

## **Kosttilskudd med $\omega$ -3-fettsyrer – virkning på immunforsvaret etter langvarige fysiske anstrengelser**

Yngvar Gundersen, Svein Martini, Ingjerd Thrane, Halvor Holm og Pål H. Stenberg

Forsvarets forskningsinstitutt (FFI)

23. februar 2012

FFI-rapport 2012/00382

120201

P: ISBN 978-82-464-2040-0

E: ISBN 978-82-464-2041-7

## **Emneord**

Omega-3-fettsyrer/ - Omega-3 fatty acids

Fysisk aktivitet - physical activity

Immunologi - immunology

## **Godkjent av**

Janet Blatny

Prosjektleder

Jan Ivar Botnan

Avdelingsjef

## Sammendrag

Ved sterke fysiske anstrengelser reagerer immunforsvaret med forandringer som likner på dem en ser ved blodforgiftning og større skader, blant annet ved å øke produksjonen av en rekke mediatorer som TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1 ra, IL-6 m.fl. Formålet med den foreliggende studien var å undersøke om tilskudd av marine oljer på noen måte påvirket disse forandringene.

Undersøkelsen ble gjort på soldater ved GSV i tilslutning til en ni-dagers militærøvelse som ble avsluttet med en skimarsj på omkring 65 km. Soldatene ble randomisert til to grupper som enten fikk daglig tilskudd av 1,4 g  $\omega$ -3 (n=11) eller placebo (n=9). Kosttilskuddet ble gitt første gang seks uker før øvelsen startet. Det ble tatt vanlig hematologi, transaminaser, utvalgte immunologiske variabler i blod, i tillegg til at evnen til stimulert cytokinproduksjon ble undersøkt i *ex vivo* fullblod. Dessuten gjennomførte deltakerne en fysisk test (step-test) og fylte ut et skjema for symptomer fra muskulaturen. Ved øvelsens begynnelse var det ingen signifikante forskjeller mellom de to gruppene, bortsett fra fettsyremønsteret som bekreftet at deltakerne hadde fulgt protokollen. Heller ikke ved slutten av øvelsen fant vi signifikante forskjeller mellom gruppene, med unntak av at soldatene i  $\omega$ -3-gruppa anga mindre subjektivt ubehag fra muskulaturen ( $p = 0,03$ ). Vår konklusjon er at den tilførte mengde marine oljer til kosten ikke ga sikre utslag på utvalgte mål for inflammasjon eller fysisk yteevne i løpet av den ni dager lange øvelsen.

## English summary

Hard physical strain leads to characteristic alterations in immune system variables, resembling those seen in sepsis and heavy injury, i.a. increased release of a long range of mediator molecules like TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1 ra and IL-6. The aim of the present study was to investigate if supplementation with  $\omega$ -3 fatty acids would influence the above mentioned changes. The study was accomplished in connection with a nine days' military maneuver at the Garnisonen in Sør-Varanger. The maneuver was rounded off with a ski march of 65 km over three days. The soldiers were randomized to two groups, which were either given a daily supplement of 1,4 g  $\omega$ -3 (n=11) or placebo (n=9). The supplementation was started six weeks before the maneuver. Our measurements included haematology, transaminases, and selected plasma immune parameters. We also measured LPS-stimulated cytokine production in *ex vivo* whole blood. The participants even carried out a simple physical test (step-test). Subjective symptoms from the muscles were marked on a Visual Analogue Scale. At the start of the exercise no significant differences were seen between the groups except for plasma fatty acid pattern, which reflected adherence to the protocol. The results were relatively unambiguous and did not reveal any effects of the food supplement. Only one exception was found: members of the  $\omega$ -3-group reported of less subjective muscular pain ( $p = 0.03$  vs. controls). Our conclusion is that the extra supplementation of marine oils in connection with this nine days' military maneuver did not influence the selected immune variables or physical performance ability.

## Innhold

<b>1</b>	<b>Innledning</b>	<b>7</b>
1.1	Fettsyrer	8
1.1.1	Ulike typer fettsyrer	9
<b>2</b>	<b>Materiale og metoder</b>	<b>13</b>
2.1	Forsøkspersoner og program for øvelsen	13
2.2	Gruppeinndeling	13
2.3	Blodprøver og analyser	15
2.3.1	Hematologiske og biokjemiske målinger	15
2.3.2	Fettsyrer i plasma	15
2.4	Fullblodmodellen	15
2.5	Andre tester	15
2.5.1	Step-test	15
2.5.2	Subjektive ubehag fra muskulaturen	16
2.6	Statistisk analyse	16
<b>3</b>	<b>Resultater</b>	<b>17</b>
3.1	Værforhold under marsjen	17
3.2	Fysiske karakteristika hos deltakerne	17
3.3	Fettstoffer i blodet	18
3.3.1	Totale plasmalipider	18
3.3.2	Fettsyrer i blod (plasma)	19
3.4	Hematologiske verdier	21
3.5	Biokjemiske målinger	21
3.6	Immunologiske variabler	22
3.6.1	Hvite blodlegemer (leukocytter)	22
3.6.2	Evne til stimulert cytokinproduksjon i <i>ex vivo</i> fullblod	22
3.7	Andre tester	23
3.7.1	Step-test	23
3.7.2	Subjektive symptomer fra muskulaturen	23
<b>4</b>	<b>Diskusjon</b>	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>Konklusjon</b>	<b>25</b>
	<b>Litteratur</b>	<b>25</b>
	<b>Appendix A Samtykkeerklæring</b>	<b>27</b>

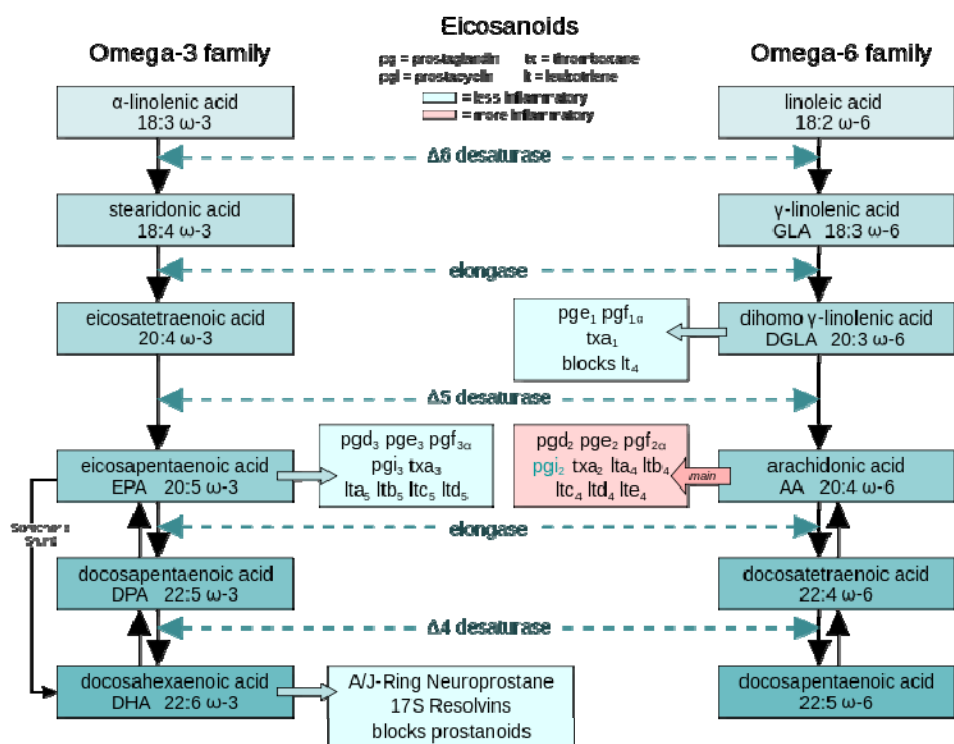
## Forord

Den foreliggende studien er en del av en større undersøkelse som ble gjennomført ved GSV vinteren/våren 2011. Vi takker soldater, befal og andre ved garnisonen for den positive måten vi ble mottatt på, og for et meget godt samarbeid under hele prosessen. En spesiell takk til de 20 soldatene som meldte seg frivillig og fullførte den delen av studien som blir presentert her. Vi erkjenner de ekstra påkjenningene dette medførte, men alle taklet det på en overlegen måte. Videre en stor takk til Smartfish som forærte oss all jus i ferdig merkede kartonger, samt til laboratoriet ved Kirkenes sykehus for uvurderlig hjelp både med personell og analyser. Også takk til NOFIMA, Ås, for godt samarbeid og givende diskusjoner. Rapporten er tilgjengelig i elektronisk form på FFIs hjemmeside *ffi.no*. Gå deretter til *publikasjoner* og *FFI-rapporter*.

# 1 Innledning

De siste årene har interessen økt for den rollen ernæring spiller ved aktivering av immunforsvaret, ikke minst det regulatoriske potensialet som ligger i regelmessig tilskudd av marine oljer. I teorien skal dette kunne dempe en oppstått betennelsesreaksjon, først og fremst ved at egenskapene til ytre og indre cellemembraner forandres og ved at produksjonen av eikosanoider (fra gresk "eicosa", 20) forskyves. Men også andre mekanismer kan spille inn (1,2).

Eikosanoidene påvirker og kontrollerer en rekke celfunksjoner, spesielt på området betennelse og immunitet. Medikamenter som globoid, aspirin og andre NSAIDS/COX-hemmere (non-steroidal antiinflammatory drugs/cyklooksigenasehemmere) virker ved å hemme syntesen av eikosanoider. Som navnet antyder, dannes eikosanoidene ved oksydasjon av essensielle fettsyrer med 20 karbonatomer (se figur 1.1) og omfatter i alt fire ulike familier: **prostaglandiner, prostacykliner, tromboksaner og leukotriener**. For hver av disse er det to ulike serier, avhengig av om utgangspunktet er en  $\omega$ -3- eller en  $\omega$ -6-fettsyre (EPA eller arakidonsyre). En snakker gjerne om at økt innhold av  $\omega$ -3 i kosten forskyver produksjonen av eikosanoidene fra 2-serie/4-serie til 3-serie/5-serie (figur 1.1). De sistnevnte er generelt mindre proinflammatoriske. Marine oljer demper derved inflammasjons-reaksjonen, om enn på en litt annen måte enn NSAIDS/COX-hemmere.



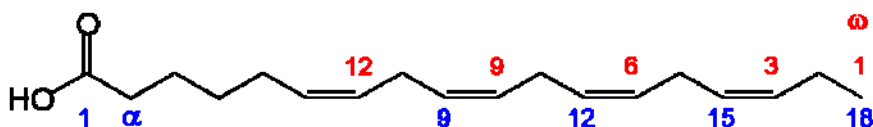
Figur 1.1 Eikosanoider med  $\omega$ -3 eller  $\omega$ -6-fettsyrer som utgangspunkt. (Kilde: Wikipedia).

Ved sterke fysiske anstrengelser reagerer immunforsvaret med forandringer som likner på dem en ser ved alvorlige sykdommer som eksempelvis blodforgiftning og større skader. Blant annet øker produksjonen av en rekke mediatorsmolekyler som TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-1ra, IL-6 m.fl. (3). Immunsystemet forskyves dermed over mot den proinflammatoriske siden. Dette ser ut til å være en standardreaksjon som normalt ikke fører til at forsvaret mot infeksjoner blir avgjørende påvirket, i alle fall ikke etter relativt kortvarige anstrengelser der immunsystemet raskt får anledning til å hente seg inn. Forholdene kan være annerledes ved langvarige og utmattende anstrengelser eller som følge av trening på høyt nivå uten tilstrekkelig hvile (overtrening).

Det er usikkert hvilken rolle tilskudd av marine oljer kan spille i denne forbindelsen. De fleste studier er gjort etter relativt kortvarige og intense anstrengelser som eksempelvis maratonløp. Resultatene har ikke vært overbevisende, noe som f.eks. kan skyldes at slike kosttilskudd i virkeligheten har liten virkning, at påkjennningene har vært for beskjedne/kortvarige eller at metodene har vært for lite sensitive (4-6). I den aktuelle studien ønsket vi å undersøke hvordan utvalgte inflammasjonsmarkører ble påvirket av  $\omega$ -3-tilskudd før, under og etter en langvarig (8-9 dager) moderat fysisk anstrengelse. For å øke sensitiviteten kompletterte vi *in vivo*-delen med en *ex vivo*-studie i fullblod (7). Etersom tilsynelatende beskjedne forandringer i fettsyremolekylene kan gi seg ganske store funksjonelle utslag, skal vi i det følgende se litt på hvordan de er oppbygd og hvilke modifikasjoner som er spesielt viktige i så måte.

## 1.1 Fettsyrer

Fettsyrer er organiske syrer (karboksylsyrer). De består av ugrenede hydrokarbonkjeder som enten kan være mettet, monoumettet eller flerumettet. Antall karbonatomer er vanligvis et partall og varierer fra 4 til 28. I enden sitter en karboksylgruppe (COOH) (se figur 1.2). Det finnes flere systemer for navnsetting. Det vanligste er å oppgi antall karbonatomer, etterfulgt av tallet på dobbeltbindinger (eksempelvis 18:3 for stearidonsyre). Det har også interesse å vite hvor dobbeltbindingene er lokalisert. Dette angis enten ved å telle karbonatomer fra karboksylenden ( $\alpha$ ) til første dobbeltbinding, eller (mer vanlig) fra motsatt ende ( $\omega$  eller n). Stearidonsyre (figur 1.2) vil med det sistnevnte systemet få betegnelsen 18:4, n-3.



Figur 1.2 Stearidonsyre (18:4,  $\omega$ -3, ofte skrevet 18:4, n-3).



### 1.1.1 Ulike typer fettsyrer

#### 1.1.1.1 Lengde

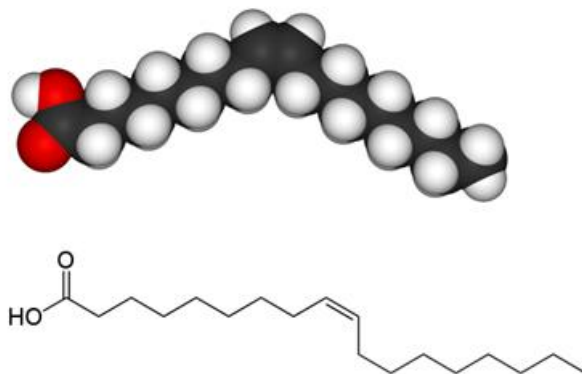
En skiller vanligvis mellom kortkjedede (short chain fatty acids (SCFA)) med < 6 karbonatomer), fettsyrer med middels lange kjeder (medium chain fatty acids (MCFA)) med 6-12 karbonatomer og langkjedede fettsyrer (long chain fatty acids (LCFA)) med > 12 karbonatomer).

#### 1.1.1.2 Mettede/umettede fettsyrer

Umettede fettsyrer har en eller flere dobbeltbindinger mellom karbonatomene. To karbonatomer som er bundet sammen med en dobbeltbinding, kan mettes ved at det tilføres hydrogenatomer som gjør dobbeltbindingene om til enkeltbindinger. Mettede fettsyrer har ingen dobbeltbindinger og er således alt i utgangspunktet ”mettet” med hydrogen.

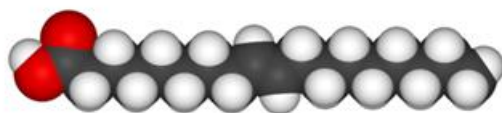
#### 1.1.1.3 Umettede *trans/cis*-fettsyrer

De to karbonatomene på hver side av en dobbeltbinding opptrer enten i *cis*- eller *trans*-konfigurasjon. I naturen forekommer de fleste umettede fettsyrer i *cis*-form, mens *trans*-fettsyrer dannes ved hydrogenering (herding). I den isomere *cis*-formen er hydrogenatomene plassert på samme side av et plan gjennom dobbeltbindingen slik at fettsyren i romperspektiv vil se vridd ut (figur 1.3).



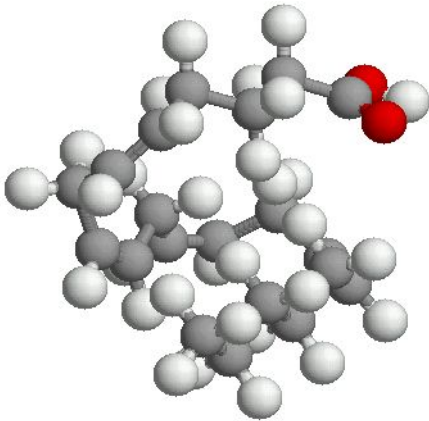
Figur 1.3 Oljesyre (*cis* 18:1 n-9).

Rotasjon om enkeltbindinger gir molekylene fleksibilitet, mens dobbeltbindinger minsker fleksibiliteten. Denne rigiditeten fører til at *cis*-isomerene bøyes omkring dobbeltbindingene, mens *trans*-formene likner mer på de rette mettede fettsyrene (figur 1.4).



Figur 1.4 Elaidinsyre (*trans*-oljesyre, *trans* 18:1 n-9).

Dess flere dobbeltbindinger en *cis*-isomer har, jo mer bøyd vil den være. Arakidonsyre (*cis* 20:4 n-6) er et eksempel på dette (figur 1.5).



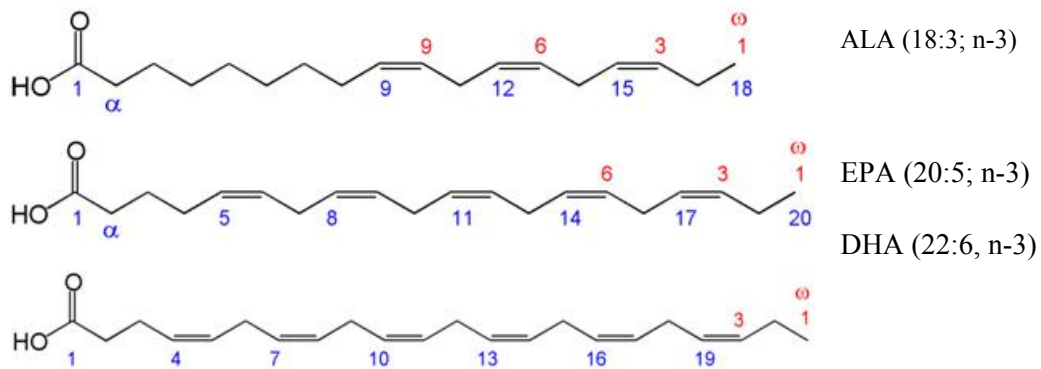
Figur 1.5 Arakidonsyre (*cis* 20:4 n-6).

Konfigurasjonen spiller også en rolle for fettsyrenes egenskaper, f.eks. vil *cis*-syrer som del av fosfolipidene i celledmembranen begrense muligheten for å pakke molekylene tett sammen, og dermed også virke inn på funksjonen i membranen.

#### 1.1.1.4 Omega-3-fettsyrer

Omega-3 er en familie umettede fettsyrer med en dobbeltbinding i posisjon 3 fra metylenden (figur 1.6). De viktigste er ALA ( $\alpha$ -linolensyre), EPA (eicosapentaensyre) og DHA (docosahexaensyre). ALA kalles ofte planteomega-3 fordi den viktigste kilden er planteoljer. EPA og DHA stammer i det alt vesentlige fra fisk og annen sjømat og omtales derfor som marint omega-3.

Siden mellomkrigstida har det vært kjent at disse syrene er essensielle for å oppnå normal vekst hos menneske. Etter hvert er flere andre positive egenskaper avdekket. Stort konsum av fett hadde lenge vært ansett som skadelig da oppdagelsesreisende i Arktis observerte at inuit-befolkningen på Grønland sjelden led av hjertekrampe, trass i at de spiste en kost som inneholdt rikelig av både fett og kolesterol. Fra tidlig på 1970-tallet utførte de to danske forskerne Jørn Dyerberg og Hans Olaf Bang fra Universitetet i Ålborg en rekke banebrytende studier for å løse dette tilsynelatende paradokset (8). Tilgjengelig statistikk bekreftet forskjellene i forekomst av koronarsykdom mellom inuiter og danske grønlandere.



Figur 1.6 Omega-3-fettsyrene ALA, EPA og DHA.

Analyse av dietten i de to befolkningsgruppene avdekket interessante forskjeller, noe som også avspeilte seg i plasmalipidene (tabell 1.1). Et annet slående forhold var det langt høyere innholdet av, i særdeleshet, EPA (20:5; n-3) både i de innfødte grønlandernes kost og i plasma.



Figur 1.7 Selfangst. Sermersuaq, Grønland, 1936. (Arktisk Institut, København).

Mean values for plasma lipid and lipoprotein concentrations in Greenland Eskimos, Eskimos living in Denmark and Caucasian Danes in Denmark

	Greenland Eskimos	Greenland Eskimos living in Denmark	Danes
Total lipids, g/liter	5.93	7.32	6.55
Cholesterol, mmol/liter	5.58	7.30	6.77
Triglycerides, mmol/liter	0.43	1.12	0.98
Phospholipids, mmol/liter	2.92	3.18	2.91
Chylomicrons, g/liter	0.27	0.24	0.15
$\beta$ -Lipoproteins, g/liter	4.27	5.00	4.58
Pre- $\beta$ -lipoproteins, g/liter	0.44	1.10	1.05
$\alpha$ -Lipoproteins, g/liter	3.64	4.24	3.64

Randon sample (5).

Tabell 1.1 Plasmalipider hos innfødte grønlandere bosatt på Grønland og i Danmark, samt dansker bosatt i Danmark (fra ref. 8).

I denne forbindelsen kan det kanskje være interessant å nevne at tilsvarende observasjoner i Norge ga støtet til et aldri så lite industrieventyr. De gamle vikingene hadde stor sans for mjød, men også tran fra fiskelever var høyt skattet. Gjennom de etterfølgende århundrene fortsatte tran å være en del av nordmenns liv, trass i at kvaliteten ikke alltid var på topp. Tran ble nemlig framstilt ved at leveren fra torsk ble satt ut i sola i store kar. Etter hvert som leveren råtnet, fløt tranen opp til overflaten. Det øverste laget var tålig og slett ikke verst på smak, mens det resterende ble både misfarget og illeluktende. Apotekeren Peter Møller revolusjonerte tranproduksjonen da han på midten av 1800-tallet begynte å bruke varm damp for å trekke tranen ut av fiskeleveren. I 1857 holdt han et foredrag i Kristiania for sine kolleger om medisinske effekter av tran. Blant annet uttalte han følgende: "I hvilken Deel af Tranen den velgjørende Virkning ligger, er langt fra til fulde afgjort". Etter å ha vært innom flere alternativer, fortsatte han: "Hvorvidt de i den almindelige Norske Tran indeholdende eiendommelige Fedtsyrer skulde kunne tillægges dens Virksomhed, er mig heller ikke bekjendt."

Studiene til Bang og Dyerberg mer enn 100 år senere skulle gi noe av svaret. De "eiendommelige Fedtsyrer" viste seg å være EPA og DHA. Fremdeles er ikke alle mekanismer klarlagt, men uansett er Møllers tran kanskje mer populær enn noensinne.

Etter hvert har  $\omega$ -3-fettsyrene nærmest blitt framstilt som en vidundermedisin som er godt for det meste, f.eks. hjerte og sirkulasjon (rytmeforstyrrelser, koronarsykdom, blodtrykk, åreforkalkning mv.), triglyserider og kolesterol, trombose, astma og allergi, hudproblemer, ubehag i ledd og muskler, hjerne (ADHD, depresjon og selvmord, læringsevne, demens mv.), immunologiske forstyrrelser osv. osv. Best dokumentert er sannsynligvis effektene på hjerte- og karsystemet (9), men det er også sterke indikasjoner på at immunforsvaret blir positivt påvirket, noe som kan spille en rolle for en rekke sykdommer der immunforstyrrelser (spesielt overstimulering) står sentralt.

## 2 Materiale og metoder

### 2.1 Forsøkspersoner og program for øvelsen

Tretti friske menn i alderen 20-23 år ble inkludert i studien. Samtlige skulle delta i en 9 dagers feltøvelse som ble avsluttet med en relativt krevende skimarsj med oppakning på 25-30 kg. Løypa var ca. 65 km lang og gikk langs grensen til Russland fra Elvestad til Grense Jakobselv (Figur 2.1). Denne delen av øvelsen ble gjennomført i tidsrommet 10. til 12. april 2011. I perioden 4. til 9. april lå soldatene i telt nær hovedleieren på GSV der de hadde leksjoner og praktiske øvelser. Disse omfattet blant annet mindre utmarsjer, tjeneste på skytebane, etablering av troppsbaser, orientering i mørke og utprøving av alternativ bivuakk. Alt ble gjennomført utendørs.



Figur 2.1 Kart over marsjruta

Alle 30 deltok fullstendig frivillig og kunne underveis fritt trekke seg når de måtte ønske. Før de underskrev samtykkeerklæring (Appendix A), fikk de informasjon om hensikten med undersøkelsen og de ekstra prosedyrer de eventuelt måtte gå gjennom. Det var et viktig poeng at deltakerne var godt orienterte og motiverte slik at frafallet skulle bli minst mulig.

### 2.2 Gruppeinndeling

Soldatene ble tilfeldig plassert i to grupper. Gruppe 1 (n = 15) fikk daglig 200 ml ren fruktdrikk (Nutrifriend 111) uten tilsetninger (placebo). Gruppe 2 (n = 15) fikk samme mengde, men tilsatt 1,4 g n-3 PUFA (derav 550 mg EPA og 550 mg DHA). Pakningene var nøytralt merket, og den enkelte soldat var blindet med hensyn til innholdet. For at fettsyreprofilen skulle få tid til å stabilisere seg, begynte deltakerne å drikke jusen 6 uker før øvelsen startet (10-11).

Innholdet av  $\omega$ -3-fettsyrer i pakningene ble undersøkt ved NOFIMA og funnet å være meget nær opp til de oppgitte verdiene.



## SMARTFISH NUTRIFRIEND 1100

NutriFriend 1100 er et næringsstikk spesielt egnet for pasienter med kreft/immunsvikt/sykdom som gir næringsstikkudskrevende svekkelse. Produktet er spesielt beregnet for pasienter som har stor nytte av høye doseringer av vitamin D3 og de marine omega 3-fettsyrene EPA og DHA.

NutriFriend 1100 er en juicebasert næringsdrikk som gir et kaloristikk på 200 Kcal per 200 ml.

### Næringsverdi per 200 ml:

Omega 3	1400 mg
DHA	550 mg
EPA	550 mg
Energi	200 kcal
Proteiner	8 g
Vitamin D3	10 µg

Næringsinnhold	100 ml	200 ml
Energi	100 kcal 419 kJ	200 kcal 838 kJ
Proteiner	4 g	8 g
Karbohydrater	14,25 g	28,50 g
Fett	2,9 g	5,8 g
Mettet	0,53 g	1,06 g
Enumettet	1,28 g	2,56 g
Flerumettet	1,09 g	2,18 g
Omega 3	700 mg	1400 mg
DHA	275 mg	550 mg
EPA	275 mg	550 mg
Vitamin D3	5 µg	10 µg

Vitaminer:	
Biotin	4 µg
Tiamin	0,06 mg
Vitamin B6	0,053 mg
Vitamin B12	0,72 µg
Vitamin E	1,82 mg
Vitamin C	0,5 mg
Vitamin D	5 µg

**Osmolaritet** 663,5 mOsm/kg

Gluten:	Glutenfri
Proteinkilde:	Myseproteinisolat
Fettkilde:	Fiskeolje fra laks/ørret
Karbohydratkilde:	Glukose og fruktose

**Anvendelsesområde:** SMARTFISH Nutrifriend 1100 er en ikke-komplett drikk for ernæringsbehandling av sykdomsrelatert under- og feilernæring, personer som har behov for energitilskudd, eller som ikke har matlyst eller overskudd til å spise tilstrekkelig. Den er velegnet ved forhøyet energi- og proteinbehov og/eller væskerestriksjon, og for personer som har kreft, immunsvikt, sykdom som gir næringsstikkudskrevende svekkelse og som har bruk for høye doseringer ferske omega 3-fettsyrer og vitamin D3.

Kan også anbefales til pasienter med KOLS og hjertesvikt i samråd med lege/helsepersonell.

**Anbefalt dosering:** Som foreskrevet av lege eller 1 til 2 per dag. Egnet for voksne, eldre og kan med varsomhet benyttes av barn fra 3 år.

**Forsiktighetsregler:** Må ikke konsumeres av personer med melkeintoleranse (inneholder myseproteinisolat fra melk).

**Forpakning:** Kartonger av 200 ml. Selges enkeltvis eller i brett av 18 stk.

**Bruksanvisning:** Serveres avkjølt, ristes før bruk.

**Oppbevaring:** Skal oppbevares i romtemperatur (1-25 °C). Ikke direkte i sollys. Åpnet kartong skal oppbevares i kjøleskap og brukes innen 1 døgn.

**Produksjon og GMO:** Fiskeoljen er fra norsk oppdrettsfisk, fullt sporbar og er sertifisert GMP (Good manufacturing practice) og Kosher. Smartfish inneholder ikke, og er ikke fremstilt av GMO (Genmodifiserte organismer).

**Regulatorisk status:** Næringsmiddel for spesielle medisinske formål.

**Smartfish AS:** Smartfish leder utviklingen på næringsprodukter med marint omega 3. Selskapet har et omfattende program for kliniske studier. For mer informasjon se <http://www.smartfish.no/clinical-studies/>

SMARTFISH er patentert og et registrert varemerke tilhørende Smartfish AS.

**Distributør:**  
Vitaflø Scandinavia AB NUF, PB. : 107 NO -1325 Lysaker  
Fornebuveien 44  
Tel: +47 67 11 25 40  
Fax: +47 67 11 25 41  
[www.vitaflø.net](http://www.vitaflø.net)

**SMARTFISH®**  
You will understand

Figur 2.2 Smartfish Nutrifriend 1100 produktark. Omega-3-gruppa drakk en kartong à 200 ml/dag. Placebogruppa fikk bare fruktsaft uten tilsatt fett,  $\omega$ -3, laktose eller vitamin D.

## 2.3 Blodprøver og analyser

Blodprøvene ble tappet fra en armvene med forsøkspersonene sittende.

- 14. februar 2011, dvs. relativt kort tid etter innrykk og før soldatene begynte med jus (24/2), ble det tatt kontrollprøve for å bestemme fettsyreprofilen (inklusive plasmanivå på EPA og DHA).
- 4. april 2011, dvs. dagen før øvelsen startet, ble det i tillegg tappet blod til bruk i fullblodmodellen.
- 12. april, dvs. på avslutningsdagen av øvelsen, ble prosedyren fra 4. april gjentatt.
- 23. mai ble de siste kontrollprøvene tatt for å få en ny fettsyreprofil.

### 2.3.1 Hematologiske og biokjemiske målinger

Hemoglobin, hematokrit og totalt leukocytaltall ble undersøkt i EDTA-blod. Prøvene ble så raskt som mulig fraktet til Kirkenes sykehus hvor analysene ble foretatt.

### 2.3.2 Fettsyrer i plasma

Fettsyrene ble analysert ved NOFIMA, Ås. Plasma ble tilsatt en kjent mengde intern standard (23:0) før totalfett ble ekstrahert ved hjelp av BI&D-ekstraksjon (12). Fettsyrene i ekstraktet ble deretter derivatisert og analysert som metylestere på en gasskromatograf (GC) (HP6890). Toppene i gasskromatogrammet ble integrert i en HP GC ChemStation software, identifisert ved hjelp av eksterne standarder og kvantifisert i forhold til en intern standard.

## 2.4 Fullblodmodellen

Hovedformålet med studien var å undersøke om kosttilskudd av  $\omega$ -3-fettsyrer påvirket immunforsvaret etter større anstrengelser. Leukocyttenes evne til å svare på stimulering med LPS ble undersøkt i en godt karakterisert fullblodmodell. Dagen før øvelsen ble det fra hver forsøksperson tappet 10 ml blod som ble fordelt i to reagensglass med 5 ml i hvert glass. Det ene glasset ble tilsatt LPS 5 ng/ml, noe som er antatt å gi en bortimot maksimal stimulering. Det andre glasset ble tilsatt en tilsvarende mengde fysiologisk saltvann og fungerte som kontroll. Deretter ble prøvene inkubert i 6 timer ved 37 °C samtidig som de ble rotert x6/min for å hindre at blodet sedimenterte. Etter 6 timer ble prøvene sentrifugert, supernatanten avpipettert og prøvene plassert i fryser med -20 °C. Samme prosedyre ble gjentatt umiddelbart etter at øvelsen var fullført. Leukocytffunksjonen ble undersøkt ved å måle konsentrasjonen av utvalgte cytokiner (TNF- $\alpha$ , IL-1  $\beta$ , IL-8).

## 2.5 Andre tester

### 2.5.1 Step-test

Step-testen ble gjennomført ved at soldatene gikk opp og ned på en benk så mange ganger de klarte i løpet av 3 minutter med en oppakning på omkring 30 kg. Med begge føttene oppe på benken skulle de strekke beina før de gikk ned igjen. Benken bestod av tre paller lagt oppå hverandre slik som vist på figur 2.3 (høyde ca. 40 cm). En kontrollør som stod rett overfor hver



soldat, talte hvor mange ”step” den enkelte klarte i løpet av den tilmålte tida. De påså også at testen ble gjennomført korrekt. Testen ble gjort umiddelbart etter at skimarsjen var avsluttet. Omkring 10 personer utførte testen samtidig.



*Figur 2.3 Soldater som gjennomfører step-test med oppakning (til venstre). Kontrollørene står rett overfor dem. Bildet er tatt like nedenfor grensestasjonen (Grense Jakobselv). (Foto: S. Martini).*

### 2.5.2 Subjektive ubehag fra muskulaturen

Alle deltakerne ble umiddelbart etter at marsjen var avsluttet, bedt om å angi hvor store ubehag de hadde fra muskulaturen (stiv, støl, andre ubehag) ved å avmerke et punkt på en kontinuerlig skala fra 0 til 20 cm. Null betegnet ”overhodet ingen ubehag”, 20 ”maksimalt ubehagelig”. Samme person foretok alle intervjuene individuelt og umiddelbart før blodprøvene ble tatt.

## 2.6 Statistisk analyse

Alle data er angitt som gjennomsnitt  $\pm$  standardfeil. Der vi kun har sammenliknet to målepunkter, er Students t-test brukt for uavhengige variabler, parvis t-test ved sammenlikning innen samme gruppe. Forøvrig har vi brukt RM ANOVA etterfulgt av Student-Newman-Keuls test. P-verdier mindre enn 0,05 er ansett som statistisk signifikante.



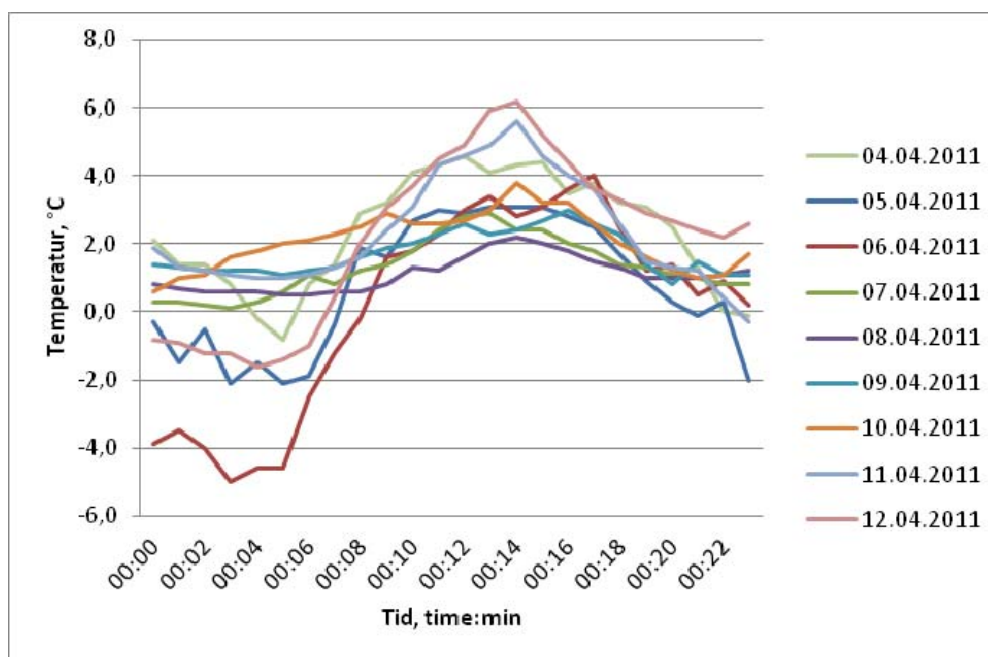
### 3 Resultater

#### 3.1 Værforhold under marsjen

Temperaturen lå på dagtid stort sett 1-2 grader over nullpunktet. Skiføret var til tider noe trått (se tabell 3.1/figur 3.1). Vinden var hele tiden moderat.

Dato	4/4	5/4	6/4	7/4	8/4	9/4	10/4	11/4	12/4
Temp, °C	2	1	0	1	1	2	2	2	2
RH, %	70	75	78	85	90	84	85	82	81
Vind, m/s	4,8	2,8	3,8	2,7	1,3	2,0	3,4	3,4	4,5
Nedbør, mm*	-	-	-	-	0,4	-	-	-	-

Tabell 3.1 Væroversikten viser gjennomsnittlige døgnverdier i perioden 4.-12. april 2011. Data er innhentet i fra meteorologisk institutt, målestasjon Kirkenes Lufthavn. (\*Data for nedbør er innhentet fra målestasjon Veines i Neiden).



Figur 3.1 Temperaturvariasjoner under øvelsen 4. - 12. april 2011.

#### 3.2 Fysiske karakteristika hos deltakerne

Av de 30 inkluderte var det fra randomisering til marsjen ble avsluttet, et frafall på 6 personer i gruppe 1 og 4 personer i gruppe 2, dvs. at vi til slutt fikk to grupper med henholdsvis  $n=9$  (placebo) og  $n=11$  ( $\omega$ -3). Flere av frafallene skyldtes forhold som ikke hadde noe med studien å gjøre, og som den enkelte soldat ikke hadde herredømme over (eks. overflytting til annen tjeneste). I det etterfølgende er det bare tatt med verdier fra de 20 som fullførte hele studien. Det var ingen signifikante forskjeller på de basale fysiologiske parametrene mellom gruppene (tabell 3.2).

	Placebo group n=9	Omega-3 group (n=11)
Alder (år)	20,56 ± 0,24	20,78 ± 0,28
Høyde (cm)	183 ± 0,02	181 ± 0,02
Vekt (kg) (før skimarsjen)	84,6 ± 3,6	77,0 ± 2,4
Vekt (kg) (etter skimarsjen)	82,1 ± 3,3	74,4 ± 2,2
Vekttap (kg)	2,4 ± 0,4	2,5 ± 0,4
Kroppsmasseindeks (utgangspunkt)	25,3 ± 0,8	23,5 ± 0,8

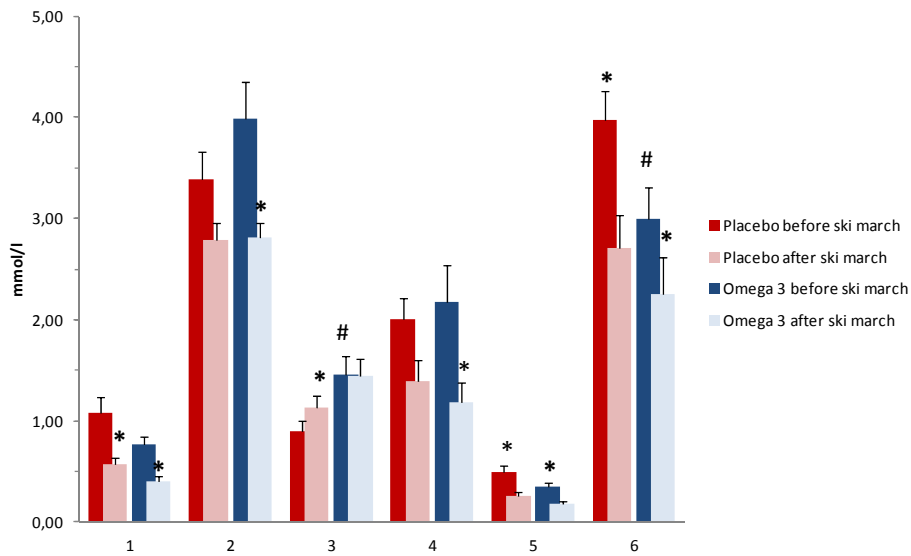
Tabell 3.2 Forsøkspersonene (gjennomsnitt ± standardfeil)

### 3.3 Fettstoffer i blodet

#### 3.3.1 Totale plasmalipider

Fettstoffene i blodet består hovedsakelig av kolesterol og triglyserider. Kolesterol er en essensiell bestanddel av cellemembranen og også utgangspunkt for flere hormoner. Triglyseridene er først og fremst viktige energibærere. Fettstoffene er ikke vannløselige. I sirkulasjonen fraktes de derfor stort sett innpakket i proteinkomplekser (lipoproteiner) som gjerne grupperes (etter avtakende størrelse) som chylomikroner, high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL) og very low density lipoproteins (VLDL). Selv om det ikke er noen forskjell på kolesterolet i HDL og LDL, omtales gjerne det første som ”det gode kolesterolet”, LDL-kolesterolet som ”det farlige kolesterolet”, vesentlig på grunn av at personer med høye verdier av LDL ser ut til å være mer utsatt for hjertesykdommer. Bakgrunnen er sannsynligvis at funksjonen til HDL-partiklene er å frakte kolesterol fra blodbanen til leveren, mens LDL tar seg av transporten den motsatte veien.

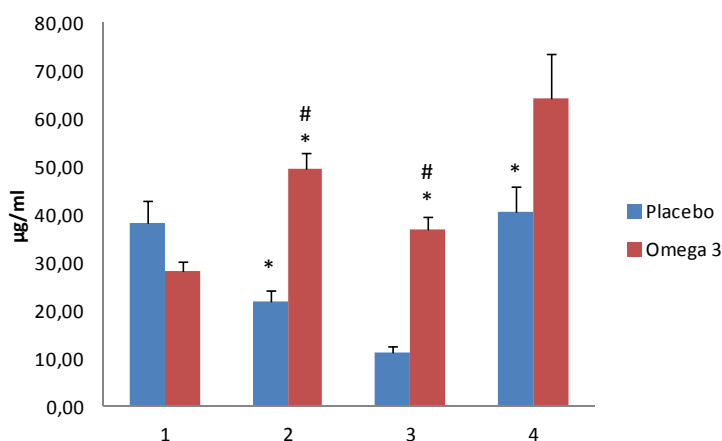
Før øvelsen var det ingen signifikante forskjeller i nivået på triglyserider eller totalt kolesterol mellom de to gruppene (figur 3.2). Som ventet førte den økte fysiske aktiviteten til at fettmengden i blodet generelt ble redusert. Hvis en ser nærmere på enkeltkomponentene, var HDL-kolesterol i utgangspunktet signifikant høyere i  $\omega$ -3-gruppa og falt svært lite i løpet av marsjen. Forholdet kolesterol/HDL-kolesterol er også mer gunstig, vesentlig som en følge av effekten på nivået av HDL-kolesterol.



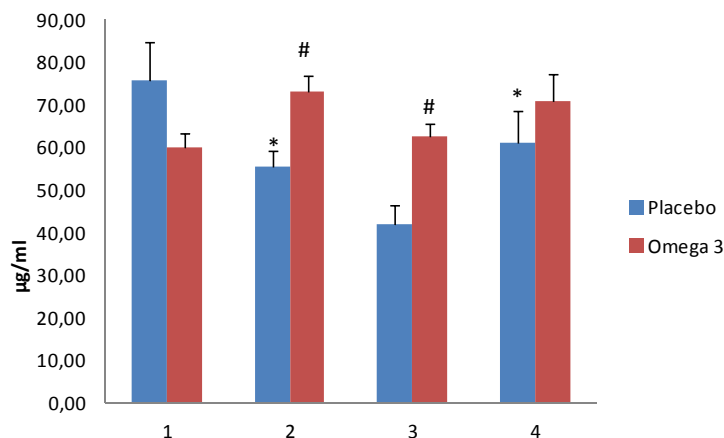
Figur 3.2 Plasmalipider før og etter øvelsen. Som det går fram av figuren, faller lipidnivåene signifikant, mens det er små forskjeller mellom gruppene. 1 - triglyserider, 2 - kolesterol, 3 - HDL-kolesterol, 4 - LDL-kolesterol, 5 - VLDL-kolesterol, 6 - kolesterol/HDL-ratio. \* $p < 0,05$  innen gruppene før og etter øvelsen; #  $p < 0,05$  mellom gruppene.

### 3.3.2 Fettsyrer i blod (plasma)

Det viktigste formålet med å måle fettsyrenivået i blodet var å fastslå med sikkerhet om deltakerne hadde fått tilført den mengde jus som protokollen tilsa. Det generelle inntrykket var at drikken både med og uten  $\omega$ -3 ble meget godt mottatt av soldatene, og verdiene for de to viktigste  $\omega$ -3-fettsyrene (EPA (20:5;n-3) og DHA (22:6;n-6), se figur 3.3 og 3.4) viste da også gruppeforskjeller som var i tråd med våre forventninger.

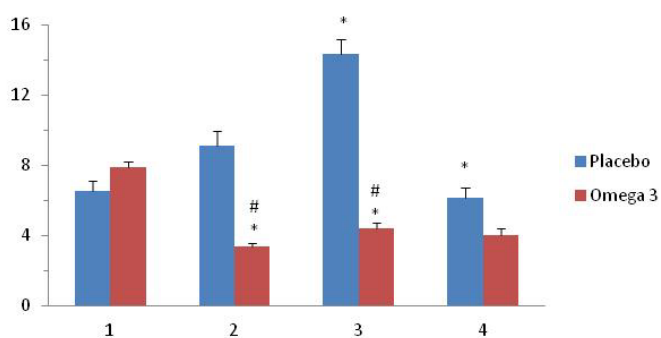


Figur 3.3 Plasmaverdier av EPA før ekstratilskudd av  $\omega$ -3 (1), etter 6 uker, dvs. dagen før øvelsen (2), ved avslutning av øvelsen (3) og 4-5 uker etter øvelsen (4). I løpet av øvelsen falt EPA i placebograppa til svært lave verdier sml. med tidspunkt (1), \*  $p < 0,05$  sml. med foregående verdi i samme gruppe; #  $p < 0,05$  mellom gruppene på samme tidspunkt.



Figur 3.4 Plasmaverdier av DHA før tilskudd av  $\omega$ -3 (1), dagen før øvelsen (2), ved avslutning av øvelsen (3) og 4-5 uker etter øvelsen (4). DHA falt i likhet med EPA betydelig i løpet av øvelsen. \*  $p < 0,05$  sml. med foregående verdi i samme gruppe; #  $p < 0,05$  mellom gruppene på samme tidspunkt.

Som nevnt i innledningen (se figur 1.1), vil forholdet mellom arakidonsyre og EPA spille en viktig rolle for sammensetningen av eikosanoidene. Kostholdet i den vestlige verden fører til at blodet hos det store flertall inneholder betydelig mer arakidonsyre enn EPA (i vårt tilfelle 7-8/1). Økt tilførsel av marine oljer reduserer denne ubalansen. Etter seks uker ble ratio mer enn halvert i  $\omega$ -3-gruppa, mens det i placebo-gruppa derimot var en ikke-signifikant økning (figur 3.5). Umiddelbart etter øvelsen var forskjellene enda mer markerte. Det økte tilbudet av EPA vil føre til at det blir produsert relativt mer eikosanoider i 3- og 5-serien, dvs. at det lokale miljøet generelt blir mindre proinflammatorisk enn om utgangspunktet hadde vært arakidonsyre. Økt inntak av  $\omega$ -3 fører etter hvert også til at fettsyresammensetningen i celledmembranene endres, noe som kan tenkes å påvirke funksjonen.



Figur 3.5 Arakidonsyre/EPA-ratio ved samme tidspunkter som vist på figur 15. Vi ser at de fysiske anstrengelsene i forbindelse med øvelsen forskyver forholdet i proinflammatorisk retning. \*  $p < 0,05$  sml. med foregående verdi i samme gruppe; #  $p < 0,05$  mellom gruppene på samme tidspunkt.

### 3.4 Hematologiske verdier

Blodprosenten holdt seg på det nærmeste uforandret gjennom marsjen. Vanligvis vil den synke i forbindelse med langvarige og kraftige fysiske anstrengelser, både på grunn av økt ødeleggelse av røde blodlegemer, noe nedsatt nydannelse og økt plasmavolum. De relativt små forandringene kan sannsynligvis tas som et tegn på at anstrengelsene var moderate, men noe kan det også ha å si at soldatene brukte ski og ikke løp på hardt underlag (mindre slag mot de røde blodlegemene under fotsålene).

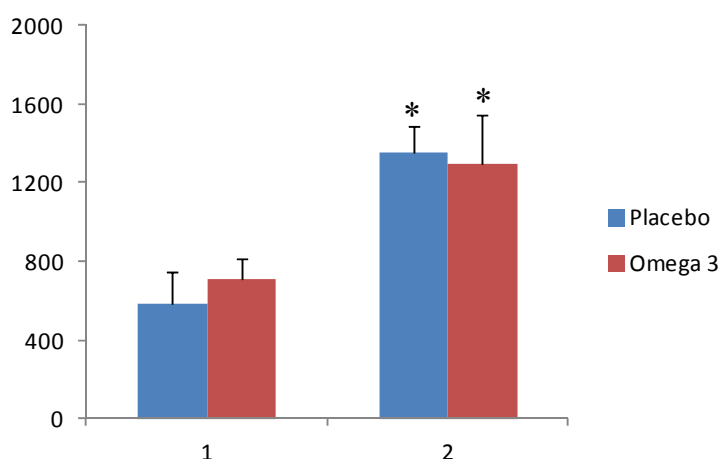
	Placebo (n=9)		Omega-3 (n=11)	
	Før skimarsjen	Etter skimarsjen	Før skimarsjen	Etter skimarsjen
Hemoglobin (g/dl)	14,59 ± 0,31	13,98 ± 0,22	13,74 ± 0,18	13,82 ± 0,15
Hematokrit (%)	42,36 ± 0,84	41,59 ± 0,72	39,93 ± 0,58	41,16 ± 0,52*
Blodplater (10 <sup>9</sup> celler/l)	292 ± 16	296 ± 14	298 ± 13	329 ± 13*

- $p < 0,05$  før sml. med etter øvelsen

Tabell 3.3 Noen hematologiske variabler (gjennomsnitt ± standardfeil)

### 3.5 Biokjemiske målinger

Transaminaser er intracellulære enzymer som normalt bare finnes i små mengder i sirkulasjonen. Ved celleskader øker lekkasjen, og plasmanivåene stiger. Dette skjer ved en rekke ulike sykdommer og store traumer, men er også svært vanlig etter kraftige fysiske anstrengelser. Høye CK-verdier blir ofte brukt som mål på muskelskade, men er i beste fall nokså usikkert til denne bruk. I løpet av øvelsen steg CK signifikant i begge gruppene, uten at det var forskjell mellom dem (se figur 3.6).



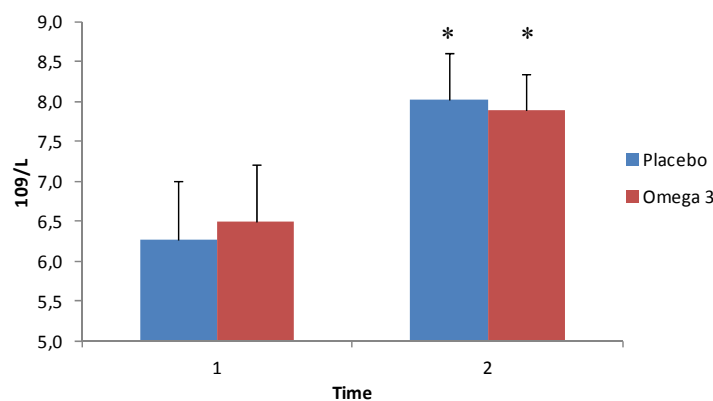
Figur 3.6 CK-verdier (U/l) i plasma før (1) og etter (2) øvelsen. \*  $p < 0,05$  sml. med utgangspunktet. Det var ingen signifikante forskjeller mellom gruppene ved noen av tidspunktene.

Verdiene for transaminasene ASAT og ALAT viste et liknende mønster. ASAT-verdiene steg f.eks. signifikant fra  $22,0 \pm 8,5$  til  $56,3 \pm 5,4$  U/l i placebogruppa (fra  $24,8 \pm 5,8$  til  $59,6 \pm 10,5$  U/l i  $\omega$ -3-gruppa). Selv om stigningen er statistisk signifikant, er den liten og sannsynligvis uten klinisk betydning.

### 3.6 Immunologiske variabler

#### 3.6.1 Hvite blodlegemer (leukocytter)

Øvelsen førte til typiske forandringer i leukocytverdiene. Totalantallet steg signifikant i begge grupper, dvs. fra  $6,27 \pm 0,72$  til  $8,02 \pm 0,58$   $10^9/l$  (placebo) og fra  $6,50 \pm 0,72$  til  $7,90 \pm 0,44$   $10^9/l$  ( $\omega$ -3). Det var ingen forskjeller mellom gruppene (figur 3.7).

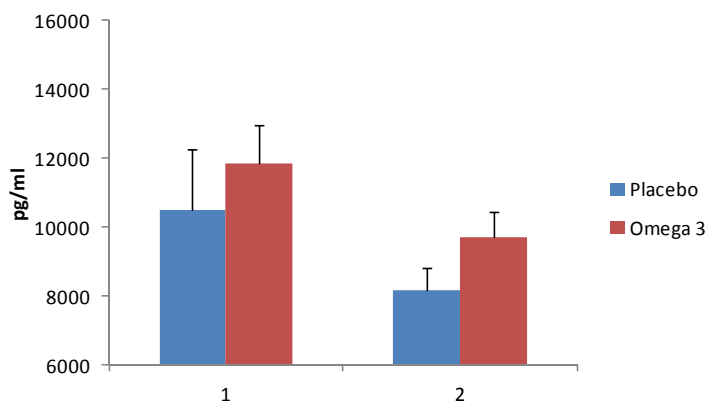


Figur 3.7 Totalt leukocytall ( $10^9/l$ ) før (1) og etter (2) øvelsen. \*  $p < 0,05$  fra tidspunkt (1) til (2).

Det var først og fremst nøytrofile granulocytter som stod for denne økningen, men også lymfocytter hadde en tendens til å stige (NS i begge grupper). Dette faller sammen med observasjoner som er gjort tidligere, f.eks. i forbindelse med Krigsskolens stridskurs (13).

#### 3.6.2 Evne til stimulert cytokinproduksjon i *ex vivo* fullblod

En kan tenke seg at fettsyrer av  $\omega$ -3-typen ville kunne virke inn på cytokinproduksjonen både ved å redusere produksjonen av proinflammatoriske eikosanoider og ved å endre membranegenskapene i de hvite blodlegemene. Det har vist seg å være vanskelig å finne slike forandringer direkte i plasma, og vi bestemte oss derfor for å bruke en *ex vivo* fullblodmodell der vi kan stimulere cellene. Dette er en langt mer sensitiv metode.

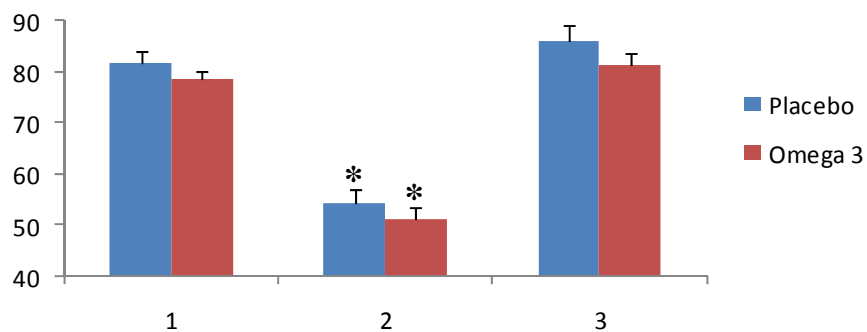


Figur 3.8 TNF- $\alpha$  før (1) og etter (2) øvelsen etter stimulering med LPS 5 ng/ml i 6 timer. Det er en tendens til at marsjen har virket negativt på leukocyttenes evne til syntese, men det er ingen forskjell mellom gruppene.

Både for TNF- $\alpha$  og IL-1  $\beta$  var det en ikke-signifikant tendens til nedsatt stimulert produksjon etter øvelsen, mens forholdet var omvendt for IL-8. Tilskudd av  $\omega$ -3 så ikke ut til å ha noen virkning (figur 3.8).

### 3.7 Andre tester

#### 3.7.1 Step-test



Figur 3.9 Step-test tatt før (1), ved avslutning (2) og 6 uker etter øvelsen (3). Figuren viser antall "step"/3 min. Det er ingen forskjeller mellom gruppene. \*  $p < 0,05$  sammenliknet med (1) og (2).

Step-testen ble gjennomført for å måle eventuelle forskjeller i utholdenhet mellom de to gruppene. Som det går fram av figur 3.9, var det ingen holdepunkter for at ekstra tilskudd av  $\omega$ -3-fettsyrer hadde noen virkning på kondisjonen.

#### 3.7.2 Subjektive symptomer fra muskulaturen

Det er antatt at langvarige eller intense fysiske anstrengelser fører til mikrotraumer i muskulaturen, noe som igjen kan utløse en lokal betennelsesreaksjon. Dette kan måles i blod,

f.eks. ved hjelp av ”muskulære” cytokiner som IL-6 eller lekkasje av intracellulære enzymer som CK. Teoretisk skulle tilskudd av  $\omega$ -3 kunne dempe denne reaksjonen. Subjektivt vil slike betennelsesreaksjoner gi seg utslag i lette smerter eller stiv/støl muskulatur. Verdiene var  $10,1 \pm 1,7$  cm i placebogruppa og  $5,2 \pm 1,3$  i  $\omega$ -3-gruppa ( $p = 0,03$ ). De sistnevnte hadde altså signifikant mindre subjektive plager fra muskulaturen ved avslutning av marsjen, mens vi altså ikke fant forskjeller i CK-verdiene.

## 4 Diskusjon

I denne studien har vi undersøkt hvordan daglig tilskudd av 1,4 g  $\omega$ -3-fettsyrer påvirket immunreaksjonen etter en 8-9 dager lang øvelse. Med våre parametre fant vi ingen signifikante forskjeller sammenliknet med en kontrollgruppe som fikk placebobehandling. Resultatene er i samsvar med flere tidligere undersøkelser gjennomført av andre (4,5).

Kontroll av fettsyrenivåene i plasma viste at vi opererte med to atskilte grupper, og flere uavhengige miljøer har slått fast at  $\omega$ -3-fettsyrer som EPA og DHA har antiinflammatoriske egenskaper. Mekanismene er også langt på vei klarlagte (1,2). Når vi likevel ikke fikk sikre utslag på noen av våre tester, kan dette ha mange årsaker.

- Dosen var relativt liten (1,4 g/døgn). Andre har brukt betydelig mer (Nieman et al (4) 2,4 g, Toft et al (5) 3,6 g), men resultatene har likevel stort sett vært negative. Det kan i denne forbindelsen kanskje være av interesse å merke seg at et lite beger grovhakket makrell i tomat (40 g) ifølge deklarasjonen inneholder 2,0 g  $\omega$ -3-fettsyrer (derav 1,3 g EPA + DHA).
- Metodene kan ha vært for lite sensitive. Både (4) og (5) målte immunverdier i plasma, dvs. et relativt grovt mål. Vi forsøkte å bøte på dette ved å komplettere *in vivo*-delen med *ex-vivo*-stimulering av leukocytene. Men heller ikke dette ga målbare forskjeller mellom gruppene.
- Den fysiske utfordringen var muligens for liten. Riktignok økte leukocytverdiene signifikant i begge grupper til omkring  $8,0 \cdot 10^9$  celler/l, men betydelig mindre enn vi har sett f.eks. på Krigsskolens stridskurs med gjennomsnittsverdier omkring  $15,0 \cdot 10^9$  celler/l (13).
- Vi var henvist til å bruke et begrenset antall parametre, og det kan ikke utelukkes at et annet og bredere utvalg kunne ha gitt andre resultater (14).
- Alle forsøkspersonene var friske unge menn. Sannsynligvis er det lettere å få fram effekter hos personer som er syke, har høy risiko for å utvikle sykdom eller er fullstendig utrente (15).
- Eikosanoidene er i utgangspunktet lokalt virkende stoffer, mens alle våre målinger er basert på verdier i blodet.
- Sluttelig var gruppene forholdsvis små ( $n = 9$  og  $n = 11$ ). En ting er at små utvalg kan gjøre det vanskelig å oppnå statistisk signifikante verdier, men i vårt tilfelle så vi heller ingen klare tendenser i noen retning.



Det har vært spekulert på om  $\omega$ -3-tilskudd også kunne virke positivt på yteevnen. Dyreeksperimentelle studier har f.eks. vist økt blodgjennomstrømning i muskulaturen (16). Hos menneske har en funnet positive effekter på hjertefunksjonen, blant annet økt slagvolum og hjerteminuttvolum, nedsatt motstand i systemsirkulasjonen og økt oksygentilbud til vevene (17). I forbindelse med den aktuelle studien gjennomførte vi noen enkle tester (step-test), uten å finne forskjell mellom gruppene. Det er påfallende at  $\omega$ -3-gruppa rapporterte om færre subjektive plager fra muskulaturen. Dette er vanskelig å forklare, spesielt etter som vi ikke hadde tilsvarende objektive funn som eksempelvis økte transaminaser. Eikosanoidene virker imidlertid først og fremst lokalt, og bare ved større betennelsesreaksjoner kommer målbare mengder over i blodet og gir systemeffekter. Forutsatt at våre resultater avspeiler reelle forskjeller, kan påvirkning av det lokale miljøet i muskulaturen være en mulig mekanisme.

## 5 Konklusjon

Oppsummert gir denne studien ingen sikre holdepunkter for at ekstratilskudd av  $\omega$ -3-fettsyrer gitt i god tid før en planlagt langvarig anstrengelse gir målbare utslag på inflammasjon eller fysisk yteevne.

## Litteratur

1. Yaqoob P. Fatty acids and the immune system. Mechanisms underlying the immunomodulatory effects of n-3 PUFA. *Proc Nutr Soc* 2010;69:311-315.
2. Grimm H, Mayer K, Mayser P, Eigenbrodt E. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. *Br J Nutr* 2002;87 (suppl. 1):S59-S67.
3. Nieman DC. Immune response to heavy exertion. *J Appl Physiol* 1997;82:1385-1394.
4. Nieman DC, Henson DA, McAnulty SR, Jin F, Maxwell KR. n-3 polyunsaturated fatty acids do not alter immune and inflammation measures in endurance athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2009;19:536-546.
5. Toft AD, Thorn M, Ostrowski K, Asp S, Møller K, Iversen S, Hermann C, Søndergaard SR, Pedersen BK. n-3 polyunsaturated fatty acids do not affect cytokine response to strenuous exercise. *J Appl Physiol* 2000;89:2401-2406.
6. Phillips T, Childs AC, Dreon DM, Phinney S, Leeuwenburgh C. A dietary supplement attenuates IL-6 and CRP after eccentric exercise in untrained males. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:2032-2037.
7. Wang JE, Solberg R, Okkenhaug C, Jørgensen PF, Krohn CD, Aasen AO. Cytokine modulation in experimental endotoxemia: characterization of an ex vivo whole blood model. *Eur Surg Res* 2000;32:65-73.
8. Bang HO, Dyerberg J, Nielsen AB. Plasma lipid and lipoprotein pattern in Greenlandic west-coast eskimos. *Lancet* 1971;1(7710):1143-45.

9. Connor WE. n-3 fatty acids from fish and fish oils: panacea or nostrum? *Am J Clin Nutr* 2001;74:415-416.
10. Blonk MC, Bilo HJG, Nauta JJP, Popp-Snijders C, Mulder C, Donker AJM. Dose-response effects of fish-oil supplementation in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 1990;52:120-127.
11. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res* 2008;47:348-380.
12. Bligh EG, Dryer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol* 1959;37:911-917.
13. Gundersen Y, Opstad PK, Reistad T, Thrane I, Vaagenes P. Seven days' around the clock exhaustive physical exertion combined with energy depletion and sleep deprivation primes circulating leukocytes. *Eur J Appl Physiol* 2006;97:151-157.
14. Keil D, Luebke RW, Pruett SB. Quantifying the relationship between multiple immunological parameters and host resistance: probing the limits of reductionism. *J Immunol* 2001;167:4543-4552.
15. Sijben JW, Calder PC. Differential immunomodulation with long-chain n-3 PUFA in health and chronic disease. *Proc Nutr Soc* 2007;66:237-259.
16. Stebbins CL, Hammel LE, Marshal BJ, Spangenberg EE, Musch TI. Effects of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids on the skeletal-muscle blood-flow response to exercise in rats. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2010;20:475-486.
17. Walser B, Stebbins CL. Omega-3 fatty acid supplementation enhances stroke volume and cardiac output during dynamic exercise. *Eur J Appl Physiol* 2008;104:455-461.

## Appendix A Samtykkeerklæring

# Forespørsel om deltakelse i feltstudien

”Vil ekstra tilskudd av omega-3-fettsyrer til kosten ha positiv effekt på de forandringer i yteevne, psykisk velvære og immunforsvar som oppstår i forbindelse med langvarige fysiske anstrengelser?”

Omega-3 blir mye brukt som kosttilskudd av en rekke svært forskjellige grupper, deriblant også toppidrettsutøvere. Det er fremdeles usikkert hvor stor gevinsten er ved slik bruk hos friske personer i sin beste alder. Vi ønsker å teste dette i forbindelse med GSVs øvelse i april. Spesielt vil vi prøve å måle eventuelle gunstige effekter på yteevne, psykisk velvære og immunforsvar.

Som vanlig ved slike øvelser vil deltakernes ernæringsbehov bli dekket av Forsvarets feltrasjoner. I tillegg vil en gruppe få tilskudd av omega-3, med oppstart ca 10 - 8 uker før øvelsen begynner. Avhengig av resultatene vil det bli vurdert om ekstra omega-3 bør inngå i den ordinære feltrasjonen.

Du inviteres med dette til å delta i denne studien. I den forbindelse er det nødvendig å gjennomføre noen enkle tester umiddelbart før øvelsen, omtrent halvveis og kort tid etter at øvelsen avsluttes.

Vi kommer til å måle yteevnen ved fysiske tester (eks. step-test). Det psykiske yteevnen vil bli vurdert ut fra et utfylt spørreskjema (kognitive tester). For å måle effekten på immunforsvaret er det nødvendig å ta en blodprøve på hvert av de ovenfor angitte tidspunktene.

Deltakelse i studien er frivillig. Du kan når som helst trekke deg underveis. Alle svar vil bli anonymisert, og det vil ikke være mulig å identifisere noen enkeltpersoner i den endelige rapporten. Vi håper å få analysene klare før dimisjon slik at deltakerne kan bli gjort nærmere kjent med resultatene.

Dersom du sier deg villig til å delta, må du undertegne skjemaet under.

### **Kontaktperson**

Dersom du senere ønsker å trekke deg eller har spørsmål til studien, kan du kontakte Svein Martini, Forsvarets forskningsinstitutt, Avdeling for beskyttelse, på mobiltelefon 90 95 47 35 eller Yngvar Gundersen på telefon 63 80 78 87.

### 5.1.1.2 Samtykke til deltakelse i studien

Jeg er villig til å delta i studien

---

(Signert av prosjektdeltaker, dato)

Jeg bekrefter å ha gitt informasjon om studien