forsyner det sentrale kontrollsentert i hypotalamus med informasjon, og 2) ved direkte stimulering av nerveceller i hypotalamus gjennom forandringer i blodtemperaturen som omgir disse områdene [25]. Termisk informasjon fra signalveier i

retikulærområdet spiller også en rolle for regulering av kroppstemperatur [42]. Endres kjernetemperatur med 1 °C fører det til en aktivering i nervesystemet som er ni ganger så stor som aktiveringen i nervesystemet ved samme temperatur endring i middelhudtemperatur (MST) [43].

Under forskjellige forhold kan termoreguleringen gå på kompromiss med andre situasjoner som kroppen må hansk med, for eksempel sult, og føre til redusert mulighet til å beskytte kroppen mot lave omgivelsestemperaturer. En endring i set-point-temperatur forandrer terskelen for igangsetting av den enkelte termoreguleringsrespons. Set-point for kjernetemperaturen bestemmes av varme- og kuldesensitive nerveceller i preoptisk termoreguleringssenter [25;26;42;44]. Ved forandringer i kjernetemperatur, hudtemperatur og andre endogene faktorer som blodsukker og hormoner endres hastigheten på overføring av sanseinformasjon i de varmesensitive nervecellene i POAH. På denne måten setter det koordinerende termoreguleringssenteret raskt og effektivt i gang responser for å øke eller redusere varmetapet ved å endre temperaturgradienten til omgivelsene. Termosensitive nerveceller i POAH er viktige både for lokalt og regionale nervenettnettverk mellom de forskjellige reguleringsområder i hypotalamus. I tillegg til regulering av kroppstemperatur spiller nervenettnettverket i hypotalamus viktige roller i reguleringer av mengde vann og metabolitter i kroppen, blodtrykk, reproduktivitet og metabolske hormoner. De forskjellige reguleringsystem overlapper hverandre. Lite er kjent når det gjelder det basale samspillet mellom nervesignaler, hormoner, metabolitter og andre endogene faktorer hos mennesket, men det er vist at sanseinformasjonen på varme og kalde omgivelser sendes via to separate signaleringsveier fra hud, via ryggmargen, som ender opp i hypotalamus [42] (Figur 4).

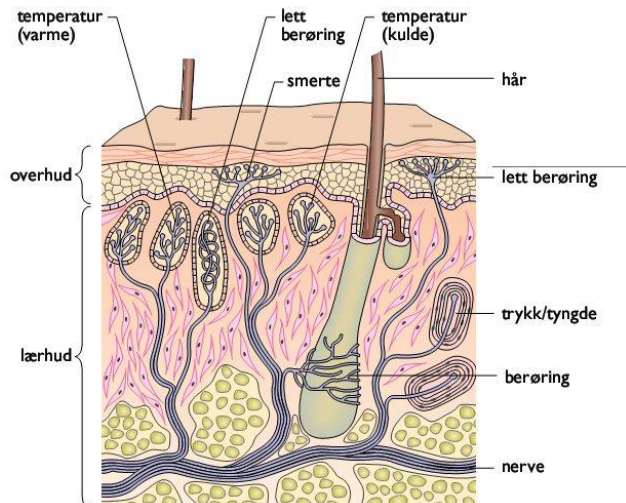


Figur 4 Forenklet skjematisk diagram som viser hoveddelene i nervesystemet som regulerer kroppstemperaturen, kjernetemperatur og hudtemperatur. Termoreguleringen er avhengig av signalering mellom nerveceller der aminosyrene glutamat og GABA (gammaaminosmørsyre) er viktige stimulerende- og hemmende signalstoffer (transmitterstoff). Forkortelser i figuren: ac, anterior commissure; GLU, glutamatreseptor med glutamat som transmitterstoff; GABA, synapse med GABA som transmitterstoff; oc, optic chiasm. Modifisert og oversatt fra Crawshaw et al. 2012 [42].

1.3.3 Temperatursensitive sensorer i hud

De temperaturfølsomme sensorene (reseptorene) i hud har høy sensitivitet. Det er egne sensorer for kulde og varme (Figur 5). De termiske reseptorene er ujevnt fordelt, og studier viser at øvre del av kroppen har størst tetthet av kuldereseptorer og størst sensitivitet. I forhold til resten av kroppen er sensitiviteten til sensorene i armer og bein betraktelig lavere. Kuldereseptorene spiller en viktig rolle i å starte en reguleringsrespons på kalde omgivelser. De blir aktivert ved kjøling av hud og hemmet ved oppvarming, mens det er motsatt for varmereseptorene. Varmereseptorene er lokalisert dypere i huden enn kuldereseptorene. Det er varmereseptorer i blodkar, organer, ryggmargen, hypothalamus og i det preoptiske området av hjernestammen. Temperaturfølsomme celler er også funnet i tungen,

respirasjonstrakten og områder i hjernen som medulla og motorisk cortex [27;42;44]. Selv under fysisk aktivitet vil normalt kuldesensorene i hud aktiveres for å hindre varmetap ved utsettelse for kulde [45].



Figur 5 Temperaturfølsomme sanseceller i huden. Illustrasjon er hentet fra www.osterlie.net [46].

Synapseovergangene mellom nervecellene muliggjør at styrken på signalet kan justeres ved å øke eller redusere frigivelse av mengde signalstoff (transmitterstoff), og det er denne neurotransmisjonen (overgangen mellom nervecellene) som hemmes. Etter stimulering kan nervecellene i hypothalamus videre trigge andre områder i hypothalamusregionen til å starte koordinerende responser for varmekonservering, som skjelving og sammentrekking av blodårer (bakre hypothalamus) eller økt varmetap (fremre hypothalamus) ved vasodilatasjon og økt blodstrøm. I tillegg til skjelving økes kroppstemperaturen som nevnt ved ikke-skelvings-termogenese. Områdene i hypothalamus opprettholder også termisk likevekt ved feber, men via forskjellige signaleringsveier enn ved utsettelse for kulde. Ved feber er set-pointet satt til en høyere verdi en normalt på grunn av en immunrespons med sirkulerende cytokiner, peptidhormoner som frigjøres fra hvite blodceller når kroppen utsettes for invaderende patogener (virus og bakterier) [2;4;47;48].

Ifølge Hammel [49] er set-point-temperatur den temperaturen hvor hemming og stimulering av signaloverførsel balanseres [50;51]. Er set-pointet nedsatt vil ikke koordineringssenteret i POAH starte noen reguleringsmekanismer for å opprettholde en kroppstemperatur på 37 °C, men setter først i gang reguleringsmekanismer når kjernetemperaturen faller under ny resatt set-point-temperatur [2]. Eksistensen av set-point er vidt akseptert, men det er fremdeles forskjellige definisjoner av set-pointet. Noen hypoteser støtter en set-point-referanse, mens andre støtter at kjernetemperaturen er opprettholdt innenfor et snevert terskelnivå i stede for omkring en set-point-temperatur [52].

1.4 Hypotermi under ekstrembelastning

Ekstrembelastning defineres ofte som situasjoner hvor en utsettes for langvarig hard fysisk anstrengelse, lite mat og lite søvn, kombinert med utsettelse for vær og vind, også omtalt som multifaktorielt stress [34].

De fleste studiene utført på termoregulering under ekstrembelastning er utført i en militær sammenheng, men de samme termoreguleringsmekanismer gjelder for alle som utsettes for tilsvarende ekstrembelastninger.

Effekten av de enkelte stressfaktorer en person utsettes for er godt studert, men det er imidlertid få studier som tar for seg den samlede effekten av flere forskjellige stressfaktorer samtidig. Mange tidligere studier er utført på forsøksdyr eller medisinererte-pasienter (f.eks. under anestesi). Slike faktorer kan påvirke validiteten av resultatene. Flesteparten av de tidligere studiene utført på stress hos mennesket har også vært kortvarige, kun opptil fem timer [53]. Interaksjonen mellom forskjellige stressfaktorer kan sannsynligvis ikke bestemmes ut i fra kunnskap på effekten av hver enkelt stressfaktor alene. De forskjellige faktorene kan virke synergistisk eller tvert om virke mot hverandre. Dette er hovedgrunnen til at studier på multistress må gjennomføres i multifaktorielle feltstudier slik som for eksempel Krigsskolens stridskurs [34]. Påkjenningsene under Krigsskolens stridskurs skal så langt som mulig ligne dem som forventes under en militær konflikt. Betydningen av ordet stress i forbindelse med stridskurset er påkjenninger som endrer, eller truer med å endre, kroppens indre likevekt. Under stridskurset blir alle kroppens regulatoriske evner stresset maksimalt for å opprettholde den indre likevekten [34;54;55].

1.4.1 Studier på endring av termoregulering

Tidligere undersøkelser har vist at set-point-temperatur for kjernetemperaturen var nedsatt etter multifaktorielt stress [56]. Opstad et al. [56] fant redusert kjernetemperatur til tross for økt varmeproduksjon og økt hudtemperatur. Det er ingen konsensus på hvilke mekanismer som forklarer en slik reduksjon eller hvilke enkeltfaktorer som har betydning for fallet i kjernetemperatur. Det har tidligere vært flere tilfeller av hypotermi hos deltagerne (kadetter) under Krigsskolens stridskurs [34]. Under dette kurset utsettes kadettene for stressfaktorer som hard fysisk aktivitet, energimangel, søvmangel og kaldt vær og vind, og alle disse faktorene kan påvirke termoreguleringen [34]. Stridskurset representerer en tilstand av tapping av kroppens energilagre hvor kadettene i gjennomsnitt mister omtrent 10 % av sin kroppsvekt. Energiforbruket under stridskurset er fire-fem ganger hvilemetabolismen (> 6000 kcal/døgn), noe som tilsvarer energiforbruket til syklistene i "Tour de France" [57]. I tillegg til endring i termoregulering fører stridskurset til andre endringer i kroppen,

deriblant hormonelle endringer [53;58-61], forstyrrelser i døgnrytmer [62], redusert glukosetoleranse [34], endring i søvnmønster [63;64] og nedsatt mental og fysisk yteevne [33;65;66].

Redusert kjernetemperatur er ikke bare observert under sterke fysiske påkjenninger som under stridskurset eller harde fjellvandring. Eksponering for kalde omgivelser er en av de andre faktorene som fører til redusert kjernetemperatur. Lange-Andersen et al. [67] observerte at aboriginere i Australia hadde lavere kjernetemperatur og hudtemperatur enn hvite kaukasiere, når de overnattet ute rundt bålet. Hvorvidt dette skyldtes genetiske forskjeller eller forskjeller i levestet er ikke kjent. Andre studier av urbefolkninger på 1950- og 1960-tallet, for eksempel av nomadesamer i 1958, har vist at disse, i likhet med kadettene på Krigsskolens stridskurs, hadde redusert kjernetemperatur, kombinert med økt hudtemperatur (Tabell 1) [67;68]. Nedsatt kjernetemperatur ses ofte i kombinasjon med økt blodstrøm til ekstremiteter, som i disse tilfellene. Den økte blodsirkulasjonen kan hindre kuldeskader i hender og føtter og opprettholder varmetilførsel [56].

Tabell 1 Kjernetemperatur, hudtemperatur og metabolisme under helkroppskuldetester på 1950- og 1960- tallet, utført hele natten i utvalgte kuldeutsatte populasjoner sammenlignet med ikke akklimatiserte Kaukasiere. Disse gruppene er testet under sine normale leveforhold og ikke utsatt for annet stress under studien. Det ble benyttet en feltmetode hvor kroppstemperatur og metabolismen måles under søvn. Forsøkspersonene sov nakne i en vindtett ettlagssovepose med hode i en boks, som muliggjorde måling av respirasjonsgasser. Omgivelsestemperaturen svingte mellom 0-6 °C. (↓ = redusert, ↑ = økt og – = ingen endring) (Oversatt og bearbeidet fra Leppäluoto og Hassi 1991 [68]).

Populasjon	Kjernetemperatur	Hudtemperatur	Metabolisme
Australske aboriginere	↓	↓	↓
Nomadesamer	↓	↑	↓
Eskimoer	–	↑	–
Kuldeutsatte nordmenn	–	↑	↑

Svakheten med disse tidligere feltforsøkene på urbefolkningen er at de ble utført under mindre kontrollerte feltforhold, slik at sammenligning av de fysiologiske responsene mellom forskjellige populasjoner kan være vanskelig. Hvordan, og i hvor stor grad forskjellige stressfaktorer påvirker termoregulering, er fortsatt omdiskutert.

1.4.2 Følgene av negativ energibalanse

De fleste biologiske funksjoner krever energi [69]. Behovet er avhengig av fysisk aktivitetsnivå og kroppsstørrelse [70]. Kroppen får tilført energi i form av karbohydrater, proteiner og fett, og for å fungere optimalt er den avhengig av en balanse mellom disse næringsstoffene. Negativ energibalanse, det vil si når forbruket er større enn inntaket, kan føre til tap av skjellettmuskelmasse og økt fare for

skader [71]. For å hindre forbruk av strukturelt protein må en optimal diett bestå av minst 100 gram/dag karbohydrater [34]. Man må unngå lange perioder med negativ energibalanse. Det anbefales for eksempel at man ikke utsettes for militære operasjoner med lite matinntak lengre enn ti dager [72].

Negativ energibalanse kan som omtalt påvirke termoreguleringen. Redusert kjernetemperatur blir sett på som en overlevelsesstrategi, blant annet i perioder med begrenset tilgang på næring. Det kreves mye energi for å opprettholde en kjernetemperatur som er høyere enn omgivelsestemperaturen. Reduksjon av kjernetemperaturen er en effektiv måte å spare energi på og opprettholdes med redusert metabolisme [73]. I tråd med dette, er det vist at kalori restriksjon kan redusere kjernetemperaturen [74].

1.4.3 Fysisk aktivitet

Ved fysisk aktivitet er det behov for økt blodsirkulasjon til muskler for tilførsel av oksygen og næringsstoffer samt fjerning av CO₂, laktat og acetat. Blodstrømmen til muskler reguleres i stor grad av lokale faktorer, hovedsakelig ved opphopning av lokale metabolitter og andre faktorer som gir avslapning av glatt muskulatur, slik at årene utvides og blodstrømmen øker (for eksempel adenosin, NO, O₂, CO₂, og katekolaminer) (Figur 2). I tillegg vil blodstrømmen til muskler påvirkes av sentrale mekanismer slik som blodtrykksregulering. Graden av vasokonstriksjon i musklens blodårer styres av sympatiske nervefibre hvor NA er transmittersubstans. I hvile går omtrent 20 % av hjertets minuttvolum til muskelmassen, mens ved maksimalt arbeid kan opptil 80-90 % av hjertes minuttvolum gå til arbeidende muskulatur. I starten av fysisk aktivitet er det normalt en omfordeling av blodsirkulasjonen fra huden til aktive muskler, mens ved forlenget fysisk aktivitet med økt kjernetemperatur er det behov for økt vasodilatasjon i hud for å kvitte seg med overskuddsvarme [se 30 for oversikt]. I restitusjonsperioden etter fysisk aktivitet er det vist at oksygenopptaket (VO₂) er økt for å kvitte seg med CO₂, laktat og acetat. Denne tilstanden betegnes EPOC (Excess postexercise O₂-consumption). EPOC påvirker metabolismen og dermed varmeproduksjonen [75]. Utsettelse for kuldestress i etterkant av fysisk aktivitet for eksempel at man ikke kommer seg innendørs etter å ha trent i kulda kan føre til økt varmetap med nedsatt kjernetemperatur [76].

1.4.4 Utmattelse av termoreguleringen

Forskning har funnet nedsatt termoregulering (skjelving og sammentrekking av blodårer) etter perioder med ekstrem hard fysisk aktivitet og langvarig eksponering for kulde. Dette øker faren for hypotermi. Nedsatt termoregulering som følge av ekstremt hard fysisk aktivitet blir omtalt som termoregulering-utmattelse [32]. Ved termoregulering-utmattelse er det svikt i termoreguleringen. Det vil si manglende evne til normal regulering ved utsettelse for kulde eller varme. Faktorer som kan føre til utmattelse av termoreguleringen er i) ekstremt hard fysisk aktivitet, ii) repetert utsettelse for

kulde og iii) fysisk utmattelse. Mangel på søvn og mat, med og uten hypoglykemi (lavt blodsukker), kan være tilleggsfaktorer som forverrer svikten [32].

Effekten av søvnmangel på termoreguleringen er uklar. Søvnmangel kan spille en rolle ved å forandre set-pointet som kroppstemperaturen reguleres etter [77], og i tillegg forstyrre normal regulering av blodsirkulasjonen i hud. En karakteristisk hudtemperaturprofil ved søvndeprivasjon er økt vasodilatasjon i føtter samtidig med økt vasokonstriksjon i hender [78].

1.5 Varmetap - kuldestress

Kalde omgivelsesforhold kan som tidligere nevnt redusere kjernetemperaturen. Kuldestress refererer til omgivelses og/eller personlige forhold som kan føre til tap av kroppsvarme og nedsatt kroppstemperatur [5]. Tap av kroppsvarme skjer ved i) stråling, ii) konduksjon (ledning), iii) konveksjon (strømning) og iv) fordamping av vann (svette) fra huden og fra luftveiene (Figur 6). For eksempel kan konduksjon ha en signifikant betydning for en skadet person som ligger på frossen bakke.



Figur 6 Forskjellige former for varmetap fra menneskekroppen. Teksten i figuren er hentet fra Figur 2 i "Håndbok for kulde", Holmér 2002 [79] og tegning ved FFI/Håkon Fykse.

Varmeutvekslingen foregår over hele kroppens overflate. Ekstremiteter, nese og ører, er imidlertid spesielt utsatt for større varmetap [79]. For at varmetutveksling skal forekomme må en termisk gradient mellom huden og omgivelsene være tilstede.

Menneskets termonøytrale temperatur er ifølge Hammel [80] mellom 27-28 °C i luft. I senere tid er den termonøytrale sonen definert til å strekke seg fra 27-32 °C [4]. Med en kjernetemperatur på 37 °C og ved en slik omgivelsestemperatur er hudtemperaturen på rundt 33 °C. Ulik mengde subkutant fett fører til individuelle forskjeller i hudtemperaturen [34;81]. Ved en termonøytral omgivelsestemperatur er kjernetemperaturen i balanse og det holder med justeringer av blodsirkulasjonen til huden for å kvitte seg med varmen som produseres ved hvile, uten å ta i bruk svetting [4;44]. Ved lavere omgivelsestemperatur vil kroppen raskt aktivere mekanismer for å lagre og produsere varme [82]. Det betyr at et hvilende nakent menneske i stille luft vil begynne å skjelve for å kompensere for varmetapet hvis omgivelsestemperaturen er under ca. 28 °C. Muskelskjelvinger kan øke varmeproduksjonen med opptil fem-seks ganger normalnivå før tilgjengelig energi er brukt opp [25], endringer i hormonsekresjon vil også bidra [4;24].

1.5.1 Varmetransport

Det er blodet som står for varmetransporten og bestemmer kroppens varmetap ved blodgjennomstrømningen i muskler og hud [83]. Blodstrømmen til hud kan være så høy som 8 L/min, og stå for 60 % av hjertes kapasitet [2]. I kalde omgivelser vil vasokonstriksjon hjelpe til med å forsinke varmetapet og beskytte kjernetemperaturen, men dette skjer på bekostning av en synkende temperatur i hud og muskler. Lavere hudtemperatur reduserer den termiske gradienten fra huden til omgivelsene og dermed varmetapet [5;84]. Klær øker isolasjonen og er den viktigste faktoren for å ivareta den termiske balansen i kalde omgivelser [16;27;79;85;86]. For hver grad omgivelsestemperaturen faller avtar stoffskiftet med mer enn 10 % [2]. For eksempel ved et fall i omgivelsestemperatur på bare 8 °C må metabolismen dobles for å hindre fall i kjernetemperatur [85].

Nedkjøling av huden fører også til økt hjertefrekvens. Økt hjertefrekvens som følge av kjøling gjør det lettere å distribuere varme som er produsert av indre organer og gir i tillegg økt mulighet for transport av energisubstrat til for eksempel skjelettmuskulatur. Samtidig økes hjertes varmeproduksjon [87]. Ved hvile står hjerte for 9 % av den totale varmeproduksjonen [4].

1.5.2 Finjustering av kjernetemperaturen

Finjusteringen av kjernetemperaturen reguleres av mikrosirkulasjonen, det vil si blodsirkulasjon i de små blodårer (forgreininger fra vener og arterier). Blodårene har vegger av glattmuskulatur, og det er α -adrenerge reseptorer på overflaten av de glatte muskelcellene i åreveggene som formidler vasokonstriksjon. De glatte muskelcellene i arteriolene (de minste forgreiningene av arteriene) er spesielt rikt innsnevret med sympatiske nervefibre. Økt aktivitet i disse fibre gir kontraksjon av muskelcellene [48]. De fleste blodkarene er underlagt sympatisk noradrenerg kontroll [2], men kan også påvirkes av endokrine signaler [42]. Er huden nedkjølt, kan blodårene være mer sensitive til katekolaminer og arteriolene og venene trekker seg raskere sammen [86]. Sammentrekningen av

blodårene kan skje veldig raskt [38;83]. Redusert sammentrekning av blodårene i ekstremiteter etter flere dager med fysisk aktivitet i kulde kan skyldes forhøyet sirkulasjon av NA. Både dyremodeller med kronisk forhøyet NA [5;88] og feltstudie på soldater etter ekstrembelastning [34] har vist nedregulering og desensitivisering av adrenerge reseptorer.

1.5.2.1 Arterielle-venøse anastomoser og kuldeindusert vasodilatasjon

Arterielle venøse anastomoser (AVAs) spiller en kritisk rolle i temperaturreguleringen siden de induserer en stor økning i varmeutveksling mellom huden og omgivelsene når de er åpne. Det er rikelig av disse i huden på ører, hender og føtter. AVAs er fraværende eller mindre utbredt på hodet, arm og legg [78]. Blodet strømmer 10 000 ganger raskere igjennom AVAs enn igjennom kapillærene, og direkte i fra arteriolene til hudens veneplexus, slik at varmen utveksles effektivt [38]. Lite er kjent om antall AVAs i fingrene, men man vet at det er rikelig av dem under neglen. AVAs er ikke permanente strukturer, men kan komme og gå etter behov. Det tar to-tre dager å danne nye AVAs [89].

AVAs antas å ha en hovedrolle i mekanismen til kuldeindusert vasodilatasjon (CIVD), også kjent som Huntingsrespons eller Lewis-reaksjon⁵. CIVD er en respons med økt blodstrøm i fingrene med intervall på 5-10 minutt, som inntreffer ved hudtemperaturer under 15 °C [89;90]. Hensikten er å fjerne CO₂, laktat og acetat, og å tilføre O₂ og næringsstoffer for å hindre vevsskader [91]. CIVD varierer fra person til person og kan forklare noe av den store individuelle variasjonen i frostskafer. Det er observert at både eskimoer, samer og nordiske fiskere har en sterk CIVD med korte intervaller mellom dilatasjonene. Det bidrar til å opprettholde manuell fingerferdighet i kalde omgivelser [85]. Det er mange faktorer som påvirker CIVD slik som diett, alkoholinntak, høyde, alder, stress og etnisitet. Det er påvist forskjeller i CIVD mellom etniske grupper der for eksempel mørkhudete har svakest Huntingsrespons [92].

1.5.3 Tilpasning til kulde

Akklimatiseringsprosesser i kroppen er viktige for å opprettholde varmembalansen ved forskjellige omgivelsestemperaturer [21]. Kroppen tilpasser seg bedre til varme enn til kulde [25;93]. Eksponering for kronisk kulde induserer tre forskjellige tilpasninger: 1) tilpassing til miljø, 2) metabolsk eller 3) isolerende tilpasning [23;93;94]. Tilpasning til miljøet er karakterisert med nedsatt skjelving, nedsatt vasokonstriksjon i hud eller begge deler, men kun langvarig utsettelse for kulde kan føre til redusert skjelving [27]. Kuldetilpasningen vist hos Alacaluf indianere er foreslått som bevis på metabolsk kuldeadaptasjon, hvor metabolismen stimuleres som følge av økt aktivitet i nervesystemet [80;95]. Økt

⁵ Lewis-reaksjon er oppkalt etter Thomas Lewis som var den første som beskrev kuldeindusert vasodilatasjon (CIVD) [90]. Noen forfattere bruker Lewis-reaksjon i stede for Huntingsreaksjon. Det var Lewis som i 1930 oppdaget at hud vasodilatasjon forekom hvert 5-10 min etter utsettelse for kulde [89].

sekresjon av tyreoidahormonet tyroksin (T4) kan bidra til å stimulere varmeproduksjonen [4]. Studier på Australiske Aboriginere viser eksempel på isolerende adaptasjon som ikke skyldes mere subkutant fett. Sentral-Australierne var utsatt for kronisk kulde om natten gjennom hele året, og ervervet seg en bedre vasokonstriksjon av perifere blodårer [96;97].

I forsvaret mot kulde er endring av adferd den viktigste adaptasjonen for voksne mennesker og som gjør det mulig å overleve under selv de mest ekstreme klimaforhold. Eksempler på adferdsadaptasjon er: i) frivillig muskelaktivitet for å øke varmeproduksjonen, ii) søke ly, iii) regulere bekleddingen og iv) regulere romtemperaturen [8;34]. Soldater kan være i situasjoner med begrensede muligheter til å justere bekleddingen og dermed utsettes for ekstra stort varmestress [34].

Det er påvist forskjellige akklimatiseringsprosesser ut i fra om hele kroppen eller bare deler av kroppen nedkjøles [23].

Når hender og føtter gjentatte ganger utsettes for kulde øker blodstrøm gjennom disse områdene, når de på nytt blir utsatt for ekstrem kulde. Dette medfører mindre risiko for kuldeskader (se kapittel 1.2). Ved gjentagelse av kuldeeksponering vil kroppen produsere "heat-shock" proteiner som øker cellenes evne til å tåle kuldebelastninger ("herding") [20]. Studier har vist at føttene har større evne å tilpasse seg kulde enn hendene etter militære operasjoner [98].

1.6 Metabolismen og kuldetoleranse

Tyreoidafunksjonen har avgjørende betydning for temperaturlansen og selv små forandringer i tyreoidafunksjonen påvirker varmeproduksjonen. Det er kjent at tyreoidafunksjonen påvirkes av ernæringsstatus og nedsettes ved energimangel. Ved nedsatt tyreoidafunksjon kreves en tidligere og sterkere aktivering av mekanismene for kuldeadaptasjon for å opprettholde samme kroppstemperatur. Lite er kjent når det gjelder de basale mekanismene bak dette [99].

1.6.1 Betydningen til tyreoidahormonene

Ved fall i kroppstemperaturen økes normalt produksjonen av tyreoidahormoner, tyroksin (T4) og trijodotyronin (T3) som fører til økt forbrenning og at varmetapet motvirkes (metabolsk tilpasning). T4 og T3 er kjent for å øke energiforbruket i alt vev og for å regulere lokal energihomeostase (likevekt) gjennom deres interaksjoner med sentralnervesystemet. Kalsiumsyklusen mellom cytosol og sarkoplasmatiske retikulum (ER) er en av signalveiene i skjelettmuskulaturen som er avhengig av tyreoida. Denne syklusen er involvert i kontraksjon og avslapningsmekanismer og kalsiumsyklusen konsumerer en stor mengde ATP. Den intracellulære konsentrasjonen av T3 er viktig for kobling mellom energitilførsel og energibehov [100]. Tyreoidahormoner passerer blod-hjernebarrieren og påvirker hjernen. Tyreoidahormoner er viktig for at hypotalamus skal kunne utføre mange av de

regulatoriske oppgavene, for eksempel kardiovaskulære funksjoner. Det er vist at det er en klar forbindelse mellom sansing av kjernetemperatur og kardiovaskulær funksjon [101]. T3 er en av de endokrine markørene for akuttenergimangel sammen med andre stressmarkører [102].

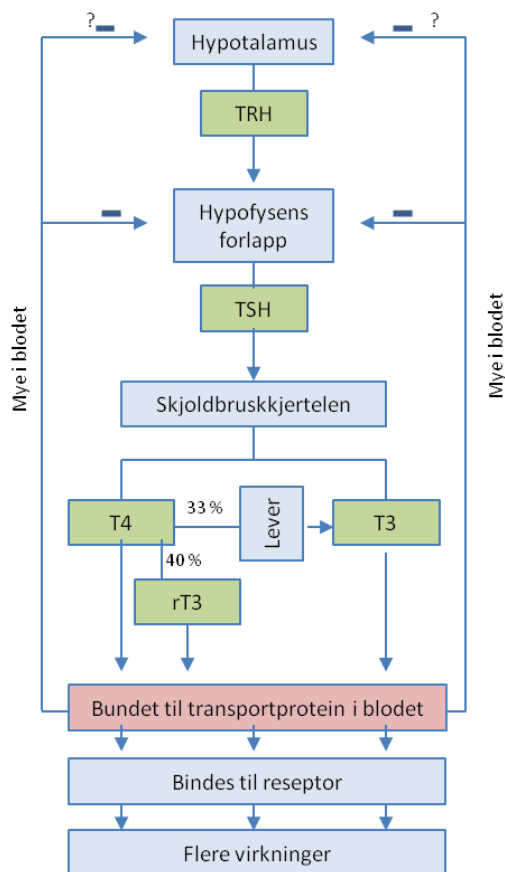
Det er vist at normal konsentrasjon av tyreoidhormonene endres under ekstrembelastning. Man kan observere et bifasisk mønster for tyreoidhormoner, med økning det første døgnet, etterfulgt av en tidsavhengig reduksjon (fra dag 2) forårsaket av mangel på mat [53;62;103]. Fall i tyreoidhormoner, uavhengig matmangel eller sykdom, fører til nedsatt varmeproduksjon (stoffskifte) og nedsatt kuldetoleranse [34].

1.6.2 Produksjon og regulering av tyreoidhormoner

Tyreoidhormonene (T4 og T3), som er små hydrofobe signalmolekyl, produseres ekstracellulært i folliklene i tyreoida. De gjøres løselig i blodstrømmen og ekstracellulære væsker ved binding til spesifikke transportproteiner der det viktigste er tyroksinbindende globulin (TBG). T4 og T3 skiller seg fra hverandre ved at tyroksin inneholder fire jodatomer, mens trijodotyronin bare har tre. T4 produksjonen er generelt 20-30 ganger høyere enn for T3, og i blodet er konsentrasjonen av T4 omtrent 50-60 ganger høyere enn av T3 [4].

Produksjonen av T4 og T3 er regulert av det tyreoidstimulerende hormonet TSH som skiller ut fra hypofyseforlappen. Under normale forhold vil en økning av TSH i blodet føre til at tyreoida stimuleres til å produsere T3 og T4 (hver follikkelcelle har omtrent 1000 slike reseptorer). Dette reguleres av hypothalamus som produserer det TSH-stimulerende hormonet, tyrotropinfrigjørende hormon (TRH) (Figur 7). TSH sekresjonen og antageligvis TRH sekresjonen reguleres/påvirkes av konsentrasjonsnivået av T4/T3.

I blodet er størstedelen av tyreoidhormonene bundet til transporthormonene (90-99,9 %). Det fører til at de har en langsom nedbryting, med en halveringstid på timer til dager. En liten mengde hormonmolekyler er løst direkte i plasma (0,08-1 %) og kan diffundere gjennom kapillærveggen og ut i ekstracellulære væsker. Bundne tyreoidhormoner må først dissosiere fra transportproteinene (f.eks. TBG og albumin), før de kan diffundere over cellemembranen i målcellen og binde seg til intracellulære reseptorer, dvs. gen regulerende proteiner. Bare de frie hormonmolekylene når frem til målcellene og utøver hormonets biologiske effekt. Den frie mengden hormon er i likevekt med den store mengden proteinbundne hormon [2;se 104 for oversikt;105]. Tyreoidhormonene virker på de fleste cellene i kroppen, og er som omtalt viktig for regulering av cellemetabolismen. I senere tid har tyreoidhormonene vist å ha en rask virkning som ikke er genomisk og som utøves ved reseptorer på plasmamembranen og i mitokondriene [se 106 for oversikt].



Figur 7 *Produksjonen av tyroksin (T4) og trijodotyronin (T3) er regulert av tyreoidestimulerende hormon, TSH fra hypofyseforlappen. Under normale forhold vil en økning av TSH i blodet føre til en stimulering av tyreoiden til å produsere T3 og T4. Dette er igjen under styring av hypothalamus som produserer det TSH-stimulerende hormonet, tyrotropinfrigjørende hormon (TRH). T3 og T4 har negativ tilbakevirkning på tyrotropene i adenohipofysen og på TRH-produserende celler i hypothalamus. T4 kalles ofte prohormon, mens T3 kalles det aktive hormon siden T3 har fire-fem ganger høyere biologisk virkning enn T4. Stort sett har T3 og T4 lik effekt. T3 er mer aktivt og har lavere proteinbinding enn T4, men konsentrasjonen av T4 i blodet normalt er 50-60 ganger høyere for T4 enn T3. 80 % av T3 hos voksne er antatt å være derivert i fra T4 [2;104;107].*

2 Metodeteori

Samlet status for kroppens termoregulering etter utsettelse for ekstrembelastning måles normalt ved kjerne- og hudtemperaturmålinger. Målingene utføres under kontrollerte forsøk like etter den ekstrembelastningen/stressituasjonen man ønsker å undersøke.

2.1 Krigsskolens stridskurs

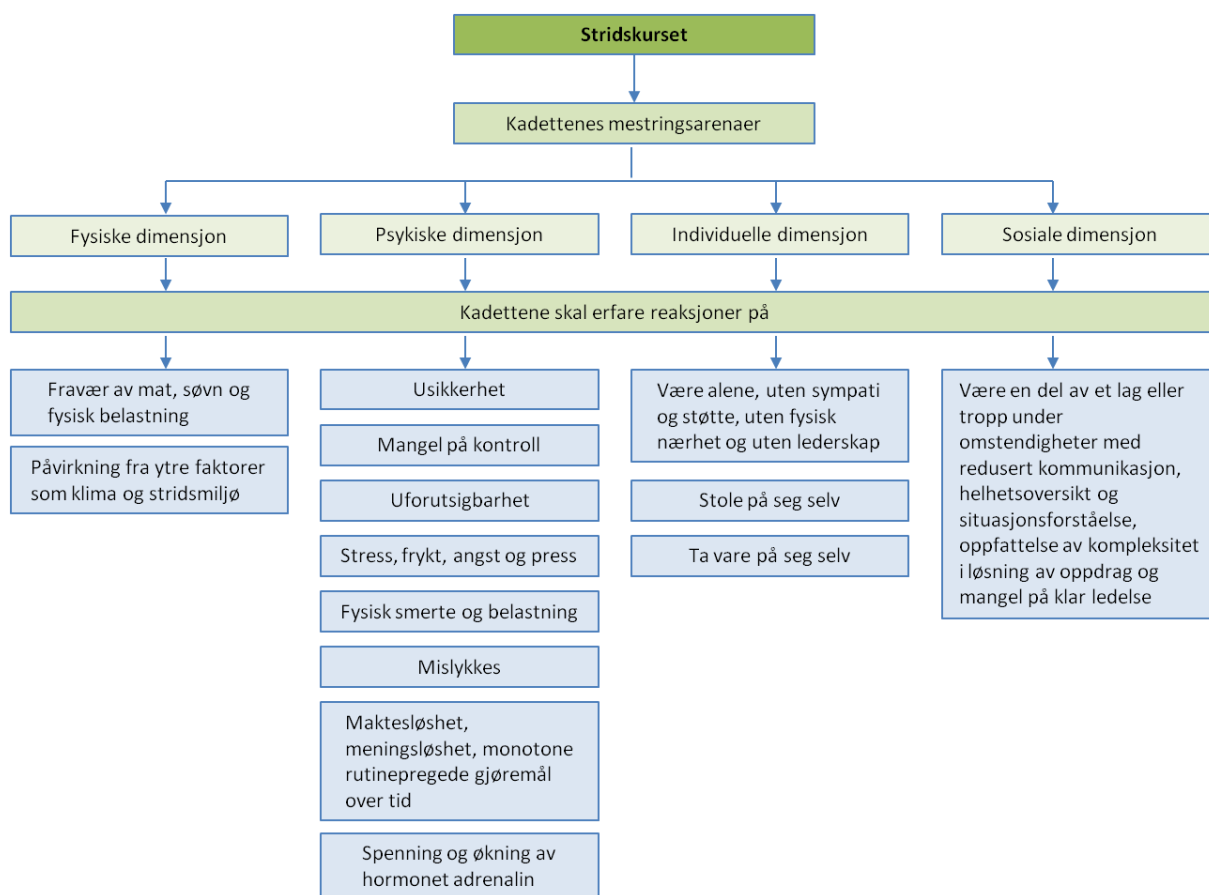
Stridskurs som arrangeres av Hærens Krigsskole (heretter “Krigsskolen”) er en god modell for studier hvor man ønsker å undersøke endringer i kroppen som følge av ekstrembelastning.



Figur 8 Hærens Krigsskoles stridskurs. Foto: Forsvaret/Torgeir Haugaard 1999.

Krigsskolen er en utdanningsinstitusjon innen grunnleggende offisersutdanning med fokus på militære ledere med profesjonsidentitet (Krigsskolens studiehåndbok operative kull 11-14, 2011). Opptaket til Krigsskolen er basert på en streng seleksjon og krever at man har en rekke kvalifikasjoner, ferdigheter og holdninger fra tidligere utdanningsinstitusjoner, for eksempel befalsskole. Krigsskolen fokuserer i stor grad på kadettene sine evner til operativ ledelse innen både fred, krise og krig. Stridskurset er et mestringsorientert kurs som er en del av utdannelsen på Krigsskolen, og som har vært gjennomført med få modifikasjoner siden sekstitallet. Det ble startet i Norge i 1967 med et amerikansk militærtreningskurs som modell. Hensikten med stridskurset er å gi kadettene mulighet til å forsere sine psykiske og fysiske barrierer slik at de etter endt kurs har en styrket evne til å fungere som leder og soldat i reelle operasjoner. Gjennom stridskurset skal kadettene få kjennskap til hvordan fysiske og psykiske belastninger over tid virker inn på egen og andres adferd, under oppdragsløsning, stridsdyktighet, situasjonsforståelse, beslutningstaking og kommunikasjon (Figur 9). For at situasjonen skal være så reell som mulig og at kurset oppnår sin hensikt, settes kadettene i situasjoner som utfordrer deres fysiske og psykiske kapasiteter til det ytterste. Utfordringene rettes både mot den

enkelte og gruppen som man er en del av. Stridskurset skal i tillegg gi en følelse av å lykkes, dermed bidra til positiv mestringstro og selvfølelse.



Figur 9 De fire dimensjoner som mestringsarenaene til kadettene er delt inn i for stridskurs gitt i Krigsskoleordre for 2012: den fysiske, psykiske, individuelle og sosiale.

Stridskurset varer ca. én uke med døgkontinuerlige aktiviteter, lite mat og lite søvn. I tillegg blir deltagerne utsatt for vær og vind. De fysiske anstrengelsene består mye i stridsaktiviteter, marsjer, ta seg frem i terrenget, hinderløyper, vanngraver m.m. – noe som gjennomsnittlig tilsvarer 35 % av maksimalt oksygenopptak (VO_2 -maks) og et kaloriforbruk på ca. 6000 kcal/døgn [57]. Det er ikke tillatt med noen organisert soving under hele stridskurset, men kadettene dupper av mellom aktivitetene. Tidligere observasjoner samt kontinuerlige pulsmålinger utført av Opstad et al. [61] har vist at kadettene sov totalt en-tre timer under hele stridskurset på fire-fem dager. I den senere tid, etter at kurset ble økt til syv dager, ble det på grunn av forsvarlighet lagt inn en ekstra søvnperiode på ca. tre timer, og antall timer søvn økt til fire-seks timer (Per Kristian Opstad, personlig meddelelse 2013). Siste rapporterte data er 2 timer med uforstyrret søvn i løpet av syv dager. Opstad med medarbeidere har fulgt kadettene gjennom kurset siden begynnelsen av 1970 tallet. Forsøksmodellen har stort sett vært den samme i hele denne perioden. Frem til og med 2012 ble kurset gjennomført på slutten av det første studieåret i juni måned. På denne tiden kan temperaturene variere betydelig mellom dag og natt

fra 0-5 °C og opp i 15-20 °C (noen dager enda høyere). Kadettene som deltar, er valgt ut til Krigsskolen på bakgrunn av fysiologiske tester, fysiske presentasjoner og tidligere resultater. De er i god fysisk og mental form og vant til feltøvelser [34;56].

2.2 Måling av kroppstemperatur

En samlet status for termoreguleringssystemet kan bestemmes ved å måle kjernetemperaturen.

2.2.1 Måling av kjernetemperatur

Til tross for et stort utvalg av metoder for måling av kjernetemperatur, er det en utfordring i å få gode målinger særlig under fysisk aktivitet. Gullstandarden for å måle kjernetemperaturen er å måle temperaturen i blodet fra arteriene som transporterer blod til lungene [108]. Den beste kliniske metoden er måling i øsofagus ettersom man får målt nærme hjerte, men for kliniske eller eksperimentelle formål er kjernetemperaturen oftest målt i rektum, munnen eller i armhulen nær armarterien [26;108;109]. Temperaturmålinger i disse stedene er ikke uniforme, fordi de representerer en lokal temperatur. Normalt er rektaltemperaturen ca. 0,65 °C høyere enn den målt i munnhulen eller armhulen. I rektum er det en variasjon på 0,1-0,9 °C, avhengig av posisjonen til det målende instrumentet [110]. Nøyaktigheten til oraltemperatur kan bli påvirket av pustefrekvensen, noe som gjør den uegnet til å måle kjernetemperatur under eller like etter fysisk trening [108]. Infrarøde termometere til å måle kjernetemperatur på trommehinnen i øret (trommehinnetemperaturmåler) brukes i dag mye i klinikken. Estimering av kjernetemperaturen med en slik trommehinnetemperaturmåler er derimot unøyaktig og ikke tilfredsstillende til forskningsformål. I tillegg krever det god skylling av øret [51]. Man får et tilnærmet mål for kjernetemperaturen ved å utføre målingen ca. fem cm inn i endetarmen. Et problem ved bruk av rektalprobe for måling av rektaltemperatur er at proben kan skli ut når forsøkspersonen er under aktivitet. Det finnes ”kuler” til å feste på rektalproben, for å hindre den i å gli ut, men tidligere erfaring med forsøk på soldater er at de ikke ønsker å bruke disse kulene. Et alternativ til rektalproben er å måle kjernetemperaturen med en gastrointestinal (GI) telemetri sensorpille (”kjernetemperatursensor”) som svelges, der sensoren sender temperaturdata til dataloggeren med radiokommunikasjon. Slike kjernetemperatursensorpiller er mye brukt de senere år for å måle kjernetemperatur. Målinger med sensorpille kan derimot gi for lave verdier om pillen befinner seg et sted i fordøyelsessystemet nære hudoverflaten og målingene kan også bli påvirket av spising og drikking de første timene etter at pillen er svelget. Ved bruk av sensorpille kan man ikke være sikker på om en målt reduksjon i kjernetemperatur er et resultat av fordøying av kaldt drikke/mat, at sensoren fungerer dårlig eller en reell reduksjon i kjernetemperatur. Det anbefales at sensorpillene bør svelges minst fem timer før forsøk. Det er erfart at to simultane kjernetemperaturmålinger viste mer enn 2 °C forskjell i temperatur, noe som kan ha alvorlige konsekvenser dersom sensorene brukes som sikkerhetskontroll på soldater i felt [111;112]. Hovedfordelen med å benytte sensorpille er at man unngår rektalprober som kan gli ut. Ved forsøk

hvor subjektene har jevnlig inntak av kaldt drikke anbefales det at telemetri sensoren må svelges mer enn åtte timer før de aktuelle kjernetemperaturmålinger [113]. Kadettene har jevnlig inntak av drikke under hele kurset. Ved senere forsøk er det noe man må ta hensyn til om man ønsker å måle kjernetemperatur med en sensorpille. Det beste alternativet ved måling av kjernetemperatur ved sykkelbelastningsforsøk vil være å plassere pillen rektalt før forsøket.

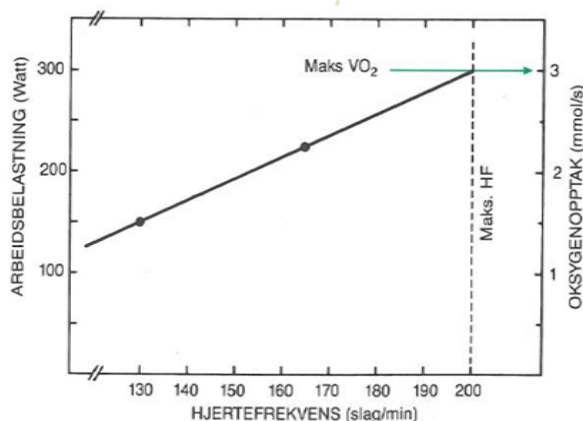
2.2.2 Måling av hudtemperatur og middelhudtemperatur

Måling av hudtemperatur har flere svakheter, fordi den påvirkes i stor grad av blodstrømmen i hud og svetting. Videre vil forandringer i omgivelsene slik som endringer i lufttemperatur, fuktighet, vindhastighet og stråling påvirke hudtemperaturen. Dette er årsaken til at man ofte foretrekker å bestemme middelhudtemperatur, som er en sum av flere individuelle hud temperaturer. Noen ganger benyttes opptil 16 forskjellige individuelle målinger på hudoverflaten eller enda flere i laboratorieforsøk. For måling under militærøvelser etc. er en slik metode lite praktisk da ledningene som knytter sensorene til loggeenheten vil være i veien [114]. Et eksempel på en formel som brukes for beregning av middelhudtemperatur (MST-“mean skin temperature”) er Ramanathans formel, som er en forenklet formel som er mye brukt ved beregning av MST [115].

$$MST_{\text{Ramanathans}} = 0,3 t_{\text{bryst}} + 0,3 t_{\text{arm}} + 0,2 t_{\text{lår}} + 0,2 t_{\text{legg}}$$

2.3 Maksimalt oksygenopptak (VO₂-maks)

Kroppens kapasitet for langvarig muskelarbeid er først og fremst avhengig av tilførselen av oksygen til musklene. Maksimalt oksygenopptak (aerob kapasitet, VO₂-maks) måler evnen til å transportere og forbruke oksygen. Den klassiske metoden for å bestemme oksygenopptaket (VO₂) er bruk av “Douglas Bag”, som gir et nøyaktig direktemål på VO₂ [116], men dette er en krevende metode som bare kan utføres i velutstyrte laboratorier. Den mest brukte metoden for indirekte måling av VO₂-maks er å måle hjertefrekvensen ved submaksimale belastninger og deretter ekstrapolere til maksimale verdier (Figur 10). Metoden bygger på tre fysiologiske forutsetninger: For det første at VO₂ øker rettlinjet med hjertefrekvensen; for det andre at alle bruker samme andel av det VO₂-maks ved en bestemt hjertefrekvens; og for det tredje at arbeidsøkonomien er konstant fra individ til individ [117]. Et eksempel på en slik metode er Åstrand/Rhyming-testen som gjennomføres på ergometersyssel. Hjertefrekvensen måles i 6 minutter ved to eller flere ulike belastninger. Basert på Åstrand og Rhymings forsøksresultater er det utarbeidet nomogram (et todimensjonalt diagram), hvor man med informasjon på hjertefrekvensen og arbeidsbelastning eller oksygenopptak kan estimere VO₂-maks [118]. Metoden er ikke en nøyaktig måling, men den gir godt nok resultat dersom en omtrentlig verdi er tilstrekkelig [119].



Figur 10 Prinsipp for beregning av maksimalt oksygen opptak (VO_2 -maks) ut fra måling av hjertefrekvens. En finner arbeidsbelastningen som tilsvarer den maksimale hjertefrekvensen ved hjelp av to middels tunge belastninger. O_2 kravet ved denne belastningen settes som VO_2 -maks. Figur er hentet fra boken “Testing av idrettsutøvere”, Bahr et al. 1991 [117].

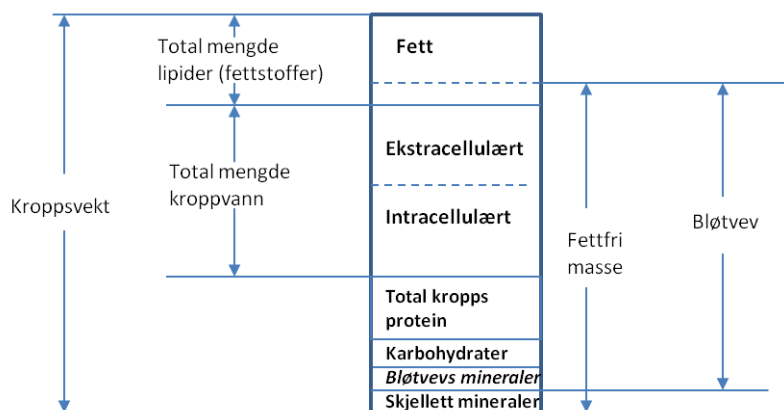
Åstrand og Rhyming viste at estimert VO_2 -maks avvok med omtrent $\pm 6\%$ i forhold til direkte målinger [118]. Ifølge Bahr et al. [117] er måleusikkerheten ved denne testen mindre enn 15%. En studie utført av Patton et al. [119] viste at VO_2 -maks estimert med Åstrand-Rhyming test korrelerte signifikant med VO_2 -maks målt med en maksimal estimert ergometersykkeltest og med direkte måling med løping på tredemølle.

2.4 Måling av kroppssammensetning

Vekt og kroppssammensetning hos soldater kan endre seg mye i løpet av en øvelse. Bioelektrisk impedansanalyse (BIA) er en rask, billig og enkel metode for å måle kroppssammensetningen hos mennesker. Utstyret er enkelt å transportere og i tillegg trengs det ikke omfattende trening for å bruke instrumentene. Denne metoden er benyttet under stridskursene de siste årene. Ved bioimpedansmåling festes to elektroder til hånd og fot. Impedansen kan da måles ved ulike frekvenser, og ut ifra det, pluss informasjon om høyde og alder som man selv oppgir, beregnes fettprosent, muskelmasse, mineralnivå, BMI (Body Mass Index), m.m. Kroppen består stort sett av muskler, bein og fett (Figur 11).

Elektrisk impedans i vevet måles i løpet av få sekunder med et BIA instrument. Prinsippet bak BIA baserer seg på at strømmen passerer hurtigere gjennom vannholdig vev enn gjennom bein- og fettvev. Individets totale mengde kroppsvann (TBW) kan estimeres fra impedansen siden elektrolyttene i kroppens vann leder strøm godt. Fettfrimasse (FFM) og fettmasse (FM) og total mengde kroppsvann (TBW) kan estimeres ved hjelp av likninger, basert på målt motstand i kroppen samt vekt og høyde [120;121]. InBody 720, brukt i denne studien, er det mest brukte impedansinstrument på markedet. Holteberget fant at repeterte målinger med InBody viste god pålitelighet sammenlignet med måling av

dobbel røntgenabsorpsjon - DXA (Dual-energy X-ray Absorptiometry) som er referansemetoden for måling av kroppssammensetning og er brukt som ”gullstandard. Inbody underestimerte fettandelen med 2 %. DXA brukes mye i forskningssammenheng, men er en metode som er lite egnet for bruk i felt. Ulempen ved BIA er at resultatene kan påvirkes av ernæringsstatus, væskebalanse, trening og temperatur. Det er viktig med standardisering av forskningsbetingelsene [121;122].



Figur 11 Hovedkomponentene i det molekylære nivået av kroppssammensetningen. Bløtvev er ensbetydende med muskler, sener og leddbånd. Oversatt og bearbeidet fra Heymsfield et al. 2005 [123].

2.5 Hematologiske forandringer

Måling av hematologiske blodverdier slik, som røde- og hvite-blodceller, gir nyttig informasjon om kadettens tilstand. Ved dehydrering får man en relativt forhøyet hemoglobinverdi (Hgb). Denne vil gå tilbake ved tilstrekkelig væsketilførsel. Dehydrering kan være et problem ved høye omgivelsestemperaturer og hard fysisk aktivitet. Det kan føre til at man ikke får kvittet seg med overskuddsvarme [42]. Under stridskurset får kadettene en sportsdrikk hver dag og tilførsel av salt ved behov. Selv om de har fri tilgang på vann under hele kurset, er de plaget av tørste under kurset. Til tross for dette, er det tidligere ikke påvist at kadettene er dehydrert [62].

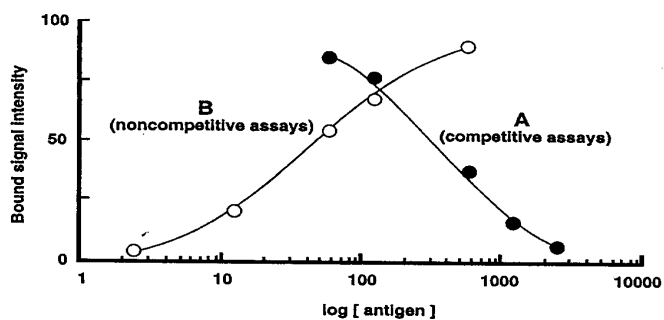
Det er påvist at økt fysisk aktivitet fører til økt destruksjon av de rødeblodcellene og fall i Hgb over tid [124;125]. Mekanismene bak dette er ikke kjent, men kan skyldes en fortynningseffekt på grunn av trening (pseudoanemi), økt destruksjon av røde blodceller eller redusert syntese som følge av reduserte jernlagre. Det siste kan skyldes mangelfull ernæring. Det er tidligere påvist reduksjon av hematokrit⁶ (Hct), hemoglobin og rødeblodceller (RBC) under stridskurset. Der det ble rapportert at dette kunne være et resultat av fysisk aktivitet og ikke skyldes ernæring eller søvnmangel. Det vises til at adrenalin øker både osmotisk og mekanisk skjørhet. Det er tidligere påvist omtrent 300 % økning i adrenalin under stridskurset, noe som indikerer at de røde blodcellene er mer utsatt [125-127].

⁶ Hematokrit (HCT) er et viktig mål for hvor mye av blodet som består av rødeblodceller [124].

Minst 85 % av de hvite blodcellene (leukocytene) i perifert blod utgjøres av nøytrofile granulocytter (GRA) og lymfocytter (LYM). GRA er utøvere i det uspesifikke immunforsvaret og LYM er utøvere i det spesifikke immunforsvaret. Raske forandringer i hvite blodceller avspeiler som oftest et endret antall nøytrofile granulocytter, som finnes i to jevnstore populasjoner. En populasjon sirkulerende i blodet og én klebet til karveggen i blodårene eller i kapillærene, såkalt marginal pool. Nivå av nøytrofile granulocytter endres kontinuerlig mellom sirkulerende og marginal pool. De hvite blodcellene er kjent å øke etter hard fysisk aktivitet, stress og måltider ved mobilisering av perifer pool. I akutt fase av en infeksjon øker disse, og skiller ut interleukiner som kan øke kjernetemperaturen (feber). Som tidligere nevnt kan infeksjoner føre til resatt set-point, til høyere nivå enn normalt. De varmeregulerende prosessene forsøker dermed å holde kjernetemperaturen stabilt på dette høyere nivået. Under tidligere stridskurs er det vist en aktivering av det uspesifikke og hemming av det spesifikke immunforsvaret. Til tross for at det er funnet forandringer i immunrelaterte parametere i blodet under tidligere stridskurs, er det ikke påvist noen kliniske tegn til økt forekomst av infeksjoner [34;126-129].

2.6 Immunoassay

Immunoassay er enkle og raske kommersielt tilgjengelige analyser for påvisning av antigen. Ved bruk av standarder med kjente konsentrasjoner lages en dose-respons standardkurve, hvor konsentrasjonen til ukjent prøve kan leses av (Figur 12).



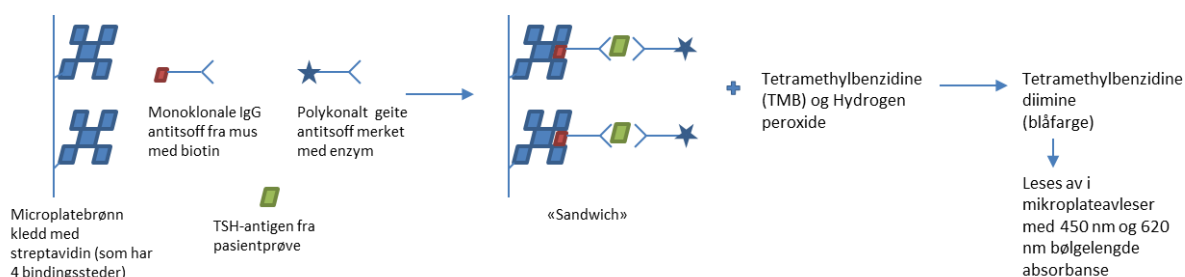
Figur 12 Figuren viser en typisk dose-respons kurve hvor A er konkurrerende immunoassay og B er ikke-konkurrerende immunoassay. Hentet fra Andresen 2012 [130].

Metoden er en spesifikk og høyt sensitiv teknikk for kvantifisering av molekyler i løsning, basert på prinsippet av proteinbindende spesifikke antistoffer kombinert med en enzym-indusert fargereaksjon. Immunoassay deles inn i antistoffunderskudds- og antistoffoverskuddsanalyser, hvor antistoffunderskuddsanalyser har størst sensitivitet. Analyser med antistoff i overskudd kalles ikke-konkurrerende assay, metric assays eller sandwich (for eksempel: IRMA, IEMA, IFMA, ILMA), mens antistoff i underskudd kalles konkurrerende assay (for eksempel RIA, EIA, FIA, LIA). Metoden krever

at molekylet har minst to epitoper⁷, det vil si at minst to antistoffmolekyler samtidig kan binde seg til antigenet. Har molekylet kun en epitop kan man ikke bruke ikke-konkurrerende og må benytte konkurrerende analyse. Følsomheten til analysen avhenger av hvilket markørprinsipp som anvendes. Metoden har høyest følsomhet ved bruk av enzymer, der indikatormolekylene kan mangfoldiggjøres. Det essensielle ved disse metodene er binding av spesifikke monoklonale antistoff til veggen i mikroplaten [131;132].

2.6.1 Immunoenzymometric assays (IEMA)

Immunoenzymometric assays (IEMA) også kjent som ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay) er en kvantitativ immunologisk ikke-konkurrerende analyse med antistoff i overskudd, for påvisning og kvantifisering av antigen. Prinsippet for analysen er at det benyttes to antistoffmolekyler samtidig som kan binde seg til antigenet i den ukjente prøven slik at det dannes et sandwichkompleks. Standarder og prøver pipetteres inn i brønner på en mikroplate som på forhånd er kledd med monoklonale antistoffer mot proteinet av interesse. Proteinene bindes til det immobiliserte antistoffet og etter å ha vasket bort ubundne substanser, tilsettes et sekundært enzymmerket antistoff mot proteinet, slik at det lages et sandwichkompleks (Figur 13). Deretter tilsettes en substratløsning, og det dannes et fargeprodukt som er direkte proporsjonal til mengden protein i den ukjente prøven eller standardene. Absorbansen måles ved en mikroplateleser, og proteinkonsentrasjonen i ukjent prøve leses av ved ekstrapolering fra standardkurven [128].



Figur 13 Immunoenzymometric assays (IEMA) også kjent som ELISA (Enzym Linked Immunosorbent Assay). Ikke-konkurrerende analyse (sandwich) med antistoff i overskudd. Figuren viser et eksempel for kvantifiseringa av tyreoidestimulerende hormon (TSH), som er et stort peptid. Streptavidinkleddede brønner og monoklonalt primærantistoff merket med biotin er mye brukt på grunn av streptavidin sin egenskap med fire bindingssteder, og fordi straptavidin og biotin passer perfekt sammen. Polyklonalt sekundær antistoffet er merket med enzym. Ved tilsetning av peroxidase og et kromogenisk substrat får man en fargereaksjon fordi substratet fungerer som en hydrogengiver for peroxidasen. Resultatet av enzymreaksjonen gir et fargesignal som kan leses av i et fotometer.

⁷ Epitop eller antigendeterminant er spesifikke områder på antigenet som binder seg til et antistoff [107].

2.6.2 Enzymimmunoassay (EIA)

Enzymimmuno assays (EIA), også kalt EMIT (enzymomultiplied immunoassay technique) er en kvantitativ immunologisk konkurrerende analyse med antistoff i underskudd [131;132]. Det enzymmerkede antigenet og proteinet i ukjent prøve har like stor affinitet til det spesifikke antistoffet, som veggene i mikroplaten er kledd med, så jo mer av proteinet i prøven jo mindre av enzymmerket antigen kan bindes (Figur 14).



Figur 14 Konkurrerende analyse med antistoff i underskudd. Figuren viser et eksempel der 50 % av merket antigen og antigen fra serumprøven (blodprøve fra kadett) er bundet til antistoffet som mikroplatebrønnen er kledd med.

Analysen skiller mellom merket antigen og protein i plasmaprøven ved vasking, der antistoff bundet til veggene i mikroplaten er helt essensiell for å kunne vaske. Prøvene med ukjent mengde antigen, standarder og enzymmerket antigen tilsettes til brønnene hvor veggene er dekt med monoklonale antistoff. Antigenet i ukjent prøve og standarder konkurrerer med enzymmerket antigen for antistoffbindingssteder på veggene i brønnene. Etter inkubasjonstiden der den konkurrerende reaksjonen foregår, separeres bundet enzymmerket antigen fra ubundet enzymmerket antigen ved vasking. Aktiviteten til enzymet som er presentert på overflaten på veggene i brønnene er målt ved en reaksjon med et egnet substrat for å produsere farge. Enzymaktiviteten i antistoffbundet forhold er omvendt proporsjonalt med ukjent proteinkonsentrasjonen i prøven. En dose-respons standardkurve lages, hvor resultatet på ukjent mengde antigenkonsentrasjon leses av (Figur 12) [132].

2.7 Multivariat analyse av varians (MANOVA) for repeterte målinger

Multivariat analyse av varians (MANOVA) på repeterte målinger benyttes når to eller flere grupper skal sammenlignes for mer enn én avhengig variabel (AV) (responsvariabel) målt ved to eller flere tidspunkt (og på alle individ på samme tid). Repeterte-målinger-MANOVA er en multivariat mellomgruppeanalyse, som tar hensyn til flere responsvariabler på samme tid. Analysen analyserer alt under ett og tar hensyn til om det er noen sammenheng (korrelasjon) mellom responsvariablene. I studien som beskrives i denne rapporten er denne metoden benyttet ved at blodprøver er tatt ved 3 forskjellige tidspunkt for to grupper: i) før tilførsel av ekstra ernæring, ii) før stressforsøk og iii) før

kontrollforsøk. Ved repeterte-målinger-MANOVA beregnes to eller flere avhengige variabler på tvers av en eller flere mellom-gruppe uavhengige variable (kategoriske forklaringsvariabler). Betingelsene for å benytte repeterte-målinger-MANOVA er flere: i) uavhengig variabel(er) må være kategorisk, ii) minst to grupper, iii) avhengig variabel må ha intervall eller forholds data og iv) variansen i gruppene skal ikke være signifikant forskjellige (testes med Levene'test, $p > 0,05$). Det er bedre å bruke repeterte-målinger-MANOVA for å beregne utfallet for flere avhengige variable i stede for å utføre separate analyser. En årsak er å få med styrken mellom de avhengige variable og unngå å påvise at det er en signifikant forskjell om det ikke er noen (type 1 feil). Testobservator velges ut i fra type data og hvor mange grupper som studeres [133;134]. Med hensyn på normalitet kan små forsøksgrupper komme skjevt ut, men det som er viktig er at en kan anta at populasjonen subjektene er valgt fra er normalfordelt. Ved lav deltagelse i studien kan en få lav teststyrke og sjansen til å oppdage en effektforskjell blir liten. Selv om de statistiske metodene ikke viser statistisk signifikans vil det ikke nødvendigvis si at gruppene er like [135]. Ikke-parametriske tester er mer robuste enn parametriske og tåler avvik bedre, men ved lite antall deltakere har ikke-parametriske metoder lavere styrke og vil gi høyere p-verdi [136]. I tillegg finnes det ikke noen ikke-parametrisk test som kan sammenligne et forløp i to eller flere grupper samtidig.

2.8 Formål med denne studien

Tidligere studie fant nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur under stridskurset [56]. I den opprinnelige studien til Opstad og Bahr [56] fant de ingen effekt av glukose intravenøst under stressforsøket utført etter endt stridskurs, men det er ikke undersøkt hva økt tilførsel av ernæring under selve stridskurset kan ha å si for termoreguleringen. I denne studien ble det i samråd med Krigsskolen bestemt at det ene gruppen skulle få ekstra ernæring det siste døgnet av stridskurset, som mest mulig dekker opp for kadettens energiforbruk. Noe som proteiner, noe som fett og mest som karbohydrater, totalt 6820 kcal (inkludert basisdietten på 750 kcal/dag).

Det er tidligere påvist endringer i funksjonen til tyreoida og tyreoidahormoner under stridskurset [53;62;103], men det er ikke utført slike målinger samtidig med måling av kjernetemperatur og hudtemperatur. Det er ønskelig å undersøke om det reguleres fra hypothalamus, og det kan gjøres ved å undersøke endringer i TSH-konsentrasjonsnivået. Viktigheten til TSH er å stimulere til produksjon av T4 og T3. Kan man påvise redusert hypothalamus kan man utelukke andre årsaker.

Formålet med denne studien var å bekrefte funnene som ble publisert av Opstad og Bahr i 1991 og undersøke om mangel på ernæring kan forklare en eventuell endring i termoregulering under stridskurset.

For å kunne få et svar på ovenfor nevnte problemstilling ble følgende delspørsmål stilt i denne oppgaven:

- Kan vi bekrefte tidligere funn om at set-point for kjernetemperaturen i hypothalamus er nedsatt etter multifaktorielt stress?
 - Kan denne forskjellen forklares med forskjell i ernæring for de to gruppene?
- Kan mekanismene for endringer i set-point-temperatur være lavere tyreoidahormoner hos den gruppen som ikke fikk ekstra ernæring?
- Kan forskjell i kroppssammensetning (det vil si forskjell i endringer i FFM, FM og SMM) mellom de to gruppene ha betydning for nedsatt set-point under og etter stridskurset?
- Kan forskjell i ernæring påvirke hjertefrekvens under stridskurset?

Hovedhypotesene i denne studien er at kadetter som får tilført ekstra ernæring vil ha lavere reduksjon i kjernetemperatur enn gruppen som ikke får tilført ekstra ernæring, og at det er en forskjell mellom gruppene med hensyn på endringer i tyreoidahormoner, der gruppen med ekstra ernæring har høyere nivå av T3 enn gruppen uten ekstra ernæring.

3 Materiale og metode

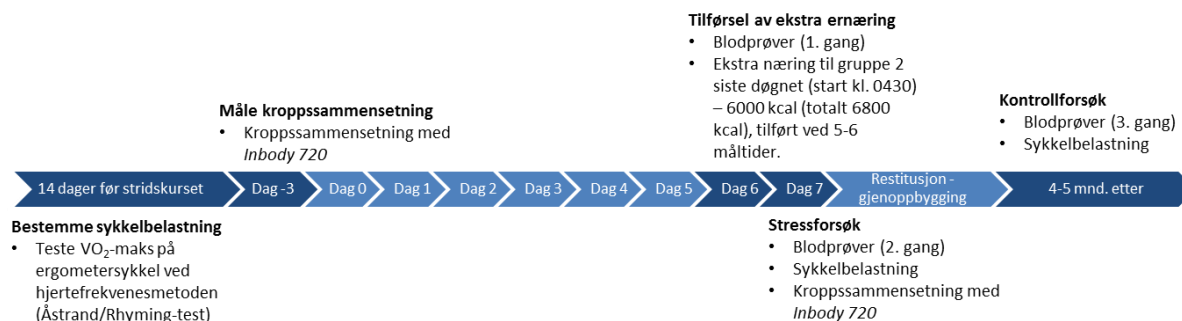
Individuelle persondata, materiale- og utstyrslister og detaljerte prosedyrer i denne studien er vist i Appendix A-Appendix C.

3.1 Studiedesign

Stridskurset er et kurs som er organisert som en del av Krigsskolens undervisnings- og treningsopplegg. FFI har fått standardisere treningsopplegget innenfor visse grenser. Dette gjelder særlig når vi sammenligner to eller flere grupper som er randomisert og der vi kontrollerer nøye en forskjell i for eksempel ernæring. Denne modellen er benyttet i mange vitenskapelige studier tidligere (se avsnitt 2.1 under metodeteori) og man har derfor omfattende kunnskaper om hva slags medisinske og fysiologiske konsekvenser slike belastninger har [34]. Endringer i termoregulering og virkningen av tilført ernæring er målt (kjernetemperatur, hudtemperaturer, hjerterefrekvens, blodprøver (blodverdier, tyreoidahormoner, tyreoidestimulerende hormon (TSH) og kroppssammensetning) på slutten av stridskurset, stressforsøk, og noen måneder etter stridskurset når kadettene er restituert, kontrollforsøk (Figur 15). I dette forsøket gjør man kontrollforsøket etter stridskurset for å unngå å bruke tid og ressurser på kadetter som ikke kommer igjennom kurset. Stress- og kontrollforsøket ble utført på omtrent samme tidspunkt på dagen for den enkelte kadett, for å unngå variasjoner som følge av døgnvariasjoner. Tidspunkt for utførelse var mellom klokken 1400 og klokken 1900.

3.1.1 Stridskurset

Årets kurs startet mandag 4. juni (dag 1) og ble avsluttet mandag 11. juni (dag 7). Kurset ble gjennomført ved Hengsvann ved Kongsberg. Oversikt over tidspunkt for utførelse av tester i denne studien er vist i Figur 15.



Figur 15 Tidslinje for tester på kadettene under årets stridskurs.

Væroversikt for alle dager under stridskurset (dag- og nattemperaturer) er hentet fra Meteorologisk institutt, Kongsberg Brannstasjon målestasjon. Dag- og nattemperaturer lå på 0-6 °C og 12-20 °C. Stort sett opphold.

3.1.2 Stressforsøket

På slutten av stridskurset ble kadettene testet ved 20 min hvile sittende etterfulgt av 30 min aktivitet på ergometersyssel ved tilnærmet 50 % av VO_2 -maks og deretter 30 min hvile, sittende. Kadettene var svært slitne og trette etter stridskurset og det var vanskelig å holde dem våkne. De duppet av flere ganger under hvileperiodene, og måtte vekkes.

3.1.3 Kontrollforsøk

Det ble utført to kontrollforsøk i denne studien, da ikke alle kunne delta under kontrollforsøket i november som følge skader eller andre private grunner. Syv kadetter utførte kontrollforsøk i november, ca. fem måneder etter stridskurset, og fire kadetter utførte kontrollforsøk i mai, ca. elleve måneder etter stridskurset. Forsøkene ble utført under samme omgivelsesforhold, i klasserom på Krigsskolen, og til samme tidspunkt som under stressforsøket. Data fra kontrollforsøkene blir studert samlet, da det antas at måleverdiene ikke påvirkes av om kontrollforsøket ble utført i november eller mai.

3.2 Forsøkspersoner

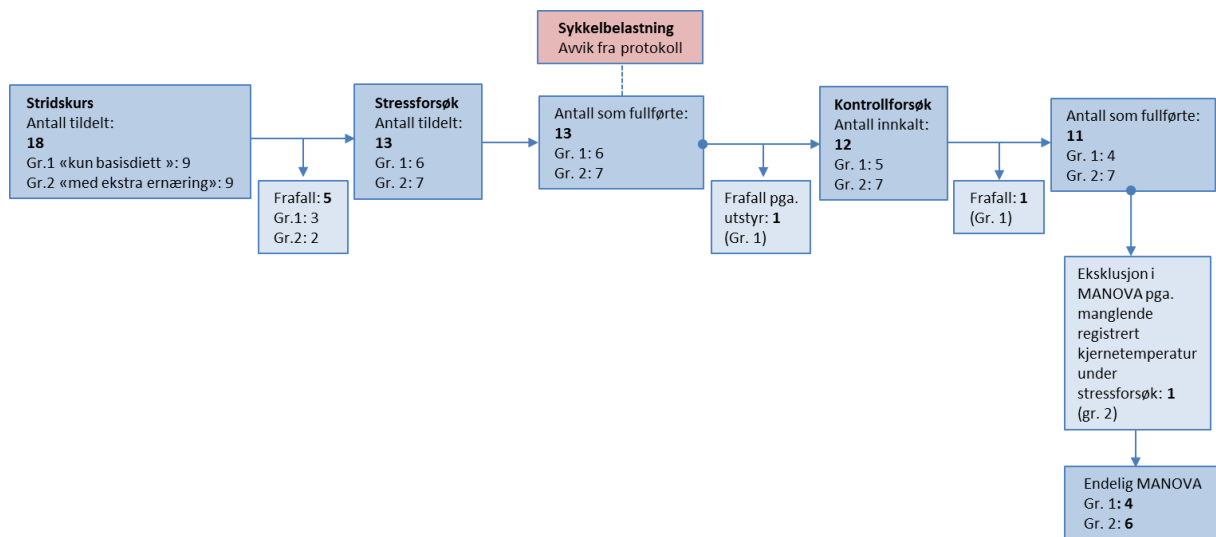
Forsøkspersonene i denne studien var kadetter ved Hærens Krigsskole som deltok i et militært treningskurs, stridskurset. Kadettene var mellom 20-30 år. Det ble valgt ut to grupper av alle deltagende grupper med ni kadetter i hver gruppe, til sammen 18 kadetter. Kadettene var på forhånd delt inn på gruppene av Krigsskolen uten hensyn til fysiske karakteristika. Forsøksgruppe (gruppe 2) og kontrollgruppe (gruppe 1) ble tilfeldig valgt utfra forsøksnummer: i) deltager nummer en til ni i kontrollgruppen og ii) deltager nummer 10 til 19 i forsøksgruppen. Begge gruppene gjennomførte det samme treningsprogrammet, men noen ganger til litt forskjellige tider. Kadettene hadde omtrent ideell kroppsvekt og mengde kroppsfett (≈ 78 kg, eller 13 %), der skjellettmuskelmassen hos kadettene lå litt over normalnivået (≈ 39 kg). De fysiske karakteristika og beskrivelse av individene er gitt i Tabell 2.

Tabell 2 Fysiske karakteristika.

	Kontrollgruppen	Forsøksgruppen
Alder (år)	23,8 ± 4,1	26,0 ± 2,1
Vekt (kg)	74,5 ± 6,2	80,3 ± 4,1
Høyde (cm)	175,8 ± 8,2	180,4 ± 5,0
Kropps masseindeks (BMI)	24,0 ± 0,7	24,6 ± 1,5

Verdier er gitt som gjennomsnitt ± standardavvik ($M \pm SD$). Kontrollgruppen: $n = 6$ og forsøksgruppen: $n = 7$ mht. kjernetemperatur (totalt $n = 13$ pga. frafall under stridskurset av medisinske årsaker).

Seks av ni soldater på kontrollgruppen fullførte stridskurset (uten ekstra ernæring siste døgn) og sju av ni soldater på forsøksgruppen fullførte (med ekstra ernæring siste døgn). Frafallet skyldes at de ble tatt ut av stridskurset på grunn av skader eller sykdom. Dette resulterte i at stressforøket ble utført på totalt 13 kadetter, seks i gruppe 1 og sju i gruppe 2 (Figur 16). Tekniske feil førte til at det for én kadett ikke ble registrert data. I tillegg var det en av forsøkspersonene som sluttet på Krigsskolen før kontrollforsøket ble utført. Endelig antall forsøkspersoner og eksklusjon i statistisk analyse av kroppstemperatur på grunn av manglende kjernetemperatur er vist i Figur 16.



Figur 16 Oversikt over totalt antall forsøkspersoner (kadetter) tildelt i studien, frafall underveis og endelig antall for statistiskeanalyser. Ble tildelt to grupper, kontrollgruppen og forsøksgruppen, med 9 kadetter i hver gruppe, totalt 18 kadetter. I flyttdiagrammet er kontrollgruppen betegnet gruppe 1 = gr. 1 og forsøksgruppen betegnet gruppe 2 = gr.2. Under stridskurset ble 5 kadetter tatt ut av medisinske grunner etter vurdering av medisinsk ansvarlig lege ved Krigsskolen. Stressforsøket ble dermed utført på totalt 13 stykker, gr.1 n=6 og gr.2 n=7. Feil med måleutstyr under stressforsøket førte til at en kadett i gr.1 ble ekskludert fra studien. I tillegg sluttet en kadett i gr. 1 på Krigsskolen før kontrollforsøkene ble utført, slik at kontrollforsøket ble utført på totalt 11 kadetter, (gr. 1, n=4 og gr. 2, n=7). Ytterligere en kadett (gr.2) ble tatt ut pga. manglende registrert kjernetemperatur. Endelig antall det ble utført repeterte-målinger-MANOVA på for kroppstemperatur er n=10 (gr.1, n=4 og gr.2, n=6). Det er kontrollgruppen (gruppe 1), dvs. gruppen som ikke fikk mat som det er færrest i (n=4). (Antallet varierer noe i de forskjellige statistikkanalyser pga. manglende data).

3.2.1 Kosttilskudd

I tillegg til daglige feltrasjoner på ca. 750 kcal/dag ble det gitt ca. 6070 kcal til forsøksgruppen fordelt over 6 måltider det siste døgnet (dag 6) (Figur 15). Ernæringen bestod av biff, ris, peanøtter, rosiner,

sjokolade, energidrikk, brødskiver, leverpostei og ost. Detaljert oversikt er gitt i Appendix B (Tabell-2).

3.3 Ethiske forhold

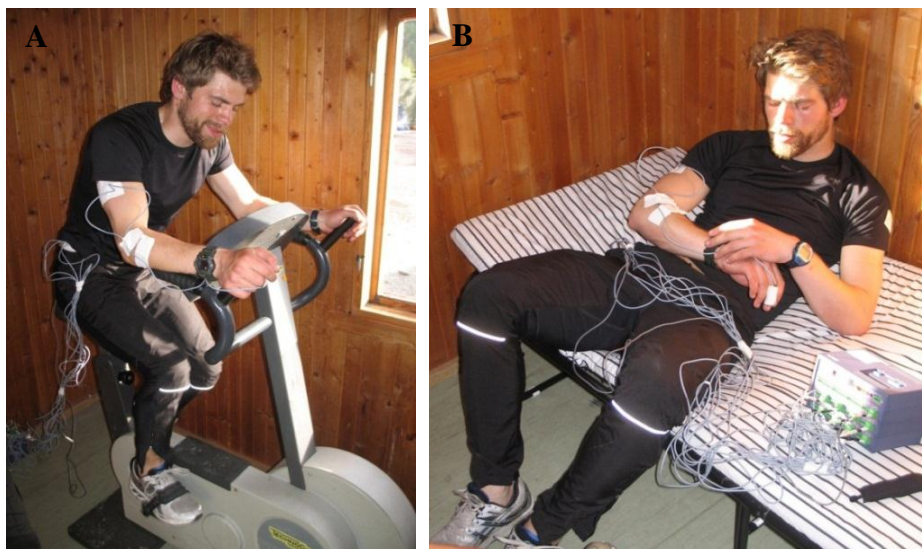
Prosjektet ble godkjent av REK - Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (sør-øst D). Helseforskningsloven med forskrifter, forskningsetikkloven og retningslinjer gitt i Helsinki-deklarasjonen ble fulgt [137-139]. Kadettene gav skriftlig informert samtykke etter først å ha fått grundig informasjon på forhånd om hva forsøket gikk ut på, varigheten av forsøkene, at det var liten risiko knyttet til forsøkene, at deltagelsen var frivillig og at de kunne trekke seg fra studien på hvilke som helst tidspunkt uten begrunnelse. Informasjonsskriv med forespørsel om deltagelse i forskningsprosjektet er vedlagt (Appendix D). Før forsøksstart ble forsøkspersonene aidentifisert og gitt et nummer som ble benyttet på all merking av blodprøveglass, loggere, pulsklokker og tidtakerskjema. Av dokumentasjonshensyn vil forskningsresultatene bli oppbevart frem til 2019 og deretter slettes eller anonymisert.

Vurdering av forsvarligheten og oppfølging under stridskurset ble gjort av Krigsskolelegen. Legen som var medisinsk ansvarlig under stridskurset var ikke involvert i forskningsprosjektet. Det ble ikke tatt hensyn til forskningsprosjektet hvis kadettene måtte tas ut av kurset av medisinske grunner. Forskningsgruppen hadde heller ingen innflytelse på treningsopplegget under kurset, annet enn muligheten til å gi ekstra med mat til en av gruppene det siste døgnet.

3.4 Ergometerbelastning

Testingen av kadettene ble utført på ergometersykler fra TechnoGym (Italy, Bike·XT, Cross training) ute i felten ved Hengsvannet i Kongsberg i en brakke (stressforsøket) (Figur 17) og deretter 4-5 måneder etter i et klasserom på Krigskolen på Linderud (kontrollforsøket).

Vi ønsket å teste kadettene på en 30 minutters sykkelbelastning på ca. 50 % av VO_2 -maks. 14 dager før stridskurset ble VO_2 -maks målt indirekte ved hjelp av Åstrand/Ryhming-testen ved to submaksimale belastninger på seks minutter, og ergometersykelbelastningen for den enkelte bestemt. Protokollen er vist i Appendix C, C.1. Kadettene var imidlertid utmattede og slitne etter en hard myrhinderløype utført i timene før stressforsøket, slik at belastningen på ergometersykkelen måtte nedjusteres til det den enkelte var i stand til å gjennomføre. Det resulterte i ulikt oksygenopptak, og den enkelte kadett kunne bare sammenlignes opp mot seg selv mht. temperatur- og hjertefrekvensmålinger under sykkelbelastningen og etterfølgende hvileperiode. Belastning og tid for den enkelte forsøksperson er vedlagt i Appendix C (Tabell- 5).



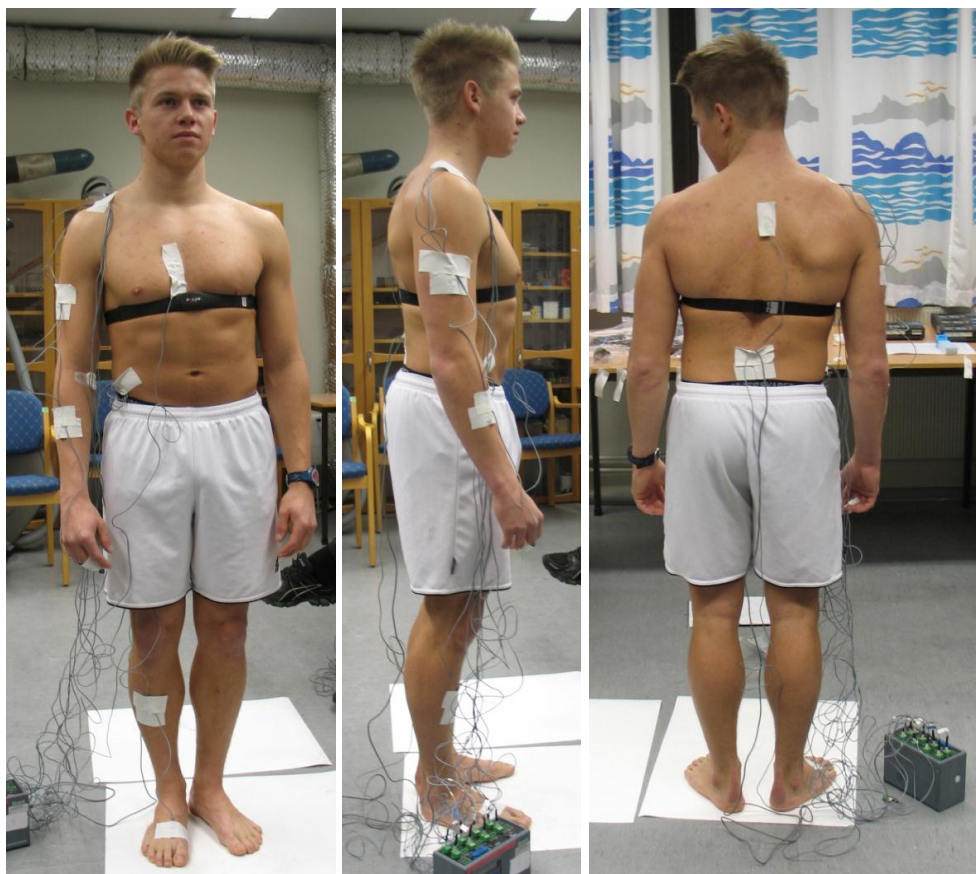
Figur 17 Ergometersykkeltest i brakka på Hengsvann (A), med etterfølgende hvileperiode (B) under stressforsøket. Foto: FFI/Hilde Teien 2012.

Romtemperaturen i forsøksbrakken på Hengsvann og i klasserommet på Linderud ble målt med temperaturtermistor og registrert med Squirrel datalogger (Squirrel series meter/ logger, Grant UK og Grant temperaturføler type EU-U-3). Romtemperaturen var gjennomsnittlig 22 °C (20,9-22,1 °C) ved stressforsøket og 20 °C (19,9-20,8 °C) ved kontrollforsøket.

3.5 Kjernetemperatur og hudtemperatur

Kjernetemperatur og hudtemperaturen fra åtte forskjellige steder på kropp og ekstremiteter (fot, legg, lår, bryst, rygg, overarm, underarm, finger) ble målt kontinuerlig hvert 30 sekund under hele forsøksperioden på 1 time og 20 minutter (Squirrel 1200 series meter/ logger, Squirrel 1000 series meter/logger og Squirrel meter/logger Eltek, England). Utstyr for måling av kjerne- og hudtemperaturer ble montert på før forsøket. Rektalproben (Grant UK, rektalprobe Grant REC-UU-3V-O) ble ført inn ca. 10 cm og ledningen til proben ble teipet på korsryggen med en sportsteipbit. Temperaturtermistorer (Grant temperaturføler type EU-U-3V-O, England) ble festet på hud med sportsteipbiter (Scansport, 38 mm x 10m) som vist i Figur 18. Rektalprober og hudtermistorer ble testet i vannbad før stridskurset.

Middelhudtemperatur (MST) ble beregnet i henhold til Ramanathans formel [115]. Ved manglende måleverdier på en av stedene på kroppen, ble den manglende verdien erstattet med en av de andre hudtemperaturmålingene. Gjennomsnittlig hudtemperatur på lår og overarm var omtrent den samme, slik at hudtemperaturmålinger som manglet for lår ble erstattet med målinger på overarm. Det samme gjaldt for legg, underarm, bryst og rygg.



Figur 18 Instrumentering. Viser monitorering av en forsøksperson før kontrollforsøket (på Krigsskolen på Linderud) med polarbelte og polarklokke som måler hjerterefreknens (Polar S610 pulsklokke og Polar T61 sender, Finland) og åtte hudtermistorer festet med Sportsteip (Scansport, 38 mm x 10 m) som måler temperatur på hud (Grant temperaturføler type EU-U-3V-0, England) og ledning fra rektalprobe festet med sportsteip i korsryggen. Foto: FFI/Hilde Teien 2013.

3.6 Blodprøver og analyser

Tre blodprøver ble tatt av forsøkspersonene som fullførte stridskurset. En gang før de fikk ekstra ernæring, etter endt kurs og noen måneder etter kurset. Blodprøvene ble tappet fra en armvene med forsøkspersonene sittende, med bruk av stasebånd. Det ble på forhånd desinfisert med ferdig fuktete sprit kompresser (Vitrex Medical A/S, Danmark). Under stridskurset ble blodprøven tatt ute i dagslys, mens under kontrollforsøket ble blodprøven tatt innendørs. Ved hver blodprøvetaking ble det tatt blod i ett EDTA-glass og et glass for serum (Vacuette, geriener-bio-one, Østerrike). EDTA-blodprøvene stod i romtemperatur til de ble analysert senere samme kveld. Serumprøvene ble satt til koagulering i omgivelsestemperatur i 30 minutter, deretter sentrifugert ved 3000 g i 15 minutter i en kjølesentrifuge (Beckman Tabetop centrifuge, model TJ-6RS, Spinco division, California, USA), serum avpipettert og frosset på tørris og deretter lagret ved -20 °C (Simens, Skiafrost elctronical, Tyskland) frem til analyse.

Uheldigvis sviktet fryseren hvor blodprøvene var oppbevart, men prøvene var overført til annen fryser før de var tint. Tyreoideahormonene, T4 og T3 er robuste slik at tiningen mest sannsynlig har påvirket disse i liten grad. Prøvene ble behandlet helt likt.

3.6.1 Analyse av hematologiske blodverdier

Hemoglobin, hematokrit, røde blodceller, totalt leukocyt-tall, nøytrofile granulocytter, lymfocytter og monocytter ble undersøkt i EDTA-blod på en automatisk hematologimaskin (Advia 60, Bayer Helthcare, Tarrytown, NY, USA) i løpet av noen få timer etter prøvetaking. De hematologiske prøvene ble hovedsakelig tatt for å gi informasjon på eventuelle endringer i blodet som kan ha følge for kadettens tilstand, og videre eventuelt påvirke termoreguleringen.

3.6.2 Analyse av tyroksin (T4)

Det ble benyttet et kommersielt immunoassay kit (Total Thyroxine (tT4) Test system, Monobind Inc, Accu-Bind ELISA Microwells, produkt kode 325-300) og mikroplateleser (Magellan, Tecan, sunrice remote, Østerrike) for å analysere T4 i serum. Analysen bygger på prinsippet med antistoff i underskudd – konkurrerende immunoassay. 25 µl (mikroliter) av hver av serum referansene (A-F) og kadettprøve ble tilsatt i duplikat til anvist brønn. Vaskebuffer og arbeidsreagens og arbeidssubstratløsning ble tillaget (for beregninger og prosedyre se Appendix C, C.3). Deretter ble det tilsatt 100 µl av arbeidsreagens A, T4-Enzym konjugat, til hver brønn. Blandet forsiktig i 20-30 sekunder ved rotering av mikroplaten, før platen ble dekt til med en mikroplate klistrelapp og inkubert i 60 minutter i romtemperatur (22 °C). Vasking ble utført med ferdig fortynnet vaskebuffer ved bruk av automatisk platevasker (Atlantis Microplate Washer, ASYS HITECH, Eugendorf, Østerrike) med en syklus på totalt 3 vasker a totalt 350 µl. Etter vasking ble mikroplaten lagt opp ned på absorberende papir for å fjerne eventuelle rester av vaskebuffer. Tilsatte 100 µl med arbeidssubstratløsning og inkuberte i romtemperatur i 15 minutter. 50 µl stoppløsning ble tilsatt hver brønn og blandet forsiktig i 15-20 sekunder. Absorbansen i hver brønn ble lest av ved 450 nm (nanometer) i en mikroplate leser (Megellan, Tecan, sunrice remote, Australia). En doseresponskurve ble automatisk laget av serumreferansene (A-F) som fulgte med kittet og brukt for å lese av konsentrasjonen til T4 i kadettprøvene. Konsentrasjonen ble automatisk avlest via dataprogrammet i mikroplateavleseren.

3.6.3 Analyse av trijodotyronin (T3)

Det ble benyttet et kommersielt immunoassay kit (Total triiodothyronine (tT3) Test system, Monobind Inc, Accu-Bind ELISA Microwells, produkt kode 125-300) og mikroplateleser (Megellan, Tecan, sunrice remote, Østerrike) for å analysere T3 i serum. Samme analyseprinsipp som T4 med antistoff i underskudd. 50 µl av hver av serum referansene (A-F) og kadettprøve ble tilsatt i duplikat til anvist brønn. Tillaging av reagenser og utførelse er tilsvarende som for T4 (Appendix C, C.4).

3.6.4 Analyse av tyreoidestimulerende hormon (TSH)

Det ble benyttet et kommersielt immunoassay kit med enzymmerking (Thyrotropin (TSH) Test System, Monobind Inc, Accu-Bind ELISA Microwells, produkt kode 325-300) og mikroplateleser (Megellan, Tecan, sunrice remote, Østerrike) for å analysere TSH i serum. Analysen bygger på sandwich prinsippet – en analyse med antistoff i overskudd, et ikke-konkurrerende immunoassay. En vaskebuffer ble fortynnet med destillert vann i egnet beholder og en arbeidssubstratløsning bestående av tetrametylbenzidine (TMB) i buffer og hydrogenperoksid (H₂O₂) i buffer ble blandet sammen i henhold til bruksanvisningen som fulgte med kittet. 50 µl av hver av serumreferansene (A-G) og kadettprøver ble tilsatt i duplikat til anvist brønn. Deretter ble det tilsatt 100 µl av TSH Enzym reagenset til hver brønn. Prøvene ble blandet forsiktig i 20-30 sekunder ved rotering av mikroplaten, før platen ble dekt til med en mikroplate klistrelapp og inkubert i 120 minutter i romtemperatur. Inkubering ble valgt til 120 minutter i stedet for normalt 60 minutter for å øke sensitiviteten i nedre område, da tidligere studier har vist fall i TSH under stridskurset [60;103]. Vasking ble utført med automatisk platevasker (Atlantis Microplate Washer, ASYS HITECH, Eugendorf, Østerrike) med en syklus på totalt 3 vasker a totalt 350 µl. Etter vasking ble mikroplaten lagt opp ned på absorberendepapir for å fjerne eventuelle rester av vaskebuffer. Tilsatte 100 µl med arbeidssubstratløsning og inkuberte i romtemperatur i 15 minutter. 50 µl stoppløsning ble tilsatt hver brønn og blandet forsiktig i 15-20 sekunder. Absorbansen i hver brønn ble lest av ved 450 nm (ved å bruke en referansebølgelengde på 620) i en mikroplate avleser. En dose-respons kurve ble laget av dataprogrammet for serum-referansene (A-G) som fulgte med kittet og brukt for å lese av konsentrasjonen til TSH i kadettprøvene. Konsentrasjonen ble avlest via dataprogrammet i mikroplateavleseren (Appendix C, C.2).

3.6.5 Analysepresisjon

For TSH, T4 og T3 ble det beregnet innen analyse presisjon, repeterbarhet. Det ble ikke kjørt seriemåling av samme prøve (en deltaker), kun duplikat, slik at repeterbarhet ble beregnet ved gjennomsnittlig prosentvis endring av alle duplikatmålingene. Beregnet først prosentvis endring for hvert duplikat, fant deretter gjennomsnittlig prosentvis endring for alle målingene med standardavvik. Dette beregnede standardavviket er variasjonskoeffisienten for analysen og et mål for repeterbarheten (Tabell 3).

Tabell 3 Repeterbarhet for TSH, T4 og T3 beregnet ut i fra parallellene.

Repeterbarhet (2 duplikat for hver prøve)	
Prøve	CV (%)
TSH	4,3
T4	6,2
T3	7,6

Deteksjonsgrensen oppgitt i kitet fra produsenten for TSH (2 timer inkubering) er oppgitt til 0,027 $\mu\text{IU/ml}$, for T3 0,128 $\mu\text{g/dl}$ og T4 0,128 $\mu\text{g/dl}$. Omregningsfaktoren mellom nmol/l og $\mu\text{g/dl}$ er, $1 \text{ nmol/l} = 12,9 \mu\text{g/dl}$.

For å unngå reproduserbarhet ble alle prøvene for samme deltaker (alle deltakerne) analysert i duplikat ved samme kjøring, på samme mikroplate. Det ble benyttet en mikroplate for hver av analysene T4, T3 og TSH.

3.7 Kroppssammensetning

Kroppssammensetningen ble målt like før og rett etter stridskurset ved hjelp av Inbody 720 (Inbody 720 Biospace Co, Ltd, Seoul, Korea). To desinfiserte elektroder ble festet til hånd, og deretter ble det sendt en lett strømpuls igjennom kroppsvevet. Resultatene kunne avleses på Inbody 720 analyseskjema.

3.8 Hjerterefrekvens

Utstyr for måling av hjerterefrekvens ble montert på før stress- og kontrollforsøket. Det ble benyttet Polar S610 hjerterefrekvensmåler (Polar S610 pulsklokke og Polar T61 sender, Finland) (Figur 18). Data ble registrert hvert 5 sekund, under stress- og kontrollforsøket med totalt varighet på 1 time og 20 minutter.

3.9 Statistiske analyser

Tosidig uavhengig t-test og tosidig parvis t-test, samt repeterte-målinger-MANOVA (variensanalyse for repeterte målinger) ble brukt for å analysere dataene. Analysene ble gjort med SPSS (IBM SPSS Statistics 19) og Excel 2010. Detaljert oversikt over de forskjellige statistiske metoder som ble benyttet i SPSS er gitt i Appendix C.

Data for hvert 5 minutt ble valgt ut for statistisk analyse med hensyn på MANOVA for repeterte målinger for rektaltemperatur, hudtemperatur og hjerterefrekvens. Det ble sett bort i fra at kontrollforsøkene ble utført ved et halvt års mellomrom, slik at disse data ble analysert samlet. Det ble valgt å følge protokollen ved de statistiske beregningene selv om antallet i hver gruppe helst burde vært høyere ved analyse med MANOVA for repeterte målinger ($n \geq 7$), men på grunn av lavt antall ble det valgt å se bort i fra multivariate effekter (effekten av uavhengig variabel (UA) kombinert opp mot alle mulige utfallsvariabler). Varians ble vurdert ved Levens test [140] og normalfordeling for alle de avhengige variable (AV) med Shapiro-Wilk test [133]. Det ble på forhånd valgt å utføre fire repeterte-målinger-MANOVA analyser. Observasjonene som ble satt som effektvariabler (det man skal måle) i er:

- Analyse 1 (målinger ved 2 forskjellige tidspunkt, stress- og kontrollforsøk): (AV) 1: hjertefrekvens, AV 2: MST, AV 3: kjernetemperatur, AV 4: fingertemperatur og AV 5: fottemperatur.
- Analyse 2 (målinger ved to forskjellige tidspunkt, stress- og kontrollforsøk): AV 1: kjernetemperatur, AV 2: vekttap, AV 3: FFM, AV 4: FM og AV 5: SMM
- Analyse 3 (målinger ved 3 forskjellige tidspunkt, før-ernæring, etter-ernæring og kontrollforsøk): AV 1: kjernetemperatur, AV 2: TSH, AV 3: T₄ og AV 4: T₃
- Analyse 4 (målinger ved 3 forskjellige tidspunkt, før-ernæring, etter-ernæring og kontrollforsøk): AV 1: Hgb, AV 2: RBC, AV 3: HCT, AV 4: LEU, AV 5: GRA, AV 6: LYM og AV 7: MON

Ved manglende temperatur- eller hjertefrekvensregistreringer ble disse konsekvent erstattet med mest mulig nøytrale data, slik at erstatningen påvirket datasettet i minst mulig grad. En må her ta hensyn til at disse signifikansene kan være for høye ettersom SPSS benytter disse erstattede dataene i sin analyse som om det var målte data.

Ernæring var eneste forskjellen mellom forsøks- og kontrollgruppen og dermed satt som forklaringsvariabel (uavhengig mellom gruppevariabel (UA)), mens effekten av stress var lik for begge grupper og satt til innen-gruppe uavhengig variabel. Forskjellen mellom kjønn ble ikke undersøkt.

Det ble på forhånd bestemt å kun gå videre med statistiske analyser (to-utvalgs og parvis t-test) for resultat som viste signifikant univariat resultat med repeterte-målinger-MANOVA. Siden det var mer enn 3 innen-gruppe forhold for UA ble det tatt hensyn til Mauchly's test av sfærisitet. Viste testen ulik varians ble Huyn-Feldt test benyttet for å få riktig justering av frihetsgradene. Det ble ikke utført korreksjoner (Bonferroni eller Tukey) ved videre analyser med t-tester, på grunn av lavt antall kadetter og allerede svake tester. Ekstremverdier og avvikere i datasettet ble nærmere undersøkt og ikke fjernet fra datasettet, da de ble vurdert til mest sannsynlig skyldes individuelle forskjeller.

Effektestimater ble hovedsakelig angitt som middelerdi \pm standardfeil ($M \pm SD$), konfidensintervall og p-verdi. Lite antall forsøkspersoner var også grunnen til at det ble gitt enkeltresultat.

4 Resultater

4.1 Endringer i kjernetemperatur og hudtemperatur

Hudtemperatur (beregnet middelhudtemperatur, fot- og fingertemperatur), kjernetemperatur (rektaltemperatur) og hjertefrekvens (se kapittel 4.4) ble målt for to grupper: 1) en uten ekstra ernæring (kontrollgruppe) og 2) en med ekstra ernæring (6070 kcal; forsøksgruppe) siste døgnet. De ble undersøkt like etter stridskurset (stressforsøk) og fire-fem måneder etter stridskurset (kontrollforsøk).

Stress gav redusert kjernetemperatur ($F(1,8) = 23,652, p = 0,001$), økt middelhudtemperatur (MST) ($F(1,8) = 11,947, p = 0,009$) og økt fottemperatur ($F(1,8) = 114,233, p = 0,00001$) uavhengig av gruppetilhørighet (repeterte-målinger-MANOVA; univariat innen-gruppeanalyse ANOVA). Resultatet på repeterte målinger for begge gruppene er presentert med individuelle resultat i Figur 19. Endringer i kroppstemperatur under hvile for den enkelte kadett under stress i forhold til normalt er vist for hver enkelt kadett i Figur 20. Videre analyser viste at stress gav klar økning i fottemperatur for både forsøksgruppen ($t(6) = 7,819, p = 0,0002$) og kontrollgruppen ($t(3) = 7,256, p = 0,005$). Stress gav ingen signifikant forskjell i MST og kjernetemperatur for forsøksgruppen som fikk ekstra tilførsel av ernæring, men gav økt MST ($t(3) = 3,554, p = 0,038$) og redusert kjernetemperatur ($t(3) = -4,013, p = 0,028$) for kontrollgruppen som ikke fikk ekstra tilførsel av ernæring (tosidig paret t-test) (Tabell 4).

Tabell 4 Kjerne- og hudtemperatur og hjertefrekvens for kadettene under stress- og kontrollforsøket.

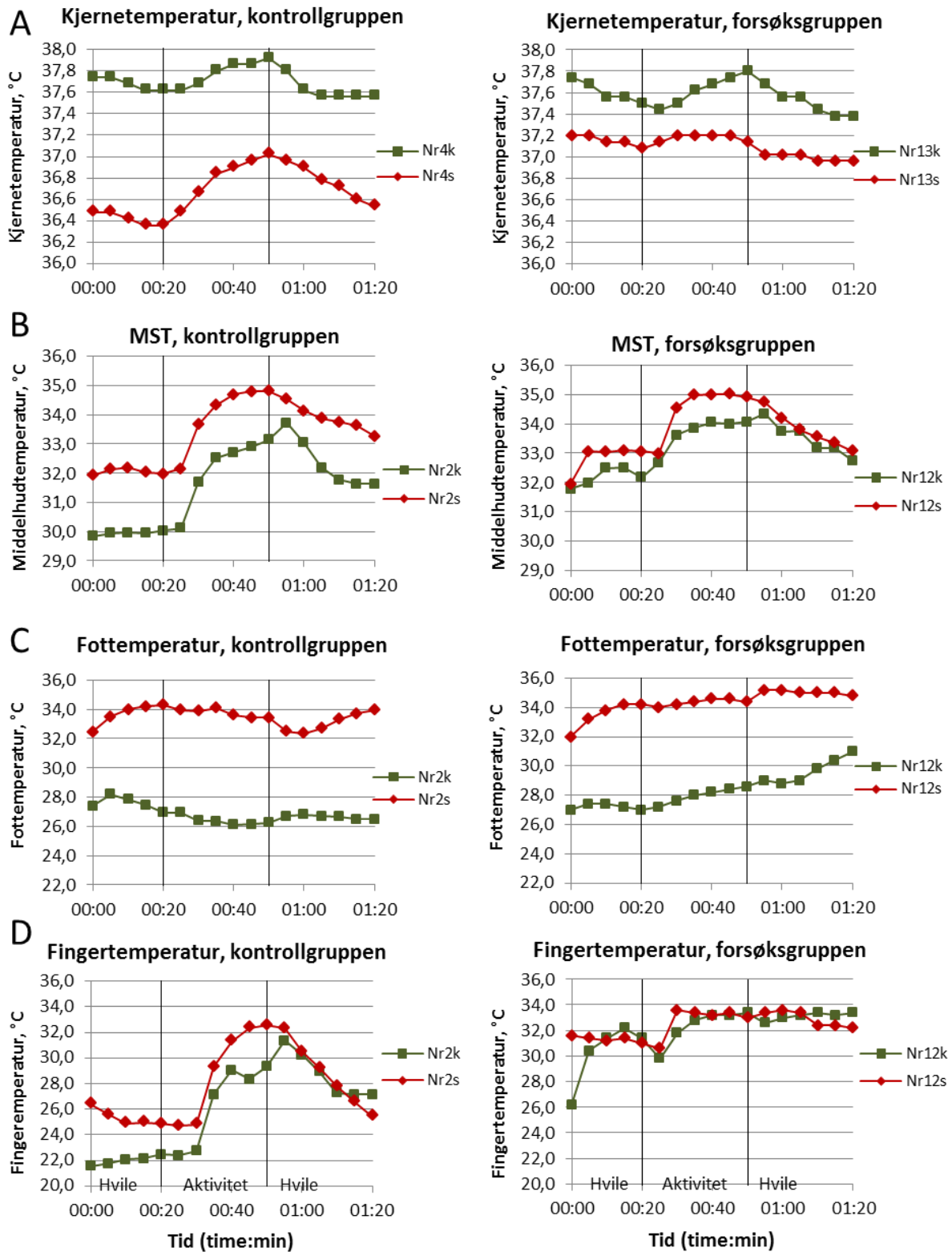
	Stressforsøk		Kontrollforsøk	
	Kontrollgruppe	Forsøksgruppe	Kontrollgruppe	Forsøksgruppe
Hjertefrekvens (1/min)	63 ± 23	75 ± 22	76 ± 16	63 ± 17
MST (°C)	31,8 ± 0,5 ^a	31,8 ± 0,8 ^a	30,0 ± 1,0	31,4 ± 0,4
Kjernetemperatur (°C)	36,7 ± 0,3 ^{ab}	37,1 ± 0,3 ^{ab}	37,5 ± 0,3	37,4 ± 0,2
Fottemperatur (°C)	31,9 ± 0,5 ^a	31,9 ± 1,1 ^a	27,7 ± 1,2	25,2 ± 1,4
Fingertemperatur (°C)	25,4 ± 3,1	28,3 ± 3,5	23,4 ± 2,1	25,8 ± 3,7

Verdier er gitt som gjennomsnitt ± standardavvik. Kontrollgruppen: n = 4 og forsøksgruppen: n = 6.

^ap < 0,05 mht. effekten av stress (like etter endt stridskurs i forhold til normalt, dvs. flere måneder etter stridskurset).

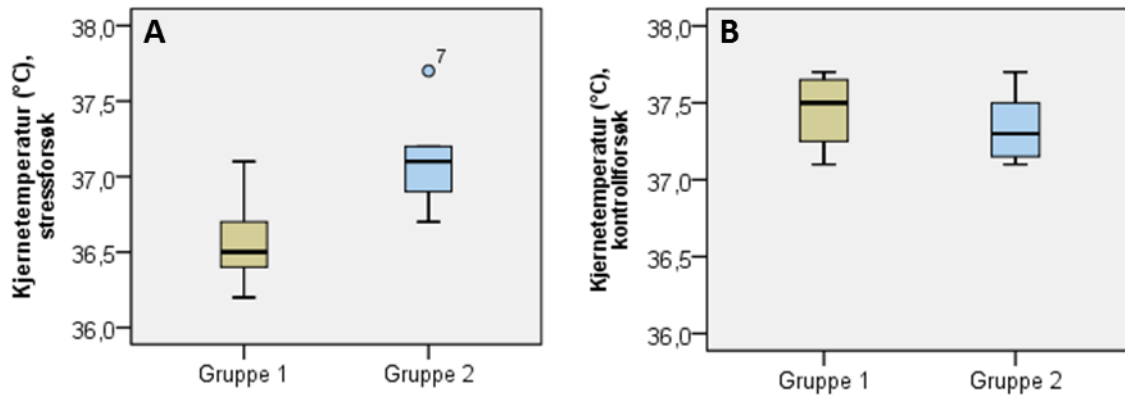
^bp < 0,05 mht. effekten av ernæring under stressforsøket (resultat av interaksjon mellom stress og ernæring).

Testet med repeterte-målinger-MANOVA; innen- og mellomgruppe univariat ANOVA, paret og uavhengig t-test.

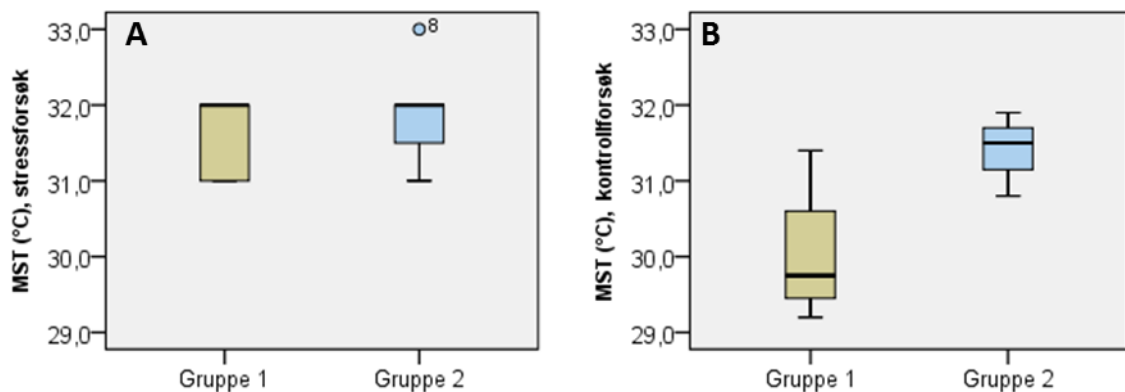


Figur 19 Endringer i kroppstemperatur under hvile og aktivitet for stress- og kontrollforsøk for A: kjernetemperatur, B: middelhudtemperatur (MST), C: fottemperatur og D: fingertemperatur for begge grupper. Mht. kjernetemperatur representerer kadett nr 4 (Nr4) kontrollgruppen og kadett nr 13 (Nr13) forsøksgruppen. Mht. MST, fot- og håndtemperatur representerer kadett 2 (Nr2) kontrollgruppen og kadett 12 (Nr12) forsøksgruppen. Forklaringsvariabel s står for stressforsøk og k står for kontrollforsøk.

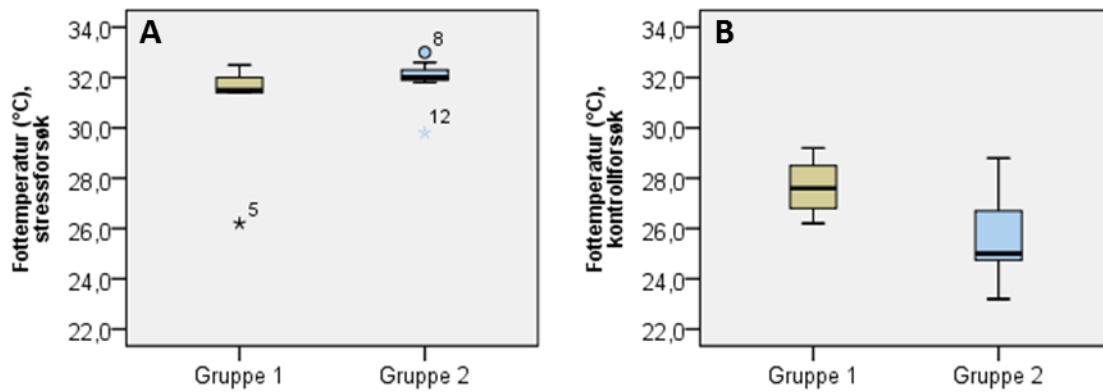
Tilførsel av ernæring gav ingen signifikant endring i kjernetemperatur og kroppstemperatur sammenlignet med kontrollgruppen (repeterte-målinger-MANOVA; univariat mellom-gruppeanalyse ANOVA). Forskjeller mellom gruppene er vist i Tabell 4 og illustrert med box-and-whisker-plot (Figur 21-Figur 24).



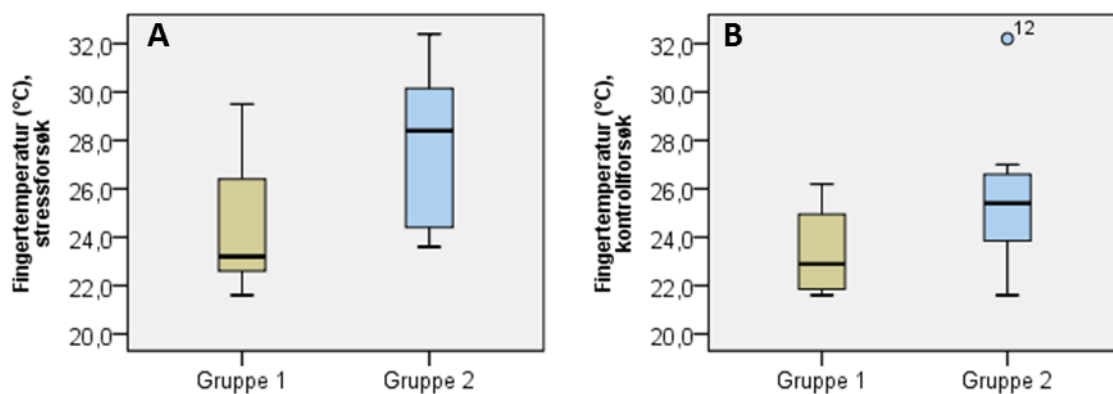
Figur 21 *Box-plot for kjernetemperatur for A: stressforsøk og B: kontrollforsøk, for begge gruppene (gruppe 1 = kontrollgruppen og gruppe 2 = forsøksgruppen). Ekstremverdi under stressforsøket er markert med blå sirkel. Tallet 7 representerer case nr 7 i analysen= kadett nr 12. Målingen er ikke fjernet under analyse. Kontrollgruppen (gruppe 1): n= 4 og forsøksgruppen (gruppe 2): n= 6. Individuelle resultat er vist i Figur 19.*



Figur 22 *Box-plot for beregnet middelhudtemperatur (MST) for A: stressforsøk og B: kontrollforsøk, for begge gruppene (gruppe 1 = kontrollgruppen og gruppe 2 = forsøksgruppen). Ekstremverdi er markert med blå sirkel. Tallet 8 representerer case nr 8 i analysen = kadett nr 13. Målingen er ikke fjernet under analyse). Kontrollgruppen (gruppe 1): n= 4 og forsøksgruppen (gruppe 2): n= 6. Individuelle resultat er vist i Figur 19.*



Figur 23 Box-plot for fottemperatur for A: stressforsøk og B: kontrollforsøk, for begge gruppene (gruppe 1 = kontrollgruppen og gruppe 2 = forsøksgruppen). (Avvikende verdier for under stressforsøket er markert med stjerne og sirkel. Tallet 5 representerer case nr 5 i analysen = kadett nr 10, nr 8 = kadett nr 13 og nr 12 = kadett nr 19). Målingene er ikke fjernet under analyse). Kontrollgruppen (gruppe 1): $n=4$ og forsøksgruppen (gruppe 2): $n=6$. Individuelle resultat er vist i Figur 19.



Figur 24 Box-plot for fingertemperatur for A: stressforsøk og B: kontrollforsøk, for begge gruppene (gruppe 1 = kontrollgruppen og gruppe 2 = forsøksgruppen). Avvikende verdi (uteligger) er markert med liten blå sirkel. Tallet 12 representerer case nr 12 i analysen = kadett nr 19). Kontrollgruppen (gruppe 1): $n=4$ og forsøksgruppen (gruppe 2): $n=6$. Individuelle resultat er vist i Figur 19.

Det var påvist en signifikant interaksjon mellom tilførsel av ernæring og stress for kjernetemperatur ($F(1,8) = 5,633$, $p = 0,045$) og fottemperatur ($F(1,8) = 5,948$, $p = 0,041$). Det var ingen signifikant interaksjon mellom ernæring og stress for MST og fingertemperatur.

Videre analyser for interaksjonen med ernæring og stress for kjernetemperatur og fottemperatur viste at tilførsel av ernæring gav høyere kjernetemperatur ($t(9) = -2,587$, $p = 0,029$), men ingen forskjell i fottemperatur sammenlignet med kontrollgruppen. Forsøksgruppen hadde gjennomsnittlig $0,4$ °C

høyere kjernetemperatur enn kontrollgruppen. Under normale forhold når kroppen var restituert var det ingen signifikant forskjell i kjernetemperatur og fottempertur sammenlignet med kontrollgruppen (tosidig uavhengig t-test).

4.2 Hormonelle endringer

Konsentrasjonsnivået av TSH, T4 og T3 i serum ble undersøkt ved tre forskjellige tidspunkt for kontroll- og forsøksgruppen: 1) før tilførsel av ekstra ernæring (dag 6), 2) etter tilførsel av ekstra ernæring til forsøksgruppen (dag 7; stressforsøk) og 3) i normalsituasjon 4-5 måneder etter stridskurset når kroppen er restituert (kontrollforsøk). Resultatet for TSH er gitt i $\mu\text{IU/ml}$ og nmol/l for T3 og T4.

Tabell 5 Serumkonsentrasjoner av tyreoiderhormoner (T4 og T3) og tyreoidestimulerende hormon (TSH) hos kadetter under stridskurset før ekstra ernæring (dag 6), etter ekstra ernæring (dag 7) og i normalsituasjon 4-5 måneder etter stridskurset.

	Serum T4		Serum T3		Serum TSH	
	gruppe 1	gruppe 2	gruppe 1	gruppe 2	gruppe 1	gruppe 2
	nmol/l	nmol/l	nmol/l	nmol/l	uUI/l	uUI/l
Før ekstra ernæring (dag 6)	104 ± 7	99 ± 6	1,7 ± 0,2	1,6 ± 0,1 ^a	2,4 ± 0,4	1,6 ± 0,3
Etter ekstra ernæring (dag 7)*	79 ± 8 ^a	91 ± 6	1,0 ± 0,1 ^{ab}	1,6 ± 0,1 ^{ab}	1,8 ± 0,5	2,6 ± 0,4
Normalt**	102 ± 5	103 ± 5	2,3 ± 0,2	2,1 ± 0,2	1,8 ± 0,4	1,6 ± 0,3

Verdier er gitt som gjennomsnitt ± standardavvik. Gruppe 1= kontrollgruppen: n = 5 og gruppe 2= forsøksgruppen: n = 7.

*Forsøksgruppen fikk tilførsel av ca. 6070 kcal ekstra ernæring dag 6 fordelt over 6 måltider i løpet av 1 døgn (totalt ca. 6820 kcal).

**Kontrollforsøket ble utført fire-fem måneder etter endt stridskurs.

^ap < 0,05 mht. effekt av stress og ^bp < 0,05 mht. effekt av ernæring. Testet med repeterte-målinger-MANOVA; innen- og mellomgruppe univariat ANOVA, tosidig paret og uavhengig t-test.

Stress gav klar reduksjon i konsentrasjonsnivået av T4 ($F(2, 20) = 17,474, p = 4 \times 10^{-5}$) og T3 ($F(2, 20) = 22,587, p = 7 \times 10^{-6}$), men ingen signifikant endring i konsentrasjonen av TSH i serum uavhengig av gruppe tilhørighet (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA) (Tabell 3).

Det var signifikant interaksjon mellom stress og ernæring for T3 ($F(2, 20) = 5,725, p = 0,011$) og TSH ($F(1, 599, 15,986) = 6,793, p = 0,010$). Innenfor gruppe kontraster, kvadratisk utfall, for TSH, T4 og T3, viste signifikant forskjell for både T4 ($F(1, 10) = 5,428, p = 0,042$) og T3 ($F(1, 10) = 17,029, p = 0,002$).

Videre analyser på interaksjonen for T3 viste at tilførsel av ernæring gav signifikant høyere T3 konsentrasjon dag 7 ($t(11) = -3,262$, $p = 0,008$), men gav ingen signifikant forskjell dag 6 eller i normalsituasjonen når kroppen var restituert sammenlignet med kontrollgruppen (tosidig uavhengig t-test) (Tabell 5).

Stress gav ingen signifikant endring i kontrollgruppen i T3 konsentrasjonen dag 6, men en klar reduksjon i T3 konsentrasjonen dag 7 ($t(4) = -5,523$, $p = 0,005$) sammenlignet med normalsituasjon (tosidig paret t-test). Stress gav reduksjon i T3 konsentrasjonen både dag 6 ($t(6) = -2,961$, $p = 0,025$) og dag 7 ($t(6) = -2,458$, $p = 0,049$) i forsøksgruppen sammenlignet med normalsituasjonen (tosidig paret t-test). Tilførsel av ernæring gav lavere reduksjon i T3 konsentrasjonen sammenlignet med kontrollgruppen. Gjennomsnittlig reduksjon i T3 var 1,22 nmol/l for kontrollgruppen og 0,44 nmol/l for forsøksgruppen dag 7 sammenlignet med normalsituasjon (Tabell 5).

Stress gav redusert T4 konsentrasjon i serum dag 7 ($t(4) = -4,736$, $p = 0,009$) i kontrollgruppen sammenlignet med normalsituasjon (tosidig paret t-test). Stress gav ingen signifikant endring i T4 konsentrasjonen i forsøksgruppen som fikk tilførsel av ernæring (tosidig paret t-test). Tilførsel av ernæring gav ingen signifikant forskjell i T4 konsentrasjonen dag 7 sammenlignet med kontrollgruppen (Tabell 5).

4.3 Kroppssammensetning

Kroppssammensetning ble målt før og etter endt stridskurs for å undersøke om et døgn med ekstra ernæring gav noen forskjell i kroppssammensetningen mellom de to gruppene, og om en forskjell i kroppssammensetning kunne ha sammenheng med nedsatt set-point under og etter stridskurset.

Stress gav redusert kroppsvekt (BW) ($p = 9 \times 10^{-8}$) og redusert fettmasse (FM) ($p = 2 \times 10^{-6}$) uavhengig av gruppetilhørighet (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA). Videre analyser viste at stress gav en klar reduksjon i kroppsvekt for både kontrollgruppen ($t(5) = -11,111$, $p = 0,0001$) og forsøksgruppen ($t(6) = -7,277$, $p = 0,0003$) (tosidig paret t-test). Før og etter stridskursdata er gitt i Tabell 6.

Tilførsel av ernæring gav signifikant reduksjon i vekt tap (BW) ($F(1,11) = 5,387$, $p = 0,041$), men det gav ingen signifikant endring i FFM, FM og SMM sammenlignet med kontrollgruppen (repeterte-målinger-MANOVA; mellom-gruppe univariat ANOVA) (Tabell 6).

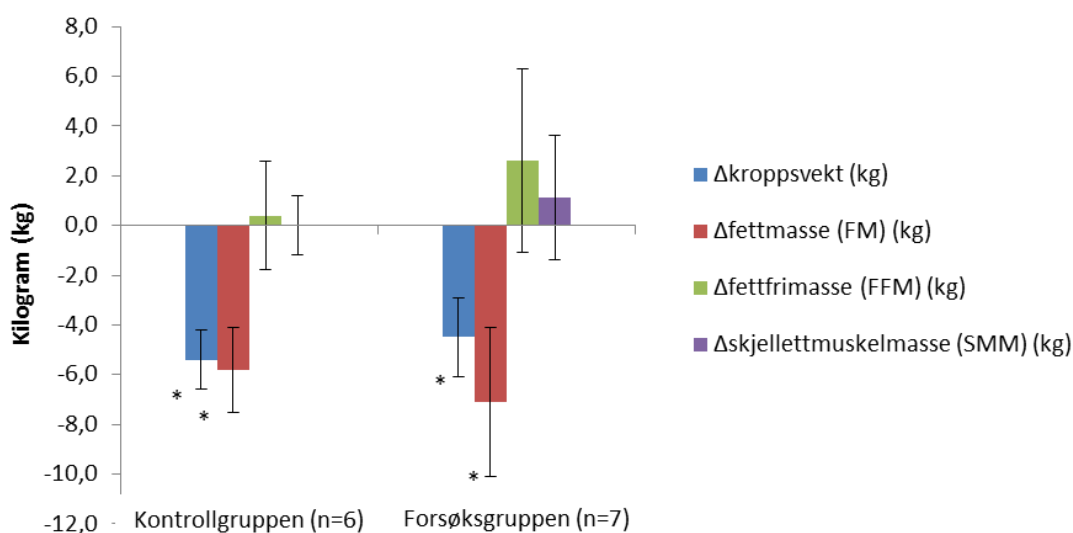
Tabell 6 Kroppsmasse og kroppssammensetning før og etter stridskurset.

	Kontrollgruppen		Forsøksgruppen	
	Før stridskurs	Etter stridskurs	Før stridskurs	Etter stridskurs
Vekt (kg)	74,5 ± 6,2	69,0 ± 6,0 ^{ab}	80,3 ± 4,1	75,8 ± 3,2 ^{ab}
Kroppsmasseindeks (BMI) (kg/m²)	24,0 ± 0,7	22,3 ± 0,9	24,6 ± 1,5	23,2 ± 1,4
Kroppsfett (%)	12,2 ± 4,6	4,7 ± 2,6	12,8 ± 5,0	4,3 ± 1,9
Fettmasse (kg)	9,0 ± 3,1	3,2 ± 1,7 ^a	10,4 ± 4,4	3,3 ± 1,6 ^a
Fettfrimasse (kg)	65,4 ± 7,1	65,8 ± 6,4	69,9 ± 5,8	72,4 ± 2,1
Skjellettmuskelmasse (kg)	37,4 ± 4,4	37,4 ± 3,9	40,0 ± 2,2	41,1 ± 1,5

Verdier er gitt som gjennomsnitt ± standardavvik. Kontrollgruppen: n = 6 og forsøksgruppen: n = 7.

^ap < 0,01 mht. effekt av stress og ^bp < 0,05 mht. effekt av ernæring (gruppetilhørighet). Testet med repeterte-målinger MANOVA (innen- og mellomgruppe univariat ANOVA), tosidig paret og uavhengig t-test.

Total kroppsvekt var redusert med 7 % for kontrollgruppen og 6 % for forsøksgruppen, med 65 % reduksjon i fettmasse (FM) for kontrollgruppen og 68 % reduksjon i FM for forsøksgruppen. Med hensyn på FFM viste resultatet økning i begge grupper (Figur 25). Vekttapet (kroppsmassetapet) skyldes tap av fettmasse, hvor det ikke var noen endring i skjellettmuskelmasse (SMM) for kontrollgruppen (Figur 25), mens viste en gjennomsnittlig økning i SMM for forsøksgruppen (Figur 25). Total kroppsvæske (TBW) var økt for begge grupper (kontrollgruppen: økning på 0,7 ± 1,7 kg og forsøksgruppen: økning på 2,2 ± 2,6 kg).

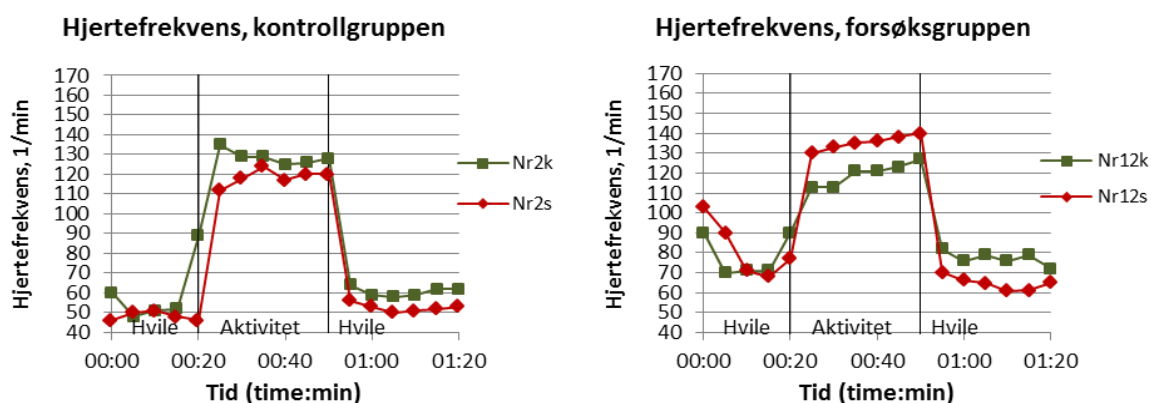


Figur 25 Gjennomsnittlige endringer (Δ) i kroppssammensetning og endring i kroppsvekt hos kadetter som respons på 7 dagers stridskurs med forlenget fysisk aktivitet og matrestriksjon. Kontrollmåling er utført før stridskurset. Data er presentert som gjennomsnitt ± standardavvik ($M \pm SD$). *p < 0,01 mht. effekt av stress. (Testet med repeterte-målinger MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA).

4.4 Hjerterefrekvens

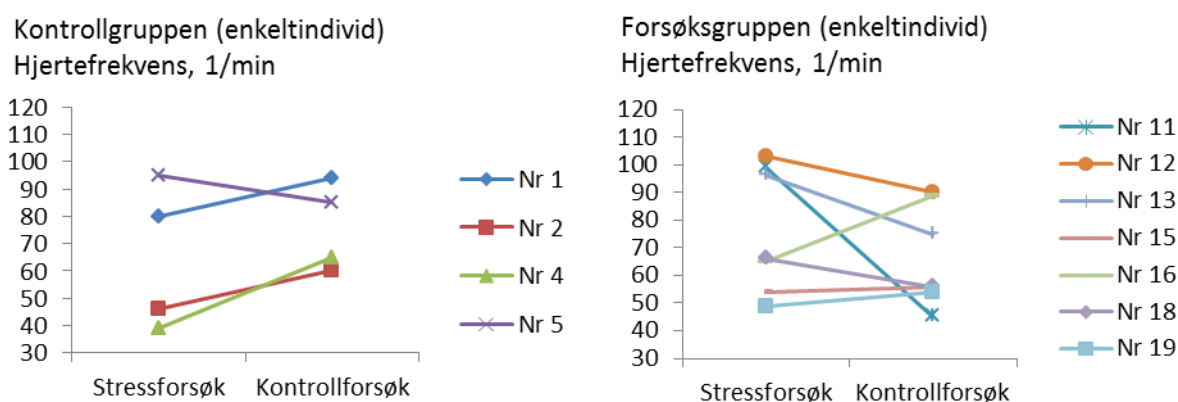
Hjerterefrekvens ble målt for å undersøke om forskjell i ernæring kan påvirke hjerterefrekvens (HR) under stridskurset.

Stress gav ingen signifikant endring i HR i noen av gruppene (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA). Resultatet er gitt i Tabell 4. Resultatet på repeterte målinger for begge gruppene er presentert med individuelle resultat i Figur 26.

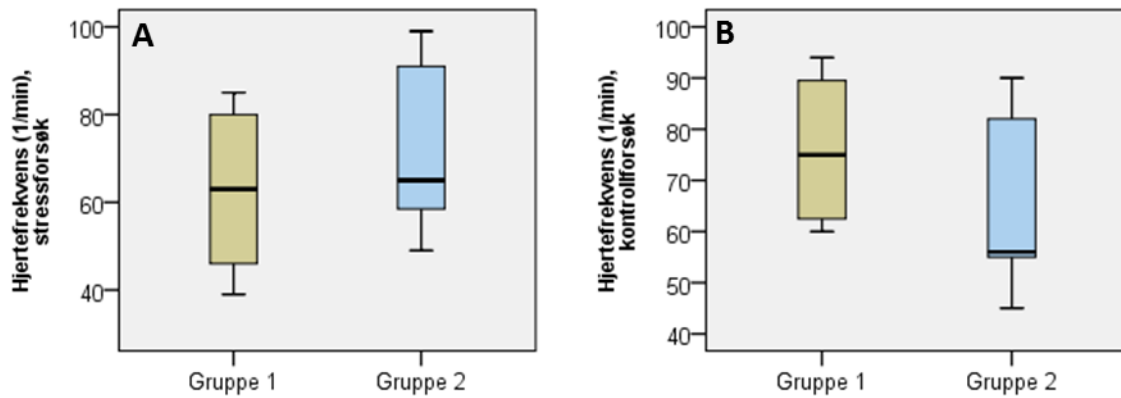


Figur 26 Utvikling av hjerterefrekvensen under stressforsøk (s) og i kontrollforsøk (k) dvs. normalsituasjon er presentert med enkeltresultat. Kadett 2 (Nr2) representerer kontrollgruppen og kadett 12 (Nr12) representerer forsøksgruppen.

Tilførsel av ernæring gav ingen signifikant endring i HR sammenlignet med kontrollgruppen (mellom-gruppe univariat ANOVA; MANOVA for repeterte målinger). Tendensen var at tilførsel av ernæring gav økt HR sammenlignet med kontrollgruppen (Figur 26), men det var individuelle variasjoner som vist i Figur 27. Dette kan også sees ved gjennomsnittsdatabe vist i Box plot diagram (Figur 28).

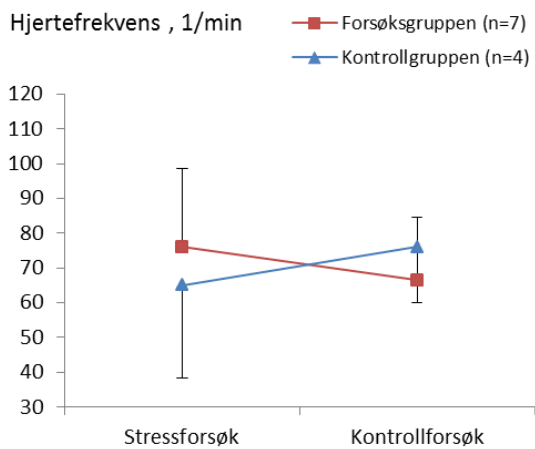


Figur 27 Hjerterefrekvens under hvile for hvert enkeltindivid for stress- og kontrollforsøket. Grafen viser om hjerterefrekvensen var økt eller redusert etter stridskurset i forhold til normalsituasjon (kontrollforsøket).



Figur 28 Box-plot for hjertefrekvens (HR) ved starten av stressforsøket (tidspunkt 00:00 individuelle resultat Figur 26) for A: stressforsøk og B: kontrollforsøk, for gruppe 1 = kontrollgruppen og gruppe 2 = forsøksgruppen.

Det ble observert en signifikant interaksjon mellom stress og ernæring for HR ($F(1, 8) = 6,923$, $p = 0,030$) (Figur 29). Videre analyser viste likevel at tilførsel av ernæring gav ingen signifikant forskjell i HR og det var ingen signifikant forskjell i HR i normalsituasjon når kroppen var restituert (tosidig uavhengig t-test).

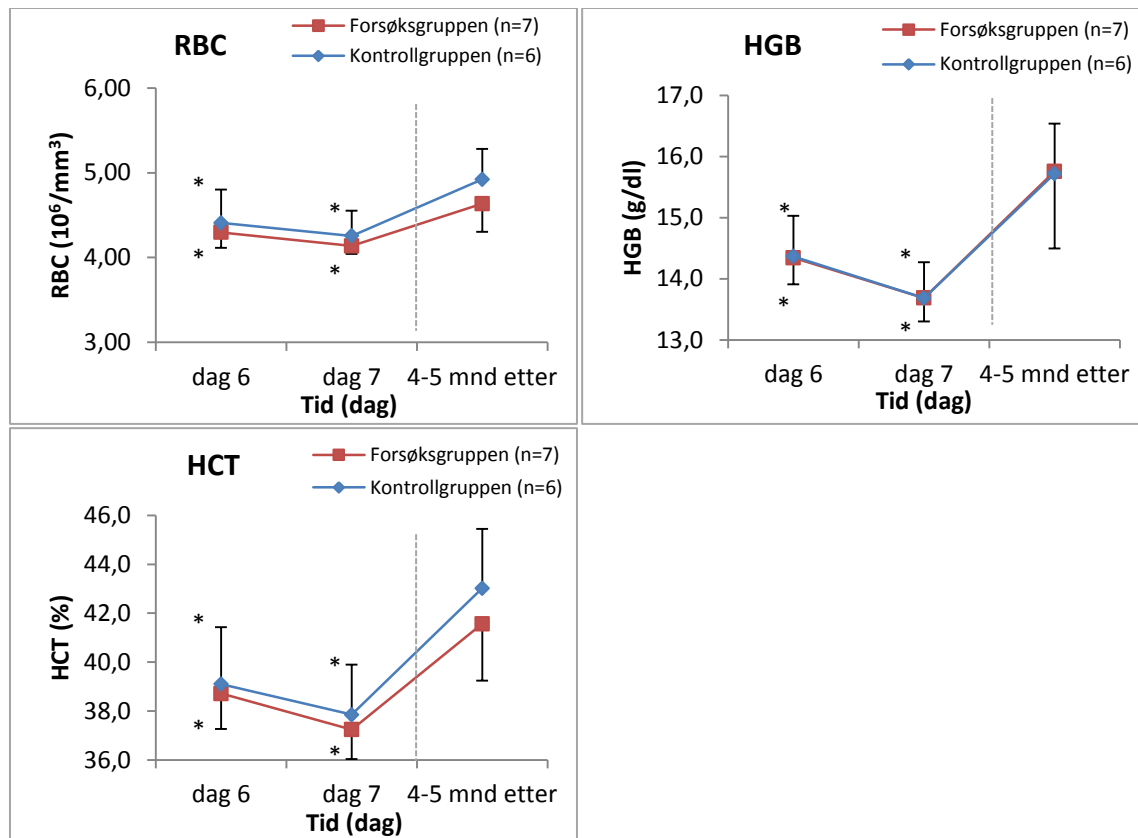


Figur 29 Gjennomsnittlig hjertefrekvens med standardavvik i hvile ved startpunktet for stress- og kontrollforsøket, for forsøk- og kontrollgruppen. Linjediagrammet illustrerer at det er en interaksjon mellom stress og ernæring for gruppene.

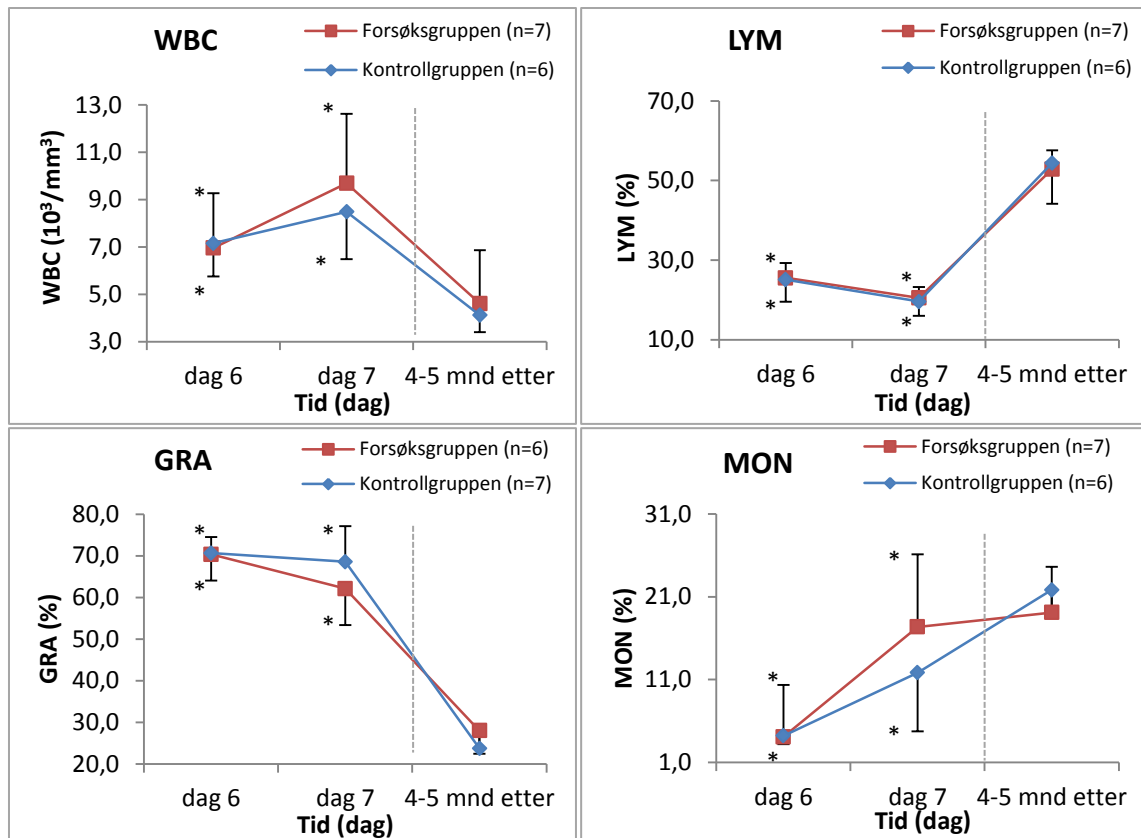
4.5 Hematologiske blodverdier

For å undersøke om det var noen effekt av et døgn med ernæring ble de to gruppene sammenlignet med hensyn på de hematologiske endringene.

Stress gav signifikante endringer for alle de utvalgte hematologiske blodverdiene i begge grupper (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA). Stress gav en klar reduksjon i i røde blodceller (RBC) ($F(2, 20) = 25,123, p = 3 \times 10^{-6}$), ii) i hemoglobin (Hgb) ($F(1,570, 20) = 23,376, p = 4 \times 10^{-5}$) (Huynth-Feldt pga. Mauchly's sfærisitets test viste $p = 0,032$), iii) i hematokrit (HCT) ($F(2, 20) = 27,192, p = 2 \times 10^{-6}$), iv) i lymfocytter (LYM) ($F(2, 20) = 169,321, p = 3 \times 10^{-13}$) og v) i monocytter (MON) ($F(2, 20) = 24,443, p = 4 \times 10^{-6}$), mens klar økning i i hvite blodceller (WBC) ($F(2, 20) = 17,592, p = 4 \times 10^{-5}$) og ii) i nøytrofile granulocytter (GRA) ($F(1,582, 20) = 180,360, p = 4 \times 10^{-11}$) (Huynth-Feldt pga. Mauchly's sfærisitets test viste $p = 0,035$) (Figur 30-Figur 31).



Figur 30 Endringer i røde blodceller (RBC), hemoglobin (HGB) og hematokrit (HCT) dag 6 og dag 7 under stridskurset i forhold til når kroppen er restituert (normalsituasjon), 4-5 måneder etter. Kontrollgruppen: $n=5$ for kontrollforsøket (4-5 mnd etter). Data er presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik ($M \pm SD$). $*p < 0,05$ mht. effekt av stress (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA).



Figur 31 Endringer i hviteblodceller (WBC), nøytrofile granulocytter (GRA), lymfocytter (LYM) og monocytter (MON) dag 6 og dag 7 under stridskurset i forhold til når kroppen er restituert (normalsituasjon), 4-5 måneder etter. Kontrollgruppen: n=5 forkontrollforsøket (4-5 mnd etter). Data er presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik. * $p < 0,05$ mht. effekt av stress (repeterte-målinger-MANOVA; innen-gruppe univariat ANOVA).

Begge gruppene hadde fall i røde blodceller og reduksjon i hemoglobin og hematokrit dag 6 i forhold til normalt (Figur 30), med ytterligere fall dag 7. Stress gav økning i hviteblodceller i begge grupper, der økningen skyldes økt antall nøytrofile granulocytter (Figur 31).

Tilførsel av ernæring gav ingen signifikant endring for de utvalgte hematologiske blodverdiene (avhengige variablene) sammenlignet med kontrollgruppen (repeterte-målinger-MANOVA; mellom-gruppe univariat ANOVA).

Det ble ikke observert noen signifikant forskjell i interaksjonen mellom stress og ernæring.

5 Diskusjon

Denne studien ble gjennomført i samarbeid med Hærens Krigsskole, og alle målinger er utført på kadetter som gjennomførte Krigsskolens stridskurs. Kadetter som av ulike årsaker (skader og sykdom) ikke fullførte kurset, ble ekskludert fra studien. Stridskurset er utarbeidet og utprøvd over mange år, og er ment for å trene kadettene under ekstrembelastning som ligner det man kan forvente under militære operasjoner. Det innebærer at vi som forskere har begrenset mulighet til å påvirke selve innholdet og gjennomføringen av kurset, men det gir en mulighet til å måle effekter av en reell multifaktoriell stressituasjon på kroppens termoregulering. En åpenbar ulempe med slike feltstudier er at det er vanskelig å få hundre prosent kontroll på forholdene (se avsnitt 5.6), slik at forskjeller i for eksempel termoregulering kan bli kamuflert på grunn av forskjeller i andre ukontrollerbare faktorer. Under slike forhold er det sannsynlig at forskjellige stressfaktorer påvirker effekten av hverandre: i) enten ved at de virker synergistisk eller ii) tvert om virker mot hverandre. Nettoeffekten kan derfor ikke bestemmes ut i fra kunnskap på effekten av hver enkelt stressfaktor alene. Ifølge protokollen var kaloriinntaket siste kursdøgn den eneste forskjellen mellom gruppene. Imidlertid observerte vi at det var forskjeller i intensitet og antall gjennomførte runder i myrhinderløypa ved kursavslutning. Mulige årsaker og konsekvenser av dette vil bli diskutert nedenfor (se avsnitt 5.1 og 5.6). Et alternativ for å unngå slike utfordringer er å utføre standardiserte forsøk i klimakammer. Da kan man lettere identifisere effekter av hver enkelt faktor, men resultatene er da ikke direkte overførbare til en reell ekstrembelastning (multifaktoriell stressituasjon). Dette er hovedgrunnen til at denne studien ble gjennomført som et feltstudium.

Hovedfunnene i denne studien var at stress gav redusert kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur. Tilførsel av ernæring gav økning i kjernetemperaturen og mindre reduksjon i tyreoideahormonet T3.

5.1 Endringer i kjernetemperatur og hudtemperatur

I denne studien viste vi at multifaktorielt stress under stridskurset gav redusert kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur i begge grupper (Figur 19 og Tabell 4). Dette er i samsvar med tidligere funn under stridskurset [56] og flere andre studier [29;54;88;141]. Det er foreløpig ingen konsensus når det gjelder hvilke av stressfaktorene under ekstrembelastning som er hovedårsaken til redusert kjernetemperatur, men det har vært vist at ekstrembelastning øker faren for hypotermi [56;88].

5.1.1 Effekten av kalori restriksjon

Denne studien peker på kalori restriksjon som en mulig hovedfaktor til redusert kjernetemperatur, siden tilførsel av ekstra ernæring det siste døgnet gav 0,5 °C lavere reduksjon i kjernetemperatur under hvile, sammenlignet med kontrollgruppen (Figur 19 og Tabell 4). Det samsvarer med tidligere studier som viser at kalori restriksjon gir nedsatt kjernetemperatur [74;142;143]; [se 144 for oversikt]. Hvorvidt temperaturreguleringen påvirkes av kaloriinntaket under ekstrembelastning er fremdeles kontroversielt, ettersom en annen studie ikke fant effekt på kjernetemperaturen ved å gi ekstra energi i form av glukoseinfusjon under stressforsøket etter endt stridskurs [56]. Andre ekstrembelastningsstudier finner heller ingen korrelasjon mellom kjernetemperatur og totalt energiforbruk eller kortvarig kalori restriksjon (54 timer) [145].

Metabolsk adaptasjon, det vil si senket metabolismehastighet for å redusere energiforbruket i perioder med kalori restriksjon, har vært foreslått som forklaringsmodell for nedsatt kjernetemperatur [144]. Reduksjon av kjernetemperaturen er en effektiv strategi for å redusere energiforbruket, og kan være uttrykk for en metabolsk- og/eller endokrin adaptasjon, med reduksjon i T3, insulin, leptin og total testosteron [143]. Konsentrasjonen av både T3, testosteron, insulin og leptin er tidligere vist å være sterkt redusert under stridskurset [34;60;146]. Videre observerte vi i denne studien at multifaktorielt stress gav reduserte serumnivåer av T3 (Tabell 5), et hormon som er kjent for å øke kroppens metabolismehastighet og dermed kroppstemperaturen. Tidligere studier har pekt på redusert serum-T3 som en hovedmediator av redusert kjernetemperatur under både kortvarig faste (48 timer) [142] og langvarig lavkaloridiett (> 6 år) [143]. I den opprinnelige studien til Opstad og Aakvaag [146] ble endringene i T3 motvirket av høykaloridiett, i motsetning til endringene i testosteron som ble antatt å skyldes langvarig fysisk aktivitet. Dette understreker igjen den tette koplingen mellom ekstrembelastning, ernæringsstatus, T3 og kjernetemperatur. Våre data støtter en hypotese om at ernæring har betydning for regulering av kjernetemperatur under ekstrembelastning, muligens via regulering av tyreoidhormonet T3.

Selv om regulering av T3 ser ut til å være én av mekanismene for at ernæring har betydning for regulering av kjernetemperaturen, kan det ikke utelukkes at andre følger av kalori restriksjon, som lavt blodsukker (hypoglykemi) og redusert vevsisolasjon også bidrar til redusert kjernetemperatur. Glukosetoleransen ble ikke målt i vår studie, men antas å være redusert i tråd med målinger fra tidligere stridskurs [34]. Nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur, slik vi finner i denne studien, ligner den man tidligere har sett ved hypoglykemi [141]. En annen studie foreslår at endringene i kjerne- og hudtemperatur ikke direkte er forårsaket av hypoglykemi, men skyldes økt svetting [147]. Hypoglykemi kombinert med kuldepåvirkning er vist å føre til hypotermi, hvor alvorligheten til hypotermien ser ut til å avgjøres av graden av hypoglykemi [147]. Dette støttes av

studie som finner at unge diabetespasienter har økt fare for hypotermi [148]. Castellani et al. [32] finner tilsvarende endringer i kroppstemperatur som i vår studie, men derimot ingen endring i blodsukker. Kalorirestriksjon både med og uten hypoglykemi ser derfor ut til å ha betydning for redusert kjernetemperatur.

Vi observerte et signifikant tap av FM (fettmasse) i både forsøk- og kontrollgruppen (henholdsvis; $7,1 \pm 3,0$ kg og $5,8 \pm 1,7$ kg) (se Figur 25). Dette indikerer at mindre vevisolasjon kan ha bidratt til redusert kjernetemperatur. Sannsynligvis vil tapet av FM ikke være en hovedfaktor siden det ikke ble observert noen forskjell i FM mellom gruppene (se avsnitt 5.3). Dette er i overensstemmelse med tidligere studier som foreslår at endringer i kroppssammensetning med mindre underhudsfett spiller liten rolle for nedsatt kjernetemperatur, men at årsaken heller er kalorirestriksjon [8;143] og/eller at man ikke klarer å opprettholde høy nok fysisk aktivitet slik at varmeproduksjonen er lavere enn varmetapet [9] (se avsnitt 5.1.2). Et eksempel på sistnevnte finnes i en tidligere studie som observerte at svømmere med høy FM som holder moderat tempo blir raskere hypotermie enn slanke svømmere som klarer å opprettholde høy fysisk aktivitet (vanntemperatur på $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ i 15 timer) [9]. Det samme kan være tilfelle ved for eksempel fjellvandring under våte og kalde forhold [9]. En annen studie har derimot foreslått at mer underhudsfett er årsaken til at kvinnelige deltakere i en fjellvandring overlevde mens 3 mannlige døde [8]. En annen studie finner at personer med lavest FM har mer uttalt vasodilatasjon ved fysisk utmattelse enn de med høyere FM [149]. Kadettene i vår studie hadde både nedsatt FM og ble ofte utsatt for våt bekledningen og nedsenkning i vann under stridskurset. Tap av fettvev kan ikke forklare forskjellen i kjernetemperatur mellom gruppene (se avsnitt 5.3), men det kan ikke ses bort i fra at tap av FM kan være en medvirkende årsak til økt varmetap som følge av mindre vevisolasjon, særlig når bekledningen var våt tvers igjennom.

Det kan heller ikke utelukkes at forskjellen i kjernetemperatur (og tyreoidahormoner) mellom gruppene under stressforsøket i vår studie delvis skyldes fysisk aktivitet, siden det ikke ble tatt høyde for forskjell i fysisk aktivitet mellom gruppene. Forsøksgruppen som fikk ekstra ernæring holdt en høyere intensitet og gjennomførte flere runder i myrhinderløypa, enn kontrollgruppen (Figur 32). Dette understøttes med egenrapportering fra kadettene, samt at forsøksgruppen hadde tendens til høyere hjerterefrekvens etter endt stridskurs enn kontrollgruppen, henholdsvis økt med 13 slag per minutt og redusert med 12 slag per minutt (Figur 28 og se avsnitt 5.4). Denne observerte forskjellen i fysisk aktivitet mellom gruppene i vår studie gjør at vi ikke kan bestemme effekten av økt kaloriinntak alene. Dessuten vil mengde tilført ernæring og intensitet av fysisk aktivitet påvirke hverandre. Vi finner det sannsynlig at forskjell i fysisk intensitet var hovedårsaken til at vi fant høyere gjennomsnittlig kjernetemperatur for forsøksgruppen enn kontrollgruppen, fordi høyere intensitet fører til større varmeproduksjon. Tilførsel av ernæring siste dag (dag 6) kan forklare hvorfor forsøksgruppen var i stand til å holde høyere intensitet gjennom myrhinderløypa. Selv om kalorirestriksjon ser ut til å

ha effekt i denne studien, kan det ikke utelukkes at andre faktorer som hard fysisk aktivitet eller kuldepåvirkning også bidrar til redusert kjernetemperatur. Videre studier er nødvendig for å kunne konkludere med en allmenngyldig effekt av ernæring på kjernetemperatur. I tillegg ville det vært interessant å undersøke om reduksjonen i kjernetemperaturen hadde uteblitt helt dersom kadettene hadde fått tilført tilstrekkelig ernæring under hele stridskurset.



Figur 32 Myrhinderløypa kadettene var igjennom på slutten av stridskurset 2012.
Foto: Krigsskolen/Bjørnar Dullum 2012.

5.1.2 Effekten av fysisk aktivitet

Det er kjent at fysisk aktivitet har stor effekt på kjernetemperaturen og at høyere intensitet fører til større varmeproduksjon og dermed høyere kjernetemperatur. Selve om latenstiden mellom myrhinderløypa og stressforsøket i denne studien tilsier at en eventuell økning i varmeproduksjon per se vil ha gått tilbake før utførelsen av stressforsøket, kan man ikke utelukke at kjernetemperaturen fremdeles var affisert. En tidligere studie har vist at økt kjernetemperatur etter intens fysisk aktivitet kan vedvare i opptil 65 minutter [150]. Dette antas å skyldes at vasokonstriksjon i hud starter ved en høyere temperatur enn normalt, og er spesielt viktig for å hindre varmetap ved restitusjon i kalde omgivelser [150]. Under stridskurset oppholder kadettene seg utendørs sammenhengende i syv dager samtidig som de utsettes for kuldestress som for eksempel nedsenkning i vann under fysisk aktivitet kombinert med liten mulighet til å skifte bekledding. Slike forhold er tidligere vist å forsterke konsekvensene av varmetap etter fysisk aktivitet [76] samt å øke faren for hypotermi [8;10]. Alternativt har det vært foreslått at langvarig fysisk aktivitet kan gi økt hudtemperatur, til tross for nedsatt kjernetemperatur, siden kroppen da må kvitte seg med overskuddsvarmen som produseres under aktivitet [se 30 for oversikt;76]. I tråd med dette viser en nyere rottestudie at varmen avgitt fra muskler overgår kuldeindusert vasokonstriksjon i hud [45]. Om dette skyldes utmattelse av karmuskulatur per se, endringer i blodsukker, EPOC (*excess postexercise O₂-consumption*), effekter på

det sentrale eller perifere nervesystemet eller en kombinasjon av disse mekanismene er ikke klarlagt [75;145]. Vi fant økt hudtemperatur i ekstremiteter, men ingen signifikant endring av MST (middel hudtemperatur) for forsøksgruppen. Forsøksgruppen holdt høyest intensitet i myrhinderløypa og var samtidig den gruppen som hadde høyest kjernetemperatur under stressforsøket (Figur 21). Dersom EPOC var en hovedmekanisme, ville vi forventet å se høyere MST i kombinasjon med endringene i hudtemperatur under stridskurset. Imidlertid fant vi signifikant økt MST for kontrollgruppen. Samtidig har Bahr et al. [54] vist at O_2 -opptaket ved hvile var 14-24 % høyere under stridskurset enn når kroppen er restituert [54]. Dette indikerer at EPOC er en mulig underliggende mekanisme for endringer i kroppstemperatur, og i størst grad hos gruppa som fikk tilført ekstra ernæring siden de holdt høyest intensitet i myrhinderløypa.

En rekke studier finner at langvarig hard fysisk aktivitet og eksponering for kulde kan føre til en hemming av kroppens normale termoregulering, og resultere i aksidentell hypotermi og verste fall død [8-10]. Vi observerte at utviklingsmønster for både kjerne- og hudtemperatur under stressforsøket for hver enkelt kadett var normalt (se Figur 19). Derimot ser vi, i den etterfølgende hvileperioden på 30 minutter, at kjernetemperaturen ikke stabiliserer seg som normalt, men fortsetter å falle (Figur 19). Det kan skyldes at: i) hvilemetabolismen er nedsatt slik at det blir mindre varmeproduksjon under hvile [73] eller at ii) set-pointet er nedsatt slik at kjernetemperaturen fortsetter å falle til den har nådd nytt resatt set-point [2]. Under stridskurset vil to konkurrerende mekanismer påvirke kadettene metabolismehastighet: kadettene utsettes for matmangel som er kjent å gi nedsatt metabolisme, samtidig som fysisk aktivitet normalt vil gi økt metabolismehastighet. I forhold til stressfaktorene beskrevet i avsnittet ovenfor hadde kadettene ikke ekstremt høyt aktivitetsnivå (35 % av VO_2 -maks [56]), og til tross for at de var tydelig slitne var de sannsynligvis ikke fullstendig utmattet. Man ville ha forventet større individuelle forskjeller i kjerne- og hudtemperatur ved utmattelse av termoreguleringen enn det vi observerte i vår studie. Vi kan derfor anta at endringene i kjerne- og hudtemperatur i vår studie ikke skyldes utmattelse av termoreguleringen.

Flere studier har pekt på nedsatt set-point som en mulig forklaring på nedsatt kjernetemperatur under ekstremlastning [56;151], ved akklimatisering [152] og ved kalori restriksjon i forsøksdyr [153]; men se også Castellani et al. [32]. Til tross for at vi registrerte redusert kjernetemperatur i denne studien viste resultatet liten endring i MST og økt fottemperatur under stressforsøket i forhold til kontrollforsøket for både forsøk- og kontrollgruppen (Tabell 4). Dette indikerer at set-pointet er redusert og er i samsvar med tidligere antagelser om endret set-point under stridskurset [56].

Vår studie kan imidlertid ikke med sikkerhet utelukke eller bekrefte antagelser om nedsatt set-point uten først å ha avklart betydningen av andre mekanismer. Tidligere studier på koreanske helårsdykkere og australske aboriginere viste at begge disse gruppene fikk redusert kjernetemperatur som følge av

nedsatt set-point [27]. Til forskjell fra kadettene i vår studie ble disse utsatt for kalde omgivelser hele året. Stridskursets varighet (7 dager) er trolig for kort til å kunne observere endringer i set-point (Andrew Young, personlig meddelelse april 2014). Det kan likevel ikke utelukkes at økt hudtemperatur er et resultat av endringer i konsentrasjonen av signalmolekyler og/eller reseptorer på målcellene slik at blodsirkulasjonen til hud økes. Økt blodsirkulasjon gir igjen økt varmetap. Dette støttes av flere studier som har foreslått at nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur kan skyldes desensitivisering av adrenerge reseptorer [76;88]. Å avklare hvilke endokrine, parakrine og sentralnervøse mekanismer som leder til de observerte endringene i hud- og kjernetemperatur under multifaktorielt stress er utenfor denne studiens omfang. Det er nødvendig med videre studier, hvor endringer i kroppstemperatur måles samtidig med endringer i for eksempel adrenerg reseptoraktivering, for å avklare dette.

5.1.3 Hvilke faktorer påvirker endringene i hudtemperatur?

Vi fant at stress gav signifikant høyere fottemperatur for både forsøk- og kontrollgruppen (henholdsvis 6,7 °C og 4,2 °C) (Figur 19, Figur 23 og Tabell 4), noe som samsvarer med litteraturen [29;56;88;141]. Til tross for en klar positiv korrelasjon mellom stress og fottemperatur under stridskurset (Figur 20), detekterte vi kun en tendens til høyere fingertemperatur under stridskurset. Dette skyldes sannsynligvis at variasjonen innad i gruppa var stor (Figur 20). Økt gruppestørrelse er nødvendig for å fastslå med sikkerhet om fingertemperatur reguleres som respons på stress. Det er kjent at sympatisk nerveaktivitet (SNA) i hud ved utsettelse for kulde og varme kan vise store individuelle variasjoner [154;155], og SNA er derfor en mulig årsak til individuelle variasjoner i fingertemperatur. Motsatt er det hevdet at individuelle forskjeller i SNA-aktivering i ekstremiteter ikke kan endre opprettholdelsen av kjernetemperaturen [155]. Både faste og spising har vært foreslått å indusere forandringer i SNA, der faste reduserer nerveaktiviteten [74], og dermed varmeproduksjonen.

En annen mulig årsak til økt hudtemperatur i ekstremiteter kan være en blokkering av signaloverføringen mellom sympatiske nerver og arterielle-venøse anastomoser (AVAs), som følge av lokal kuldepåvirkning [89]. AVAs induserer en stor økning i varmeutveksling mellom huden og omgivelsene når de er åpne [78]. I denne studien ble MST beregnet ved bruk av Ramanathans formel [115], der hudtemperaturen på arm og legg inngår som to av fire hudtemperaturer som er med i beregningen av MST. AVAs er funnet å være mindre utbredt på arm og legg [78], og dette kan dermed være en mulig forklaring på resultatet i denne studien, da vi fant liten endring i MST sammenlignet med store endringer i fottemperaturen (Tabell 4). Det er kjent at lokale endringer i ekstremiteter skjer uavhengig av sentrale mekanismer. Varigheten av stridskurset (7 dager) er lang nok til å utvikle flere AVAs, som normalt tar to-tre dager [89].

Lavere hudtemperatur på finger i forhold til på fot (Tabell 4) i denne studien ligner det man har sett ved eksponering for kulde i tidligere studie [98]. Det er forslått at føttene tilpasses bedre til kuldepåvirkning enn fingrene/hender, muligens fordi blodsirkulasjonen i føtter prioriteres ettersom føtter er mer utsatt for kuldeskade enn hender [98]. I tillegg har føttene mindre overflateareal/volum sammenlignet med hendene [38], noe som reduserer varmeavgivelsen til omgivelsene og kan gjøre at føtter kjøles ned saktere. En annen forklaring på forskjellen i fot- og fingertemperatur i vår studie kan være at hendene var direkte utsatt for vær og vind, i motsetningen til føttene som hadde fotbekledningsisolasjon.

Overraskende nok, observerte vi en forskjell i fottemperatur mellom forsøk- og kontrollgruppen under kontrollforsøket (Figur 23 og Tabell 4), noe som er vanskelig å forklare siden det ikke foreligger noen loggføring av hva den enkelte kadett har vært utsatt for i dagene før kontrollforsøket. Individuelle forskjeller i hånd- og fottemperatur kan blant annet skyldes normale temperaturfluktuasjoner, medfødte forskjeller og sykdommer [92]. I tillegg er det kjent at røyking/snus fører til redusert blodsirkulasjon i fingrene [92], mens alkohol har motsatt effekt [4;42]. Kadettene fikk ikke bruke røyk, snus eller alkohol under kurset, men det ble ikke undersøkt hvor mange av kadettene som normalt bruker slike preparater, eller om det var forskjell mellom gruppene mht. disse. Dermed kan det ikke utelukkes at eksponering for røyk, snus eller alkohol kan ha påvirket blodsirkulasjonen i ekstremiteter under kontrollforsøket (fire-fem måneder etter stridskurset), og medførte at forsøksgruppen hadde gjennomsnittlig 2 °C lavere fottemperatur enn kontrollgruppen under kontrollforsøket. Det ble tatt blodprøver av kadettene som kunne utelukke at forskjellen mellom gruppene under kontrollforsøket skyldes infeksjoner (se avsnitt 5.5). Medfødte forskjeller ble ikke undersøkt, men slike forskjeller ville sannsynligvis også ha gitt utslag under stridskurset. Man kan videre spekulere på om observert forskjell i hudtemperaturer hos kadettene under kontrollforsøket kan være en effekt av EPOC (økt O₂-opptak etter tungt arbeid), men vi har ikke gjort analyser som kan støtte en slik hypotese.

5.1.4 Effekten av søvnmangel

Flere studier har undersøkt effekt av søvnmangel på kroppens termoregulering, men resultatene er sprikende. Hudtemperaturprofilen i denne studien (Figur 19) ligner det man har sett ved søvndeprivasjon i tidligere studier [77;78]. Opstad [34] finner derimot ingen endring i set-point som følge av søvndeprivasjon under stridskurset. Det er kjent at kjernetemperaturen har en døgnrytme og er nedsatt under søvn [38]. I tillegg har det vært foreslått at man er mer utsatt for hypotermi på morgenen enn kvelden [76]. Stressforsøket i vår studie ble utført i tidsrommet 14.00-19.00, og resultatet med nedsatt kjernetemperatur kan dermed ikke forklares av tidspunkt på dagen. Det støttes av tidligere studie som finner at det ikke er noen forskyvning i døgnrytmen under stridskurset [34].

En tidligere studie finner at kjernetemperaturen øker raskere ved kortvarig fysisk aktivitet i kulde etter søvndeprivasjon (50 timer). Det ble antatt å skyldes nedsatt svetting og varmetap som følge av søvndeprivasjon [151]. En nyere studie finner at effekten av kortvarig søvndeprivasjon (29 timer) induserer forandringer i normal blodsirkulasjon i hender, hemmer lokal kuldetoleranse og dermed øker faren for kuldeskader [17]. Utmattelse og søvnmangel har vært foreslått som individuelle risikofaktorer for kuldeskader [17]. Disse mekanismene var sannsynligvis mindre viktige i vår studie, da vi fant økt vasodilatasjon (økt hudtemperatur), som mest sannsynlig vil gi beskyttelse mot kuldeskader i ekstremiteter. Det er foreløpig ingen konsensus når det gjelder effekt av søvndeprivasjon på termoreguleringen [se 32 for oversikt], men det kan ikke utelukkes at noen av endringene vi ser i denne studien kan skyldes søvndeprivasjon. Videre studier med undersøkelse av kroppstemperatur under multifaktorielt stress med temperaturmålinger der eneste forskjell er søvndeprivasjon er nødvendig for å kunne konkludere.

Kadettene viste tydelige tegn på tretthet på slutten av stridskurset. Døgnrytmen ble ikke undersøkt i vår studie, men antas ikke å være forskjøvet i tråd med målinger fra tidligere stridskurs [33]. Det var dunkel belysning i teltet kadettene ventet i før utførelse av stressforsøket i vår studie, og de klarte ikke å holde seg våkne i ventetiden. Selv ved instrumentering og under stressforsøket var det problemer med å holde dem våkne. Det er kjent at hormonet melatonin har økt sekresjon når man sover [36]. Melatonin øker vasodilatasjon når man er på vei inn i søvn [38;39] via en effekt på POAH [40], og har i tillegg en energisparende- og hypoterm effekt ved å endre funksjonen til hypothalamus-hypofyse-tyreoidea-aksen [156]. Dette støttes av en annen studie som har funnet at tilførsel av eksogent melatonin på dagtid, når den endogene utskillelsen er lav, nedsetter kjernetemperaturen med 0,3-0,4 °C [40]. Melatoninnivået ble ikke målt i vår studie, men det er ikke umulig at enkelte av kadettene hadde økt serum melatonin under forsøket, og at dette kan forklare endringene i kjerne- og hudtemperaturer i denne studien. I tillegg er det kjent at halveringstiden til melatonin er på tre-fire timer. Man kan derfor spekulere i om forskjeller i tretthet, og medfølgende endringer i melatoninsekresjonen kan forklare noe av de individuelle forskjellene vi så mellom kadettene i samme gruppe. I tillegg ble det observert en variasjon i T4 og TSH i denne studien, særlig dag 7 (Tabell 5). Tyreoideahormoner og melatonin påvirker hverandre. En variasjon innad i gruppa i tyreoideahormoner kan dermed gi variasjon i melatonin.

5.1.5 Effekt av adaptasjon

Flere feltstudier har undersøkt urbefolkningers adaptasjon og akklimatisering til kalde klima [67;95;96];[se 27 for oversikt;68], men disse studiene er generelt utført under andre og mindre kontrollerte forhold, noe som vanskeliggjør en direkte sammenligning med våre resultater. Endringene vi fant i kroppstemperatur og T3 nivåer i denne studien samsvarer med det man tidligere har rapportert etter langvarig utsettelse for kulde [se 157 for oversikt]. Imidlertid, har det vært foreslått at en

langvarig kuldepåvirkning er nødvendig for å påvirke serum nivået av tyreoidhormoner og TSH [157] eller set-point [27].

Imidlertid ligner endringene i kjernetemperaturen og fottemperaturen vist i vår studie det man har sett ved studie hvor det foreslås en hypoterm isolerende isometabolsk kuldeadaptasjon med en lokal kuldeadaptasjon av ekstremiteter [158]. Det kan likevel ikke utelukkes at redusert fettvev som vi fant i vår studie bidro til høyere hudtemperatur og dermed økt varmetap (se avsnitt 5.1.1 side 53 og avsnitt 5.3). Dermed kan endringene vi fant i denne studien ha vært et resultat av adaptasjon, til tross for at varigheten til stridkurset var kortere enn det som normalt er nødvendig for kuldeadaptasjon (Andrew Young, personlig meddelelse april 2014); [se 157 for oversikt]. Det støttes av en studie som foreslår at kroppen kan ha raskere evne til kuldeadaptasjon en tidligere antatt [159].

Flere eksperimentelle studier har undersøkt effekten av langvarig eksponering av kulde på blodsirkulasjonen i hender og føtter, men det er foreslått mange ulike bakenforliggende årsaker til endringene med økt hudtemperatur. Det har vært foreslått at endringene skyldes adaptasjoner som beskrevet over eller at det er en konsekvens av endret konsentrasjon av signalmolekyler eller endring i reseptorer på celler hvor signalmolekylene utøver sin aktiverende- eller hemmende effekt. Rollen til katekolaminene adrenalin (A) og noradrenalin (NA) diskuteres spesielt (se avsnitt nederst på siden). Ifølge Castellani [159] fører gjentatte eksponeringer for kulde ikke til utmattelse av verken glatt muskulatur i blodårene eller av nerveaktiviteten som driver vasokonstriksjon.

5.1.6 Endokrine og sentralnervøse effekter

De senere år er også orphan GPR50 (G-protein koblet melatonin-relatert reseptor 50), som er høyt uttrykt i preoptisk hypothalamus blitt foreslått som en viktig reseptor for termoregulering, og GPR50 antas å ha en rolle spesielt ved nedsatt kjernetemperatur [144;160;161]. Siden den naturlige liganden for GPR50 fremdeles er ukjent, vet man lite om de fysiologiske effektene av GPR50-aktivering. Derimot vet man at GPR50 heteromeriserer med både MT1 og MT2 melatonin reseptor, og regulerer MT2 reseptor binding og kobling til G-protein. GPR50 spiller derfor en viktig rolle i adaptiv termogenese hos menneske [161]. Det høye uttrykket av GPR50 på celler i hypothalamus tyder på at GPR50 har en nøkkelrolle i funksjoner i hypothalamus, inkludert hypothalamus-hypofyse akselen [161], og reseptoren blir sett på som et nytt mål for terapeutisk hypotermi [160;162]. GPR50 påvirker mest sannsynlig også tyreoidhormonene lokalt i hypothalamus ved å hemme omdanningen av T4 til T3 [144]. Man kan dermed spekulere i hvorvidt denne reseptoren spiller en rolle for nedsatt kjernetemperatur under ekstrembelastning. En rekke ernæringsstoffer/ernæringssignaler som glukose, insulin, leptin, adiponektin og neuropeptid Y (NPY) (se avsnitt 5.2) har blitt foreslått som endogene ligander for denne reseptoren [144], men det er fremdeles usikkert knyttet til dette.

Det er kjent at en del hormoner/signalstoffer, slik som A, NA, NPY, vasoaktivt intestinalt peptid (VIP), veksthormon, kortisol og glukagon, påvirker termoreguleringen via perifere og/eller sentrale mekanismer, men disse ble ikke målt i vår studie. Det er sannsynlig at A, NA, NPY, VIP, veksthormon, kortisol og glukagon er økt, mens adrenerge reseptorer er desensitivisert og nedregulert, slik man har sett ved tidligere stridskurs [28;34] og ekstrebelastningsstudier [29;32]. Dette er i overensstemmelse med andre studier, som finner at forhøyet nivå av NA over tid desensitiserer adrenerge reseptorer [31;se 32 for oversikt]. Nettoeffekten av disse endringene er vanskelig å forutse, og ligger utenfor denne studiens omfang.

I denne studien kan kuldeindusert vasodilatasjon (CIVD) sannsynligvis utelukkes, siden finger- og fottemperatur under temperaturmålingene var godt over øvre grense for når CIVD inntreer ($>15^{\circ}\text{C}$) (Tabell 4 og Figur 19). Hudtemperaturmålingene på ekstremiteter viser jevne kurver under stressforsøket for hele hvileperioden før aktivitet (Figur 19), i motsetning til et syklisk mønster (intervaller av stigende og fallende temperaturer) som ofte er observert ved CIVD [91].

5.2 Tyreoideahormoner

Vi fant at ekstra ernæring siste dagen (dag 7) under stridskurset førte til signifikant lavere reduksjon i tyreoideahormonet T3 (Tabell 5). Resultatet i denne studien ligner det man har sett ved matmangel i tidligere studier [53;60;62;103;163;164]. Vi fant i motsetning til disse studiene ingen endring av TSH. En mulig årsak til dette kan være at kadettene i senere tid har fått tilført mer energi i den daglige basisdietten. En annen mulig årsak kan være lavere energiforbruk, på grunn av mindre fysisk aktivitet og lavere intensitet enn tidligere. Det støttes av at kadettene hadde mindre vekttap i denne studien (3,0-6,7 kg/7 dager) (se avsnitt 5.3) enn ved tidligere studier på 70- til 90-tallet (5,5 -11,5 kg/3-4 dager) [63] til tross for at stridskurset varte to dager lengre i denne studien. Det kan heller ikke utelukkes at T3-, T4- og TSH-nivået kan ha blitt økt av matinntak (feltmåltid på 750 kcal/ dag) like før blodprøvetaking. Det ble ikke loggført når den enkelte kadett spiste feltmåltidet, slik at enkelte kadetter kan ha spist under en time før blodprøvetakingen dag 6 og dermed påvirket hormonmålingene. Det optimale hadde vært at kadettene hadde minst én time med hvile før blodprøvetakingen, slik at fysisk aktivitet ikke påvirket hormonnivået. Dette lot seg ikke gjøre uten å innvirke for mye på programmet kadettene skulle igjennom under stridskurset. TSH- og tyreoideahormon-sekresjonen er pulserende i likhet med kjønnshormoner [165], og dermed kan konsentrasjonen av disse hormonene være avhengig av tidspunkt for blodprøvetaking.

Vi fant reduksjon i T3 uten endring i TSH, noe som ikke samsvarer med hemming av hypotalamus (reduert hypotalamus frigjøring av TRH). En mulig forklaring på at vi fant større reduksjon i T3 enn T4 kan være at T3 nedbrytes raskere enn T4 [4], eventuelt hemming av omdanningen av T4 til T3. Sistnevnte støttes av flere nyere studier som finner at matmangel via en NPY-avhengig mekanisme,

fører til lokale endringer i nivået av tyreoiderhormoner ved undertrykkelse av hypotalamus-hypofyseaksen [se 73 for oversikt;144;166].

En annen studie i nyere tid finner i tillegg at stress overstyrer den negative feedbacken av NPY på adrenal signalering [167], og dermed fører til økt sympatisk nerveaktivitet [166]. Studie finner at NA og NPY kreves for igangsetting av vasodilasjon ved lokal oppvarming av hud [168]. NPY er som tidligere beskrevet et av signalmolekylene som er foreslått å virke via GPR50 (se avsnitt 5.1.6 side 59), og NPY er tidligere vist å være økt under stridskurset (Per Kristian Opstad, personlig meddelelse 2014).

Endringene i tyreoiderhormoner i vår studie ligner det man har sett ved langvarig (flere uker) utsettelse for kalde omgivelser i flere tidligere feltstudier (kalt polar T3 syndrom) [106;157;169] og ved en eksperimentell studie [170]. Det er foreslått at disse endringene skjer uten direkte stimulering av hypofyse-tyreoideraksen, og at utsettelsen for kulde må være langvarig for å påvirke serum nivået av tyreoiderhormoner og TSH [157]. De underliggende mekanismene for effekten kulde har på tyreoider er ikke kjent [106]. Kadettene i vår studie var kun utsatt for kortvarig kulde, men man kan likevel ikke utelukke at dette kan være et bidrag til endringene i T3 og T4.

5.3 Kroppssammensetning

Vi fant at stress gav signifikant reduksjon i kroppsvekt, med hovedsakelig tap av fettmasse (FM) i både forsøk- og kontrollgruppen (Figur 25 og Tabell 6). Dette er i samsvar med tidligere funn [57] og skyldes sannsynligvis energiunderskudd (lite matinntak (750 kcal/dag) kombinert med høyt forbruk (6000 kcal/dag [57])). Økt inntak av ernæring siste dag av kurset gav som forventet ingen effekt på kroppssammensetningen sammenlignet med kontrollgruppen (Tabell 6). Endring i kroppssammensetning kan dermed ikke forklare forskjellen i kjernetemperatur mellom gruppene (Tabell 4 og Figur 21).

Kadettene hadde ikke noen reduksjon i skjelettmuskelmasse (SMM) i denne studien (Figur 25). Dette er i motsetning til en tidligere studie under stridskurset som observerer et tap på omtrent 6 % SMM. Dermed står tap av SMM for en større del av vektetapet enn vi fant i vår studie [57]. Vi fant at SMM tenderte til å øke ved tilførsel av ekstra mat, til tross for at de hadde lavere energiinntak enn forbruk (katabol tilstand). Dette tyder på at i) kadettene hadde tilstrekkelig med hvile mellom aktivitetene slik at muskulaturen fikk tid til å bygge seg opp igjen, ii) maten de fikk inneholdt nok proteiner til å bygge muskler eller iii) det er mulig å bygge muskler under aktivitet. Den observerte tendensen til forskjell i SMM mellom forsøk- og kontrollgruppen kan imidlertid også skyldes målefeil eller at forsøksgruppen hadde mer mageinnhold enn kontrollgruppen, siden InBody målingene er avhengig av standardiserte

forhold og kan påvirkes av ernæringsstatus og væskebalanse [121;122]. Alle kadettene fikk utdelt samme feltrasjon på 750 kcal/dag, uavhengig av kroppsbygning og hvilemetabolisme, og det var ikke kontroll på om hver enkelt kadett spiste hele den daglige feltrasjonen. Til sammen kan dette være med på å forklare de individuelle variasjoner i kroppssammensetning vist i denne studien.

Vårt funn støtter hypotesen om at kadettene har hatt lavere fysisk aktivitet under stridskurset de senere år, i overensstemmelse med Krigsskolens omjustering av stridskurset til å være mer rettet mot ledelsesutdanning. Studie finner at forbruket i 2005 var på omtrent 6000 kcal/dag [57], sammenlignet med 7-10000 kcal/dag på 70-, 80- og 90 tallet [34;63;103].

5.4 Hjerterefrekvens

Stress gav ingen målbar effekt på hjerterefrekvensen (HR) i noen av gruppene. Heller ikke økt inntak av ernæring siste dag av kurset gav noen effekt på HR sammenlignet med kontrollgruppen. Til tross for dette fant vi at det var en interaksjon mellom stress og ernæring (Figur 29), der forsøksgruppen som hadde tendens til lavest HR under kontrollforsøket i hvile samtidig var den gruppen som hadde tendens til økt HR under stressforsøket i hvile. Det var store individuelle variasjoner og overlappende standardavvik (Tabell 4). Alt i alt er eventuelle forskjeller i HR i denne studien for små til å ha noen avgjørende betydning for de observerte forskjellene i kjernetemperatur i denne studien.

5.5 Hematologiske endringer

Det er kjent at infeksjoner i kroppen kan føre til endringer i set-pointet og dermed kjernetemperaturen [4;47]. Det ble derfor foretatt blodprøveanalyser av kadettene ved endt stridskurs for å undersøke om kadettene hadde en infeksjon. Vi fant et klart fall i røde blodceller (RBC), reduksjon i hemoglobin (HGB) og hematokrit (HCT), samt endringer i immunparametere etter stridskurset. Dette er i samsvar med tidligere funn [34;125-127] og tyder på at det uspesifikke immunsystemet var økt og det spesifikke var redusert. Derimot fant vi ingen forskjell i hematologiske verdier mellom de to gruppene, og endringer i infeksjonsmarkører utelukkes å ha bidratt til forskjellen i kjernetemperatur mellom gruppene.

Fallet i RBC og HGB i denne studie samsvarer med endringene som er kjent å forekomme ved fysisk aktivitet [125-127;171]. Årsakene til reduksjonen er ikke kjent i detalj, men en fortyningseffekt på grunn av trening (sportsanemi), økt destruksjon av røde blodceller eller redusert syntese som følge av reduserte jernlagre, har vært foreslått. Det siste kan skyldes mangelfull ernæring. Samtidig er det kjent at levetiden til de røde blodcellene kan være nedsatt hos personer som trener mye [171]. I tillegg har det vært foreslått at økt nivå av adrenalin øker både osmotisk og mekanisk skjørhet hos de røde

blodcellene, slik at de kan være mer utsatt [125]. Adrenalin er som tidligere omtalt ikke målt under denne studien, men antas å være forhøyet, i tråd med målinger fra tidligere stridskurs.

5.6 Stridskurset som modell - utfordringer ved feltforsøk

Det var en utfordring at vi ikke kunne ha full styring under hele studien, noe som hadde vært optimalt for å få mest mulig standardiserte forhold. Det optimale hadde vært om vi kunne hatt kontroll på i) fysisk aktivitet på slutten av stridskurset, ii) tilførsel av daglig feltrasjon dag 6 hvor det ble tatt blodprøver, iii) utførelsen av kroppsanalysen med Inbody 720 og iv) dato for utførelse av kontrollforsøk. Kontrollforsøk og forsøksrom ble flyttet like før utførelse, og på grunn av skader og andre private årsaker måtte det utføres to kontrollforsøk. I denne studien hadde alle like forhold under selve stridskurset, men vi hadde ingen kontroll på hva kadettene gjorde i dagene før kontrollforsøket, noe som kan ha vært med å påvirke resultatene under kontrollforsøket. I tillegg ble kontrollforsøket utført ved to forskjellige tidspunkt, noe som kan ha bidratt til individuelle forskjeller.

Det ble ikke gjort noen detaljert loggføring av forskningsgruppen i denne studien med hensyn på hvilken dag den enkelte kadett falt fra eller hva som var detaljert årsak. Medisinsk ansvarlig lege ved Krigsskolen stod for dette. Kadettene som klarte å gjennomføre stridskurset i denne studien var sannsynligvis de som var best trent, hadde størst mestringstro og best fysisk form i likhet med det som har vært foreslått i tidligere studier [34;172;173]. Frafallet under stridskurset var omtrent like stort for begge grupper (Figur 16), og påvirket derfor sannsynligvis ikke resultatene i denne studien.

5.7 Konklusjon

Studien viser at stress påvirker både kjerne- og hudtemperatur. Nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur kan skyldes nedsatt set-point, men mest sannsynlig skyldes det økt vasodilatasjon som følge av endringer i konsentrasjonen av signalmolekyler og reseptorer på målcellene. Spesielt nedregulering og desensitivisering av adrenerge reseptorer og reduksjon i T3 ser ut til å være viktig. Ernæring kan ha bidratt til forskjellen i kjernetemperatur mellom gruppene, men effekten av fysisk aktivitet kan ikke utelukkes. Reduksjon i tyreoidhormoner T4 og T3 kan ha bidratt til nedsatt kjernetemperatur, men mest sannsynlig skyldes det en kombinasjon av flere faktorer. Forskjellen mellom gruppene med hensyn på redusert kroppsvekt, som hovedsakelig skyldes tap av fettmasse, kan ikke forklare et eventuelt nedsatt set-point. Derimot, kan tap av fettmasse ha bidratt til økt varmetap som følge av mindre isolasjon til omgivelsene. Forskjell i ernæring på 6000 kcal siste døgnet under stridskurset hadde ingen signifikant effekt for hjertefrekvensen. I feltstudier slik som denne studien, er det ikke mulig å ha 100 % kontroll på alle faktorene, og et større antall forsøkspersoner kunne muligens ha avdekket forskjeller som ikke kom frem i denne studien.

Observasjonene med redusert kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur kan innebære større fare for generell hypotermi. På den annen side kan økt hudtemperatur gi noe bedre beskyttelse mot frost- eller kuldeskader i ekstremiteter.

5.8 Videre studier

Det dukket opp flere spørsmål underveis som det hadde vært interessant å studere videre. Det hadde vært interessant å undersøke tilførsel av ekstra ernæring under hele stridskurset (6070 kcal/dag), og om det ville føre til at endringer i kjernetemperatur uteble helt. I tillegg hadde det vært interessant å utføre en studie der man ser på betydningen av forskjellig ernæringssammensetning på kjernetemperaturen, særlig om tømming av karbohydratlagrene kan bidra til nedsatt kjernetemperatur under fysisk aktivitet i kulde. Effekter av multifaktorielt stress på tyreoidehormoner, TSH, melatonin og katekolaminer har ikke blitt undersøkt i samme studie tidligere. Siden disse hormonene er vist å påvirke kroppens termoregulering, og i tillegg interagerer med hverandre, ville det vært en idé å utføre en feltstudie hvor man på samme tidspunkt undersøkte adrenerge reseptorer, katekolaminer og tyreoidahormoner for å bekrefte eller utelukke om det er noen sammenheng mellom nedsatt tyreoidehormonnivå og nedregulerte adrenerge reseptorer. En slik studie kunne komplimenteres med dyre- eller *in vitro*-studier. Samtidig hadde det vært ønskelig å undersøke om det er noen sammenheng mellom endringer i NPY eller VIP og nedsatt kjernetemperatur kombinert med økt hudtemperatur.

Det hadde vært av militær interesse å undersøke termoreguleringen ved nedsenkning i vann, spesielt under en myrhinderløype hvor soldatene samtidig blir utsatt for hard fysisk aktivitet, og om de klarer å holde høy nok aktivitet for å hindre nedsatt kjernetemperatur.

I denne studien var hovedfokus å undersøke endringer i termoregulering hos menn. Videre studier med undersøkelse av termoreguleringen hos kvinner under ekstrembelastning hadde vært interessant.

Referanser

- [1] D. F. Danzl, R. S. Pozos, and M. P. Hamlet, "Accidental hypothermia," in *Wilderness Medicine, Management of Wilderness and Environmental Emergencies*, Third Edition ed. P. S. Auerbach, Ed. Mosby, 1995, pp. 51-96.
- [2] E. Haug, O. Sand, and Ø. V. Sjaastad, *Menneskets fysiologi* Universitetsforlaget, 1992.
- [3] C. J. Gordon, "The therapeutic potential of regulated hypothermia," 18 ed 2001, pp. 81-89.
- [4] O. Sand, Ø. V. Sjaastad, and E. Haug, "Termoreguleringen," in *Menneskets fysiologi* Gyldendal Akademisk, 2001, pp. 466-476.
- [5] J. W. Castellani, A. J. Young, M. B. Ducharme, G. G. Giesbrecht, E. Glickman, and R. E. Sallis, "Prevention of cold injuries during exercise," www.medscape.com, 2010.
- [6] R. S. Pozos and D. F. Danzl, "Human physiological responses to cold stress and hypothermia," Falls Church, VA: Office of the Surgeon General, U. S. Army, 2002, pp. 351-382.
- [7] M. P. Hamlet, "Human cold injuries," in *Human Performance Physiology and Environmental Medicine at Terrestrial Extremes* Benchmark Press, INC, 1988, pp. 435-466.
- [8] L. G. C. Pugh, "Accidental hypothermia in walkers, climbers and campers: Report to the medical commission on accident prevention," *Brit Med J*, vol. 1, no. 5480, pp. 123-129, 1966.
- [9] L. G. C. Pugh, "Deaths from exposure on four inns walking competition, March 14-15, 1964," *Lancet*, vol. 1, no. 7344, pp. 1210-1212, 1964.
- [10] A. J. Young and J. W. Castellani, "Exertional fatigue and cold exposure: mechanisms of hiker's hypothermia," *Appl Physiol Nutr Metabol*, vol. 32, pp. 793-798, 2007.
- [11] G. G. Giesbrecht and A. M. Steinman, "Immersion into cold water," in *Wilderness medicine*, 6 ed Elsevier Mosby, 2012, pp. 143-170.
- [12] R. E. Sallis and M. C. Chassay, "Recognizing and treating common cold-induced injury in outdoors sports," *Med Sci Sport Exer*, vol. 31, pp. 1367-1373, 1999.
- [13] M. Gilbert, R. Busund, A. Skagseth, P. A. Nilsen, and J. P. Solbo, "Resuscitation from accidental hypothermia of 13,7 degrees C with circulatory arrest," *Lancet* 355: 375-376, 2000.
- [14] S. R. Bailey, A. H. Eid, S. Mitra, S. Flavahan, and N. A. Flavahan, "Rho kinase mediates cold-induced constriction of cutaneous arteries - Role of α_2C -adrenoceptor translocation," 2004, pp. 1367-1374.
- [15] J. Hassi and H. Rintamäki, "Effekten av kulde på ytelse og helse," in *Håndbok for arbeide i kulde* Oulu 2002: Thelma AS, 2002, pp. 29-49.
- [16] H. Færevik, "ColdWear prosjektet, Arbeid, helse, sikkerhet og yteevne i kulde," http://www.norskindustri.no/getfile.php/Dokumenter/PDF/ColdWear_Sintef3.pdf: SINTEF og Norsk industri, Teko, 2012.

- [17] F. Sauvet, C. Bourrilhon, Y. Besnard, A. Alonso, J.-M. Cottet-Emard, G. Sauourey, and J.-C. Launay, "Effect of 29-h total sleep deprivation on local cold tolerance in humans," *Eur J Appl Physiol*, vol. 112, pp. 3239-3250, 2012.
- [18] U. Danielsson, "Windchill and the risk of tissue freezing," *J Appl Physiol*, vol. 81, pp. 2666-2673, 1996.
- [19] W. R. Santee, M. J. Reardon, and K. B. Pandolf, "Modeling the physiological and medical effects of exposure to environmental extremes," in *Military Quantitative Physiology: Problems and Concepts in Military Operational Medicine* Office of The Surgeon General Department of the Army, United States of America and US Army Medical Department Center and School, Fort Sam Houston, Texas, 2012, pp. 39-72.
- [20] P. K. Opstad, "Sleipner/Kuldeskader," 2009.
- [21] W. R. Santee and W. T. Matthew, "Evaluation of the thermal environment," in *Military Quantitative Physiology: Problems and Concepts in Military Operational Medicine* Office of The Surgeon General Department of the Army, United States of America and US Army Medical Department Center and school, Fort Sam Houston, Texas, 2012, pp. 205-238.
- [22] S. F. Morrison and K. Nakamura, "Central neural pathways for thermoregulation (Review)," *Front Biosci*, vol. 16, pp. 74-104, 2011.
- [23] M. N. Sawka, J. W. Castellani, K. B. Pandolf, and A. J. Young, "Human adaptations to heat and cold stress," RTO-MP-076,2001.
- [24] L. Jansky, "Non-shivering thermogenesis and its thermoregulatory significance," *Biological reviews*, vol. 48, no. 1, pp. 85-132, 1973.
- [25] W. D. McArdle, F. I. Katch, and V. L. Katch, *Exercise physiology. Energy, nutrition, and human performance* Lea & Febiger, Philadelphia, 1991.
- [26] J. D. Hardy, "Body temperature regulation," 1980, pp. 1417-1456.
- [27] J. LeBlanc and C. G. Wilber, *Man in the cold*. Springfield, Illinois, USA: Charles C Thomas Publisher, 1975, pp. 1-195.
- [28] P. K. Opstad, "Adrenergic desensitization and alterations in free and conjugated catecholamines during prolonged strain, sleep and energy deficiency," *Biogenic Amines*, vol. 7, no. 6, pp. 625-639, 1990.
- [29] A. J. Young, J. W. Castellani, C. O'Brien, R. L. Shippe, P. Tikuisis, L. G. Meyer, L. A. Blanchard, J. E. Kain, B. S. Cadarette, and M. N. Sawka, "Exertional fatigue, sleep loss, and negative energy balance increase susceptibility to hypothermia," *J Appl Physiol*, vol. 85, pp. 1210-1217, 1998.
- [30] N. Charkoudian, "Mechanisms and modifiers of reflex induced cutaneous vasodilation and vasoconstriction in humans (Review)," *J Appl Physiol*, vol. 109, pp. 1221-1228, 2010.
- [31] S. Frank, N. el-Gamal, S. Raja, and P. Wu, "Alpha-adrenoceptor mechanisms of thermoregulation during cold challenge in humans," 5 ed 1996, pp. 627-631.
- [32] J. W. Castellani, M. N. Sawka, D. W. DeGroot, and A. J. Young, "Cold thermoregulatory responses following exertional fatigue," *Front Biosci*, vol. S2, pp. 854-865, June2010.

- [33] P. K. Opstad, "Biologiske rytmer og arbeidstider," Forsvarets forskningsinstitutt, FFI/Rapport-86/6002, 1986.
- [34] P. K. Opstad, "Medical consequences in young men of prolonged physical stress with sleep and energy deficiency," Forsvarets forskningsinstitutt, NDRE/PUBLICATION-95/05586, 1995.
- [35] W. F. Ganong, "Endocrine functions of the kidneys, heart, & pineal gland," in *Review of Medical Physiology*, 22 ed McGraw-Hill Companies, 2005, pp. 454-466.
- [36] K. Løvås, J. G. Cooper, T. Thorsen, H. Thordarson, and E. S. Husebye, "Døgnrytme til besvær," *Tidsskr Norske Laege*, vol. 123, no. 13-14, pp. 1858-1859, June 2003.
- [37] J. Grønli and R. Ursin, "Basale søvnmekanismer," *Tidsskr Norske Laege*, vol. 129, pp. 1758-1761, 2009.
- [38] K. Kräuchi, "The human sleep - wake cycle reconsidered from a thermoregulatory point of view," *Physiol Behav*, vol. 90, pp. 236-245, 2007.
- [39] K. Kräuchi and A. Wirz-Justice, "Circadian clues to sleep onset mechanisms," *Neuropsychopharmacology*, vol. 25, no. 5, pp. 92-96, 2001.
- [40] A. Cagnacci, K. Kräuchi, A. Wirz-Justice, and A. Volpe, "Homeostatic versus circadian effects of melatonin on core body temperature in humans," *J Biol Rhythms*, vol. 12, no. 6, pp. 509-517, 1997.
- [41] T. Reilly and J. Waterhouse, "Circadian aspects of body temperature regulation in exercise (Review)," *J Therm Biol*, vol. 34, pp. 161-170, 2009.
- [42] L. I. Crawshaw, K. Nagashima, T. Yoda, M. Nakamura, K. Tokizawa, and Y. Uchida, "Thermoregulation," in *Wilderness Medicine*, 6 ed Elsevier Mosby, 2012, pp. 104-116.
- [43] M. N. Sawka, C. B. Wenger, and K. B. Pandolf, "Thermoregulatory responses to acute exercise-heat stress and heat acclimation," in *Section 4: Handbook of Physiology: Environmental physiology*. M. Fregly and C. M. Blatteis, Eds. New York: Published for the American Physiological Society by Oxford University Press, 1996, pp. 157-186.
- [44] L. I. Crawshaw, "Thermoregulation," in *Wilderness Medicine, Management of Wilderness and Environmental Emergencies*, Third Edition ed. P. S. Auerbach, Ed. Mosby, 1995, pp. 38-50.
- [45] J. B. Guimarães, S. P. Wanner, S. C. Machado, M. R. M. Lima, L. M. S. Cordeiro, W. Pires, R. B. La Guardia, E. Silami-Garcia, L. O. C. Rodrigues, and N. R. V. Lima, "Fatigue is mediated by cholinergic receptors within the ventromedial hypothalamus independent of changes in core temperature," *Scand J Med Sci Spor*, vol. 23, pp. 46-56, 2013.
- [46] www.osterlie.net, "Nervesystemet i huden," 2013.
- [47] K. Nakamura and S. F. Morrison, "Central efferent pathways for cold- defensive and febrile shivering," *J Physiol*, 2011.
- [48] O. Sand, Ø. V. Sjaastad, and E. Haug, "Sirkulasjonssystemet," in *Menneskets fysiologi* Gyldendal Akademisk, 2001, pp. 316-317.
- [49] H. T. Hammel, D. C. Jackson, J. A. J. Stolwijk, J. D. Hardy, and S. B. Stromme, "Temperature regulation by hypothalamic proportional control with an adjustable set point," *J Appl Physiol*, vol. 18, pp. 1146-1154, 1963.

- [50] J. A. Boulant, "Neuronal basis of Hammel's model for set-point thermoregulation," *J Appl Physiol*, vol. 100, pp. 1347-1354, 2006.
- [51] C. Childs, "Human brain temperature: regulation, measurement and relationship with cerebral trauma: Part 1," *Brit J Neurosurg*, vol. 22 (4), pp. 486-496, 2008.
- [52] I. B. Mekjavic and O. Eiken, "Contribution of thermal and nonthermal factors to the regulation of body temperature in humans," *J Appl Physiol*, vol. 100, pp. 2065-2072, 2006.
- [53] A. Aakvaag, T. Sand, P. K. Opstad, and F. Fonnum, "Hormonal changes in serum in young men during prolonged physical strain," *Eur J Appl Physiol*, vol. 39, pp. 283-291, 1978.
- [54] R. Bahr, P. K. Opstad, J. I. Medbø, and O. M. Sejersted, "Strenuous prolonged exercise elevates resting metabolic rate and causes reduced mechanical efficiency," *Acta Physiol Scand*, vol. 141, pp. 555-563, 1991.
- [55] P. K. Opstad, A. H. Haugen, and C. E. Ærø, "Medisinsk utredning av en kadett som ikke var i stand til å fullføre stridskurset," FFI/Rapport-98/00902, 1998.
- [56] P. K. Opstad and R. Bahr, "Reduced set-point temperature in young men after prolonged strenuous exercise combined with sleep and energy deficiency," *Arct Med Res*, 1991.
- [57] R. W. Hoyt, P. K. Opstad, A.-H. Haugen, J. P. DeLany, A. Cymerman, and K. E. Friedl, "Negative energy balance in male and female rangers: effects of 7 d of sustained exercise and food deprivation," *Am J Clin Nutr*, vol. 83, pp. 1068-1075, 2006.
- [58] A. Aakvaag, Ø. Bentsdal, K. Quigstad, P. Walstad, H. Ronningen, and F. Fonnum, "Testosterone and testosterone binding globulin (TeBG) in young men during prolonged stress," *Int J Androl*, vol. 1, pp. 22-31, 1978.
- [59] P. K. Opstad, A. Aakvaag, and T. O. Rognum, "Altered hormonal response to short-term bicycle exercise in young men after prolonged physical strain, caloric deficit and sleep deprivation," *Eur J Appl Physiol*, vol. 45, pp. 51-62, 1980.
- [60] P. K. Opstad, D. Falch, O. Øktedalen, F. Fonnum, and R. Wergeland, "The thyroid function in young men during prolonged exercise and the effect of energy and sleep deprivation," *Clin Endocrinol*, vol. 20, pp. 657-669, 1984.
- [61] P. K. Opstad, "Alterations in the morning plasma levels of hormones and the endocrine responses to bicycle exercise during prolonged strain. The significance of energy and sleep deprivation.," *Acta Endocrinol*, 1991.
- [62] P. K. Opstad, "Circadian rhythm of hormones is extinguished during prolonged physical stress, sleep and energy deficiency in young men," *Eur J Endocrinol*, 1994.
- [63] H. L. Waldum and P. O. Huser, "Stress-reaksjoner under usedvanlig harde militærøvelser i fredstid," Norwegian Defence Medical Service 1974;1: 39-56, Oslo, Norway, 1974.
- [64] P. K. Opstad, "Virkninger av søvnmangel på soldater," Forsvarets forskningsinstitutt, (FFI),13/00712-1, 2013.
- [65] T. O. Rognum, F. Vartdal, K. Rodahl, P. K. Opstad, O. Knudsen-Baas, E. Kindt, and W. R. Withey, "Physical and mental performance of soldiers on high- and low-energy diets during prolonged heavy exercise combined with sleep deprivation," *Ergonomics*, vol. 29, pp. 859-867, 1986.

- [66] P. K. Opstad, R. Ekanger, M. Nummestad, and N. Raabe, "Performance, mood and clinical symptoms in men exposed to prolonged, severe physical work and sleep deprivation," *Aviation, Space and Environmental Medicine*, vol. 49, pp. 1065-1073, 1978.
- [67] K. Lange Andersen, Y. Løyning, J. D. Nelms, O. Wilson, R. H. Fox, and A. Bolstad, "Metabolic and thermal response to a moderate cold exposure in nomadic Lapps," *J Appl Physiol*, vol. 15, no. 4, pp. 649-683, 1960.
- [68] J. Leppäluoto and J. Hassi, "Human physiological adaptations to the arctic climate (Review)," *Arctic*, vol. 44, no. 2, pp. 139-145, 1991.
- [69] W. D. McArdle, F. I. Katch, and V. L. Katch, "Energy value of food," in *Exercise Physiology*, Third Edition ed Lea & Febiger, Philadelphia/London, 1991, pp. 85-91.
- [70] K. R. Norum, C. Helle, K. Bjerkan, S. F. Drøpping, O. Rønsen, P. Hemmersbach, S. B. Strømme, S. O. Kolset, and H. Tomten, "Mat og prestasjon - Kostholdsanbefalinger for idrettsutøvere," Sosial- og Helsedirektoratet, IS-1132, 2003.
- [71] S. M. Pasiakos, "Reducing the physiological stress of modern warfare: the role of nutritional science in the U.S. Military," Meeting abstract 730.4, April 2010 ed 2010.
- [72] S. J. Montain and A. J. Young, "Diet and physical performance (Review paper, U.S. Army Research)," *Appetite*, vol. 40, pp. 255-267, 2003.
- [73] I. Taberean, B. Morrison, M. C. Marcondes, T. Bartfai, and B. Conti, "Hypothalamic and dietary control of temperature-mediated longevity (Review)," *Ageing Res Rev*, vol. 9 (2010), pp. 41-50, 2010.
- [74] L. Landsberg and J. B. Young, "Fasting, feeding and regulation of the sympathetic nervous system," *New Engl J Med*, vol. 298, no. 23, pp. 1295-1301, 1978.
- [75] R. Bahr, "Excess postexercise oxygen consumption - magnitude, mechanisms and practical implications," *Acta Physiol Scand*, vol. 144, pp. 1-70, 1992.
- [76] J. W. Castellani, A. J. Young, J. E. Kain, A. Rouse, and M. N. Sawka, "Thermoregulation during cold exposure: effects of prior exercise," *J Appl Physiol*, vol. 87, pp. 247-252, 1999.
- [77] J. W. Castellani, D. A. Stulz, D. W. Degroot, L. A. Blanchard, B. S. Cadarette, B. C. Nindl, and S. J. Montain, "Eighty-four hours of sustained operations alter thermoregulation during cold exposure," *Med Sci Sport Exer*, pp. 175-181, 2002.
- [78] N. Romeijn, I. Verweij, A. Koeleman, A. Mooij, R. Steimke, J. Virkkala, Y. Van der Werf, and E. J. W. Van Someren, "Cold hands, warm feet: sleep deprivation disrupts thermoregulation and its association with vigilance," *Sleep*, vol. 35, no. 12, pp. 1673-1683, 2012.
- [79] I. Holmèr, "Effekten av kulde på menneskets termoregulering," in *Håndbok for arbeid i kulde* Oulu: Thelma AS, 2002, pp. 19-27.
- [80] H. T. Hammel, "Terrestrial animals in cold: recent studies of primitive man," In Dill, D.B, E.F. Adolph and C.G. Wilbers, eds., *Handbook of Physiology*, Section 4, Adaptions to the Environment ed Baltimore: Waverly Press, 1964, pp. 413-434.
- [81] P. K. Opstad, T. Oftedal, S. Martini, A.-H. Haugen, B. Jonsen, K. K. Skrede, P. Wiik, M. Plassen, and J. Blanch, "Soldaters varmetoleranse i "casualty-bag"," Forsvarets forskningsinstitutt (FFI, FFI/RAPPORT-91/6009, 1991.

- [82] J. E. Silva, "Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance," *Thyroid*, vol. 5, no. 6, pp. 481-492, 1995.
- [83] K. Kräuchi and T. Deboer, "Body temperatures, sleep, and hibernation," in *Principles and practice of sleep medicine*, 5 ed. M. H. Kryger, T. Roth, and W. C. Dement, Eds. 2011, pp. 323-334.
- [84] A. J. Young and J. W. Castellani, "Exertion-induced fatigue and thermoregulation in the cold (Review)," *Comp Biochem Physiol*, vol. Part A 128, pp. 769-776, 2001.
- [85] R. L. McCauley, D. J. Smith, M. C. Robson, and J. P. Heggors, "Frostbite and other cold-induced injuries," in *Wilderness Medicine, Management of Wilderness and Environmental Emergencies*, 3 ed Mosby, 1995, pp. 129-145.
- [86] W. F. Ganong, "Central regulation of visceral function," in *Review of Medical Physiology*, 22 ed McGraw-Hill Companies, 2005, pp. 232-255.
- [87] K. Nakamura, "Central circuitries for body temperature regulation and fever (Review)," *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. vol. 301 no. 5 R1207-R1228 Nov.2011.
- [88] J. W. Castellani, A. J. Young, D. W. Degroot, D. A. Stulz, B. S. Cadarette, S. G. Rhind, J. Zamecnik, P. N. Shek, and M. N. Sawka, "Thermoregulation during cold exposure after several days of exhaustive exercise," *J Appl Physiol*, vol. 90, pp. 939-946, 2001.
- [89] H. A. M. Daanen, "Finger cold-induced vasodilation: a review," *Eur J Appl Physiol*, vol. 89, no. 5, pp. 411-426, 2003.
- [90] T. Lewis, "Observations upon the reactions of the vessels of the human skin to cold," *Heart*, vol. 15, pp. 177-208, 1930.
- [91] S. S. Cheung and H. A. M. Daanen, "Dynamic adaptation of the peripheral circulation to cold exposure," *The Official Journal of the Microcirculatory Society*, vol. 19, pp. 65-77, 2011.
- [92] L. Freer and C. H. E. Imray, "Frostbite," in *Wilderness Medicine*, 6 ed Elsevier Mosby, 2012, pp. 181-201.
- [93] A. J. Young, "Homeostatic responses to prolonged cold exposure: human cold acclimatization," In Fregly, M.J and C.M. Blatteis eds., *Handbook of Physiology, Section 4, Environmental Physiology* ed New York: Oxford University Press, 1996, pp. 419-438.
- [94] J. W. Castellani and D. W. Degroot, "Human endocrine responses to exercise-cold stress," in *Hormones and Cold Stress* 2005, pp. 499-511.
- [95] H. T. Hammel, R. W. Eisner, K. L. Andersen, P. F. Scholander, C. S. Coon, A. Medina, L. Strozzi, F. A. Milian, and R. J. Hock, "Thermal and metabolic responses of the Alacalf Indians to moderate cold exposure," Wright Air Development Technical report, Dayton, OH, 1961.
- [96] H. T. Hammel, R. W. Elsner, D. H. L. Messurier, H. T. Andersen, and F. A. Milian, "Thermal and metabolic responses of the Australian aborigine exposed to moderate cold in summer," *J Appl Physiol*, vol. 14, pp. 605-615, 1959.
- [97] P. F. Scholander, H. T. Hammel, D. H. LeMessurier, and J. Steen, "Cold adaptations in Australian aborigines," *J Appl Physiol*, vol. 13, pp. 211-218, 1958.

- [98] H. A. M. Daanen, J. Koedam, and S. S. Cheung, "Trainability of cold induced vasodilatation in fingers and toes," *Eur J Appl Physiol*, vol. 112, pp. 2595-2601, 2012.
- [99] P. Laurberg, S. Andersen, and J. Karmisholt, "Cold adaptations and thyroid hormone metabolism," *Hormones and metabolic research*, vol. 37, no. 9, pp. 545-549, Mar.2005.
- [100] A. C. Bianco, A. L. Maia, W. S. d. Silva, and M. A. Christoffolete, "Adaptive activation of thyroid hormone and energy expenditure," *Bioscience Reports*, vol. 25, pp. 191-208, 2005.
- [101] J. Mittag, D. J. Lyons, J. Sällströms, M. Vujovic, and S. Dudazy-Gralla, "Thyroid hormone is required for hypothalamic neurons regulating cardiovascular functions," *J Clin Invest*, vol. 123, no. 1, pp. 509-516, 2013.
- [102] K. E. Friedl, R. J. Moore, R. W. Hoyt, L. J. Marchitelli, L. E. Martinez-Lopez, and E. Wayne Askew, "Endocrine markers of semistarvation in healthy lean men in a multistressor environment," *J Appl Physiol*, vol. 88, pp. 1820-1830, 2000.
- [103] P. K. Opstad and A. Aakvaag, "The effect of a high calory diet on hormonal changes in young men during prolonged physical strain and sleep deprivation," *Eur J Appl Physiol*, vol. 46, pp. 31-39, 1981.
- [104] M. Schimmel and M. Utiger, "Thyroidal and peripheral production of thyroid hormones (Review)," *Annals of Internal Medicine*, vol. 87, pp. 760-768, 1977.
- [105] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walters, "Control of Gene Expression," in *Molecular Biology of The Cell*, Fifth Edition ed United States of America: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2008, pp. 411-499.
- [106] J. Leppäluoto, T. Pääkkönen, I. Korhonen, and J. Hassi, "Pituitary and autonomic responses to cold exposures in man (Review)," *Acta Physiol Scand*, vol. 184, pp. 255-264, 2005.
- [107] B. Alberts, A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walters, *Molecular Biology of The Cell*, Fifth Edition ed. United States of America: Garland Science, Taylor & Francis Group, 2008.
- [108] C. L. Lim, C. Byrne, and J. K. Lee, "Human thermoregulation and measurement of body temperature in exercise and clinical settings (Review article)," *Ann Acad Med Singapore*, vol. 37, pp. 347-353, 2008.
- [109] J. Corbit, "Behavioral regulation of hypothalamic temperature," *Sci J*, pp. 166-256, 1969.
- [110] J. Mead and C. L. Bonarito, "Reliability of rectal temperatures as index of internal body temperature," *J Appl Physiol*, 1949.
- [111] D. A. Goodman, J. Diaz, B. S. Cadarette, and M. N. Sawka, "Soldier protection demonstration III-field testing and analyses of personal cooling system for heat mitigation," *Eur J Appl Physiol*, 2008.
- [112] O. A. Bjørka, "Monitorering av kjernetemperatur og puls med CorTemp og NORMANS," Forsvarets forskningsinstitutt/ Norwegian Defence Research Establishment (FFI),2007.
- [113] D. Wilkinson, J. Carter, V. Richmond, S. Blacker, and M. Rayson, "The effect of cold water ingestion on gastrointestinal pill temperature," *Med Sci Sport Exer*, vol. 40 (3), pp. 523-528, 2008.

- [114] H.-C. Gunga, A. Werner, F. Sattler, and J. Koch, "Real-time physiological and psychophysiological status monitoring," NATO & RTO, RTO-TR-HFM-132, July 2010.
- [115] N. L. Ramanathan, "A new weighting system for mean surface temperature of the human body," *J Appl Physiol*, 1964.
- [116] P.-O. Åstrand and K. Rodahl, "Evaluation of physical work capacity on the basis of tests," in *Textbook of Work Physiology, Physiological Bases of Exercise* McGraw-Hill Book Company, 1977, pp. 331-365.
- [117] R. Bahr, J. Hallén, and J. I. Medbø, "Testing av aerob energiomsetning," in *Testing av idrettsutøvere* Universitetsforlaget, 1991, pp. 30-60.
- [118] P.-O. Åstrand and I. Ryhming, "A Nomogram for calculation of aerobic capacity (physical fitness) from pulse rate during submaximal work," *J Appl Physiol*, vol. 7, pp. 218-221, 1954.
- [119] J. F. Patton, J. A. Vogel, and R. P. Mello, "Evaluation of maximal predictive cycle ergometer test of aerobic power," *Eur J Appl Physiol*, vol. 49, no. 1, pp. 131-140, 1982.
- [120] L. F. Andersen, "Metoder for å måle kosthold, energiforbruk og kroppssammensetning," in *Idrettsernæring*, 1. utgave, 1. opplag ed Oslo: Gyldendal Norske Forlag og Olympiatoppen, 2011, pp. 11-26.
- [121] K. Holteberget, "Validering av måleinstrumenter for kroppssammensetning, Validitet og rehabilitet for bioelektrisk impedans analyse og hudfoldsmåling for måling av kroppssammensetning hos militært personell," Seksjon for idrettsmedisinske fag, Norges idrettshøgskole, Masteroppgave i idrettsvitenskap, 2010.
- [122] V. H. Heyward and D. R. Wagner, *Applied body composition assessment.*, Second edition ed Human Kinetics, 2004.
- [123] S. B. Heymsfield, T. G. Lohman, Z. Wang, and S. B. Going, "Study of Body Composition: An Overview," in *Human Body Composition*, Second Edition ed United State of America: Human Kinetics, 2005, pp. 3-14.
- [124] B. A. Brown, "Hematopoiesis," in *Hematology: Principles and Procedures*, 6 ed Philadelphia, London: Lea & Febiger, 1993, pp. 35-82.
- [125] R. Lindemann, R. Ekanger, P. K. Opstad, M. Nummestad, and R. Ljosland, "Hematological Changes in Normal Men During Prolonged Severe Exercise," *Am Correct Ther J*, vol. 32, pp. 107-111, 1978.
- [126] A. Bøyum, P. Wiik, E. Gustavsson, O. P. Veiby, J. Reseland, A.-H. Haugen, and P. K. Opstad, "The effect of strenuous exercise, calorie deficiency and sleep deprivation on white blood cells, plasma immunoglobulins and cytokines," *Scand J Immunol*, vol. 43, pp. 228-235, 1996.
- [127] H. G. Nielsen, P. K. Opstad, and T. Lyberg, "LeuCAM and reactive oxygen species during long-term exercise combined with sleep and energy deficiency," *J Am Coll Sport Med*, pp. 275-282, 2006.
- [128] B. S. Lundeland, "Inflammatory responses in stress and trauma - Impact on Toll-like receptor 4 signaling," Institutt for klinisk medisin, Universitetet i Oslo, 2012.
- [129] B. Lundeland, Y. Gundersen, P. K. Opstad, I. Thrane, Y. Zhang, R. W. Olausson, and P. Vaagenes, "One Week of multifactorial high-stress military ranger training affects Gram-negative signaling," *Scand J Clin Lab Inv*, pp. 1-8, 2012.

- [130] K. Andresen, "Immunologi for masterstudenter 2011, Antistoffer produsert i kroppen, Immunoassay og feilkilder, Antistoffer produsert for bruk i immunoassay," Master i biomedisin, Emne 3, HIOA, 2012: 2012.
- [131] K. Andresen, "Immunoassay, Master i Biomedisin, Emne 3, HIOA," Master i biomedisin, Emne 3, HIOA, 2012: 2012.
- [132] M. Harboe and J. B. Natvig, "Antigen-antistoff reaksjon og tilsvarende immunologiske teknikker," in *Medisinsk immunologi* Stiftelsen medisinsk immunologi, 1990, pp. 102-106.
- [133] A. Mayers, "Multivariate Analyses," in *Introduction to statistics and SPSS in psychology [electronisk ressurs]*, XIII ed Harlow:Pearson Education, 2013, pp. 318-361.
- [134] J. Pallant, "Multivariate analysis of variance," in *SPSS Survival Manual*, 4 ed Allan & Unwin Book Publisher, Australia, 2010, pp. 283-296.
- [135] E. Skovlund and M. Bretthauer, "Kliniske studier," in *Epidemiologiske og kliniske forskningsmetoder*, 1 ed Oslo: Gyldendal Norsk Forlag/Gyldendal Akademisk, 2007, pp. 285-301.
- [136] T. S. Thoresen, *Statistikk for laboratoriet*, 2 ed. Tromsø: Lundblad Media AS, 2011, pp. 3-272.
- [137] S. Holm and B. R. Olsen, "Etikk i menneske- og dyreforsøk," in *Forskning i medisin og biofag*, 2. utgave, 1. opplag ed Gyldendal Norsk Forlag AS, 2008, pp. 90-114.
- [138] M. Veierød and A. Hjartåker, "Tillatelser og andre formelle godkjenninger," in *Epidemiologiske og kliniske forskningsmetoder*, 1. utgave, 1 opplag ed Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS, 2007, pp. 169-182.
- [139] K. W. Ruyter, R. Førde, and J. H. Solbakk, "Medisinsk og helsefaglig forskningsetikk," 2 ed Gyldendal akademisk, 2007, pp. 182-236.
- [140] J. Pallant, *SPSS Survival manual*, 4 ed Allan & Unwin Book Publisher, Australia, 2010, pp. 1-345.
- [141] P. N. Ainslie, I. T. Campell, K. N. Frayn, S. M. Humphreys, D. P. M. MacLaren, and T. Reilly, "Physiological, metabolic, and performance implications of a prolonged hill walk: influence of energy intake," *J Appl Physiol*, vol. 94, pp. 1075-1083, 2003.
- [142] I. A. Macdonald, T. Bennet, and R. Sainsbury, "The effect of a 48h fast on the thermoregulatory responses to graded cooling in man," *Clin Sci*, vol. 67, pp. 445-452, 1984.
- [143] A. Soare, R. Cangemi, D. Omodei, J. O. Holloszy, and L. Fontana, "Long-term calorie restriction, but not endurance exercise lowers core body temperature in humans," *Aging*, vol. 3, no. 4, pp. 374-379, 2011.
- [144] T. Bartfai and B. Conti, "Molecules affecting hypothalamic control of core body temperature in response to caloric intake (Oversiktsartikkel)," *Frontiers in Genetics*, vol. 3, Article 184 Oct.2012.
- [145] J. W. Castellani, J. P. DeLany, C. O'Brien, R. W. Hoyt, W. R. Santee, and A. J. Young, "Energy expenditure in men and women during 54 h of exercise and caloric deprivation," *J Am Coll Sport Med*, pp. 894-900, 2006.

- [146] P. K. Opstad and A. Aakvaag, "The effect of sleep deprivation on plasma levels of hormones during prolonged physical strain and calorie deficiency," *Eur J Appl Physiol*, vol. 51, pp. 97-107, 1983.
- [147] E. A. M. Gale, T. Bennett, J. Hilary Grenn, and I. A. Macdonald, "Hypoglycemia, hypothermia and shivering in man," *Clin Sci*, vol. 61, pp. 463-469, 1981.
- [148] A. R. Scott, I. A. Macdonald, T. Bennett, and R. B. Tattersall, "Abnormal thermoregulation in diabetic autonomic neuropathy," *Diabetes*, vol. 37, pp. 961-968, 1988.
- [149] C. O'Brien, J. W. Castellani, and A. J. Young, "Exertional fatigue alters cold-induced vasodilation," 31 ed 1999, p. Supplement abstract 894.
- [150] G. P. Kenny, A. A. Chen, B. A. Nurbakhsh, P. M. Denis, C. E. Proulx, and G. G. Giesbrecht, "Moderate exercise increases postexercise thresholds for vasoconstriction and shivering," *J Appl Physiol*, vol. 85, no. 4, pp. 1357-1361, 1998.
- [151] M. A. Kolka, B. J. Martini, and R. S. Elizondo, "Exercise in a cold environment after sleep deprivation," *Eur J Appl Physiol*, vol. 53, pp. 282-285, 1984.
- [152] A. J. Young, S. R. Muza, M. N. Sawka, R. R. Gonzalez, and K. B. Pandolf, "Human thermoregulatory responses to cold air are altered by repeated cold water immersion," *J Appl Physiol*, vol. 60, pp. 1542-1548, 1986.
- [153] W. Ramadan, A. Marsili, P. R. Larsen, A. M. Zavacki, and J. E. Silva, "Type 2 iodothyronine 5'deiodinase (D2) in skeletal muscle of C57BI/6 mice. II. Evidence for a role of D2 in the hypermetabolism of thyroid hormone receter α -deficient mice," *Endocrinology*, vol. 152, no. 8, pp. 3093-3102, 2011.
- [154] H. A. Daanen and J. D. Layden, "Reply to A.D. Flouris and S.S Cheung reply letter regarding "cold-induced vasodilation"," *Eur J Appl Physiol*, vol. 108, pp. 215-216, 2010.
- [155] N. Sawasaki, S. Iwase, and T. Mano, "Effect of skin sympathetic response to local or systemic cold exposure on thermoregulatory function in humans," *Auton Neurosci-basic*, vol. 87, pp. 274-281, 2001.
- [156] G. Mazzoccoli, A. Giuliani, S. Carughi, A. De Cata, F. Puzzolante, M. La Viola, N. Urbano, F. Perfetto, and R. Tarquini, "The hypothalamic-pituitary-thyroid axis and melatonin in humans: Possible interactions in the control of body temperature," *Neuroendocrinology Letters*, vol. 25, no. 5, pp. 368-372, 2004.
- [157] T. Pääkkönen and J. Leppäluoto, "Cold exposure and hormonal secretion: A review," *Int J Circumpol Heal*, vol. 61, pp. 265-276, 2000.
- [158] G. Savourey, A. L. Vallerand, and J. H. M. Bittel, "General and local adaptation after a ski journey in a severe arctic environment," *Eur J Appl Physiol*, vol. 64, pp. 99-105, 1992.
- [159] J. W. Castellani, A. J. Young, M. N. Sawka, and K. B. Pandolf, "Human thermoregulatory responses during serial cold-water immersions," *J Appl Physiol*, vol. 85, no. 1, pp. 204-209, 1998.
- [160] D. A. Bechtold, A. Sidibe, B. R. C. Saer, J. Li, L. E. Hand, E. A. Ivanova, V. M. Darras, J. Dam, R. Jockers, S. M. Luckman, and A. S. I. Loudon, "A role of the melatonin-related receptor GPR50 in leptin signaling, adaptive thermogenesis, and torpor," *Curr Biol*, vol. 22, pp. 70-77, 2012.

- [161] A. Sidibe, A. Mullier, P. Chen, M. Barconcini, J. A. Boutin, P. Delagrangé, V. Prevot, and R. Jockers, "Expression of the orphan GPR protein in rodent and human dorsomedial hypothalamus, tancytes and median eminence," *J Pineal Res*, vol. 48, pp. 263-269, 2010.
- [162] S. J. Swoap, "Thermoregulation: An orphan receptor finds its way in the cold," *Curr Biol*, vol. 22, no. 1, R17 2011.
- [163] P. K. Opstad, "The hypothalamo-pituitaryregulation of androgen secretion in young men after prolonged physical stress combined with energy and sleep deprivation," *Acta Endocrinol*, vol. 127, pp. 231-236, 1992.
- [164] J. Palmbald, L. Levi, A. Burger, A. Melander, U. Westgren, H. v. Schenck, and G. Skude, "Effects of total energy withdrawal (fasting) on the levels of growth hormone, thyrotropin, cortisol, adrenaline, noradrenaline, T4, T3, and rT3 in healthy males," *Acta Med Scand*, vol. 201, pp. 15-22, 1977.
- [165] R. S. Swerdloff and D. Heber, "Endocrine control of testicular function from birth to puberty," in *The Testis*. H. Burger and D. de Kretser, Eds. New York: Raven Press, 1981.
- [166] K. R. Vella, P. Ramadoss, F. S. Lam, J. C. Harris, F. D. Ye, P. D. Same, N. F. O'Neill, E. Marstos-Flier, and A. N. Hollenberg, "NPY and MC4R signaling regulate thyroid hormone levels during fasting through both central and peripheral pathways," *Cell Metab*, vol. 14, no. 6, pp. 780-790, 2011.
- [167] Q. Wang, M. Wang, and M. Whim, "Neuropeptid Y gates a stress-induced, long-lasting plasticity in the sympathetic nervous system," *J Neurosci*, vol. 33, no. 31, pp. 12705-12717, 2013.
- [168] G. J. Hodges and P. A. Sparks, "Noradrenaline and neuropeptide Y contribute to initial, but not sustained, vasodilatation in response to local skin warming in humans," *Experimental Physiology*, vol. 99, pp. 381-392, 2014.
- [169] H. L. Reed, K. D. Burman, K. M. Shakir, and J. T. O'Brian, "Alterations in the hypothalamic-pituitary-thyroid axis after prolonged residence in Antarctica," 1 ed 1986, pp. 55-65.
- [170] G. Savourey, J.-P. Caravel, B. Barnavol, and J. H. M. Bittel, "Thyroid hormone changes in cold air environment after local cold acclimation," *J Appl Physiol*, vol. 76, no. 5, pp. 1963-1967, 1994.
- [171] S. B. Strømme and B. Kaasa, "Årsaker til anemi, fysisk aktivitet, kosthold og ernæring," Norges idrettshøyskole, vår 2001: 2001.
- [172] Y. Gundersen, B. Lundeland, I. Thrane, P. K. Opstad, and P. Vaagenes, "Markører for overbelastning under en femdagers fysisk krevende militærøvelse," Forsvarets forskningsinstitutt (FFI),FFI-rapport 2008/01089, May2008.
- [173] I. Birkeland, "Mestring og biologiske markører på belastning: Effekten av generell mestringstil og militært personells reaksjoner på en krevende øvelse," Profesjonsstudie i Psykologi, Universitetet i Bergen,Hovedoppgave, 2009.
- [174] BIPM, "The international system of units (SI)," BIPM, 2013.
- [175] NORIP, "Referanseverdier," 2003.
- [176] Først medisinsk laboratorium, "Blåboka - Referanseområde," 2005.

Appendix

Liste over vedlegg

Appendix A	Individuelle persondata
Appendix B	Materiale- og utstyrslister
Appendix C	Metoder og fremgangsmåter
Appendix D	Informasjonsskriv, samtykkeerklæring og protokoll
Appendix E	Referanseverdier (NORIP)
Appendix F	Internasjonale enheter for energi i SI-systemet
Appendix G	Enkeltresultat for kroppstemperatur og hjerterefrekvens

Appendix A

A.1 Individuelle persondata

Tabell- 1 Individuelle data før Krigsskolens Stridskurs.

Gruppe (nr)	Subjekt (nr)	Alder (år)	Kroppsvekt (kg)	Høyde (cm)	BMI, beregnet (kg/m ²)
1	1	23	71,2	173	23,8
	2	23	69,7	169	24,4
	4	21	82,0	185	24,0
	5	21	82,8	184	24,5
	7	25	71,1	177	22,7
	10*	31	69,9	168	24,8
	Gj.snitt	24,0	74,5	176	24,0
Stdav	3,7	6,2	7,3	0,7	
2	11	27	84,9	183	25,4
	12	25	72,9	182	22,0
	13	29	78,2	179	24,4
	15*	28	83,4	180	25,7
	16	25	83,2	190	23,0
	18	25	79,4	176	25,6
	19	23	79,8	175	26,1
Gj.snitt	26,0	80,3	180,7	24,6	
Stdav	2,1	4,1	5,0	1,5	
1 og 2	Gj.snitt	25	78	179	24
	Stdav	3,0	5,8	6,4	1,2

*Kvinne. Det er ikke skilt mellom kjønn i denne studien. Optimalt skulle nr. 10 og nr. 15 vært tatt ut av resultatene, men på grunn av allerede lite antall forsøkspersoner er de ikke tatt ut. Totalt n = 13: Gruppe 1 = kontrollgruppen, n = 6 og gruppe 2 = forsøksgruppen, n = 7.

Appendix B Materiale- og utstyrslister

B.1 Kosttilskudd

Tabell- 2 Ekstra ernæring gitt til forsøksgruppen (FG) det siste døgnet under stridskurset 2012. Det ble gitt ~6070 kcal/dag 6 ekstra energi til FG fordelt over 6 måltider (totalt 6820 kcal) inkludert daglig feltrasjon/basisdiett). Årsaken til at ernæringen ble fordelt over flere måltider er at det er under tidligere studier er observert svekket glukosetoleranse hos kadettene, hovedsakelig pga. hard og langvarig fysisk belastning, og redusert volum av magesekken [34].

Tidspunkt (klokkeslett)	Tilført ernæring	
	Type mat	Antall kalorier (kcal)
05:00	Biff	500
	Energidrikk	175
	Peanøtter	510
	Rosiner	130
	Totalt	1315
14:00	Rislunsj	200
	Energidrikk	175
	Peanøtter	510
	Rosiner	130
	2 brødsiver	160
	Ost	120
Totalt	1295	
18:00	1/2 sjokoladeplate	550
	Peanøtter	510
	Energidrikk	175
	Totalt	1235
23:00	Kjøttkaker	633
	Energidrikk	175
	Totalt	808
03:00	1/2 sjokoladeplate	550
	Peanøtter	191
	2 brødsiver	160
	Leverpostei	270
	Totalt	1171
12:00	Biff	500
	Energidrikk	175
	Peanøtter	191
	Rosiner	130
	Totalt	996
Totalt tilført ernæring (kcal)		6820

Den internasjonale enheten for energi i SI-systemet ("International System og Units") er joule (J) [174]. For å omdanne kilokalorier (kcal) til kilojoule (kJ) ganger man kcal med en faktor på 4,2 [69].

B.1.1 Daglig feltmålt stridskurs 2012

I 2012 var feltrasjonen på 750 kcal/dag. Detaljert oversikt er vist i informasjonsskrivet fra Krigsskolen og Figur- 1.



FYFO
KRIGSSKOLEN



Dato: 03.06.2012

FELTMÅLTID SK 2012

Basismåltid – 750 kcal per kadett

1. Knekkebrød (wasa sandwich cream cheese & french herbs)
 - 1 pakke
 - 70 kcal per pakke = 70 kcal per kadett
2. Knekkebrød (wasa sandwich brunost)
 - 1 pakke
 - 80 kcal per pakke = 80 kcal per kadett
3. Sportsdrikk, Gimsøy
 - 1 pakke
 - 35 kcal per 100 ml drikke (0,5 l) = 175 kcal = 175 kcal per kadett
4. Fiskejuice (Smart Fish)
 - 200 ml
 - 135 kcal x 1 boks = 135 kcal per kadett
5. Laks
 - 1 pakke, 20 gram
 - 217 kcal per 100 gram
 - 40 kcal per pakke x 1 pakke = 40 kcal per kadett
6. Makrell
 - 1 pakke, 20 gram
 - 250 kcal per 100 gram
 - 50 kcal per pakke x 1 = 50 kcal per kadett
7. Gullsalami
 - 1 pakke
 - 400 kcal per 100 gram = 400 kcal per kadett

Bjørnar Dullum 03/06-2012

Sjef fysisk fostring
Major Bjørnar Dullum
0510.9490 / 23099490 / 93283819
bdullum@online.no



Figur- 1 Feltrasjon under Krigsskolens stridskurs 2012. Inneholder omtrent 750 kcal/dag.

B.2 Utstysrliste

B.2.1 Biokjemisk måling av tyreoideahormoner

- Blodprøveglass for serum, 10 ml (Vacuette, greiner-bio-one, Østerrike)
- Blodprøvestativ
- Prøvetakingsutstyr (kanyler, stasebånd, vattdott, plasterteip og desinfeksjonsmiddel; ferdig fuktete sprit kompresser (Vitrex Medical A/S, Danmark)).
- Plastrør (4,5 ml) med kork
- Klistrelapper merket med forsøksnummer og kadett nummer
- Kjølesentrifuge (Beckman Tabeltop centrifuge, model TJ-6RS, Spinco division, California, USA)
- Tørris
- Fryser (-20 °C) (Simens, Skiafrost electrical, Tyskland)
- Thyrotropin (TSH) Test System, produkt kode 325-300 (Accu-Bind ELISA Microwells, Monobind Inc. Lake Forest, CA 92630, USA)

- Total Triiodothyronine (tT3) test system, produkt kode 125-300 (Accu-Bind ELISA Microwells, Monobind Inc. Lake Forest, CA 92630, USA)
- Total Thyroxine (tT4) Test system, produkt kode 325-300 (Accu-Bind ELISA Microwells, Monobind Inc. Lake Forest, CA 92630, USA)
- Plastbeholder for vaskebuffer
- Pipetter for 25 µl, 50 µl, 350 µl, 1 ml
- Multipipette (BIOHIT), 50-1200 µl og 10-300 µl med tilhørende pipettespisser
- Mikroplatevaskemaskin (ATLANTIS Microplate Washer, ASYS HITECH, Eugendorf, Østerrike)
- Mikroplateleser (Magellan, Tecan – Sunrise remote F039300, Østerrike) med 450 nm og 620 nm bølgelengde absorban kapasitet
- Stoppeklokke
- Hansker
- Reagenskammer (Reagent Reservoirs 50 ml fra Thermo Scientific)

B.2.2 Hematologiske tester

- EDTA glass, 4 ml (Vacuette, greiner-bio-one, Østrike)
- Blodprøvestativ
- Prøvetakingsutstyr (kanyler, stasebånd, plasterteip, vattdott og desinfeksjonsmiddel; ferdig fuktete sprir kompresser (Vitrex Medical A/S, Danmark))
- Automatisk hematologimaskin (Advia 60, Bayer Helthcare, Tarrytown, NY, USA)

B.2.3 Måling av kjerne- og hudtemperatur

- 1200 series Squireel meter/ logger (type 1021, serie nr. KA9649001, Grant Instruments, England)
- 1000 series Squireel meter/ logger (type 1031, serie nr. EL-6606, Eltek, England)
- Squirrel meter/logger, Eltek (SQ32-2U/8U/2L/1HR, EL-1605, Eltek, England)
- Grant UK, rektalprobe Grant REC-UU-3V-O
- Grant temperaturføler type EU-U-3V-O
- Sportsteip (Scansport, 38 mm x 10 m)
- Kloramin 5 % oppløsning for desinfeksjon av termistorer og rektalprobe (Apotekernes Fællesindkjøp, Oslo)
- Reagenskolbe for desinfeksjon av termistorer og rektalprobe
- 9 volt Energizer industrial alkaliske batterier og AA-L91 Energizer Lithium batterier

B.2.4 Måling av hjertefrekvens

- Polar S610 pulsklokke, Finland
- Polar T61 sender, Finland
- Avlesningsprogram: Polar-Series Precision Toolkit, Performance SW, Versjon 3, USA

B.2.5 Belastningstest og måling av VO₂-maks

- Ergometersykler fra TechnoGym (Bike·XT, Cross training, Italy)
- Polar S610 pulsklokke, Finland
- Polar T61 sender, Finland
- Stor tidtakerklokke
- Nomogram for avlesning av VO₂-maks (figur 10-7 s. 350 og tabell 10-4 s. 351 i boken “Textbook of work physiology” av Åstrand & Rodahl 1977 [116]).

Appendix C Metoder

C.1 Åstrand/Ryhming-test

C.1.1 Utstyr

Ergometersykkel, måleutstyr for hjertefrekvens og en stor klokke.

C.1.2 Metode/praktisk gjennomføring

- Velg belastning ut i fra forventet maksimalt O₂-opptak (VO₂-maks) (Tabell- 3). (Det er bedre å vege for lett enn for tungt).

Tabell- 3 Valg av start belastning ved Åstrand/Ryhming-testen. Tabellen er skrevet av etter tabell side 38 i boka "Testing av idrettsutøvere" [117].

Forventet maksimalt O ₂ -opptak (l/min)	Belastning (watt)
1,0 - 2,0	50
2,0 - 3,0	100
3,0 - 4,0	150
4,0 - 5,0	200
5,0 - 6,0	250

- Monter på hjertefrekvensutstyr på utøveren
- Juster setehøyde på sykkelen
- Utøver starter å sykle og forsøksleder justerer arbeidsbelastning. Klokka startes når riktig belastning er nådd.
- Hjertefrekvensen (HR) registreres hvert minutt og føres inn i test skjema. For godkjent test skal HR være 130-160 slag/min for personer under 40 år. Er HR lavere enn 130 slag/min etter 5 min økes belastningen med 50 W, nullstiller klokka og starter på nytt.
- Siste belastning må vare i 6 minutter. Er forskjellen mellom siste og nest siste registrering større enn 5 slag/min, fortsetter testen til forskjellen er mindre enn 5 slag/min.
- Beregner gjennomsnittet av siste og nest siste registrerte belastning. Gjennomsnittet regnes som arbeidshjertefrekvensen.
- Arbeidshjertefrekvensen settes inn i tabell og VO₂-maks leses av i nomogram. I denne testen ble nomogram i figur 10-7 s. 350 og tabell 10-4 s. 351 benyttet for å finne VO₂-maks [116].
- Finn deretter belastningen som 50 % av VO₂-maks tilsvarer.

C.1.3 Resultat fra VO₂-maks testen

Tabell- 4 Målt hjertefrekvens (HR) og avlest maksimalt oksygenopptak (VO₂-maks) ved Åstrand/Rhymmin-test for å finne belastningen kadettene skulle ha på ergometersykkelen under stress- og kontrollforsøket.

Subjekt (nr)	Ergometersykkeltest 1				Ergometersykkeltest 2				Forsøk
	Belastning (trinn)	HR (Watt)	HR (1/min)	VO ₂ -maks (l/min)	Belastning (trinn)	HR (Watt)	HR (1/min)	VO ₂ -maks (l/min)	bl. (trinn)
1	6	150	150	3,2	5	136	154	2,8	4
2	6	150	128	4,2	7	176	136	4,3	6
4	6	150	109	5,4	8	200	139	4,9	7
5	6	150	143	3,4	5	136	131	3,6	5
7	6	150	128	4,2	7	176	132	4,5	7
10*	6	150	160	3	5	136	153	2,7	4
11	6	150	135	3,8	5	136	122	4,2	5
12	6	150	140	3,6	5	136	132	3,6	5
13	6	150	147	3,3	5	136	133	3,6	5
15*	6	150	145	3,7	5	136	142	3,7	4
16	6	150	120	4,8	7	176	134	4,55	7
18	6	150	133	3,9	7	176	133	4,6	7
19	6	150	124	4,5	7	176	141	4,1	6

*Kvinne

VO₂-maks er avlest i figur 10-7 s. 350 og tabell 10-4 s. 351 i boken "Textbook of work physiology" av Åstrand & Rodahl 1977 [116].

Ergometersykler fra TechnoGym (Italy, Bike·XT, Cross training) ble benyttet. Disse har trinnvis belastning, hvor hvert trinn tilsvarer en gitt watt.

C.1.4 Belastning under stress- og kontrollforsøket

Tabell- 5 Oversikt over ergometersykelbelastningen (ESBL) som kadettene holdt under stressforsøket etter endt stridskurs. De klarte ikke å holde ESBL som ble bestemt før stridskurset ved Åstrand/Rhymintest (se Tabell- 3). Belastningen ble satt ned for de fleste fra starten av og deretter redusert trinnvis under forsøket, er vist i tabellen som trinn/minutter. Prosentvisbelastning i forhold til utgangspunktet er beregnet og vist i kolonnen “% av utgangspunktet”. Siste kolonne tabellen viser prosentvisreduksjon i ergometersykelbelastning i forhold til bestemt belastning. Akkurat tilsvarende trinnvis reduksjon ble utført under kontrollforsøket.

Subjekt (nr)	Sykel (nr)	Opprinnelig ESBL (trinn)	ESBL forsøk (trinn/minutter)	%-bl. av utgangspunkt	%-reduksjon i forhold til utgangspunkt
1	2	4	4/15	50	50
2	2	6	6/5, 5/12, 4/13	79	21
4	2	7	6/15, 5/5, 4/5, 3/10	79	21
5	2	5	4/30	80	20
7	2	7	5/2, 4/18, 3/10	75	47
10*	2	4	2/30	50	50
11	1	5	5/30	100	0
12	1	5	4/30	80	20
13	1	5	3/5, 2/25	43	57
15*	1	4	3/2, 2/28	52	48
16	1	7	5/2, 4/16, 3/12	52	48
18	2	7	5/30	71	29
19	1	6	4/30	67	33

*Kvinne

C.2 Forsøksprotokoll for utførelse av TSH med immunoassay

C.2.1 Tillaging av reagenser

1. Vaskebuffer

Fortynn innhold av vaskekonsentrat med 1000 ml destillert eller de-ionisert vann i en egnet beholder. Lagre ved 2-30 °C i opptil 60 dager.

2. Arbeidssubstratløsning

Overfør innholdet i beholderen merket med løsning “A” inn i beholderen merket med løsning “B”. Sett på den gule korken. Bland godt. Lagre ved 2-8 °C.

C.2.2 Testprosedyre

Sett alle reagenser, serumprøver, referanser og kontroller i romtemperatur (20-27 °C).

Ønskes det en bedre sensitivitet i nedre område (<0,5 µIU/ml), så anbefales det å inkubere i 120 minutter i stedet for ved 60 minutter. Under tidligere studier er det vist at TSH er sterkt redusert under stridskurset (60-80 %). Under dette forsøket ble det valgt å inkubere i 120 minutter. Kan i dette tilfelle da ekskludere 40 µIU/ml kalibratoren (den øverste konsentrasjonen).

NB! Det er viktig at man ikke tar under brønnene da aborbansen leses av nedenifra, og ikke dunk på mikroplaten.

- Merk mikroplatene med hver serumreferanse som følger med kittet (A-G), kontroll og kadettprøve i duplikat. (Brønner/striper som ikke brukes legges tilbake i kjøleskapet).
- Pipetter 0,050 ml (50 µl) av serumreferanser, kontroll og kadettprøver i rett brønn.
- Tilsett 0,100 ml (100 µl) av TSH-enzymreagens til hver brønn. Viktig at reagentet tilsettes i bunnen av brønnene (totalt 13 ml i kittet).
- Roter mikroplaten forsiktig i 20-30 sekunder for å blande.
- Inkuber i 60 minutter (eller 120 min om man ønsker bedre sensitivitet for de lave konsentrasjonene). Dekk til mikroplaten under inkubering.
- Dekander (snu platen raskt rundt og hell av), blot platen tørr med absorberende papir (legg platen opp ned på absorberende papir). (Kan eventuelt pipettere av).
- Tilsett 350 µl vaskebuffer, dekanter og repeter totalt 3x. (Kan bruke automatisk vasker. Må passe på så det ikke blir bobler i slangen).
- Tilsett 0,100 (100 µl) arbeidssubstratløsning til hver brønn (merket med gul kork). (Viktig og alltid tilsette i riktig rekkefølge). NB! Ikke rist platen.
- Inkuber i romtemperatur i 15 min. Dekk til mikroplaten under inkubering.
- Tilsett 0,050 ml (50 µl) av stoppløsningen i hver brønn og bland forsiktig i 15-20 sekunder.
- Les av absorbansen i hver brønn ved 450 nm (referanse bølgelengde på 620-630 nm for å minimalisere brønn avvik) i mikroplate leseren (program "Magellan 6"). NB! Les av innen 30 minutter etter at stoppløsning ble tilsatt.
- Lag dose-responskurve av avlesningene til serumreferansene, og les av de ukjente kadettprøvene på kurven. Dette gjøres automatisk i programmet i mikroplateleseren etter ønskede valg.

C.2.3 Reagens

- TSH kalibratorer – 1 ml, 7 referanser til dose-responskurve (A-G): 0, 0,5, 2,5, 5,0, 10,20 og 40 µIU/ml. (10⁻³ internasjonal enhet)

- TSH Enzym reagens – 13 ml, enzymmerket rensset polyklonalt geite antistoff, biotiniert monoklonalt muse IgG antistoff i buffer, farge
- Streptavidin kledde brønner – 96 stykker
- Surfucant i buffret salt vaskeløsning
- Substrat A – Tetramethylbenzidine (TMB) i buffer
- Substrat B – Hydrogen peroxide (H₂O₂) i buffer
- Stoppløsning – 1 N HCL (sterk syre)

C.2.4 Utstyr

- Thyrotropin (TSH) Test system fra Monobind INC. – Accu-Bind ELISA Microwells
- Pipetter: 50 µl og 100 µl
- Multipipetter (BIOHIT), 50-1200 µl og 10-300 µl med tilhørende pipettespisser
- Mikroplatevasker (ATLANTIS Microplate Washer, versjon 1,3, 2001)
- Mikroplateavleser (Magellan) med 450 nm og 620 nm bølgelengde absorban kapasitet
- Absorberende papir
- Mikroplate klistrelapp
- Destillert eller ionisert vann
- Stoppeklokke
- Reagenskammer (Reagent Reservoirs 50 ml fra Thermo Scientific)

C.2.5 Feilkilder

- High dose hook – antistoff i overskudd. Det er altfor mye prøve slik at det enzymmerkede antistoffet ikke får festet seg, og sekundært antistoff vaskes bort. Dette kan unngås ved å tilsette i to trinn. Først tilsette prøven, deretter sekundært antistoff. Når kurven flater ut er det fordi det er for mye prøve. Standarder som er for høye flater ut! Må fortynne og gange opp.
- Heterofile antistoff dvs. humane ab rettet mot ab fra dyr. Stoffet i serum eller plasma kan påvirke resultatet fra immunoassay analyser i positiv eller negativ retning. I prøven til pasienten kan det finnes noen antistoffer som reagerer på museantistoff – heterofile antistoff. Dette er antistoff som pasienten har laget selv. De binder seg til for eksempel museantistoffet som brønneren er kledd med, og man får for høy konsentrasjon lest av.

C.3 Forsøksprotokoll for utførelse av total tyroksin (T4) med kommersielt ELSIA kit

C.3.1 Tillaging av reagenser

1. Arbeidsreagens A = T4-Enzym konjugat løsning

Fortynn T4-enzym konjugatet 1:11 med Total T3/T4 konjugat buffer i en passe beholder. Eks. 160 µl konjugat med 1,6 ml buffer for 16 brønner.

Generell formel:

Mengde buffer som kreves = antall brønner *0,1

Mengde T4 enzym som er nødvendig = antall brønner *0,01

Eksempel:

Mengde buffer som kreves = $92 * 0,1 = 9,2$ ml av total T3/T4 konjugat buffer

Mengde T4 enzym som er nødvendig = $92 * 0,01 = 0,92$ ml = 920 μ l av T4/T3 enzym konjugat

2. Vaskebuffer

Fortynn innhold av vaskekonsentrat med 1000 ml destillert eller de-ionisert vann i en egnet beholder.

Lagre ved 2-30 °C i opptil 60 dager.

3. Arbeidssubstratløsning

Overfør innholdet i beholderen merket med løsning "A" inn i beholderen merket med løsning "B".

Sett på den gule korken. Bland godt. Lagre ved 2-8 °C.

C.3.2 Test prosedyre

Sett alle reagenser, serumprøver, referanser og kontroller i romtemperatur (20-27 °C) før utførelse.

NB! Det er viktig at man ikke tar under brønnene da absorbansen leses av nedenifra.

- Klargjør dataprogram og legg inn alle standarder og ukjente prøver i duplikat. Legg inn kjent konsentrasjon for serumreferansene.
- Merk mikropalteveggene med hver serumreferanse som følger med kittet (A-F), kontroll og kadettprøve i duplikat. (Brønner/striper som ikke brukes legges tilbake i kjøleskapet)
- Pipetter 0,025 ml (25 μ l) av serumreferanser, kontroll og kadettprøver i tilsvarende merket brønn.
- Tilsett 0,100 ml (100 μ l) arbeidsløsning A, T4-Enzym konjugat løsning til hver brønn
- Roter mikropalten forsiktig i 20-30 sekunder for å blande.
- Inkuber i 60 minutter ved romtemperatur.
- Dekander innholdet i alle brønnene (hell raskt av), blot platen tørr med absorberende papir (legg platen opp ned på papiret).
- Tilsett 350 μ l vaskebuffer, dekanter og repeter 2 ganger (totalt 3x). (Kan bruke automatisk vasker. Må passe på så det ikke blir bobler i slangen).
- Tilsett 0,100 (100 μ l) arbeidssubstratløsning til hver brønn (merket med gul kork). (Viktig og alltid tilsette i riktig rekkefølge, for å redusere tidsforskjell mellom brønner). NB! Ikke rist platen etter tilsetting av substrat.

- Inkuber i romtemperatur i 15 min.
- Tilsett 0,050 ml (50 µl) av stoppløsningen i hver brønn og bland forsiktig i 15-20 sekunder.
- Les av absorbansen i hver brønn ved 450 nm (referanse bølgelengde på 620-630 nm for å minimalisere brønn avvik) i mikroplate leseren (dataprogram: "Megallan 6"). NB! Les av innen 30 minutter etter at stoppløsning ble tilsatt.
- Dose-responskurve kan lages automatisk via dataprogrammet i mikroplateavleseren fra resultatet av serumreferansene. De ukjente kadettprøvene leses av på kurven og dataprogrammet beregner gjennomsnittlig absorbans.

C.3.3 Reagens

- Humant Serum referanser for tyroksin, 6 stykker (A-F) med konsentrasjonene: 0, 2,0, 5,0, 10,0, 15,0 og 25,0 ug/dl (ug/dl *12,9= nmol/l: 0 (A), 25,8 (B), 64,5 (C), 129 (D), 193,5 (E) og 322,5 (F) nmol/l.
- T4-enzym reagens: tyroksin-horseradish peroxidase (HRP) konjugat i bovin albumin stabiliserende matriks
- T3/T4-konjugat buffer – består av buffer, rød farge, hemmere for proteinbinding
- Mikroplatebrønner – 96 brønner kledd med saue anti-tyroksin serum
- Vaskeløsning – surfactant i buffret saltløsning
- Substrat A – tetramethylbenzidine (TMB) i buffer
- Substrat B – Hydrogen peroxide (H₂O₂) i buffer
- Stoppløsning – Sterk syre (1,0 N HCl)

C.3.4 Utstyr

- Total Throxine (Tt4) Test system (Produkt kode: 225-300) fra Monobind INC. – Accu-Bind ELISA Microwells
- Pipetter: 25 µl og 50 µl
- Multipipetter (BIOHIT), 50-1200 µl og 10-300 µl med tilhørende pipettespisser
- Reagenskammer (Reagent Reservoirs 50 ml fra Thermo Scientific).
- Mikroplatevasker (ATLANTIS Microplate Washer, versjon 1,3, 2001)
- Mikroplateavleser (Magellan) med 450 nm og 620 nm bølgelengde absorbans kapasitet
- Absorberende papir
- Mikroplate klistrelapp
- Destillert eller ionisert vann
- Stoppeklokke

Feilkilder er blant annet interferens.

C.4 Forsøksprotokoll for utførelse av total trijodotyronin (tT3) med kommersielt ELSIA kit

C.4.1 Tillaging av reagenser

1. Arbeidsreagens A = T3-Enzym konjugat løsning

Fortynn T3-enzym konjugatet 1:11 med Total T3/T4 konjugat buffer i en passe beholder. Eks. 160 µl konjugat med 1,6 ml buffer for 16 brønner.

Generell formel:

Mengde buffer som kreves = antall brønner *0,1

Mengde T3 enzym som er nødvendig = antall brønner *0,01

Eksempel:

Mengde buffer som kreves = $92 * 0,1 = 9,2$ ml av total T3/T4 konjugat buffer

Mengde T3 enzym som er nødvendig = $92 * 0,01 = 0,92$ ml = 920 µl av T4/T3 enzym konjugat

2. Vaskebuffer

Fortynn innhold av vaskekonsentrat med 1000 ml destillert eller de-ionisert vann i en egnet beholder. Lagre ved 2-30 °C i opptil 60 dager.

3. Arbeidssubstratløsning

Overfør innholdet i beholderen merket med løsning "A" inn i beholderen merket med løsning "B". Sett på den gule korken. Bland godt. Lagre ved 2-8 °C.

C.4.2 Test prosedyre

Sett alle reagenser, serumprøver, referanser og kontroller i romtemperatur (20-27 °C) før utførelse.

NB! Det er viktig at man ikke tar under brønnene da absorbansen leses av nedenifra.

(Det er forventet at man får lave T3 verdier da det tidligere er vist at skjoldbruskkjertelhormonene reduseres under stridskurset).

- Klargjør mikroplateleseren. Legg inn blank, serumreferanser og ukjente prøver i for ny kjøring. Legg inn kjent konsentrasjon som er oppgitt for serumreferansene.
- Merk mikroplateveggene med hver serumreferanse som følger med kittet (A-F), kontroll og kadettprøve i duplikat. (Brønner/striper som ikke brukes legges tilbake i kjøleskapet)
- Pipetter 0,050 ml (50 µl) av serumreferanser, kontroll og kadettprøver i tilsvarende merket brønn.

- Tilsett 0,100 ml (100 µl) arbeidsløsning A, T3-Enzym konjugat løsning til hver brønn
- Roter mikropalten forsiktig i 20-30 sekunder for å blande.
- Inkuber i 60 minutter ved romtemperatur.
- Dekander innholdet i alle brønnene (hell raskt av), blot platen tørr med absorberende papir (legg platen opp ned på papiret).
- Tilsett 350 µl vaskebuffer, dekanter og repeter 2 ganger (totalt 3x). (Kan bruke automatisk vasker. Må passe på så det ikke blir bobler i slangen).
- Tilsett 0,100 ml (100 µl) arbeidssubstratløsning til hver brønn (merket med gul kork). (Viktig og alltid tilsette i riktig rekkefølge, for å redusere tidsforskjell mellom brønner). NB! Ikke rist platen etter tilsetning av substrat.
- Inkuber i romtemperatur i 15 min.
- Tilsett 0,050 ml (50 µl) av stoppløsningen i hver brønn og bland forsiktig i 15-20 sekunder.
- Les av absorbansen i hver brønn ved 450 nm (referanse bølgelengde på 620-630 nm for å minimalisere brønn avvik) i mikroplate leseren (dataprogram: "Megellan 6"). NB! Les av innen 30 minutter etter at stoppløsning ble tilsatt.
- Dose-responskurve kan lages automatisk via dataprogrammet i mikroplateavleseren fra resultatet av serumreferansene. De ukjente kadettprøvene leses av på kurven og dataprogrammet beregner deretter gjennomsnittlig absorbans.

C.4.3 Reagens

- Humant Serum referanser for tyroksin, 6 stykker (A-F) med konsentrasjonene: 0 (A), 0,5 (B), 1,0 (C), 2,5 (D), 5,0 (E) og 7,5 (F) ng/ml (ng/ml *1,536= nmol/l: 0 (A), 0,768 (B), 1,536 (C), 3,84 (D), 7,68 (E) og 11,52 (F) nmol/l).
- T3-enzym reagens: T3-horseradish peroxidase (HRP) konjugat i albumin stabiliserende matriks. Konservativ er tilsatt.
- T3/T4-konjugat buffer – består av buffer, rød farge, hemmere for proteinbinding
- Mikroplatebrønner – 96 brønner kledd med saue anti-T3 serum
- Vaskeløsning – surfactant i buffret saltløsning
- Substrat A – tetramethylbenzidine (TMB) i buffer
- Substrat B – Hydrogen peroxide (H₂O₂) i buffer
- Stoppløsning – Sterk syre (1,0 N HCl)

C.4.4 Utstyr

- Total Triiodothyronine (tT3) Test system (Produkt kode: 225-300) fra Monobind INC. – Accu-Bind ELISA Microwells
- Pipetter 50 µl

- Multipipetter (BIOHIT), 50-1200 μ l og 10-300 μ l med tilhørende pipettespisser
- Reagenskammer (Reagent Reservoirs 50 ml fra Thermo Scientific)
- Mikroplatevasker (ATLANTIS Microplate Washer, versjon 1,3, 2001)
- Mikroplateavleser med 450 nm og 620 nm bølgelengde aborsbans kapasitet
- Absorberende papir
- Mikroplate klistrelapp
- Destillert eller ionisert vann

C.4.5 Sensitivitet

Testen har en sensitivitet på 0,04 ng/ml.

C.5 Statistiske analyser i SPSS

Tabell- 6 Statistiske metoder i SPSS som ble benyttet for å undersøke om kravene til å utføre MANOVA for repeterte målinger var oppfylt/ tilfredsstillende. Viser hvilken testobservatør som er valgt i MANOVA og med forklaring på hvorfor de forskjellige tester er valgt og hva de undersøker.

Metode	Undersøker
MANOVA for repeterte målinger	Metode for repeterte-målinger ($p > 0,05$)
Testobservatør Pillai's Trace	Kun to grupper, så derfor ser man på resultatet for den multivariate testen Pillai's Trace (V er tegnet for utfallet av Pillai's Trace). Kunne også valgt Hotelling's trace for den brukes kun når det er to grupper, men Pillai's spor er mer robust - er mindre følsom for ikke normalitet og ubalanserte data.
Persons korrelasjonskoeffisient	Korrelasjonsanalyse ($p < 0,05$). Sammenhengen mellom to kontinuerlig variabler. Benyttes ved normalfordelte eller nær normalfordelte variabler. Skal for MANOVA helst ligge $> -0,40$ for negativ korrelasjon og mellom $0,30$ og $0,90$ for positiv korrelasjon.
Mauchly's test	Test av "sfærisitet" bl.a. lik kovarians/korrelasjon. Må testes når det er 3 eller flere innen-gruppe forhold. Justering av F-testens frihetsgrader.
Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk test	Normalfordeling for hver av de avhengig variable (AV) med innen gruppe forhold med hensyn på de to "ernærings" gruppene. $N < 50$ ($n=11$), så refererer til Shapiro-Wilks test. Ønsker $p > 0,05$ for å beholde H_0 .
Levene's test for lik varians	Antakelse om at lik varians mellom gruppene er tilfredsstillt når $p > 0,05$ bekrefter
Box's M test	Homogenitet av varians/kovarians, $p > 0,001$
ANOVA	Separate ANOVA som utføres i repeterte-målinger MANOVA testen. Gir effekten av univariate tester for effekten av gruppetilhørighet for hver av de avhengig variable. (Flere separate F-tester).
To-utvalgs uavhengig t-test	Finne kilden til interaksjon. Mellom grupper (1: "uten ekstra ernæring", 2: "ekstra ernæring") mot tidspunkt for utførelse (1: stressforsøk, 2: kontrollforsøk)
Paret t-test	Tidspunkt for utførelse mot gruppetilhørighet. Tidspunktet blir brukt som "intra-subjekt variabler", men deler filen mellom gruppetilhørighet.

Appendix D Informasjonsskriv/ samtykkeerklæring og protokoll



Forsvarets forskningsinstitutt

INFORMASJONSSKRIV forespørsmål om deltakelse i forskningsprosjekt

Til : Deltakere på forskningsprosjektet om kroppssammensetning og trening.
Fra : Forsker Per Kristian Opstad, dr. med. FFI/Kjeller
Dato : 07. juni 2012
Vår ref : 2009/1/FFI/xx

Betydningen av ernæring for endringer i termoregulering under ekstrembelastninger

Vi har gjennom flere år studert de medisinske og helsemessige virkninger av Krigsskolens stridskurs på kadetter og hva slags behandling kadettene skal ha for å unngå tap av yteevne. Vi har tidligere vist at kadettene mot slutten av kurset har en nedsatt kjernetemperatur på tross av høyre hudtemperaturer, både i hvile og under fysiske belastninger. Dette må bety at termostaten i hypotalamus (en del av hjernen) er nedsatt til en lavere kjernetemperatur enn normalt.

Det er mange mulige årsaker til denne endringen i hypotalamus termostaten slik som mangel på søvn og mat, kulde, varme og fysiske anstrengelser. Med hensyn til mangel på mat så kan matens sammensetning også bety noe for termoreguleringen. Vi vet at skjoldkjertelhormonene har stor betydning for temperaturballansen og at disse påvirkes av mat.

Under årets stridskurs ønsker vi å teste om ernæring har betydning for endringene i termoregulering som finner sted under stridskurset. Vi vil måle kjernetemperatur samt en del hudtemperaturer på kropp og ekstremiteter i hvile og under og etter en kortvarig sykkelbelastning. Vi vil sammenligne to grupper med ca. 8 kadetter i hver gruppe, der den eneste forskjellen vil være at den ene gruppen får tilført ekstra mat under kurset mens den andre gruppen går gjennom kurset på lik linje med alle andre. Vi vil ta en enkel blodprøve før hvert forøk for å undersøke nivået av ulike metabolitter og hormoner og hva slags betydning disse kan ha for temperaturreguleringen. Vi vil gjennomføre et forsøk mot slutten av kurset og sammenligne disse resultatene med et kontrollforsøk når kadettene er uthvilt. Kontrollforsøket kan gjennomføres før kurset eller noen måneder etter kurset når kadettene er uthvilt. Vi vil også gjennomføre måling av kroppssammensetning ved hjelp av en InBody impedansmåler i forbindelse med begge forsøkene.

Vi ber også om at kadettene gir samtykke til å bruke resultater fra den store kadettstudien som gjennomføres av NIH/F for å korrelere disse resultatene med resultatene fra dette studiet. Særlig vil det være aktuelt å korrelere tap av muskelmasse i forhold til maksimalt oksygenopptak.

Deltakelse i våre forsøk er frivillig, og forsøkspersonene kan trekke seg på et hvilket som helst tidspunkt før, under og etter øvelsen, uten konsekvenser.

Vedlegg: 0

For de som deltar i prosjektet, vil det bli en tett medisinsk oppfølging under hele øvelsen. Før kurset vil det bli gitt en generell orientering om de medisinske virkningene av kurset samt en orientering om forskningsprosjektet med anledning til spørsmål og diskusjon. Vi mener at selve forskningsprosjektet ikke medfører noen helsemessig risiko. For å unngå en liten blødning i huden i forbindelse med blodprøven er det viktig å beholde kompresjonen over armvenen i minst 5-10 minutter. En eventuell hudblødning vil forsvinne i løpet av noen få dager uten senskade av noe art.

Krigsskolelegen vil ha det medisinske ansvaret for øvelsen, men vil også være tilgjengelig for alle medisinske spørsmål og problemer under kurset. Krigsskolelegen vil alene være ansvarlig for å ta kadetter ut av øvelsen av medisinske grunner og helt uten hensyn til forskningsprosjektet. Krigsskolelegen er ikke delaktig i forskningsprosjektet.

Soldatene vil få tilbakemelding om resultatene av prosjektet etter øvelsen. Ved siden av gjennomsnittsdata vil hver enkelt soldat bare få tilgang til sine egne individuelle data.

Ved spørsmål av alle typer kan man henvende seg til:

Forsker dr. med Per Kristian Opstad
Forsvarets forskningsinstitutt
Avdeling for beskyttelse
2027 Kjeller
Tel 63807822, eller 999455554
Fax: 63807509
e-mail: per-kristian.opstad@ffi.no

Jeg har lest ovenstående og fått muntlig informasjon og ønsker å delta i prosjektet.

Linderud dato: 07.06.12

Sign.

Protokoll

Stridskurs 2012

Per Kristian Opstad

Termoregulering under ekstremlastninger, betydninger av ernæring.

Det er tidligere vist at "set-point" for kjernetemperaturen er nedsatt etter ekstremlastninger som inkluderer fysiske anstrengelser, mangel på mat og søvn (stridskurset) (Opstad et al 1991). Vi vet ikke hvilke mekanismer som forklarer denne reduksjonen eller hvilke enkeltfaktorer som har betydning for fallet i kjernetemperatur. Lange-Andersen et al viste at arbirogenene i Austerlia hadde lavere kjernetemperatur og høyere hudtemperatur når de overnattet ute rundt bålet enn hvite kaukasere. Man spekulerte på om dette hadde genetiske årsaker enn om det var bestemt av levested. Man har ment at disse forandringene kan innebære økt risiko for generell nedkjøling men en noe bedre beskyttelse mot lokale frost eller kuldeskader.

"Set-point" for kjernetemperaturen reguleres fra det preoptiske området i fremre del av hypothalamus. Det er en rekke hormoner og metabolitter som påvirker denne som proctaglandiner, interleukiner, thyroidea hormoner, catecholaminer, steroider som for eksempel progesterone som er ansvarlig for temperaturøkningen etter eggeløsning. Interleukin 1beta skiller ut fra hvite blodceller når de nedkjemper bakterier. Dette interleukinet går via blodbanen opp til temperatursenteret i hypothalamus og setter opp "set-point" og som er en viktig årsak til feber. Frostanfall kommer ofte i forbindelse med en samtidig frisetting av mange mikroorganismer til blodbanen.

Vi har en rekke medikamenter som påvirker temperatursenteret i hypothalamus som for eksempel paracetamol og alle NSAIDs (Non-Steroid Anti Inflammatory Drugs). Disse medikamentene kan virke enten direkte på temperatursenteret eller ved å hemme eller stimulere hormoner og metabolitter som selv påvirker temperatursenteret. Disse medikamentene er hyppig brukt for å hindre skadelig feber. Feberen er sikkert skadelig når kjernetemperaturen overstiger 42 °C fordi man ved slike temperaturer får protein denaturering, konformasjonsendringer og koagulering. Død inntreffer ofte ved temperaturer over 43-44 °C. Høyeste kjernetemperatur noen har overlevd er 46.5 °C. Men slike temperaturer overlever man bare for en kortvarig periode. Ved langvarig eksponering vil man ikke overleve temperaturer over 42 °C. Noen vil også kunne få alvorlige problemer ved temperaturer lavere enn 42 °C. Dette gjelder særlig de som har lav terskel for feberkramper. Ofte er det barn eller pasienter med spesielle sykdommer som kan få kramper ved temperaturer lavere enn 39°C.

Kadettene under stridskurset utsettes for en rekke stressfaktorer som mangel på søvn lite mat døgnetvis fysiske belastninger, kulde, varme, psykisk stress som stadig tidsknapphet og konflikthytte situasjoner. Vi vet at en rekke hormoner som endres under stridskurset påvirker varmeproduksjonen og "set-point" temperaturen. Dette gjelder både adrenerge hormoner og skjoldkirtelhormoner. I tillegg kan en del nyere hormoner ha betydning som neuropeptid Y, peptid YY og vasoaktivt intestinalt polypeptid. I tillegg så vil mange av interleukinene ha betydning og da særlig interleukin 1-beta som man vet har stor betydning i forbindelse med feber. Vi vet at fordøyelsen av mat øker varmeproduksjonen likeså fysisk arbeid. Bare 24-26 % av energien i muskulatur omsettes til mekanisk arbeid, resten omsettes til varme. Temperaturen i muskulaturen øker kraftig under arbeid og vil lett nå 39-40 °C. Alle kjemiske reaksjoner er temperaturavhengig og energiproduksjonen i muskelcellene har et optimum på godt over 37 °C. Ved lav belastning greier

man å kvitte seg med overskuddsvarmen ved vanlig konveksjon at man sender varmt blod ut til huden. Dersom intensiteten i arbeidet blir stort må man kvitte seg med varme ved hjelp av svetting. Svetteevnen kan trenes opp i noen grad slik at de som er varmeadaptert vil kunne tåle fysisk arbeid i varmt klima bedre enn ikke adapterte.

Under årets stridskurs:

Under årets stridskurs 2012 ønsker vi å undersøke om mangel på ernæring kan forklare de påviste endringene i termoregulering under stridskurset. Under det forrige forsøket var det tydelig ingen særlig effekt av glukose intravenøst under forsøket, men vi vet ikke hva en bedre ernæring på forhånd under kurset kan bety. Det ville ha vært interessant å forsøke ulike typer ernæring. Dette har vi imidlertid ingen mulighet til å teste i ett forsøk, men vi vil gjenstand for senere forsøk.

I dette forsøket vil det være mest aktuelt å legge opp til en diett på forhånd som mest mulig dekker opp for kadettenes energibehov under kurset. Noe som proteiner, noe som fett men mest som karbohydrater. Vi vil som tidligere gjennomføre et kontrollforsøk før eller 2-3 måneder etter kurset samt like etter avsluttet kurs.

Vi vil måle rektaltemperatur, hudtemperaturer over leveren, lår, fot, arm, hånd 30 minutter før forsøket, under sykkeltesten og ca 60 minutter etter sykkeltesten. Sykkeltesten vil ha en relativ belastning på ca 50 % av maksimalt oksygenopptak. Dette nivået vil være det beste for å teste temperaturreguleringsevnen og "set-point" i den supraoptiske delen av hypothalamus.

Oksygenopptaket vil bli bestemt indirekte med Rhyning-Åstrand metoden. Kadettene vil ha den samme absolutte belastning i begge forsøkene. For å måle temperaturene vil vi anvende Squirrel dataloggere som vil logge mer eller mindre kontinuerlig.

Vi vil ta blodprøve for analyse av ulike hormoner og metabolitter like før hvert eksperiment. Det vil bli tatt ett rør på 10 ml for plasma, et rør på 10 ml til serum og ett rør på 5 ml til hematologi. Klinisk kjemiske analyser vil bli gjennomført med hjelp av tørrkjemi (Kodak) og hormonanalysene vil bli gjennomført med hjelp av immunologiske analyser. Vi vil også utføre en InBody måling av kroppssammensetning før under og etter kurset. Dette for å se om temperaturreguleringen har relasjon til endringer i kroppssammensetning.

Appendix E Referanseverdier (NORIP)

Tabell- 7 Referanseverdier for tyreoiderhormoner, TSH og blodverdier målt i denne studien.
Referanseverdiene er hentet i fra NORIP og Furst [175;176].

Analyse	Kjønn	Referanseområde	Enhet	Merknad
Tyreoider				
S-TSH		0,20 - 4,0	Mu/L	Furst
S-Fritt T4		11,0 – 23,0	pmol/L	Furst
S-Fritt T3		3,6 - 6,5	pmol/L	Furst
Hematologi (blodverdier)				
B-Hemoglobin	K M	11,7 - 15,3 13,4 - 17,0	g/dl	NORIP
B-Leukocytter		3,5 - 8,8	10 ⁹ /L	NORIP
B-Erytrocytter	K M	3,9-5,2 4,2 - 5,7	10 ¹² /L	NORIP
B-Hematokrit	K M	0,35 - 0,46 0,40 - 0,50		NORIP
B Neutrofile		38 - 71	%	Furst
B Lymfocytter		20 - 50	%	Furst
B Monocytter		5 - 14	%	Furst

S: Serum, B: Fullblod (tilsatt EDTA eller Na-Citrat)

Appendix F Internasjonale enheter for energi i SI-systemet

1 cal = 4,186 J

1 kcal = 4,186 kJ

1 kJ = 0,24 kcal

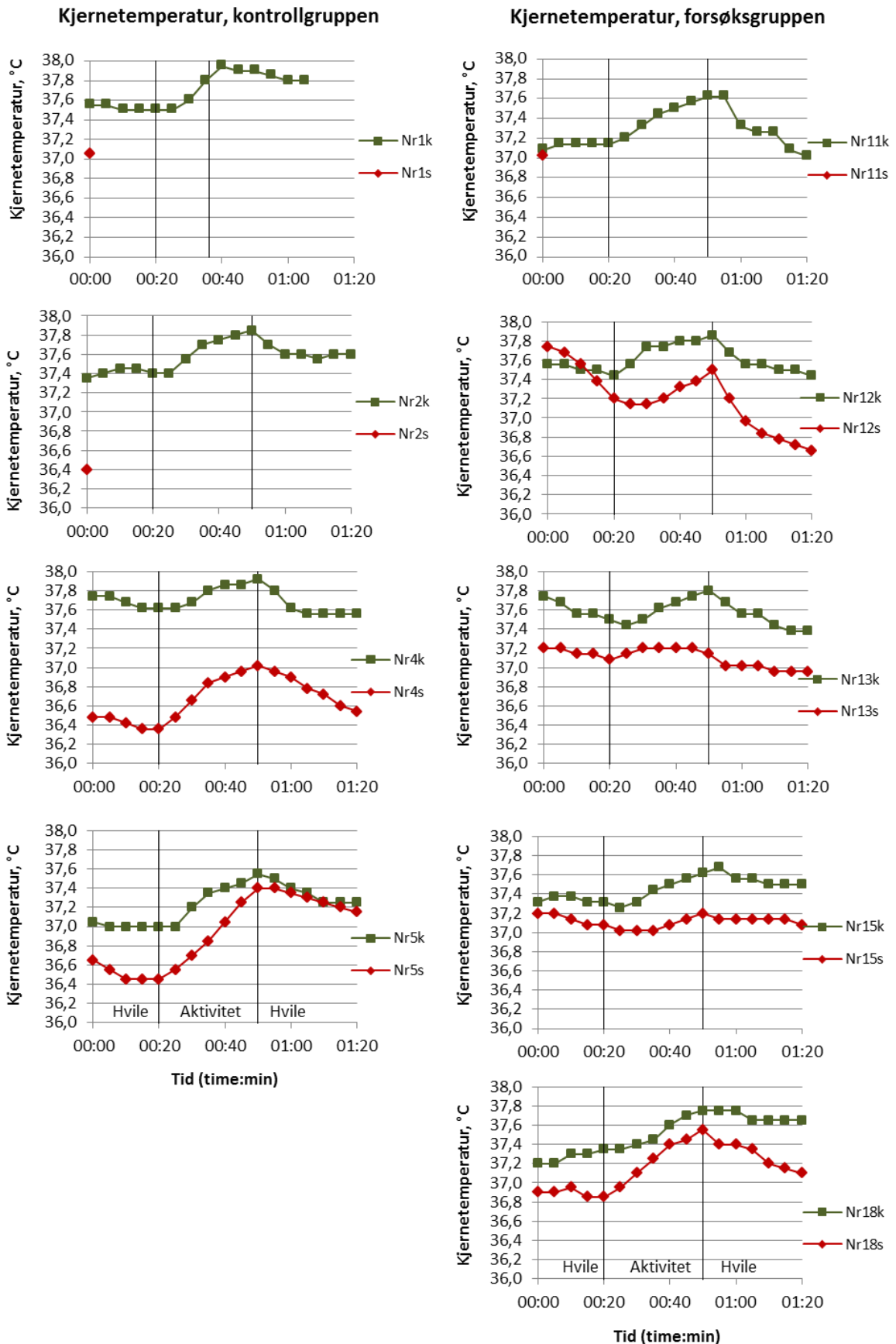
1 gram karbohydrater = 4 kcal

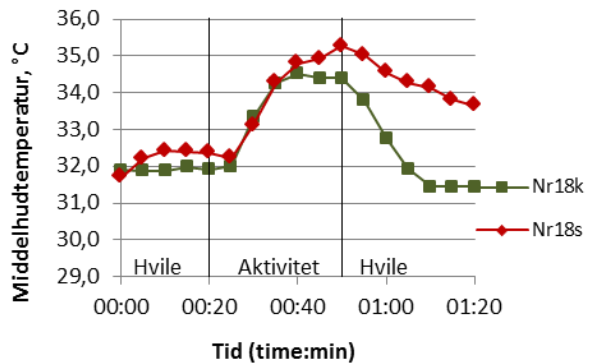
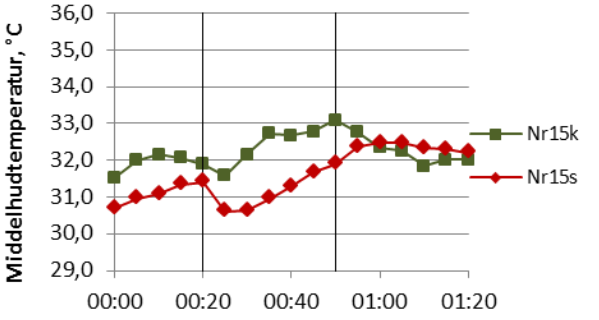
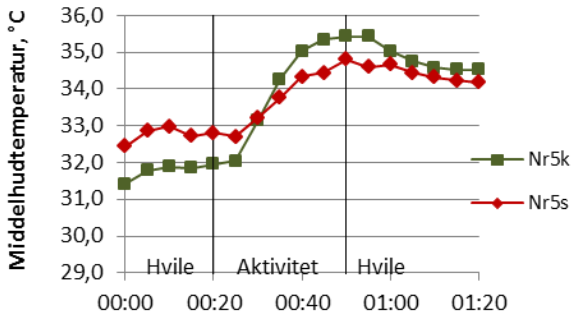
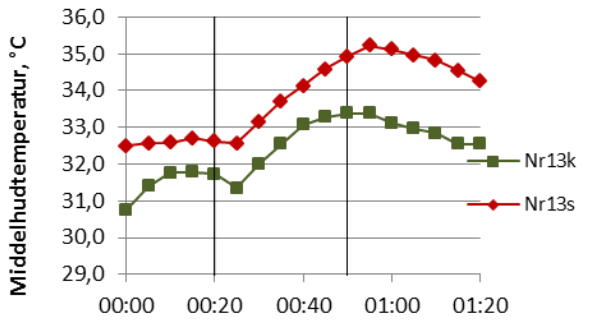
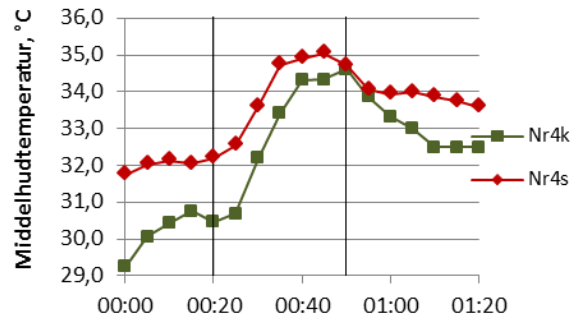
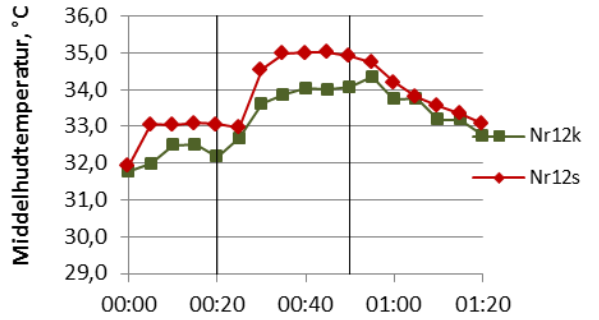
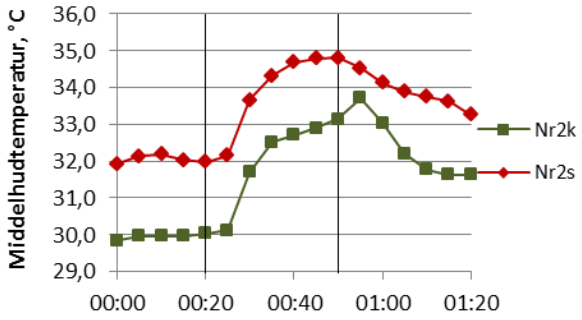
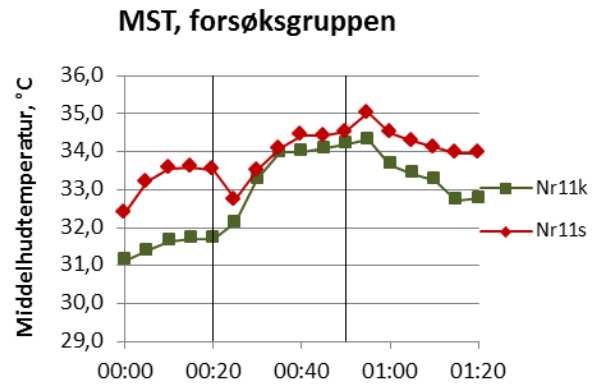
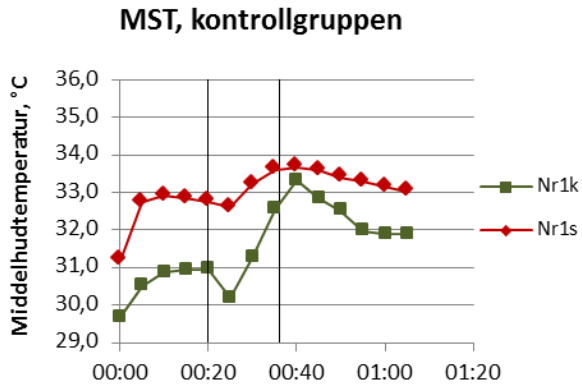
1 gram fett = 9 kcal

1 gram proteiner = 4 kcal

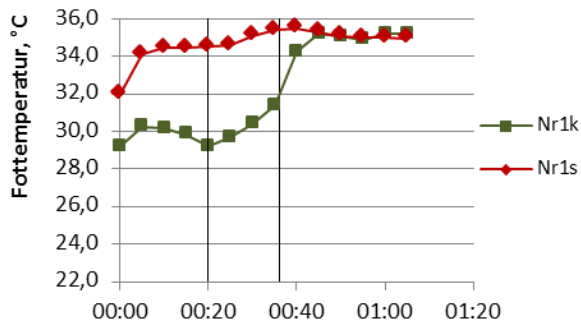
[174]

Appendix G Enkeltresultat for kroppstemperatur og hjertefrekvens

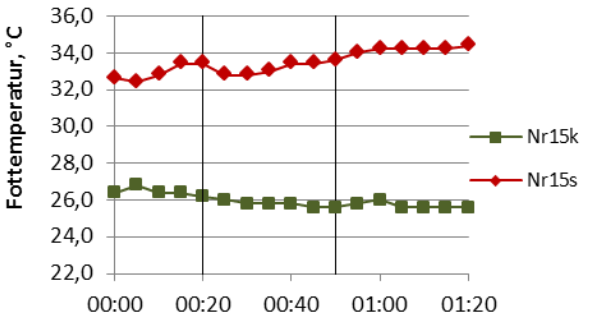
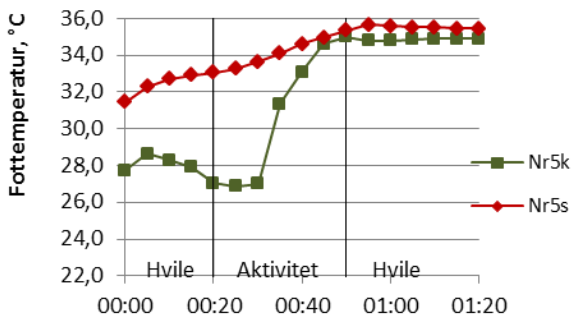
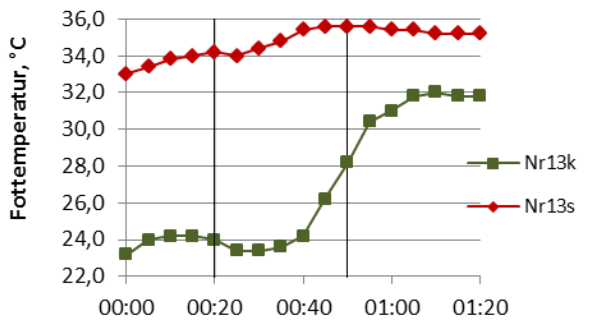
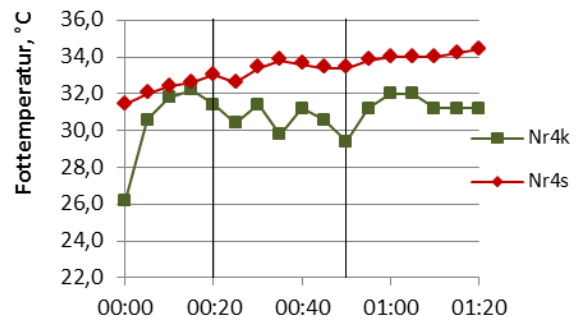
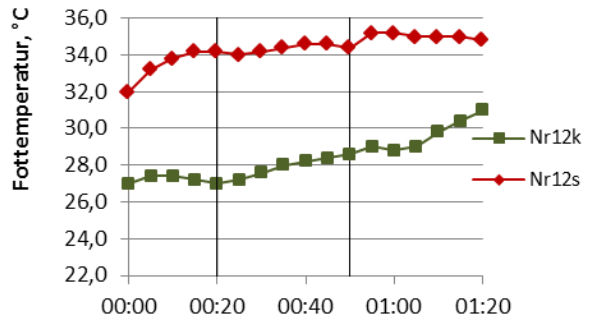
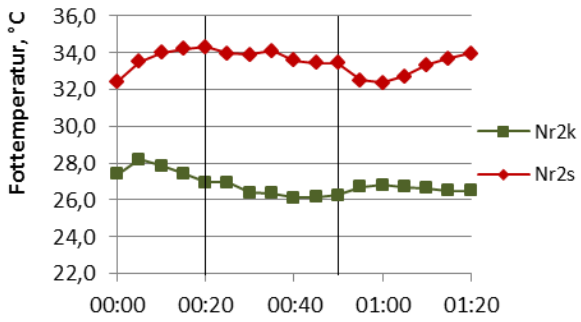
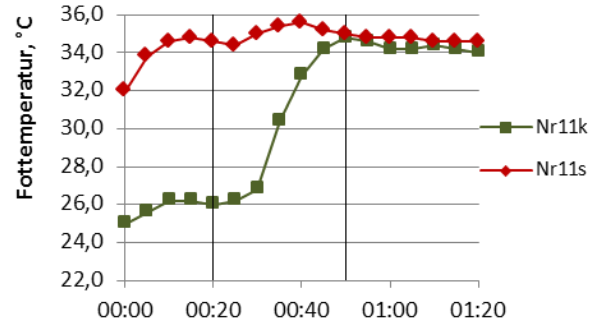




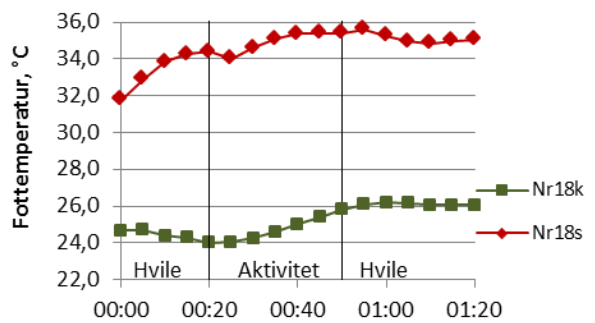
Fottemperatur, kontrollgruppen



Fottemperatur, forsøksgruppen

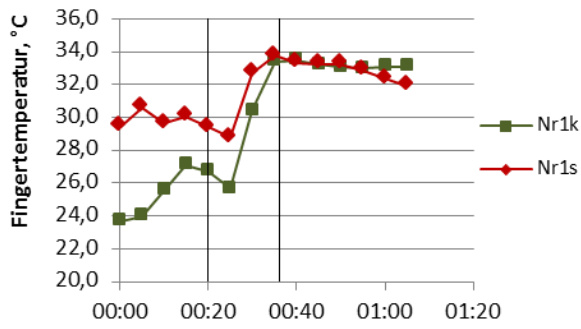


Tid (time:min)

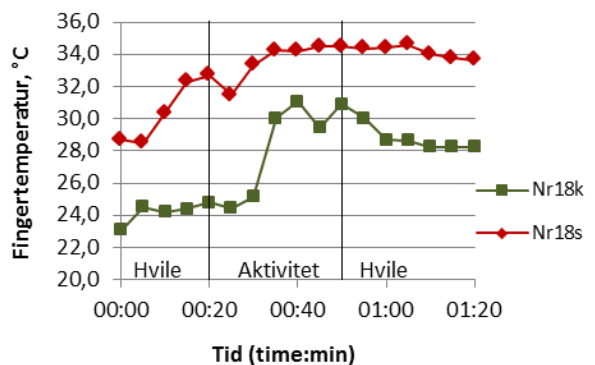
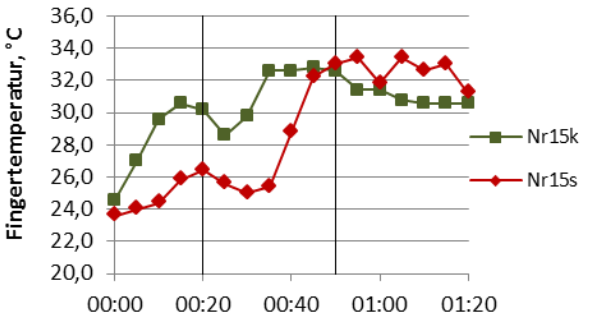
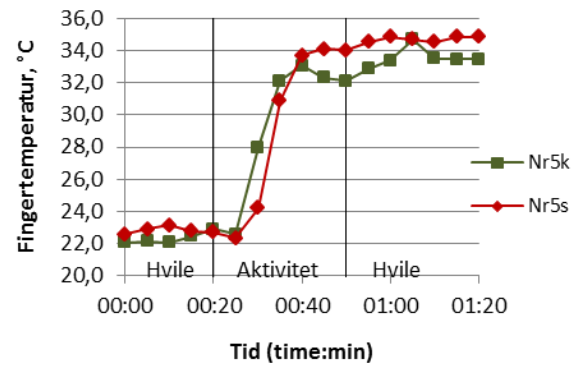
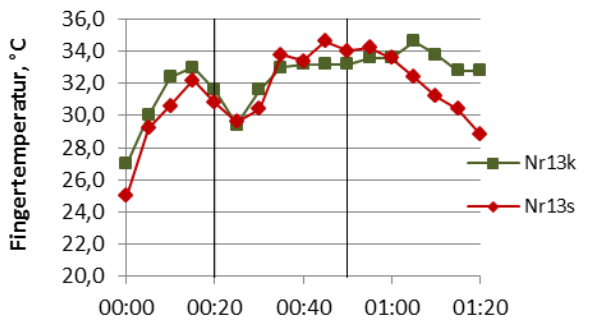
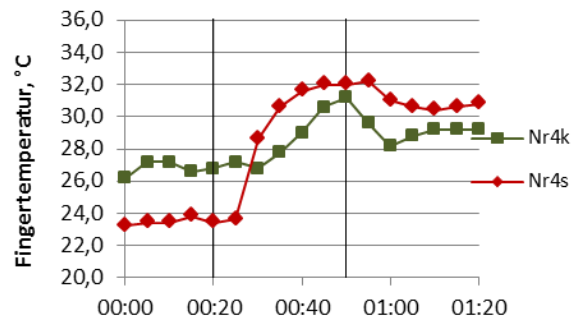
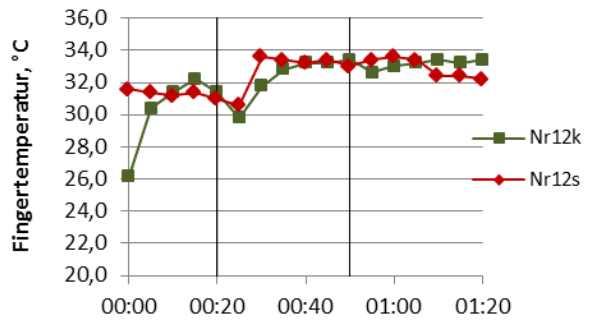
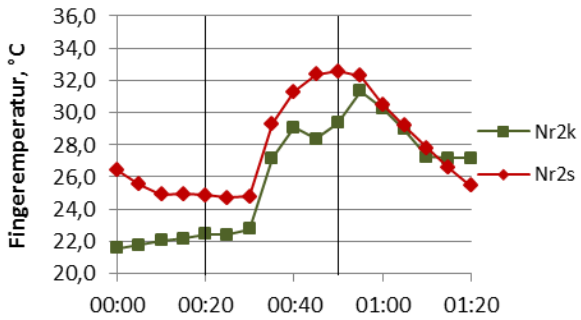
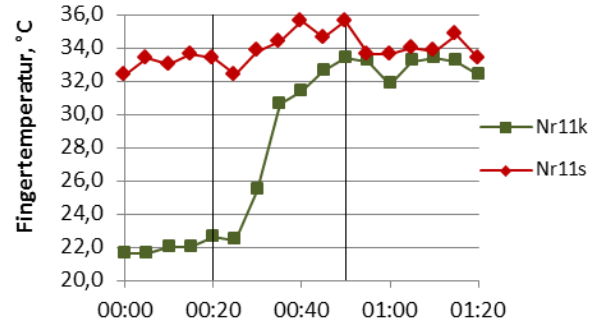


Tid (time:min)

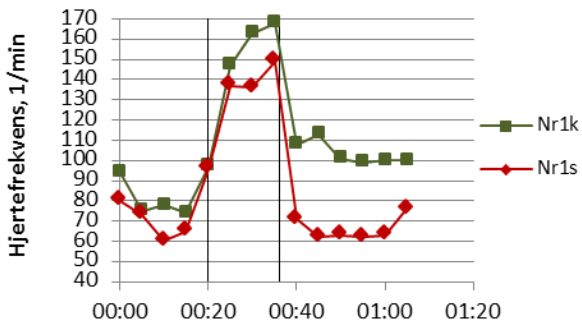
Fingertemperatur, kontrollgruppen



Fingertemperatur, forsøksgruppen



Hjertefrekvens, kontrollgruppen



Hjertefrekvens, forsøksgruppen

