

Arbeidsforskningsinstituttene

Arbeidsfysiologisk institutt - Arbeidspsykologisk institutt - Muskelfysiologisk institutt
Yrkeshygienisk institutt

Kontoradresse: Gydas vei 8, tlf. 02/46 68 50
Postadresse: P.b. 8149 Dep Oslo 1

Tittel: Endringer i venøs kaliumkonsentrasjon under arbeid,
målt med intravasale elektroder

Forfatter(e): Jostein Hallén

Prosjektansvarlig: Ole M. Sejersted

Prosjektmedarbeidere:

Arbeidsfysiologisk seksjon,

Utgiver (institutt): Forskningsenteret AMY

Hovudfagsoppgåve i Biologi

Dato: 8/9-87

Antall sider:

79

ISSN:

0800-3777

Serie:

HD 967/87 FOU

Sammendrag:

Det blei laga elektroder for måling av kaliumkonsentrasjonen i lårvena. Kaliumkonsentrasjonen blei målt under sykling ved ulike belastningar.

Resultatene viser at det skjer store og raske endringar i kaliumkonsentrasjonen under og etter arbeid, og at kontinuerleg måling er nødvendig for å plukke opp desse.

Stikkord: Kaliumelektroder

Lårvena

Sykling

Plasma kaliumkonsentrasjon

Key words:

Potassium-electrodes

Vena-femoralis

Bicycling

Plasma potassium concentration

Arbeidsforskningsinstituttene

Arbeidsfysiologisk institutt - Arbeidspsykologisk institutt - Muskelfysiologisk institutt
Yrkeshygienisk institutt

Kontoradresse: Gydas vei 8, tlf. 02/46 68 50
Postadresse: P.b. 8149 Dep Oslo 1

Tittel: Endringer i venøs kaliumkonsentrasjon under arbeid,
målt med intravasale elektroder

Forfatter(e): Jostein Hallén

Prosjektansvarlig: Ole M. Sejersted

Prosjektmedarbeidere:

Arbeidsfysiologisk seksjon,

Utgiver (institutt): Forskningsenteret AMY

Hovudfagsoppgåve i Biologi

Dato: 8/9-87

Antall sider:

79

ISSN:

0800-3777

Serie:

HD 967/87 FOU

Sammendrag:

Det blei laga elektroder for måling av kaliumkonsentrasjonen i lårvena. Kaliumkonsentrasjonen blei målt under sykling ved ulike belastningar.

Resultatene viser at det skjer store og raske endringar i kaliumkonsentrasjonen under og etter arbeid, og at kontinuerleg måling er nødvendig for å plukke opp desse.

Stikkord: Kaliumelektroder

Lårvena

Sykling

Plasma kaliumkonsentrasjon

Key words:

Potassium-electrodes

Vena-femoralis

Bicycling

Plasma potassium concentration

| <u>Kapittel</u> | <u>Side</u> |
|--------------------------------------|-------------|
| fors. METODE | |
| 2.2 Forsøksmodell | 29 |
| 2.2.1 Forsøkspersonar | 29 |
| 2.2.2 Undersøkingar før forsøksdagen | 29 |
| 2.2.3 Forsøket | 31 |
| 2.2.4 Etter forsøket | 32 |
| 2.3 Fysiologiske metodar | 32 |
| 2.4 Statistiske metodar | 33 |
| 3. RESULTAT | 34 |
| 3.1 Elektrodane | 34 |
| 3.1.1 Konstruksjon | 34 |
| 3.1.2 Signalet | 35 |
| 3.2 Endringer i $[K^+]_v$ | 39 |
| 3.2.1 Initiell fase | 39 |
| 3.2.2 Etter knekkpunktet | 39 |
| 3.2.3 Etter arbeidsslutt | 43 |
| 4. DISKUSJON | 44 |
| 4.1 Elektrodane | 44 |
| 4.1.1 Kalibrering | 44 |
| 4.1.2 Selektivitet og tidskonstant | 45 |
| 4.1.3 Drift | 46 |
| 4.1.4 Blodprøvar og etterjustering | 46 |
| 4.1.5 Oscillering | 46 |
| 4.1.6 Bruk av elektroden | 48 |

| <u>Kapittel</u> | <u>Side</u> |
|--|-------------|
| fors. DISKUSJON | |
| 4.2 Måling i blodbana | 48 |
| 4.2.1 Ekvilibrering mellom interstitiet og blod | 48 |
| 4.2.2 Forseinking | 50 |
| 4.2.3 Fortynning | 51 |
| 4.2.4 Oppsummering | 52 |
| 4.3 Endringer i $[K^+]$ i lårvena under og etter arb | 52 |
| 4.3.1 Starten på arbeidet | 52 |
| 4.3.1.1 AP-avhengig kaliumeffluks | 53 |
| 4.3.1.2 Reguleringsmekanismene | 55 |
| 4.3.1.3 T-tubuli systemet (TT) | 58 |
| 4.3.1.4 Andre mekanismer | 59 |
| 4.3.1.5 Oppsummering | 59 |
| 4.3.2 Etter knekkpunktet | 60 |
| 4.3.2.1 Depolarisert av cellemembran endrer AP | 60 |
| 4.3.2.2 Regulering etter knekkpunktet | 60 |
| 4.3.2.3 Oppsummering | 62 |
| 4.3.3 Etter arbeidsslutt | 63 |
| 4.4 Oppsummering og konklusjonar | 64 |
| 4.4.1 Problemstilling og metode | 64 |
| 4.4.2 Konklusjoner | 65 |
| LITTERATURLISTE | 66 |

O. SAMANDRAG

Tidlegare undersøkingar har vist at muskelarbeid fører til auka ekstracellulær kaliumkonsentrasjon. P.g.a. at kalium er svært viktig for membranpotensialet, kan det tenkjast at endringar i kaliumkonsentrasjonen kan vere årsak til muskeltrøtthet. Sidan muskeltrøtthet er nær knytt til arbeidsbelastning, ønskte eg å svare på følgjande problemstilling: Korleis blir kaliumkonsentrasjonen i muskel regulert under arbeid ved ulike arbeidsbelastningar?

Sidan endringar i kaliumkonsentrasjonen skjer svært raskt under og etter arbeid, var det ønskeleg å måle konsentrasjonen kontinuerleg. Vidare problemstilling blei difor: Er det muleg å måle kaliumkonsentrasjonen kontinuerleg i lårvena under sykling, og gir dette noko ekstra bidrag til løysing av problemstillinga nemd ovanfor?

Eg konstruerte elektrodar til bruk intravasalt. Elektroden er eit polyvinyklorid (PVC) kateter med ein PVC-valinomysin membran i eine enden som berre er permeabel for kalium. Elektroden blei sett inn i lårvena ved Seldinger teknikk. Eit ytre kateter fungerte som referanse-elektrode, men blei og brukt til å trekke blodprøvar frå. Forsøkspersonane kunne utan problem sykle med elektroden montert.

Fire forsøkspersonar gjennomførte tilsaman ni forsøk med inntil fire ulike belastningar pr.forsøk. Arbeidsbelastningane var mellom 40% og 140% av det maksimale oksygenopptaket.

Frå ein utgangsverdi på 4.02 ± 0.15 mM var det ingen endring i kaliumkonsentrasjonen dei første 6 - 8 s av arbeidet. Dei neste 8 - 11 s auka konsentrasjonen til-

nærma rettlina med $60 - 140 \mu\text{M s}^{-1}$ avhengig av arbeidsbelastninga. Auken var raskast ved dei høgaste arbeidsbelastningane og samanhengen mellom belastninga og auken var rettlina.

Etter, denne første initielle auken avtok stigninga. Ved arbeidsbelastningar under 100% av det maksimale oksygenopptaket, nådde kaliumkonsentrasjonen først ein topp før den stabiliserte seg på ein verdi mindre enn toppunktet. Konsentrasjonen var då frå $4.54 \pm 0.01 \text{ mM}$ til $5.63 \pm 0.09 \text{ mM}$ (middel \pm SEM). Ved arbeidsbelastningar like over 100% (<120%), forsette konsentrasjonen å stige inntil arbeidsslutt, men nådde ein nesten stabil verdi på $6.63 \pm 0.13 \text{ mM}$. Den stabile eller nesten stabile sluttkonsentrasjonen ved arbeidsbelastningar under 120% av det maksimale oksygenopptaket auka med aukande belastning, og samanhengen var eksponentiell.

Ved den høgaste arbeidsbelastninga sykla forsøkspersonen til utmatting i ca 70 s. Kaliumkonsentrasjonen auka til nærma rettlina også etter den første stigninga med $38 \pm 3 \mu\text{M s}^{-1}$. Sluttkonsentrasjonen var $7.19 \pm 0.15 \text{ mM}$.

Forsøka viser at sjølv ved lette arbeidssbelastningar (<40% av det maksimale oksygenopptaket) aukar kaliumkonsentrasjonen i blod raskt og blir over kvileverdi inntil arbeidet stoppar. Ved arbeid over 100% av det maksimale oksygenopptaket er effluksen større enn tilbakepumpingsmekanismane sin maksimale kapasitet (under desse vilkåra), slik at konsentrasjonen aukar gjennom heile arbeidet.

Kontinuerleg måling av kaliumkonsentrasjonen med elektrode er eit naudsynt hjelpemiddel i kartlegging av kaliumbalansen i muskel. Metoden gir nøyaktige resultat, og er enkel i bruk.

1. INNLEIING

Muskelcella si evne til å kontrahere seg gjer muskelen ansvarleg for det mest karakteristiske fenomen i dyre-riket: Rørsler. Muskelen og kontraksjonsmekanismen er av dei mest studerte fenomen innan anatomi og fysiologi. Emilo Veratti, som var ein anerkjent muskelanatom skreiv i 1902: "Det er gjort hundrevis av studiar på muskel opp gjennom åra både av anatomar og fysiologar. Desse studiane representerer generasjonar sin målbevisste søking etter løysinga på eit stort problem innan biologi. Men enno er vi langt frå å nå målet."

Sidan dette blei skrive for 85 år sidan, er det gjort hundrevis av nye studiar på muskel, og spesielt dei siste tiåra er det gjort nye viktige funn. Likevel kan ein trekke den same konklusjonen i dag som Veratti gjorde: Det er langt igjen til vi kjenner muskelen sin virkemåte i detalj. Mesteparten av den forståinga vi har av muskelen bygger på teoriar og ikkje på provde fakta. I 30 år har til dømes Kryssbru-teorien vore den dominerande for sjølve kontraksjonsmekanismen. Likevel blir det framleis publisert arbeid som går mot denne teorien.

1.1 Muskeltrøtthet

Dei viktigaste spørsmåla knytt til muskelen er spørsmåla kring trøtthet. Når ein muskel ikkje klarer å oppretthalde eller utvikle same kraftproduksjonen over tid, blir dette definert som muskeltrøtthet. Årsaka eller årsakene til muskeltrøtthet er langt frå klarlagt. Her finn vi ikkje ein gong nokon leiande teoriar. Det er imidlertid brei semje om at det fins fleire typar muskeltrøtthet (Edwards, 1981).

Alle detaljane kring ein muskelkontraksjon er ikkje

Innleiing

kjend, men ein kjenner systema som er involvert og at muskeltrøtthet kan oppstå på ulike steg. Utanom sjølv kontraksjonsmekanismen er det to andre viktige "system", eitt som styrer kontraksjonen, dei eksitatoriske/aktiverande prosessane, og eitt som forsyner kontraksjonsmekanismen med energi, metabolismen. Trøtthet kan vere at dei metabolske prosessane ikkje klarer å produsere nok ATP, eller at dei elektriske prosessane ikkje klarer å oppretthalde eit tilstrekkelegt høgt Ca-nivå i cytosol. Begrensningar knytt til sjølv kontraksjonsmekanismen kan vere som foreslått av Hermansen (1981) at lav intracellulær pH p.g.a. mjølkesyreakkumulasjon kan påverke bindinga av Ca^+ til troponin og senke kraftutviklinga.

Sjølv om ein under in vitro studiar klarer å isolere ein enkelt faktor som årsak til funksjons-nedsetting under spesielle vilkår, er det viktig å vere klar over den nære samanhengen det er mellom dei forskjellige prosessane in vivo. Både for kvar muskelcelle og for heile muskelen er det nær samanheng mellom dei eksitatoriske/aktiverande prosessane og energimetabolismen (Edwards, 1981). Det vil seie at begrensningar i det eine systemet kan påverke det andre og på den måten forårsake muskeltrøtthet. Dette kan illustrerast ved dei aktive pumpe-mekanismane i membranane i muskelcella. Dei er avhengige av metabolsk energi og det er bl.a. vist at Na/K-pumpa i kvile står for 6 - 10% av ATP-forbruket i muskelcella (Chinet, 1984). Under arbeid vil det totale behovet vera større. Ein situasjon der produksjon av ATP ikkje strekk til vil kunne føre til redusert evne til å regulere kalium og natrium over cellemembranen som igjen kan føre til nedsett eksitabilitet (sjå nedanfor). Begrensningane i reguleringa av desse ionene kan sjølvsgt også inn-treffe ved at pumpene når sin maksimale kapasitet, sjølv om ATP-produksjonen er tilstrekkeleg.

1.2 Kaliumbalanse og muskeltrøtthet

Membranpotensialet er avhengig av elektrolyttkonsentrasjonane inne i og rundt cella, og i kvile er forskjellen i kaliumkonsentrasjonen ($[K^+]$) over cellemembranen den viktigaste (Hodgkin og Horowicz, 1959). Ufullstendig regulering av kalium vil føre til auka ekstracellulær og minka intracellulær konsentrasjon. Konsekvensen av det er ein kontinuerleg depolarisert membran.

Om muskelcellemembranen plutselig blir depolarisert, vil det aktivere Na-kanalar og dermed auke natrium influks og starte eit aksjonspotensial (AP) (Hodgkin og Huxley, 1952). Desse kanalane blir altså aktivert av ei depolarisering, men Hodgkin og Huxley viste også at Na-kanalane blei inaktive om depolariseringa vedvarte. Inaktive Na-kanalar vil blokkere for AP. Na-kanalane kan vera komplett inaktiv ved 20-30 mV depolarisering (Sjøgaard, 1986).

Dette betyr at begrensningar i reguleringa av kalium kan føre til nedsett membranpotensial og at denne depolariseringa kan medføre redusert eksitabilitet. Dette vil føre til nedsett muskelkraft sidan eksitering av cellemembranen er naudsynt for å aktivere det kontraktile apparat. Manglande evne til å aktivere det kontraktile apparatet vil redusere kravet for ATP. Det er blitt foreslått av Nassar-Gentina og medarb. (1978) og Kugelberg og Lindegren (1979) at dette kan vera ein sikringsmekanisme som hindrar at muskelen skal "gå i rigor" på grunn av ATP-tømming. Er dette tilfelle, kan det gjere det vanskeleg å skilje mellom metabolske og elektriske årsaker til trøtthet. Det kan også forklare kvifor det ikkje er påvist nokon større reduksjon i ATP konsentrasjonen, sjølv i situasjonar der det var fullstendig manglande evne til å kontrahere muskelen (Dawson og medarb., 1978; Knuttgen og Saltin, 1972).

1.3 Måling av ekstracellulær $[K^+]$ in vivo

In vitro studiane tyder på at elektrolyttendringar i muskelen kan føre til muskeltrøtthet. Men kan det skje store endringar i t.d. $[K^+]$ in vivo? Fenn (1936) viste at det totale kaliuminnhaldet i muskelen blei redusert i samband med muskelarbeid. Seinare studiar viser at muskelarbeid fører til auka $[K^+]$ i blod (Costill og Saltin, 1975; Hermansen og medarb., 1984; Hnik og medarb., 1972; Kjellmer, 1965; Lind og medarb., 1966; Medbø og Sejersted, 1985) og at denne auka $[K^+]$ skuldast utslepp frå muskelen (Sjøgaard og Saltin, 1982; Vøllestad og Sejersted, 1985). Det er også målt auka interstitiell $[K^+]$ under muskelaktivitet hjå katt og kanin (Gebert, 1972; Hnik og medarb., 1976; Hirche, 1980) og hjå menneske (Vyskocil og medarb., 1983).

1.4 Arsak til auka $[K^+]$ i blod

Kva er årsaken til den auka $[K^+]$ i blod? Forsøka nemd ovanfor viste at kaliumet kjem frå muskel. Fenn (1936) meinte at dette skjedde under eksitering av muskelcellemembranen og at kalium "fossa" ut av cella på grunn av den store konsentrasjonsforskjellen. På den tida var Bernstein (1902) sin teori om membranpotensial og eksitering den aksepterte. Denne gjekk ut på at membranen i kvile berre var permeabel for kalium og at membranpotensialet såleis berre var bestemt av $[K^+]$ inne i og utanfor cella. Under eit AP braut membranen saman og ionene kunne strøyme fritt etter sin konsentrasjonsgradient. Ut frå dette var Fenn si forklaring svært naturleg. På same tid - i 1935, starta "Den klassiske biofysiske perioden" (Hille, 1984). Ein teknikk som gjorde det muleg å sette elektrodar inn i store nerveceller (spesielt frå blekksprut) gjorde Cole og Curtis i USA og Hodgkin og Huxley i England i stand til å registrere membranpotensialet. Ein annan nødvendig teknikk i desse studiane var "spennings-kontroll teknikken"

(Hille, 1984). Denne perioden enda opp med Hodgkin og Huxley (1952) sitt klassiske arbeid som beskriv AP som ein kontrollert straum meir enn eit kaotisk samanbrot. Tidlegare hadde Goldmann (1942) skildra membranpotensialet som eit "samansett" potensial; sjølv om kaliumpermeabiliteten var dominerande, var membranen i tillegg permeabel for andre ion. Det var Hodgkin (1951) som først forslo slik det er kjent idag, at depolariseringsfasen under eit AP skuldast at membranen blir meir permeabel for natrium og at den straumen ein måler er ein influks av natrium. På same måte er hyperpolariseringsfasen ein effluks av kalium.

Aktivering av muskelen vil altså føre til ein auka effluks av kalium. Dette vil kunne vere årsak til den auka konsentrasjonen som er blitt målt ekstracellulært under og like etter muskelarbeid. Utrekningar på dette skal eg kome tilbake til i diskusjonen. Det er også blitt foreslått at kalium blei bytt ut med hydrogen p.g.a. produksjon av mjølkesyre og at dette skulle vera årsak til auka ekstracellulær $[K^+]$. Det er imidlertid blitt vist at kalium og mjølkesyre i blod har eit svært ulikt konsentrasjonsforløp under og etter tredemølleløping (Hermansen og medarb., 1984). Det viser at i alle fall ved denne typen arbeid er K^+ og H^+ uavhengige av kvarandre.

Kalium er i visse vev ein aktiv volumregulator (Gilles, 1983; Hoffmann, 1977; Tosteon og Hoffmann, 1960). Sidan ein observerer volumendringar i muskel under arbeid (Sjøgaard og medarb., 1985), kunne kaliumeffluksen skuldast at kalium var volumregulerande også i muskel under arbeid. Den manglande samanhengen med H^+ styrkjer ikkje denne hypotesen.

1.5 Styring av kaliumflukser over cellemembranen

Uansett kva for ein overordna faktor som styrer kaliumforflyttingar over cellemembranen, kan dette berre skje på tre måtar. Kalium kan (1) bli driven av den elektrokjemiske drivkrafta for kalium (summen av krafta som skuldast konsentrasjonsforskjellar og krafta som skuldast det elektriske feltet), (2) bli dreven av den elektrokjemiske drivkrafta til eit anna ion gjennom såkalla utvekslingsmekanismer, (3) eller bli transportert aktivt ved forbruk av metabolsk energi (ATP).

1.5.1 Elektrokjemiske drivkrefter

Forutsett at membranen er permeabel for kalium vil kalium diffundere ut av cella om membranpotensialet er mindre negativt enn kalium sitt likevektspotensial (utrekna frå Nernst likning), og inn i cella om membranpotensialet er meir negativt.

Det er ofte antatt at det ekstracellulære og det intracellulære miljøet er i Donnan likevekt. Det vil seie at når $[K^+]_e$, $[Cl^-]_e$, $[K^+]_i$ og $[Cl^-]_i$ er respektive kalium- og kloridkonsentrasjonen i interstitiet (e) og intracellulært (i) har vi at:

$$[K^+]_e/[K^+]_i = [Cl^-]_i/[Cl^-]_e$$

sidan cellemembranen i kvile stort sett berre er permeabel for kalium og klorid. Det betyr at likevektspotensiala for dei to iona er like og at membranpotensialet er nær dette. D.v.s. at uansett forholdet mellom permeabilitetane vil det i kvile normalt ikkje finnast elektrokjemiske krefter på kalium eller kun små slike krefter. I tilfelle små krefter vil desse verka utover sidan dei andre iona som kan ha betydning for membranpotensialet vil gjere dette mindre negativt.

Innleiing

Ved å endre permeabiliteten for kalium kan ein endre på storleiken på kaliumfluksen over membranen, men retnin- gen på denne passive diffusjonen kan kun endrast ved å endre forholdet mellom membranpotensialet og kalium sitt likevektspotensial. Under eit AP endrar membranpoten- sialet seg dramatisk (depolarisering), og drivkrafta for kalium blir betydeleg. Når permeabiliteten aukar "fos- sar" kalium ut av cella.

Aukar $[K^+]$ på utsida av cella frå 4 til 5 mM, vil kalium sitt likevektspotensial vere mindre negativt enn klorid sitt. Dette kan skje trass i Donnan-likevekta om auken i $[K^+]$ skjer så raskt at klorid ikkje får tid til å følgje på, m.a.o. at likevekt ikkje har inntreft. Om til dømes kalium-auken skuldast repeterte AP, har den gjenom- snittlege permeabiliteten for kalium vore større enn klorid sin i det same tidsromet, og dermed har kalium- fluksen vore størst. Kvilemembranpotensialet vil då, ved høg permeabilitet for klorid, vera meir negativt enn kalium sitt likevektspotensial. Dermed vil den elektro- kjemiske drivkrafta for kalium verke innover. Denne ef- fekten blir sjølvstørr ved mindre konsentrasjons- forskjellar for kalium over membranen og ved høgare permeabilitet for klorid. Eg kjenner ikkje til om ein slik mekanisme er aktiv in vivo, men ein kan tenkja seg at dette kan vera viktig i det transversale tubuli systemet (sjå diskusjon).

1.5.2 Utvekslingsmekanismer

At eit ion flyttar seg med den elektrokjemiske driv- krafta, er isolert sett tap eller rettare forbruk av potensiell energi. Dette forbruket kan nyttast til å utføre eit arbeid, til dømes flytta eit anna ion mot si elektrokjemiske drivkraft. Dette blir nytta i såkalla utvekslingsmekanismer. Det er ikkje isolert nokon meka- nisme i cellemembranen der det elektrokjemiske poten- sialet for kalium er drivkrafta. Dette kan skuldast at

Innleiing

membranpotensialet for det meste er nær kalium sitt likevektspotensial og dermed at nytten av ein slik utvekslings-mekanisme er liten. Utvekslings-mekanismer vil søkje å utlikna elektrokjemiske forskjellar over membranen. For å oppretthalda/gjennoppretta dei elektrokjemiske forskjellane må cella til sist forbruka metabolske energi.

1.5.3 Aktiv transport

Som ein ser ovanfor, er det teoretisk muleg for kalium å gå både ut og inn av cella utan direkte forbruk av metabolsk energi. Dette er ikkje tilfelle for natrium. For natrium verkar både den kjemiske og den elektriske drivkrafta innover, slik at det må store og ufysiologiske konsentrasjonsendringar til for å snu desse.

Sjølv om det er isolert utvekslingsmekanismer for natrium, er det klart at dei har avgrensa kapasitet, fordi den store elektrokjemiske krafta som verkar på natrium vil kreve mykje potensiell energi. Hodgkin (1951) konkluderte med følgjande: "Det er nødvendig å anta at natrium kontinuerleg blir pumpa ut av eksiterbare celler av ein prosess som er avhengig av metabolismen." Denne "prosessen" blei seinare isolert og identifisert som ein ATPase og blei kalla Na/K-ATPasen eller Na/K-pumpa fordi den transporterte både natrium og kalium (Skou, 1957). Under fysiologiske vilkår pumpar den tre natrium ut av cella og to kalium inn for kvart ATP forbrukt. Det er i dag klart at eksiterbare celler si evne til å regulere desse iona er heilt avhengig av denne pumpa. Dessutan er kalsium sin store konsentrasjonsforskjell over celle-membranen avhengig av natrium sin konsentrasjonsforskjell over membranen via ein utvekslingsmekanisme mellom natrium og kalsium. Andre prosessar er avhengig av kalsium sin konsentrasjonsforskjell. Dette viser for det første kor samansett ionemønsteret i nerve og muskel er, og for det andre kor viktig Na/K-pumpa er, ikkje berre

for natrium og kalium, men for konsentrasjonsforholda i muskelen generelt.

1.6 Kaliumbalansen og arbeidsbelastning

Dei metabolske prosessane under arbeid er mykje studert. Energikravet aukar rettlinja med aukande arbeidsbelastning, og begrensingar vil inntre når energikravet nærmar seg individets maksimale evne til å produsere ATP. Det er derimot ikkje klarlagt korleis dei ulike elektrolyttane blir regulert ved ulike arbeidsbelastningar. Det ville vera spesielt viktig å kartleggje reguleringa av kalium sidan $[K^+]$ har så stor betydning for membranpotensialet.

Som før nemd er det fleire som har vist at $[K^+]$ i blod aukar under muskelarbeid. Det er også vist at auken er størst ved dei største arbeidsbelastningane (Sjøgaard, 1986; Vøllastad og Sejersted, 1985). Forholdet mellom arbeidsbelastning og auken av $[K^+]$ er imidlertid ikkje næmrare klarlagt.

1.7 Kontinuerleg måling av $[K^+]$

Endringar i $[K^+]$ skjer svært raskt i samband med muskelarbeid. For å kunne studere desse endringane med tilstrekkeleg oppløysing, er det naudsynt med kontinuerleg registrering. Det er tidlegare gjort målingar med elektrode i blodbana på anestiserte forsøksdyr (Lim og medarb., 1982; Hnik og medarb., 1973) og i muskel på dyr (Gebert, 1972; Hnik og medarb., 1976; Hirche og medarb., 1980) og menneske (Vyskocil og medarb., 1983). Linton og medarb. (1984) har dessutan målt på menneske med ein elektrode som låg i eit kammer utanfor forsøkspersonen der blodet frå ei katetrisert arterie kontinuerleg rann gjennom.

Kaliumkonsentrasjonen i muskel på menneske er kun målt av Vyskocil og medarb. (1983). Dette var gjort ved statiske kontraksjonar med ein glasselektrode. Det er fleire metodiske problem ved måling i muskel. Det største problemet er faren for mekanisk å øydeleggje celler som dermed vil lekke kalium. Dette vil kunne tolkast som kaliumutslepp.

Vyskocil og medarb. (1985) har seinare ikkje klart å gjenta forsøka på menneske.

1.8 Problemstilling

Ønskje om å kartlegge korleis kalium blir regulert under arbeid ved ulike arbeidsbelastningar var bakgrunnen for å starte på dette arbeidet. Eg ville måle under dynamisk arbeid på sykkelergometer. Grunnen er at sykkel er mykje brukt i samband med metabolske studiar. Vidare var det målt elektrolyttar under sykling ved instituttet tidlegare (Vøllestad og Sejersted, 1985), og sidan oppgava mi også er ein metodestudie ville det kunne vera nyttig å ha bakgrunn for eventuelle samanlikningar. Det var lite håp om å etablere ein metode for måling i muskel, og eg valde difor å arbeide med ein elektrode for måling i vene like etter muskelen. Ingen av metodane nytta i dei tidlegare arbeida kunne overførast direkte til dette føremålet. Måling i lårvena i lysken sette andre krav til utforminga av både sjølvvelektroden, referansesystemet og forsterkarutstyret.

Med bakgrunn i dette blei problemstillinga til denne oppgava:

Innleiing

1. Korleis blir $[K^+]_v$ i muskel regulert under arbeid ved ulike arbeidsbelastningar.

2. Er det muleg å måle $[K^+]_v$ kontinuerleg i lårvena under sykling, og gir dette noko ekstra bidrag til løysing av problem 1.

Resultata frå oppgava mi er i samhøve med problemstillinga todelt, knytt til elektroden og dei fysiologiske målingane. Resultat- og diskusjonskapitlet er difor delt i to knytt til kvar si problemstilling.

Eg ønskjer å gå vidare med dette arbeidet, og denne oppgava er såleis ein start i bruk av denne målemetoden til belysing av ioneregulering under arbeid.

2. METODE

Eg laga elektrodar for måling av kaliumkonsentrasjonen ($[K^+]$) i lårvena. Elektrodane blei brukt under sykling ved ulike arbeidsbelastningar.

2.1 Elektrodane

Kaliumelektroden er eit polyvinylklorid (PVC) kateter med ein membran i den eine enden som er selektivt permeabel for kalium. Kateteret er fylt med ei saltløyning (0.5 M KCl), og ein sølv/sølvklorid-elektrode (Ag/AgCl-elektrode) dannar den elektrokjemiske kontakten mellom saltløyninga og måleapparaturen (figur 1).

2.1.1 Konstruksjon av elektrodane

Membranløyninga blei laga ved å støype inn valinomycin i polyvinylklorid med høgt innhald av mykner (dibutylsebacat). Membranen har dette vektprosentlege innhald: Valinomycin 4%, kaliumtetraphenylborat (KTPB) 1%, dibutylsebacat (DBS) 74%, uplastisert polyvinylklorid pulver (PVC) 25% (Hill, 1978). KTPB laga eg ved ein utfellingsreaksjon mellom natriumtetraphenylborat (NaTPB) og kaliumklorid (KCl) i ionebyta vatn. Valinomycin, KTPB og PVC blei løyst i tetrahydrofuran (THF), og deretter tilsett mykner. DBS, THF og valinomycin er SIGMA-preparater, PVC og NaTPB kan kjøpast på vanleg apotek.

Både kateteret og membranen er hovudsakeleg av PVC og membranen kan difor "sveisast" på ved bruk av THF. På den måten vil ikkje det vere fare for at membranen skal løsne frå kateteret. Dette er sjølvstøtt svært viktig under humane forsøk.

Eg prøvde fleire metodar til å sette membranen på kateteret. Eg fann at den enklaste og den beste ved tynne kateter (<2 mm) var "dyppemetoden". Membranen blir lagt

Metode

på ved å dyppe kateteret i den viskøse membranløysninga.

Utstyr: Membranløysning, elektrodekaterer,
ståltrådmandreng (e.l.), skarp skapell.

Framgangsmåte:

1. Kateteret blir kuttet med ein skarp skapell i elektrodelen.
2. Mandrengen blir sett inn i kateteret slik at den er i flukt med kateterenden der membranen skal leggjast. Mandrengen må vere butt.
3. Kateteret med mandreng blir ført ned til overflata på membranløysninga og trekt forsiktig tilbake. Har løysninga riktig konsistens, slepp den ikkje kateteret før kateteret er trekt 5 - 10 mm tilbake. Denne prosessen gjentas umiddelbart to gonger, før membranen blir hengt til tork i 10 min.
4. Punkt 3 gjentas til membranen har fått ein tydeleg konveks form, vanlegvis 2-4 gonger
5. Membranen må tørke i minimum 24 timar.

Dette er elektrodens spesielle del. Den er etter torkinga klar til bruk, men kan lagrast i luft i fleire veker.

0.5 M KCl metta med sølvklorid (AgCl) blei brukt som elektolytt i elektroden. Elektroden blei fylt gjennom eit stålkaterer (ytre diameter 0.55 mm) som var ført heilt fram til membranen. Elektolytten blei såleis fylt innanfrå og pressa dermed lufta ut bakenden. Stålkateret blei dratt tilbake samstundes med at elektolytten blei spruta inn.

Som elektrokjemisk kontakt brukte eg Ag/AgCl-elektroder både i den kaliumselektive elektroden og i referanse-

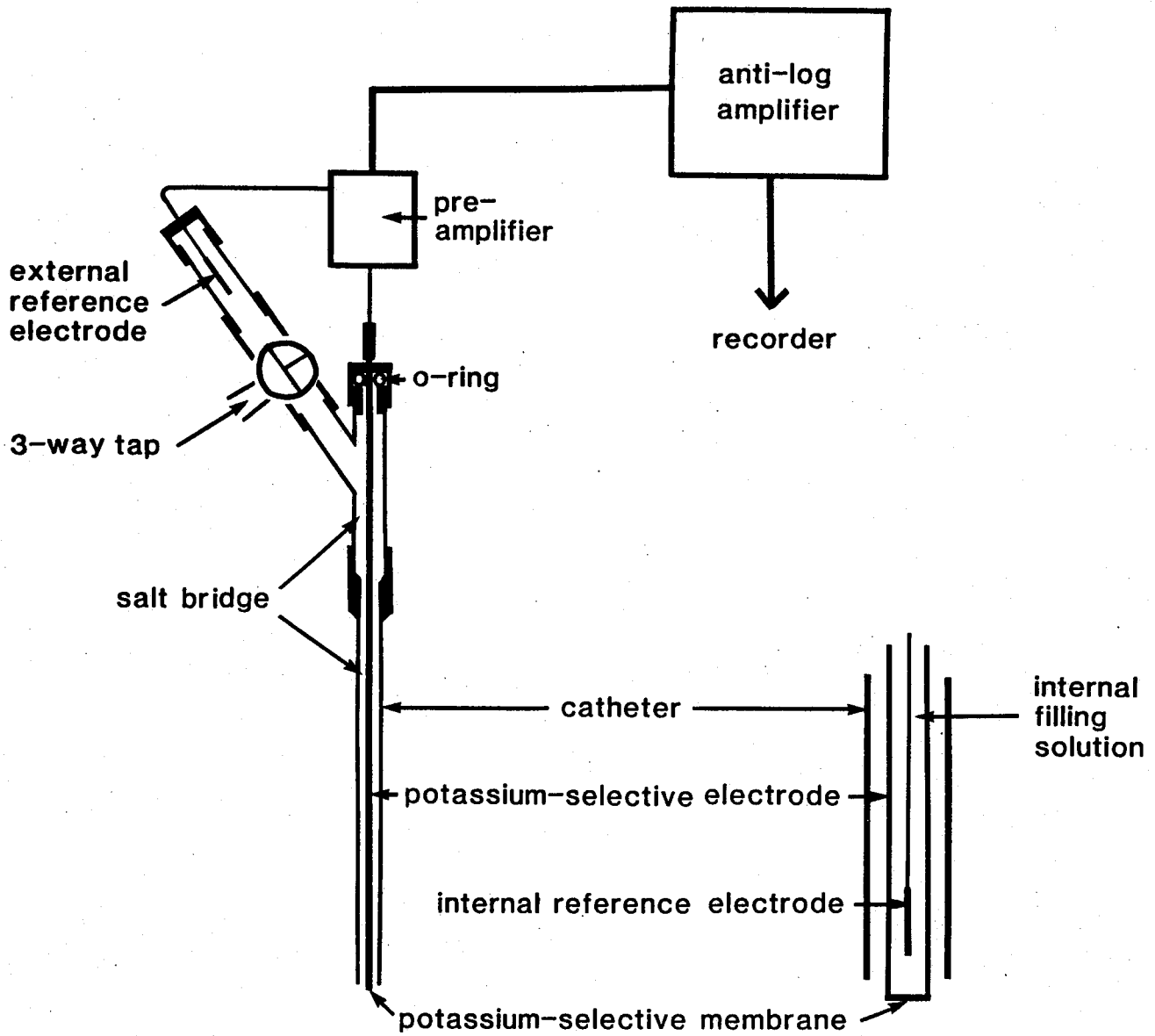
Metode

elektroden. Disse var ikkje å få kjøpt i rett dimensjon, og eg laga dei difor i eit sjølvlagde elektrolyseapparat. Ein teflonisolert sølvtråd med diameter 0.2 mm blei forsiktig avisolert 1.6 cm i eine enden med ein skarp skapell. Isoleringsrester, striper og anna blei fjerna ved å koble sølvtråden opp i elektrolyseapparatet sin positive pol i 1 min med straumstyrke på ca 5 mA cm^{-2} . Sølvtråden blei så løfta opp av elektolytten (0.5 M KCl) for å fjerna gassbobler, straumen blei snudd og tråden sett ned i elektolytten att. Fyrst blei den kloridisert i 2 min med straumstyrke på 5 mA cm^{-2} , deretter avkloridisert (straumen snudd) i 0.5 min med same straumstyrke.

Når elektrodekateret er fylt med elektolytt, og Ag/AgCl-elektroden er sett på plass, kan den forseglast i den bakre enden med ei PVC-hette, og elektroden er ferdig til testing. Levetida var vanlegvis 2 - 5 veker, avhengig av kvaliteten til Ag/AgCl-elektroden.

Referanse-elektroden er eit kammer (verkstaden, AFI) med ein Ag/AgCl-elektrode (figur 1). Kammeret er fylt med 0.9% NaCl. Referanse-elektroden er sett i kontakt med blodet gjennom ei saltbru (0.9% NaCl). Saltbrua er eit silikonkateter (VYGON: nutricath "s", 2.0-3.2) kobla til han-enden av eit Y-stykket (COOK) via eit spesiallaga kobling (verkstaden, AFI). Referansekammeret er kobla til Y-stykket via ein treveiskran (t.d. COOK), som gjer det muleg å skifte ut saltbrua og trekke blodprøver gjennom kateteret. 0.9% NaCl kan fritt injiserast i blodbanen utan konsekvensar for forsøkspersonen.

Den kaliumsensitive elektroden blei lagt inn i saltbrua gjennom den ledige armen i Y-stykket. Ein O-ring som blir skrudd til rundt elektroden sørga for tettinga.



Figur 1: Den kalium-sensitive elektroden. Skjema over elektrodeoppsett med referanseelektrode.

2.1.2 Testing av elektrodane

Signalet frå desse elektrodane er ei elektrisk like-spending. Spendinga var direkte proporsjonal med logaritmen til ioneaktiviteten i målemediet gitt ved Nernst likning:

$$E = E_1 + RT/nF \ln a_{K^+}$$

a_{K^+} er den termodynamiske aktiviteten til kaliumionet. E er den målte spendinga, E_1 er eit standard potensial som måles empirisk for kvar elektrode. RT/nF er Nernst-konstanten, ved $37^{\circ}C$ lik 26.7 mV. Seinare i oppgava brukar eg $(2.303 \log_{10} a_{K^+})$ i staden for $(\ln a_{K^+})$ og den teoretiske konstanten blir då 61.5 mV ved $37^{\circ}C$. Aktiviteten er direkte proporsjonal med konsentrasjonen ved konstant ionestyrke. Aktivitetskonstanten γ gir sammenhengen mellom konsentrasjon og aktivitet:

$$a_{K^+} = \gamma [K^+]$$

γ er for fysiologiske konsentrasjonar konstant (Band, 1978) og vi kan difor setta at $E_0 = (E_1 + \log \gamma)$. Vi har då at:

$$E = E_0 + a \log [K^+]$$

Denne likninga gir kalibreringslina for elektrodane. a er den aktuelle "Nernst-konstanten" for elektrodene. E_0 og a blir målt empirisk for kvar elektrode ved å kalibrere dei før og etter kvart forsøk. Fire kalibreringsløysningar blei blanda av kalium- og natriumkloridsalt slik at ionestyrken alltid var 150 mM medan kaliumkonsentrasjonane var henholdsvis 2 , 4 , 8 , og 16 mmol/l. Løysningane blei kontrollerte på MT 33/E2 Elektrolytt Analysator (Eschweiler, Kiel).

Metode

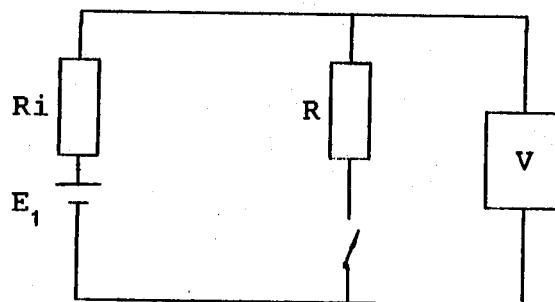
Kvar elektodens sin indre motstand (R_i) blei rekna ut ved å måle den reduksjonen i spenninga ein får ved å koble inn ein kjent motstand (R) i parallell med elektrodene (figur 2).

$$E_1 = (R_i + R)E_2 / R$$

Løyst med hensyn på R_i

$$R_i = (E_1 / E_2 - 1) R$$

E_1 er elektrodespenninga målt utan R innkobla, og E_2 er spenninga over R når den er innkobla.



Figur 2: Koblingsskjema for måling av den indre motstanden til elektrodene. E_1 og R_i er henholdsvis elektroden sin elektromotoriske kraft og indre motstand, R den ytre motstanden og V voltmeteret.

Metode

Tidskonstanten (τ) blei rekna ut frå utskrifta av elektrodespenninga (figur 3, resultat), når eg flytta elektroden frå ei standard løysning til ei anna gjennom ein kort luftfase.

$$\tau = 1.44(t_{1/2})$$

Formelen er utleia frå

$$E_y = E_x e^{t/\tau}$$

der E_x er elektrodespenninga i løysning x (lav konsentrasjon) og E_y er spenninga i løysning y (høg konsentrasjon) etter tida t.

Elektrodens selektivitet for kalium blir vist med selektivitetskonstanter (K_{M^+}) der M^+ er Na^+ , H^+ eller NH_4^+ .

$$\log K_{M^+} = (E_{M^+} - E_{K^+}) / (2.303 RT/nF)$$

der E_{K^+} og E_{M^+} er spenninga målt i løysningar med henholdsvis rein KCl og rein MCl der $a_{K^+} = a_{M^+}$. Denne metoden blir referert til som "den separate løysnings teknikk".

Trykkresponseren blei målt ved å plassere elektroden i eit kammer der eg kunne variere trykket ved hjelp av eit stempel styrt av ein elektromotor. Trykket i kammer blei målt med ein AE 840 Fysisk trykkmåler (Aksjeselskapet Mikroelektronikk, Horten).

2.1.3 Kalibrering in vivo

Etter at elektroden er lagt inn i åra stiller vi anti-logforsterkeren inn på 4.0 mM (sjå kap. 2.1.5), og tar ein blodprøve. Utover i forsøket tar vi fleire blodprøvar både ved relativt høge konsentrasjonar og ved konsentrasjonar under 4 mM. Desse prøvane blir brukt til

Metode

å korrigere konsentrasjonskurva etter forsøk. Prøvar rundt 4 mM viser eventuell drift medan prøvar langt fra 4 mM viser om elektroden sin elektriske respons samvarer med forsterkerinnstillinga. Drift og eventuell unøyaktig forsterkarinnstilling kan det etter blodprøvane korrigerast for på følgjande måte:

Vi har at

$$E = E_{01} + a_1 \log [K^+]_1.$$

der E_{01} er elektrodespenninga i mV ved kaliumkonsentrasjon i målemediet på 1 mM, a_1 er elektrodens rette dekaderespons og $[K^+]_1$ er blodets rette kaliumkonsentrasjon ved elektrodespenninga E.

Vi har også at

$$E = E_{02} + a_2 \log [K^+]_2$$

der E_{02} er den elektrodespenninga som gir forsterkerverdi på 1 mM, a_2 er forsterkaren sin innstilte dekaderespons, og $[K^+]_2$ er den konsentrasjonen forsterkaren viser ved elektrodespenninga E.

Om konsentrasjonen i blodprøven målt med flammefotometri ikkje samsvarer med konsentrasjonen målt med elektroden på det tidspunktet prøven blir tatt ($[K^+]_2 \neq [K^+]_1$) viser det at $E_{02} \neq E_{01}$ og/eller $a_2 \neq a_1$. Samanhengen mellom $[K^+]_1$ og $[K^+]_2$ er gitt ved

$$E_{01} + a_1 \log [K^+]_1 = E_{02} + a_2 \log [K^+]_2$$

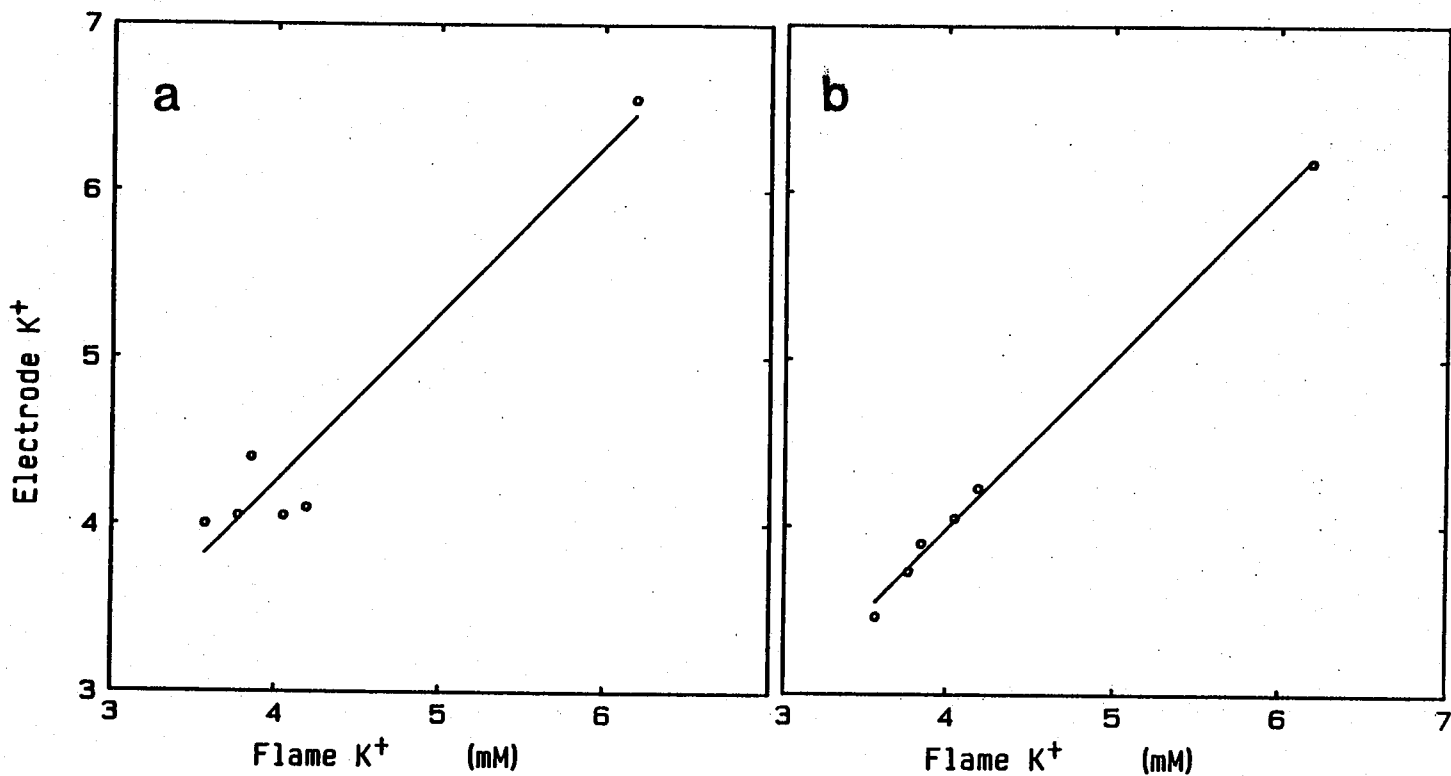
Løyst med omsyn på $[K^+]_1$, altså den konsentrasjonen blodet eigentleg hadde (målt med flammefotometri), får vi

$$\log [K_1^+] = A + B \log [K_1^+]$$

der $A = E_{01} - E_{02}/a_1$ og $B = a_2/a_1$. Denne likninga gir oss

Metode

samanhengen mellom den målte $[K^+]$ (med elektrode) og den verkeleg $[K^+]$ (målt med flammefotometri). Kjenner vi A og B kan vi finne den rette konsentrasjonen ut frå den målte i eit kvart punkt vi ynskjer. A og B kan lettast finnast om vi kjenner samanhengen mellom $[K_1^+]$ og $[K_2^+]$ i 2 punkt. Denne samanhengen gir blodprøvane oss.



Figur 2: Samanlikning mellom plasma $[K^+]$ målt med elektroden in vivo og med flammefotometri. Figur a viser ujusterte data og i figur b er $[K^+]$ justert for drift på 2 mV/t. Dei punkta som ligg lengst frå regresjonslina i figur a er målingar som er tatt lengst ut i arbeidet.

2.1.4 Meir om elektrodepotensialet og drift

Signalet i elektrodeoppsettet er i området 90 - 180 mV. Spenninga stammar frå fire elektromotoriske celler. (1) Ei av desse cellene er den kaliumsensitive membranen, medan dei andre er overgangspotensial mellom to medier i den elektriske kretsen: (2) Overgang mellom den indre Ag/AgCl-elektroden og saltløysninga i elektroden, (3) mellom den ytre Ag/AgCl-elektroden og løysninga i saltbrua, og (4) mellom saltbrua og målemediet (t.d. blodet). Alle desse overgangspotensiala er normalt konstante for kvart måleoppsett (del av E_0), og har difor ingen innverknad på målingane fordi det er spenningsdifferansar som viser differansar i kaliumaktiviten. Det er berre spenninga frå membranen som varierer og då logaritmisk avhengig av $[K^+]$ i målemediet.

Drift skuldast imidlertid nesten alltid endringar i overgangspotensiala rundt ein av referanse-elektrodane. Dette skuldast at Ag/AgCl-belegget endrar seg. Desse endringane er imidlertid normalt konstante og små og kan dermed justerast for. Men dårlege referanse-elektrodar kan forårsaka ustabile (vinglete) elektrodar og var den vanlegaste årsak til at elektrodar måtte kasserast.

2.1.5 Forsterkarutstyret

Elektroden er ei elektomotorisk celle. Den indre motstand i denne cella er svært høg (opp mot 100 MOhm). Inngangsmotstanden til måleinstrumentet må vere mykje større om ein skal unngå å fordreie signalet.

Høgohmige kretsar vil lett plukke opp støysignaler. Desse støysignala er av to typer: Elektromagnetiske spenningar og mikrofonspenningar. Elektromagnetiske spenningar er radiobølger, eller i laboratoriet som

Metode

oftest "50 periodar" frå lysnettet. Desse spenningsvariasjonane har frekvens langt raskare enn endringane i $[K^+]$. Dei kan altså lett filtrerast bort utan fare for å modulere det eigentlege signalet.

Mikrofonispenningar blir genererte av rørsler av leidningane i den høgohmige kretsen. I mitt oppsett er dette rørsler i samband med syklinga, altså med frekvens rundt 1 Hz. Endringane i $[K^+]$ er nesten like raske og mikrofonispenningane kan såleis ikkje utan vidare filtrerast bort utan fare for å påverka måleresultatet. Desse må altså minimaliserast ved å lage leidningane i den høgohmige kretsen korte, og fysisk hindre røslene av dei.

I tillegg til dei spesifikasjonane ein må forlange i samband med den høge motstanden, ønskte vi å presentere signalet både som spenning og som kaliumkonsentrasjon. $[K^+]$ skulle innstillast ved hjelp av ein nullskrue og ein forsterkingsskrue. Skal ein måle på menneske, må apparaturen dessutan vere sikra slik at ikkje feil ved det elektriske anlegget vil medføre fare for forsøkspersonen. Vi fann ikkje noko utstyr som tilfredsstilte alle desse krava, og laga difor vårt eige forsterkarutstyr.

For å imøtekoma kravet om kort, høgohmige sløyfe er det i forforsterkaren lagt inn ein impedanstransformator. Denne har ein inngangsmotstand på 10^{12} Ohm og omgjer det høgohmige signalet til eit lavohmig signal med same amplitude (ingen signalforsterking). Vidare er det i forforsterkaren lagt inn ein isolasjonsforsterkar (galvanisk skille) med kapasitet på 3000 volt. Frå denne går det lavohmige signalet til forsterkaren ("Anti-log" forsterkaren) der det blir filtrert i eit lavpasfilter med grensefrekvens 5 Hz. Spenninga blir presentert i mV på eit visarinstrument og kaliumkonsentrasjonen i mM på ein digital skjerm. Det er uttak til analog skrivar for både spenning og konsentrasjon.

2.2 Forsøksmodell

Forsøka er gjort på menneske. Forsøksprotokoll og prøve-taking er godkjent av etisk komite oppretta for Muskel-fysiologisk institutt.

2.2.1 Forsøkspersonar

Fire friske menn mellom 25 og 40 år deltok i undersøkinga. Kvar forsøksperson deltok i ein til tre forsøk (tabell 1), slik at det blei tilsaman gjennomført ni forsøk. Dei blei kontakta personleg og fekk munnleg og skriftleg orientering om kvifor vi ville gjera forsøka, om forsøksprotokoll, og om kva målingar som skulle gjerast (vedlegg). Alle blei informert om at dei kva tid som helst kunne trekkja seg frå forsøka.

Det blei ikkje sett noko krav til treningstilstand. Det maksimale oksygenopptaket var $40 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (2.9 l min^{-1}) på den dårlegast trente, noko som er i underkant av gjennomsnittet for utrente menn ved same alder (Hermansen, 1973). Den best trente hadde eit maksimalt oksygenopptak på $67 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (4.4 l min^{-1}). Dette er i gruppe med svært godt trente. Han var og den einaste som dreiv systematisk kondisjonstrening. Dei to andre hadde eit maksimalt oksygenopptak rundt gjennomsnittet for utrente.

2.2.2 Undersøkingar før forsøksdagen

Før forsøksdagen blei forsøkspersonen kalla inn til legeundersøking og arbeidsforsøk på ergometersykkel. Arbeidsforsøka blei gjort for å bestemme det maksimale oksygenopptaket, og for å bestemme samanhengen mellom arbeidsbelastning og oksygenopptak ved submaksimale

Metode

Tabell 1: Høgde, vekt, alder og maksimalt oksygenopptak for forsøkspersonane.

| Forsøks- person | Antal forsøk | Høgde cm | Vekt kg | Alder år | Maks VO_2 forsøk l/min |
|--------------------|-----------------|-------------|------------|-------------|--------------------------------|
| TB | 3 | 192 | 78 | 25 | 3.8 |
| TG | 2 | 179 | 67 | 26 | 3.5 |
| OG | 1 | 177 | 73 | 26 | 2.9 |
| EJ | 3 | 176 | 65 | 41 | 4.4 |
| Gj.sn. | | 181 | 71 | 29 | 3.7 |
| SD | | 7 | 6 | 7 | 0.6 |
| SEM | | 4 | 3 | 4 | 0.3 |

belastningar. Til fastsetting av det maksimale oksygenopptaket var arbeidsperioden 3 min og ekspirasjonslufta blei samla dei siste 45 s i Douglas sekker. Dei submaksimale belastningane varte i 10 min og ekspirasjonslufta frå dei siste 2 - 3 min blei samla. Det blei gjennomført tre til fire submaksimale belastningar for kvar person over to dagar. Det maksimale oksygenopptaket blei bestemt etter eit avflatningskriterium tilsvarande det Taylor og medarb. (1955) kom fram til.

Arbeida blei utførte på ein ergometersykkel med virvelstraumbremsing skildra av August Krogh (1913). Trampfrekvensen skulle alltid vere 70 min^{-1} og blei vist på eit visarinstrument.

Dei arbeidsbelasningane som skulle nyttast under forsøket blei rekna ut frå det maksimale oksygenopptaket og regresjonslina for samanhengen mellom oksygenopptak og arbeidsbelastning. Arbeidsbelastningane skulle tilsvare

60, 85, 110, og 140 % av det maksimale oksygenopptaket i dei første seks forsøka. I dei siste tre forsøka blei det gjort to endringar. Den lavaste belastningen blei endra til 40 % og arbeidstida blei for dei lave belastningane korta ned frå 10 til 5 min.

Resultata frå forundersøkingane er vist i tabell 1.

2.2.3 Forsøket

På forsøksdagen deltok foruten forsøksperson og forsøksleiar ein lege og ein kjemi-ingeniør.

Elektrodane var desinfisert i 2% glutaraldehyd. Tenger, sakser og skåler var sterilisert i autoklav (120°C , 20 min). Ellers blei eingongsutstyr nytta.

Kateteret blei lagt inn i lårvena (på høgre side) ved hjelp av ein kombinert Seldinger og dilatator teknikk. Kranutstyr og referanseelektode blei kopla til og elektrodene lagt inn i saltbrua (sjå kapittel 2.1.1). Forforsterkaren blei kopla på, og denne samt leidningar og kateter blei festa slik at det blei minst muleg rørsler under arbeidet. Hjarteaktiviteten blei kontinuerleg overvåka med EKG.

Det var ca 20 min pause mellom dei fire arbeida. Dei to første arbeidsbelastningane var relativt lette (40 eller 60, og 85 % av det maksimalt oksygenopptaket) og varte i 5 eller 10 min. Den tredje belastninga (ca 110 %) ville utmatta forsøkspersonen etter 4 - 5 min, men arbeidet blei stoppa etter 3 min. Den siste arbeidsbelastninga blei sykla til utmatting i ca 70 s. Kriteriet for utmatting er at trampfrekvensen ikkje kunne oppretthaldast.

Den første arbeidsperioden starta når kaliumelektroden gav stabilt signal, 10 - 20 min etter innlegging. Før

Metode

start blei det tatt minst ein blodprøve til kalibrering av elektroden. Under heile arbeidet blei $[K^+]_v$, hjartefrekvensen og trampfrekvensen registrert. Prøvar av eks-pirasjonslufta blei samla i slutten av dei tre første arbeidsperiodane til berekning av oksygenopptaket og blodprøvar blei tatt til kalibrering av kaliumkonsentra-sjonskurvane (sjå kap. 2.1.3).

$[K^+]_v$ blei skrive ut på ein analog pennskrivar (JJ, CR600) med papirfart på 0.5 mm s^{-1} . Hjartefrekvensen og pedalfrekvensen blei skrive ut på ein analog 2 kanals termoskrivar (Gould).

2.2.4 Etter forsøket

Når $[K^+]_v$ var stabil etter den siste belastninga, blei forsøket avslutta. Katereret i lårvena med elektroden blei fjerna. Etter manuell kompresjon i 10 min, blei det lagt på ein bandasje med kompresjon før forsøkspersonen fekk gå å dusje. Etter dusjinga blei såret sjekka for blødning, plastra og bandasjert med kompress som skulle berast resten av dagen. Det blei gitt forbod mot all form for fysisk aktivitet utan om normal livsførsel. Forsøkspersonen fekk instruks om at ein lege ved insti-tuttet måtte kontaktast uansett tid på døgnet om det oppstod noko problem knytt til forsøket. Forsøksleiar hadde dagleg kontakt med forsøkspersonane i minst ei veke etter forsøket.

2.3 Fysiologiske metodar

Oksygenopptaket blei målt ved å samla utandingslufta i ein Douglas-sekk via ein ventil med slange. Mellom slangen og sekken var det ein kran med stoppeklokke. Oppsamling av luft blei starta og stoppa ved slutten av ei utanding. Oppsamlingstida blei registrert av stoppe-klokka. Volumet blei målt i eit klokkespirometer og

Metode

justert etter trykk og temperetur til STPD (760 mmHg, 0°C og tørr luft). Ein prøve på omlag 50 ml luft blei tatt ut før lufta blei overført til spirometeret. Det relative innhaldet av oksygen, karbondioksyd og nitrogen blei bestemt på eit Scholander gassanalyseapparat (Scholander 1947). Innandingslufta blei målt til 20.90 % O_2 og 0.07 % CO_2 . Utfrå desse opplysningane blei oksygenopptaket utrekna.

Blodprøvane blei tatt gjennom saltbrua til elektroden (figur 1) med 5 ml eingangssprøyter (Sabre). Blodet blei straks overført til reagensrør med Heparin-Litium (3000 IE/ml, Med-kjemi A/S) og sentrifugert i 5 min ved 2000g. Plasmaet blei pipettert av og sett i kjøleskap. Etter forsøket blei plasmaprøvane målt for kalium med flamme-fotometri ved bruk av litium som intern standard (IL243, Instrumentation Laboratories, Lexington, MA, USA).

Hjartefrekvens blei målt med eit EKG apparat (Diascope 521, S&W Medico teknik A/S). Apparatet viser hjartefrekvens digitalt, og reagerar på endringar med ei halveringstid på 6.3 s. Raske frekvensendringar vil såleis bli borte. Vi tok difor signalet ut før dette filteret og presenterte det på ein analog skrivar (Gould) med halveringstid på 2.2 s.

2.4 Statistiske metodar

Alle statistiske testar er gjort med parra Wilcoxon test (2-sidig) (Owen, 1962).

3. RESULTAT

Resultata frå arbeidet mitt er delt i to. For det første vil eg presentere data om sjølve elektroden, både om konstruksjon og om elektroden sine eigenskapar. For det andre vil eg presentere fysiologiske data frå målingar med elektroden (endringar i kaliumkonsentrasjon). Eg har i oppgava avgrensa meg til berre eitt fysiologisk parameter sidan ein vesentleg målsetting med oppgava er sjølve målemetoden.

3.1 Elektrodane

3.1.1 Konstruksjon

Den kaliumsensitive elektroden er laga ved å plassere ein PVC-valinomysin-membran i enden av eit PVC-kateter. Kateteret var 1.0 mm i ytre diameter og blei fylt med 0.5 mM KCl-løysning. Ein Ag/AgCl-elektrode danner den elektrokjemiske kontakten mellom saltløysninga og måleapparatet. Ag/AgCl-elektroden blei laga av ein teflonisolert Ag-tråd med diameter 0.2 mm. 1.6 cm av tråden blei kloridisert slik at arealet på AgCl belegget er ca 0.2 cm².

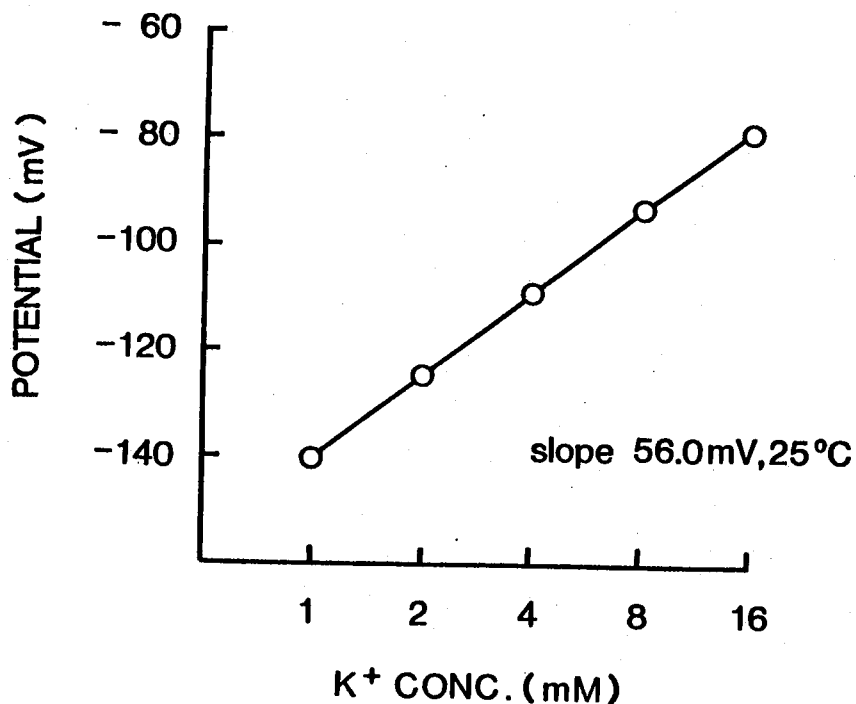
Elektroden blei plassert i eit silikonkateter (figur 1, metodekapitlet). Silikonkateteret hadde indre og ytre diameter på respektive 2.0 og 3.2 mm og danna saltbrua i referanse-elektroden saman med eit Y-stykke og ein treveiskran. Den elektrokjemiske kontakten mellom referanse-elektroden og måleapparatet blir danna av ein Ag/AgCl-elektrode av same type som nemd ovanfor.

Resultat

3.1.2 Signalet

Det elektriske potensialet auka rettlinja med logaritmen til $[K^+]$ i målemediet (figur 4). Dekadeforskjellen er det elektrodepotensialet minkar med når konsentrasjonen aukar 10 gonger. Denne varierte mellom 56.2 og 60.8 mV ved $37^{\circ}C$ (tabell 2). Dekadeforskjellen auka med 6% når temperaturen blei auka frå 20 til $37^{\circ}C$. Det samsvarar med det ein venta ut frå Nernst likning.

Elektroden sin motstand var svært avhengig av temperatur (figur 5, tabell 2). Denne relativt store temperaturresponsen var eg ikkje merksam på før mot slutten av det praktiske arbeidet, slik at motstand på dei fleste elektrodane er målt ved $20^{\circ}C$. Verdien i tabell 2 ved $37^{\circ}C$ er difor rekna ut, men kan forsvarast ut frå at sammenhengen mellom temperatur og motstand var nær den same for alle elektrodane eg målte.



Figur 4: Kalibreringlinje frå ein typisk elektode. Elektrodespenning er plotta mot ein logaritmisk skala av $[K^+]$ i testløysingane.

Tabell 2: Egenskaper ved Valinomycinmembran elektroden.

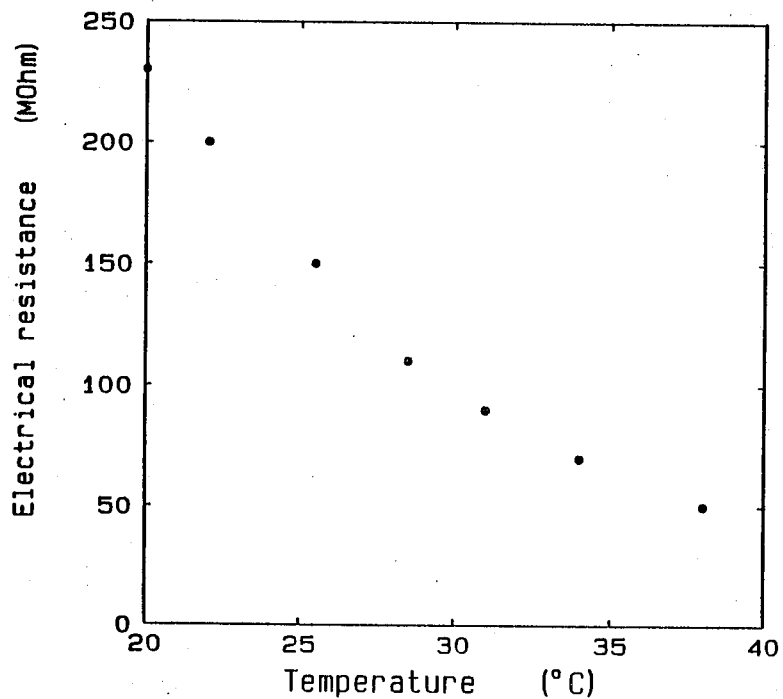
| | | |
|-------------------|---|-----------------------|
| Elektrisk respons | 56.2 - 60.8 mV/dekade | ved 37 ⁰ C |
| Tidskonstant | 0.1 - 0.3 s | ved 37 ⁰ C |
| Drift benkeforsøk | <0.1 mV/t | ved 20 ⁰ C |
| <u>in vivo</u> | <2.5 mV/t | ved 37 ⁰ C |
| Motstand | 40 - 230 MOhm | ved 20 ⁰ C |
| | 10 - 50 MOhm | ved 37 ⁰ C |
| Trykkrespons | <1 mV/100 mmHg | ved 20 ⁰ C |
| Selektivitet | K_{Na} : 3.8 - 4.3 x 10 ⁻⁴ | ved 37 ⁰ C |
| | K_H : 6.6 - 8.5 x 10 ⁻⁵ | ved 37 ⁰ C |
| | K_{NH_4} : 7.8 - 8.8 x 10 ⁻³ | ved 37 ⁰ C |

Elektrodespenninga blei ikkje målbart påverka av fysiologiske variasjonar i natriumkonsentrasjon eller pH. Selektivitetskonstanten for Na^+ og H^+ var i området 10^{-4} og 10^{-5} (tabell 2). Delvis utskifting av NaCl med Na-acetat i målemediet gav ingen endring av elektrodepotensialet.

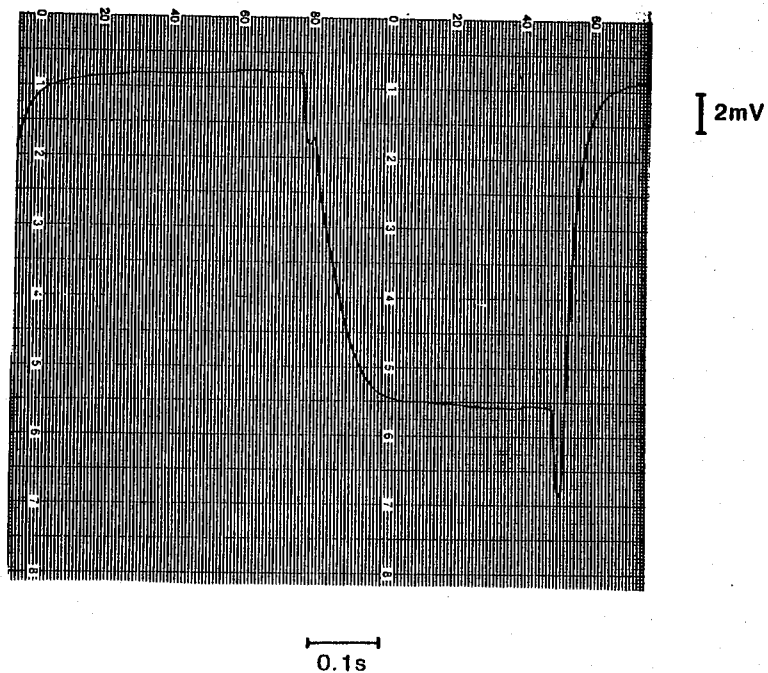
Signalet frå elektroden oscillerer (figur 8). Oscilleringa hadde same frekvens som tråkkefrekvensen (70 opm), men var sjeldan over 0.1 mM. Amplituden på svigningane kunne varierast ved å endre fikseringa av den delen av elektroden som var utanfor kroppen, samt leidningane mellom elektroden og forforsterkaren.

Elektroden gav ingen reaksjon på små trykkvariasjonar (<10mmHg). Ved trykkendringar på 100 mmHg var responsen ca 1 mV (figur 7) som utgjer ca 0.1 mM i området rundt 4 mM.

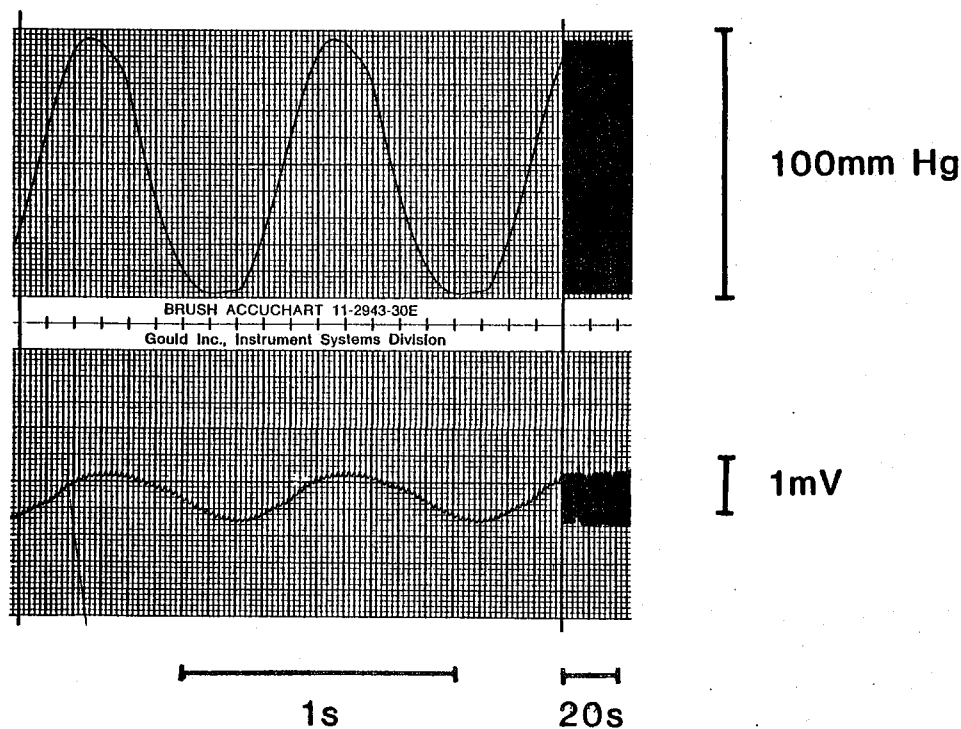
Elektroden var heller ikkje følsam for røring i målemediet eller på slag mot elektrodetuppen under måling på benken.



Figur 5: Samanhengen mellom elektrodemotstand og temperatur.



Figur 6: Endring i elektrodespenning når elektroden blei flytta frå ein lav konsentrasjon til ein høgare konsentrasjon gjennom ein luftfase. Utskrifta blei nytta til utrekning av tidskonstanten.



Figur 7: Endring i elektrodespenning når trykket varierer 100 mmHg med ein frekvens på 1 Hz. Utslaget utgjør ca 0.1 mM rundt 4 mM.

Tabell 3: $[K^+]$ og endringer i $[K^+]$ (mM) under sykkelarbeid på ulike arbeidsbelastningar (i % av det maksimale oksygenopptaket).

| | Arbeidsbelastningar | | | | |
|--------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 43±1 | 66±3 | 92±2 | 113±3 | 141±1 |
| Antal forsøk | 2 | 6 | 9 | 6 | 6 |
| Arbeidsstart | 4.13±0.06 | 4.18±0.03 | 4.03±0.04 | 3.94±0.04 | 3.88±0.06 |
| Knekkpunkt | 4.62±0.06 | 4.90±0.04 | 4.86±0.03 | 4.88±0.06 | 4.99±0.11 |
| Auke | 0.50±0.00 | 0.72±0.02 | 0.84±0.02 | 0.95±0.08 | 1.12±0.09 |
| Etter 2 min | 4.93±0.02 | 5.28±0.05 | 5.83±0.08 | 6.41±0.14 | |
| Auke | 0.75±0.07 | 1.09±0.04 | 1.82±0.06 | 2.43±0.16 | |
| Arbeidsslutt | 4.54±0.01 | 4.97±0.07 | 5.63±0.09 | 6.63±0.13 | 7.19±0.15 |
| Auke | 0.40±0.07 | 0.80±0.07 | 1.53±0.06 | 2.68±0.16 | 3.32±0.13 |

Tall er $\bar{x} \pm \text{SEM}$. Auke er auke over startverdien.

3.2 Endringar i $[K^+]$

3.2.1 Initiell fase

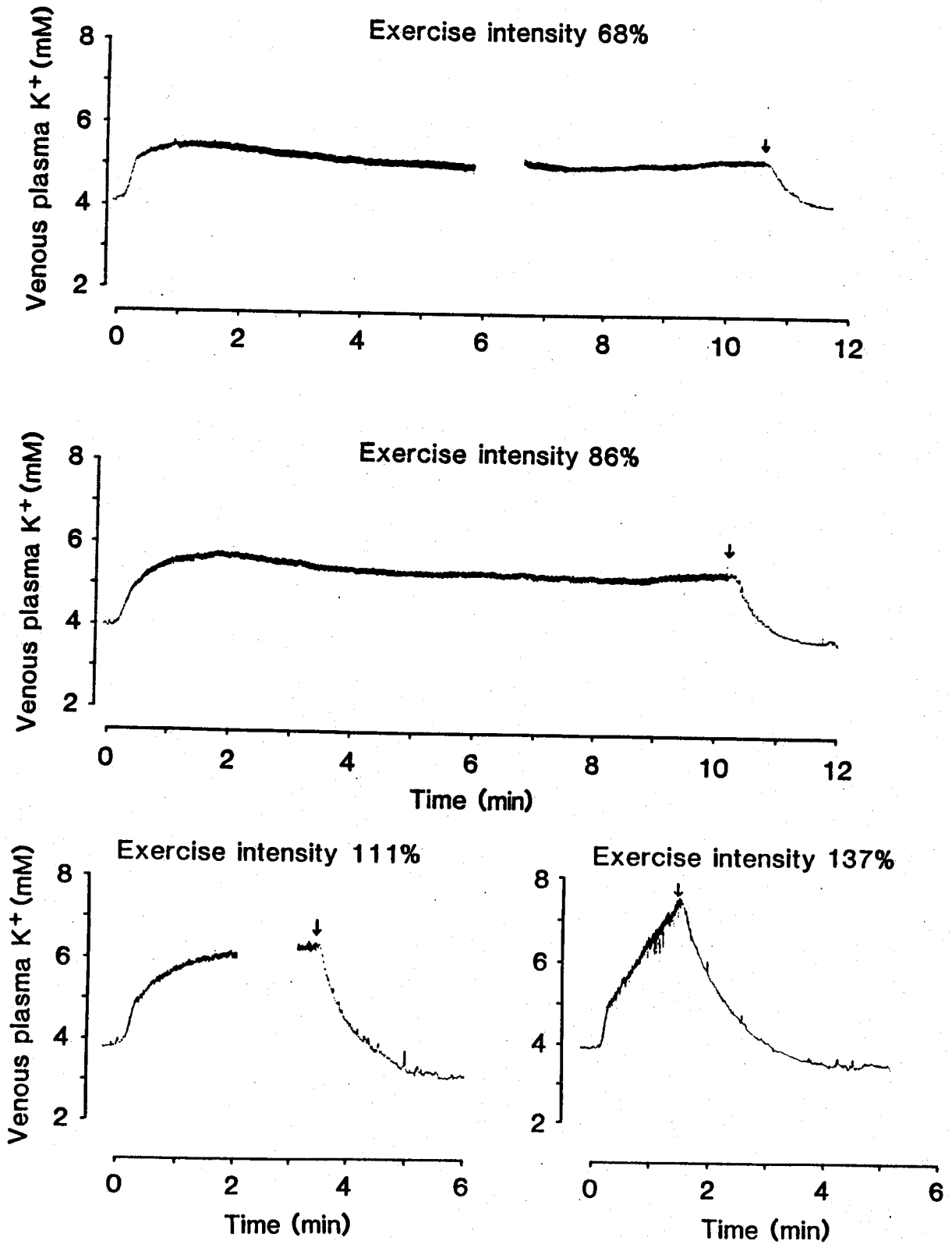
Frå ein utgangsverdi på 4.02 ± 0.15 mM var det ingen eller svært liten endring i $[K^+]$ dei fyrste 6-8 s av arbeidet (figur 8). Dei neste 8 - 11 s auka konsentrasjonen med $60 - 140 \mu\text{M s}^{-1}$ avhengig av arbeidsbelastninga. Auken var raskast ved dei høgaste arbeidsbelastningane, og sammenhengen mellom arbeidsbelastning og auken var rettlinja (figur 9). Deretter fortsatte konsentrasjonen å stige vesentleg langsommare. Overgangen frå rask til mindre rask stigning skjedde brått og blir heretter kalt knekkpunktet.

3.2.2 Etter knekkpunktet

Kurveforløpet etter knekkpunktet varierte også med arbeidsbelastninga. Ved belastningar under 100% av det maksimale oksygenopptaket, nådde $[K^+]$ fyrst ein topp før den stabiliserte seg på ein verdi som var lavare enn denne toppen ($p < 0.001$). Tidspunktet når toppverdien inntraff er vanskeleg å definere nøyaktig, men den inntraff alltid seinare di høgare belastninga var ($p = 0.03$). Denne toppverdien var også alltid lavast ved den lavaste belastninga ($p < 0.03$). Forskjellen mellom toppkonsentrasjon og stabil konsentrasjon var størst ved den lave belastninga i 5 av 7 tilfelle. Den stabile sluttkonsentrasjonen auka med aukande arbeidsbelastning og sammenhengen var eksponensiell etter likninga

$$[K^+] = \exp(-2.0 + 0.027 ab) \quad (\text{figur 10}).$$

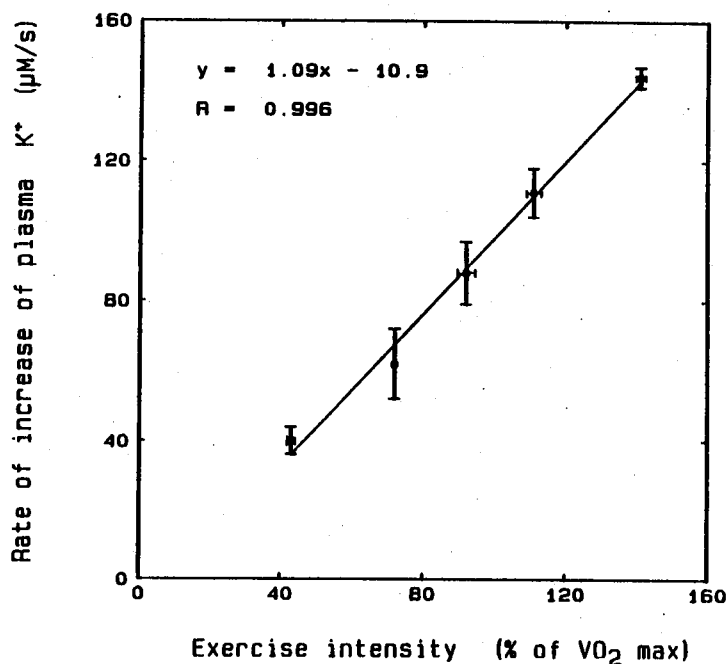
der ab er arbeidsbelastning i % av det maksimale oksygenopptaket. Ved arbeidsbelastningar over 100% av det maksimale oksygenopptaket steig konsentrasjonen under heile arbeidet ($p < 0.001$), men var arbeidet under 120 %



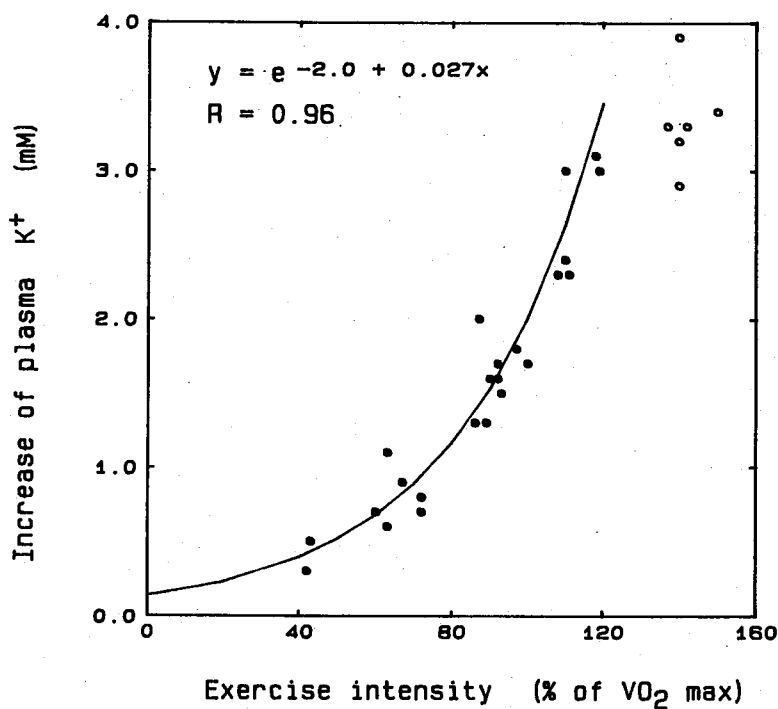
Figur 8: Endringer i venøs $[K^+]_v$ under sykling ved ulike arbeidsbelastninger (% av det maksimal oksygenopptaket). Pilen viser arbeidsstans.

avtok stigninga i heile perioden etter knekkpunktet ($p < 0.05$). Sluttkonsentrasjonen var nesten stabil og blei difor tatt med i utrekninga av samanhengen mellom arbeidsbelastning og sluttkonsentrasjon (figur 10). Dette gav ei svært god kurvetilpassing ($R = 0.96$). Konsentrasjonen ved den høgaste arbeidsbelastningen (141+1% av det maksimale oksygenopptaket) viste ingen tendens til avflatning og steig tilnærma rettlina etter knekkpunktet med $38 \pm 3 \mu\text{M s}^{-1}$. Sluttkonsentrasjonen passa ikkje inn i kurvetilpassinga mellom sluttkonsentrasjon og arbeidsbelastning (figur 10). Denne belastninga var den einaste der forsøkspersonen sykla til utmatting.

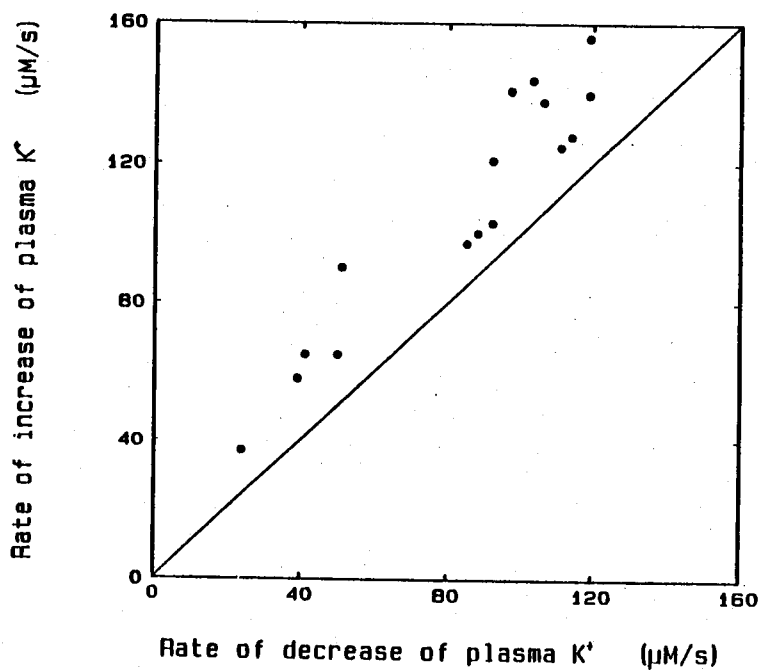
Av dei seks arbeida som blei gjort ved arbeidsbelastning mellom 100% og 120% av det maksimale oksygenopptaket, var stigninga på slutten større di høgare arbeidsbelastningen var.



Figur 9: Samanhengen mellom den initielle auken i venøs $[K^+]$ og arbeidsbelastning.



Figur 10: Samanhengen mellom arbeidsbelastning og slutt-konsentrasjon. Punkt der sluttkonsentrasjonen var stabil eller nesten stabile har symbol ●. Ved arbeidsbelastningar større enn 120% av det maksimale oksygenopptaket er symbolet ○.



Figur 11: Samanhengen mellom den initielle auken i venøs $[K^+]$ og fallet etter arbeidsslutt.

3.2.3 Etter arbeidsslutt

I 3 - 4 s etter arbeidsslutt var det berre små endringar i $[K^+]_v$. Dette samsvarar med dei første 6 - 8 s etter arbeidsstart der det heller ikkje skjedde noko endring. Deretter fell konsentrasjonen nesten like raskt som den steig i starten på arbeidet. Forskjellen mellom stigninga og fallet er mellom 20 og 40 $\mu M s^{-1}$ og samanhengen mellom desse synes å vera rettlinja ved arbeidsbelastningar der sluttkonsentrasjonen er tilnærma stabil, det vil seie ved arbeidsbelastningar under 120 % av det maksimale oksygenopptaket (figur 11). Ved dei høgaste belastningane er forskjellen mellom stigninga i starten og fallet på slutten noko større.

Konsentrasjonen når ein minimumsverdi ca 1 - 2 min etter arbeidsslutt. Denne konsentrasjonen er lavare en kvilekonsentrasjonen før arbeidsstart. Konsentrasjonen aukar så opp mot kvileverdien. Resultata mine er ikkje gode nok i perioden mellom arbeidsbelastningane til å skildre konsentrasjonsendringane betre. Dette skuldast at forsøkspersonane fekk gå av sykkelen mellom arbeida og at dette gav artifakte signal frå elektroden.

Arbeidsbelastningane kom i fast rekkefølge og ikkje tilfeldig, fordi det ikkje lar seg gjere å la forsøkspersonen sykla lange arbeidperioder etter eit utmattande eller nesten utmattande arbeid. Ved start av arbeida var $[K^+]_v$ i gjennomsnitt 0.1 mM lavare enn ved start av det føregåande arbeidet (tabell 3). Dette viser at pausen som normalt var 15 - 20 min ikkje var tilstrekkeleg kvile til å nå utgangsverdien.

4. DISKUSJON

Dette kapitlet er delt i tre: Dei to første delane er knytt til metoden, og er først ein diskusjon om kor gode elektrodane er. Deretter vil eg vurdere kor godt bilete endringane av venøs kaliumkonsentrasjon ($[K^+]_v$) gir av endringane som skjer i interstitiet ($[K^+]_e$). Det er viktig sidan det er miljøet i muskelen som er interessant i denne samanhengen.

Den siste delen er knytt til dei fysiologiske målingane: Endringar i $[K^+]$ i venøst blod under arbeid. Intensjonen her er likevel først og fremst å vise dei mulighetene som den nye metoden gir. Eg legg difor størst vekt på dei delane av arbeidet der kontinuerleg måling bidrar med vesentleg meir informasjon enn metoden med blodprøvetaking.

4.1 Elektrodane

Elektroden blei brukt til kontinuerleg å måla endringar i $[K^+]$ i lårvena under sykling ved ulike belastningar. For å tolke målingane frå in vivo forsøka er det nødvendig å klargjere om det er andre forhold som kan påverke elektrodesignalet enn $[K^+]$. Eg må kjenne til om elektroden til dømes reagerer på endringar i konsentrasjonen av andre ion, om den reagerer på trykkendringar, på rørsler m.m. Det er vidare viktig å vite om elektroden klarer å fange opp alle dei endringane i $[K^+]$ som skjer.

4.1.1 Kalibrering

Elektrodane blei kalibrert på benken før dei blei brukt til forsøk, og kontroll etter forsøket viste ingen endringar i samanhengen mellom potensial og konsentrasjon. Samanhengen var alltid logaritmisk og dekadeforskjellen var mellom 56.2 og 60.8 mV. Det er nær den teoretiske verdien og i same område som andre har rapportert om

liknande elektrodar (Treasur and Band, 1977; Hill og medarb., 1978; og Vyskocil og Kriz, 1972; Walker, 1971). Temperaturresponen var i samsvar med Nernst likning.

Etter innlegging viste elektroden for lav konsentrasjon. Måling i blod på benken viste rett verdi etter kalibrering i saltløysningar, slik at forklaringa til den for lave in vivo verdien ikkje er knytt til endring i overgangspotensialet mellom saltbru og blod eller endring i membranpotensialet i sjølve elektroden. I måleoppsettet mitt er det fire spenningskjelder (sjå metode kapittel 2.1.4), og alle desse elektrokjemiske cellene er temperaturavhengige. Under måling på menneske ligg tre av cellene inne i forsøkspersonen ved $37^{\circ}C$, medan den fjerde (Ag/AgCl-elektroden i referanseelektroden) ligg utanfor. Under kalibreringa låg alle cellene i tilnærma lik temperatur slik at dei ved innlegging fekk ulikt temperaturskifte. Det var ingen enkel måte å rekonstruere in vivo forholda tilstrekkeleg nøyaktig ved benkeforsøk. Eg valgte difor å justere forsterkaren ved innlegging til antatt konsentrasjon (4.0 mM) og seinare etterjustere kurvene etter blodprøvane.

4.1.2 Selektivitet og tidskonstant

Viktige eigenskapar ved eit slikt målesystem er selektivitet og kor raskt det reagerer på endringar.

Elektrodar basert på valinomysin blir alltid rapportert å vere så selektive at ingen fysiologiske variasjonar av andre ion vil påverka elektrodesignalet målbart (Hill og medarb., 1978). Det var også tilfelle med elektrodane mine (tabell 2).

Tidskonstanten for elektrodane eg laga var ca 0.2 s, d.v.s. at dei viser over 90% av ei endring eit halvt sekund etter at endringa inntraff. Dette er meir enn nok til å fange opp dei endringane som skjer.

4.1.3 Drift

Drift er at forholdet spenning/konsentrasjon endrar seg gradvis. Det er vanleg med ei viss drift for denne type måleutstyr. Under in vivo forsøk var drifta betydeleg større enn under benkeforsøk (sjå tabell 2). Noko av forklaringa på dette kan vera temperaturendringar t.d. i referanseelektroden som ligg inntil huden på ein stadig meir hardt arbeidande forsøksperson. Slik drift kan hindrast ved å legge referanseelektroden i ei termocelle med konstant temperatur. Delar av drifta kan også skuldast andre påkjenningar på målesystemet på grunn av dei store rørslene. Drifta var imidlertid stabil ved alle forsøka og var difor enkel å korigere.

4.1.4 Blodprøvar og etterjustering

P.g.a. forholda nemd kapitlet ovanfor var det naudsynt å ta blodprøver ved arbeidsstart for å sjekke nivået på $[K^+]$, og undervegs i forsøket for å sjekke drifta. Vi tok også blodprøvar ved høge konsentrasjonar for å sjekke at forsterkinga var rett innstilt. Dette gav data til etterjusteringa som er skildra i kapittel 2.1.3.

Figur 3a viser samanlikning mellom $[K^+]$ i blodprøvar målt med flammefotometri og målt in vivo med elektroden før nokon justering. I figur 3b har eg justert for konstant drift på 2 mV/t. Punkta har då samla seg nær regresjonslina, noko som viser at drifta har vore konstant gjennom heile forsøket.

4.1.5 Oscillering

Det er sannsynlegvis fleire årsaker til at signalet frå elektroden oscillerer.

Oscilleringa hadde same frekvens som tråkkefrekvensen, og

kan til ein viss grad skuldast støtvis utslepp av kalium i takt med muskelarbeidet. Men det at amplituden på svingane kunne varierast ved meir eller mindre å fiksure den delen av elektroden som var utanfor kroppen, tyder på at mikrofonispenningar spelar ei rolle. P.g.a. at vi aldri kunne unngå desse rørslene heilt er det truleg at det alltid var eit innslag av slike spenningar (metode kapittel 2.1.5).

Rørslene på målestaden og det forhold at silikonkateteret var elastisk og kunne strekkjast medan elektroden ikkje kunne strekkjast, gjorde at desse gleid noko i forhold til kvarandre. Om elektroden ikkje blir lagt tilstrekkeleg langt inn, vil elektrodetuppen p.g.a. denne strekkinga, i delar av eit sykkeltråkk vera "inne i" saltbrua og i delar "ute i" blodbana. På denne måten målte den vekselvis i saltbrua og i blodbana, noko som ville sjå ut som oscillering på same måte som den nemd ovanfor. For å hindra dette blei elektrodetuppen lagt 1.5 - 2 cm utanfor silikonkateteret.

Det kunne tenkjast at elektroden var trykkfølsom og at dette kunne vere årsak til oscilleringa. På liknande elektrodar har membranen blitt lagt over ein keramikkplugg for å hindre trykkfølsomhet (Treasure og Band, 1977). Mine elektrodar hadde ikkje ein slik keramikkplugg, men testing i eit målekammer der trykket kunne varierast, viste at elektoden sin følsomhet for trykk var svært liten og utan betydning for måling i vener.

Sidan elektroden ikkje var følsam for røring i målemediet eller på slag mot elektrodetuppen under måling på benk, er det er lite sannsynleg at endringar i blodflow eller slag mot åreveggen skulle påverka elektrosignalet.

Oscilleringa var sjeldan over ± 0.1 mM og representerte difor ikkje noko problem for tydinga av resultatata.

4.1.6 Bruk av elektroden

Elektroden var grei å bruke ved humane forsøk. Det oppstod ikkje nokon medisinske problem under forsøka, men i eitt tilfelle svima forsøkspersonen av like etter det siste utmattande arbeidet. Han hadde då sete på sykkel i over to timar. Etter dette fekk forsøkspersonane gå av sykkel mellom kvar arbeidsbelastning.

Berre i to tilfeller opplevde forsøkspersonen overhode nokon smerte i samband med innlegging av elektroden. I begge tilfelle var det smerte i samband med at dilatatoren gjekk gjennom åreveggen. Smerta blei oppgitt til å vera "litt" intens, men varte berre i eit par sekund. Alle forsøkspersonane var villige til å vere med på nye forsøk og tre av fire deltok på fleire. I eit tilfelle oppstod det ein mindre, ytre blødning i såret etter at forsøkspersonen hadde forlatt forsøkslokalet. Det skjedde i samband med ein fotballkamp same kveld, noko som dei var fraråda (sjå metode). Det oppstod aldri infeksjon i såret.

4.2 Måling i blodbana

Eg ynskte å undersøkje korleis $[K^+]_v$ vert regulert i muskel, det vil seie i vevsvæska mellom muskelcellene (interstitiet). Eg kunne ikkje med denne metoden måle direkte i interstitiet, men i blodbana (venesida). Kan endringar i $[K^+]_v$ nyttast som eit mål på tilsvarande endringar i muskelinterstitiet?

4.2.1 Ekvilibrering mellom interstitiet og blod

Blodets oppgave er å halde miljøet rundt muskelcellene så konstant som muleg, det vil seie å minimalisere kon-

sentrasjonsendringar i ekstracellulærvæska. Dette skjer ved at blod med ønskt konsentrasjon når muskelen sitt kapillærnett, der stoffa i blodplasma og vevsvæska blir ekvilibrert. Kor fullstendig denne ekvilibreringa er, avheng av to faktorer: Kappilærendotelet sin permeabilitet for stoffet og kor lenge blodet er i muskelen, altså "mean transit time" (m.t.t.) (Renkin, 1959).

Eit uttrykk for permeabiliteten er tidskonstanten (τ) for ekvilibrering (mål på kor lang tid det tar å utjamne konsentrasjonsskilnaden mellom interstitiet og blodet). Denne kan utreknast frå permeabilitetskonstanten (P) og radius i kapillæret (Crone og medarb., 1978). P er målt til $10-15 \times 10^{-5} \text{ cm s}^{-1}$ (Frøkjær-Jensen, 1982) og radius til $2-3 \mu\text{m}$ (Andersen og Saltin, 1985). Dette gir ein τ på ca 1 s.

Kappilærene i muskel utgjer ca 1-1.5 % av muskelvolumet under arbeid (Andersen og Saltin, 1985; Sjøgaard og medarb., 1985). Blodgjennomstrøyminga i kvile er ca $40 \text{ ml min}^{-1} \text{ kg}^{-1}$ (Åstrand og Rodahl, 1977). Etter at blodflow har auka 6 gonger over kvileverdien er m.t.t. 2,5-3.8 s, det vil seie at blodet er i muskelen 3 tidskonstantar som gir ei ekvilibrering på 90%. Sjølv om ikkje alle kapillærene er opne like etter starten på arbeidet slik at m.t.t. er noko kortare, skulle dette tyda på at i denne fasen er ekvilibrering nesten fullstendig. Dette høver bra med at Renkin (1959) finn nesten 100% ekvilibrering ved lav blodflow. Vilkåra for diffusjon blir også noko betre ved vasodilatasjon (Sheehan og Renkin, 1972), og det kan tenkjast at permeabilitetskonstanten er større under arbeid enn den eg har rekna med her.

Maksimal blodflow ved denne type arbeid er mellom $1 - 1.6 \text{ l kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ (Andersen og Saltin, 1985, Clausen, 1976, Mellander, 1981). Det gir ei m.t.t. på ca 0.4 s og ei ekvilibrering på ca 33%.

Om ekvilibreringa er ufullstendig, vil forskjellen mellom konsentrasjonen i blodet og interstitiet vera størst når konsentrasjonen endrar seg raskt, som i starten av arbeidet. Konsentrasjonsauken i blodet vil då vera begrensa av vilkåra for diffusjon mellom interstitiet og blodet. Om konsentrasjonen i interstitiet er mykje større enn i blodet "i knekkpunktet" (figur 8) må den bråe avbøyinga skuldast at vilkåra for diffusjon endrar seg brått, noko som er lite sannsynleg.

På grunn av forholda nemd ovanfor, vel eg å tru at det berre er liten (<10%) skilnad mellom konsentrasjonen i blod og interstitiet i starten av arbeidet. Dette blir støtta av at det ikkje er vist vesentleg høgare konsentrasjon i muskelinterstitiet enn det som har blitt funne i blodet (Gebert, 1972; Vyskocil og medarb., 1983; Hirche og medarb., 1980). Seinare i arbeidet når blodflow er høg kan ekvilibreringa vera ufullstendig, men dette har berre betydning om konsentrasjonen endrar seg raskt, som ved arbeidsbelastningar over 120% av det maksimale oksygenopptaket.

4.2.2 Forseinking

Eg måler $[K^+]_v$ i lårvena eit stykke frå dei musklane der konsentrasjonsendringane skjer. Det er såleis ei forseinking mellom det tidspunkt endringane skjer i muskelen og til eg måler dei med elektroden. Denne forseinkinga er sjølvstøtt avhengig av blodflow og ser ut til å vere mellom 6 - 8 s i starten på arbeidet og 3 - 4 s i slutten på arbeidet, fordi dette er tida det tar før elektroden måler noko auke i konsentrasjonen ved arbeidsstart og noko minking etter arbeidsslutt (figur 8). Hnik og medarb. (1976) finn in situ på katt og kanin ei forseinking på 6 - 20 s. Eg vil seinare i diskusjonen bruke det tidspunktet der konsentrasjonen begynner å stiga som tid null for på den måten å snakke i "muskel-tid". På same måte vil eg trekke 4 s frå dei endringane

som skjer etter arbeidsslutt.

Den tida kaliumet brukar frå muskelen til elektroden kan delast i to deler: Del 1 er tida frå muskelcellene til dei store venene, og del 2 tida frå dette tidspunktet til blodet når elektroden. (Grensa mellom desse er sjølvstøtt flytande). I den fyrste delen (interstitiet, kapillæret, venyler, o.s.b.) går kaliumet saktare enn i den siste delen, og den fyrste delen er omtrent like lang for alle "musklane" uavhengig av kor distalt dei ligg. Tida det tar frå blodet kjem ut i dei store venene til det når elektroden, er avhengig av kor langt muskelen ligg frå elektroden. Det betyr at blod frå ulike musklar brukar ulik tid til elektroden, og at om ei endring skjer momentant og likt i alle musklane, "ser" elektroden denne endringa over litt tid, og den måler ei "dempa" endring ("splay"). Av kurvane (figur 8) ser denne tida ut til å vere $< 2s$ fordi eg måler svært bråe endringar både heilt i starten av arbeidet, i knekkpunktet og etter arbeidsslutt. Det rimer bra med den tida ein skulle forventa at blodet brukar opp den store vena (Folkow, 1971). Dette tyder på at den forseinkinga på ca 7 s som eg måler i starten av arbeidet vesentleg skuldast den tida det tar for kaliumet å gå frå muskelcellene til dei store venene.

4.2.3 Fortynning

Den store lårvena drenerer alle sirkulerte delar i beina. Det vil seie at blod frå ikkje arbeidande musklar og hud vil fortynna "høgkaliumblod" frå arbeidande musklar. I eit sykkeltråkk er imidlertid både dei store leggmusklane og musklane på framsida av låret svært aktive (Gregor og medarb., 1987), medan deler av "hamstring" muskulaturen er passiv. Kor stor del av muskulaturen som ikkje avgir kalium er vanskeleg å seie, men blod frå ikkje arbeidande musklar og hud utgjer neppe meir enn tilsaman 25% av total blodflow i lårvena dei

fyrste 10 s. Seinare vil denne delen vera mindre p.g.a. auka blodflow i arbeidande musklar.

4.2.4 Oppsummering

Vi kan altså ut frå dette anta at auken i $[K^+]_e$ kan vera 25 - 35% større i starten av arbeidet enn det eg måler med elektroden i veneblod og at dette vesentleg skuldast fortynnig av blod frå ikkje-arbeidande musklar og hud. Vi kan heller ikkje sjå bort frå at det til ein viss grad er noko ufullstendig utjamning mellom interstitiet og blodet.

4.3 Endringar i $[K^+]_i$ i lårvena under og etter arbeid

Eg fann store endringar i $[K^+]_i$ i lårvena under og like etter muskelarbeid. Dette er tidlegare vist på t.d. katt (Kjellmer, 1965) og på menneske (Costill og Saltin, 1975; Lind og medarbeidare, 1966). Eg fann også ein samanheng mellom arbeidsbelastning og kor raskt konsentrasjonen aukar, og kor mykje den aukar.

Eg har delt drøftinga opp i tre periodar: (1) Starten av arbeidet, (2) etter knekkpunktet og (3) etter arbeids-slutt.

4.3.1 Starten på arbeidet

Eit interessant funn var den umiddelbare raske auken av $[K^+]_i$ i starten av arbeidet uansett arbeidsbelastning. I repolariseringsfasen under eit aksjonspotensial (AP) aukar cellemembranen sin kaliumpermeabilitet. Dette skjer etter ei depolarisering og start av muskelarbeid vil såleis føre til ein auka kaliumeffluks. Men kan denne effluksen delvis eller heilt forklare den store auken i konsentrasjonen, eller skuldast auken andre

mekanismer som trer raskt inn i starten av eit arbeid?

4.3.1.1 AP-avhengig kaliumeffluks

Eg vil i fyrste omgang diskutere dei endringane i $[K^+]_v$ vi kan vente oss i interstitiet utan å ta omsyn til at det finns reguleringsmekanismer som aktiv ionepumping og blodsirkulasjon. Korleis desse blir regulert og betydninga av dei i starten av arbeidet skal eg diskutera nærare i neste kapittel.

Den AP-avhengige kaliumeffluksen er eit produkt av kor mykje kalium som kjem ut for kvart AP, og kor ofte det går AP over cellemembranen, altså fyringsfrekvens.

Storleiken på kaliumeffluksen (K^+ effl) under eit AP kan det reknast ut ein teoretisk minimumsverdi for, ved å betrakte cellemembranen som ein kondensator og AP som ei utlading (depolarisering) og ei opplading (repolarisering) av denne kondensatoren. Spenningsvariasjonen er ca 0.1 V (frå -90 til +10 mV) og kapasitansen til membranen $4 \mu\text{F cm}^{-2}$ (Akaike, 1976). Dette gir ein ionefluks på 4 pmol cm^{-2} (Faradays konstant 10^5 C mol^{-1}), dvs 4 pmol natrium inn og 4 pmol kalium ut. Studiar på nerveceller har vist at på grunn av samtidig natrium influks (Na^+ infl) og kalium effluks (K^+ effl) er ionestraumane meir enn det dobbelte av det kalkulerte (Keynes og Lewis, 1951). Men forholda kan vere forskjellige i muskelvev på grunn av T-tubuli systemet. Eg skal koma tilbake til det seinare, og vil fortsette å rekne med denne minimumsverdien. I hjarte er denne effluksen målt til over 10 pmol cm^{-2} (Morad, 1980). Her varer imidlertid AP lengre og overlappinga mellom Na^+ infl og K^+ effl er difor større (Fozzard, foredrag).

Dei geometriske tilhøva i muskelen er slik at ein effluks på $4 \text{ pmol cm}^{-2} \text{ AP}^{-1}$ raskt vil få konsekvensar for fordelinga av kalium. Om vi seier at muskelcellene

er sylindriske, vil volum/areal forholdet bli $r/2$ der r er radius i muskelcella. Med ein gjennomsnittleg radius på $40 \mu\text{m}$ vil ein liter muskel gi ei membranoverflate på 50m^2 , som gir ein total kaliumeffluks på $2 \mu\text{mol AP}^{-1}$. På frosk er denne målt til $3.9 \mu\text{mol AP}^{-1}\text{kg}^{-1}$ (Hodgkin og Horowicz, 1959) og på rotte soleus til mellom 4.6 og $7.4 \mu\text{mol AP}^{-1}\text{kg}^{-1}$ (Creese og medarb., 1958, Clausen og Everts, in press, Sreter, 1963). Verdiane frå rotte soleus høver bra med dei eg rekna ut, fordi muskelcellediameteren på denne muskelen er mindre enn halvparten av ein gjennomsnittleg menneskefiber og membranoverflata pr. volum er difor meir enn det dobbelte.

Interstitiet er ca 10% av muskelvolumet i kvile (Sjøgaard og Saltin, 1982). Det betyr at det ekstra kaliumet frå ein liter muskel skal fordelast i 0.1 liter interstitiellvæske slik at den interstitielle konsentrasjonsauken blir $20 \mu\text{M AP}^{-1}\text{kg}^{-1}$. Det er i same området som det Hnik og medarbeidare (1976) fann. Dei målte ein interstitiell auke på 1.5mM etter 1s med 50 Hz stimulering på gastrocnemius muskel på katt, noko som gir ein gjennomsnittleg auke på $30 \mu\text{M AP}^{-1}$.

Fyringsfrekvensen saman med K^+ effl pr. AP gir kor mykje kalium som kjem ut i løpet av eit gitt tidsrom. Fyringsfrekvensen for katt er in vivo målt til mellom 5-40 Hz (Hoffer og medarbeidare, 1981), og på menneske til 10-30 Hz (Grimby, 1984), begge ved gang og løp. Det er ikkje gjort målingar ved sykling. Maksimal volunter fyringsfrekvens ved statiske kontraksjoner, er målt til mellom 12 og 35 Hz avhengig om det er ein typisk sein muskel (overvekt type 1 fibre), eller om det er typisk rask muskel (overvekt type 2 fibre) (Bellemare, 1983). I eit sykkeltråkk er musklane gjennomsnittleg aktivert i ca $1/4$ av tråkket (Gregor, 1987) og om vi antar at fyringsfrekvensen er omlag som ved gang og løp vil den gjennomsnittleg fyringsfrekvens vera $3-9 \text{s}^{-1}$ (tråkkfrekvensen = 70 opm).

Denne frekvensen saman med minimumsverdien for konsentrasjonsauken pr. AP kan forklare den auken eg finn. Ein gjennomsnittleg frekvens på 6 Hz (1/4 av 24 Hz) gir ein auke på $120 \mu\text{M s}^{-1}$ ($20 \mu\text{M AP}^{-1}$) noko som svarer til den auken eg fann ved ein arbeidsbelastning på 110% av det maksimale oksygenopptaket (figur 9).

Dette viser at AP-avhengig K^+ effl kan forklara auken eg finn om reguleringsmekanismane for kontroll av ionebalansen i muskelen, aktiv tilbakepumping og blod sirkulasjon, ikkje er aktiv i denne initielle fasen?

4.3.1.2 Reguleringsmekanismane

Den raske initielle auken blir brått avløyst av ein mindre auke etter 7-9 s. Dette tolkar eg som at ei eller anna form for regulering har trådt i kraft. Med regulering av kalium meiner eg at under konstant K^+ effl frå cellene (sjå kapittel 4.3.2.1), varierer konsentrasjonsauken i interstitiet. Om ikkje volumet av interstitiet endrar seg, kan dette skje ved at kaliumet enten (1) blir pumpa eller på anna måte går tilbake til cella, eller (2) blir fjerna av sirkulasjonen. Eg skal i dette kapitlet diskutere desse mekanismane sin betydning dei fyrste sekunda av arbeidet. Den relative betydning dei har utover i arbeidet, skal eg kome tilbake til i neste kapittel.

Ionepumpeaktiviteten kan ikkje auka raskt nok til å oppretthalda likevekt mellom influks og effluks i starten på arbeidet. Woodbury peika i 1963 på noko som kan nemnast som ionepumpa sitt "etterslep" og Langer utdjupa dette meir under studie på hjartemuskel (Langer 1968, Langer 1983).

Mitt arbeid og andre viser at ionepumpa er "treg" også i skjelettmuskulatur. Reguleringa av ionepumpeaktiviteten

er enno ikkje klarlagt. Natrium og kalium både intracellulært og ekstracellulært er sannsynlege regulatorer, men aktiviten blir også regulert av insulin og katekolaminer (Clausen, 1986).

Intracellulær natriumkonsentrasjon ($[Na^+]_i$) er sannsynlegvis den mest potente regulatoren. Det er vist i nervevev at under eit AP blir det utveksla like mengder K^+ og Na^+ ($K^+_{effl} = Na^+_{infl}$) (Keynes og Lewis, 1951). Natrium sitt fordelingsvolum er imidlertid 3 gonger K^+ sitt (Donaldson og Leader, 1984). Ein kan altså venta ein auke av $[Na^+]_i$ som er 1/3 av auken i $[K^+]_e$. Juel (1986) fann at $[Na^+]_i$ berre auka 1/3 av det ein skulle venta ved lik utveksling av kalium og natrium, altså berre 1/9 av $[K^+]_e$. Om ein likevel antar lik utveksling vil etter 7s $[Na^+]_i$ ha auka med 0.2-0.4 mM fordi $[K^+]_e$ har auka 0.5-1.1 mM. $[Na^+]_i$ varierer sannsynlegvis mellom 10 og 20 mM, og den funksjonelle reservekapasiteten til ionepumpa er sannsynlegvis ca $35 \mu\text{mol s}^{-1}\text{kg}^{-1}$ (Sejersted og Hallén, 1987). Dette betyr at når $[Na^+]_i$ varierer frå 10 til 20 mM, aukar aktiviteten i ein kilo muskel med $35 \mu\text{mol s}^{-1}$. Om denne auken er rettlinja, vil det sei at ionepumpene pumpar $0.7 \mu\text{mol s}^{-1}\text{kg}^{-1}$ meir når $[Na^+]_i$ aukar med 0.2 mM. Den auken i $[K^+]_e$ fann tilsvarte ein effluks på minimum $12 \mu\text{mol s}^{-1}\text{kg}^{-1}$ ved 100% av det maksimale oksygen opptaket. Dette betyr at Na/K-pumpa utfrå Na-aktivering etter 7s kan pumpa tilbake under 7 % av effluksen, dvs ei gjennomsnittleg tilbakepumping i løpet av dei sju fyrste sekunda på mindre en 5%.

Men kan andre regulatorar av ionepumpa kunne medføre auka tilbakepumping? Clausen og Flatmann (1977) har vist at aktiviteten til Na^+/K^+ -pumpa har auka med ein faktor på to etter eksponering av katekolaminer. Andre har observert eit fall i $[Na^+]_i$ i muskel under slik eksponering. Det er likevel blitt vist at adrenalin og noradrenalin ikkje aukar antall pumper, og det finns ikkje

prov på at dei aukar maksimal pumpehastighet. Det er difor blitt foreslått at katekolaminene fyrst og fremst aukar pumpa sin sensitivitet for Na^+ stimulering. Katekolaminkonsentrasjonen er imidlertid stabil i dei fyrste sekunda etter arbeidsstart. I hjartemuskel er katekolamineffekten påvist fyrst 1 min etter auka stimulering, med maksimaleffekt etter 5 min. (Ellingsen og medarb., 1987).

$[K^+]_e$ har også regulerande effekt på Na^+/K^+ -pumpa. Den aktivitet som gir halv maksimal stimuleringseffekt er imidlertid rekna ut til å vere i området 0.5 - 1.8 mM (Glynn og Karlsh, 1975). Endringar i $[K^+]$ rundt og over 4 mM har difor liten effekt på ionepumpeaktiviteten.

Fleire meiner imidlertid at auka $[K^+]_e$ stimulerer sekresjon av insulin og at insulin aukar aktiviteten til ionepumpa (for ref.: Clausen, 1986). Men denne mekanismen krev også noko tid og dessutan ein auka $[K^+]$.

Vi kan altså gå ut frå at ingen av dei akutte-regulerings mekanismene for Na^+/K^+ -pumpa er følsomme nok til å gi eit vesentleg bidrag til reguleringa av $[K^+]_e$ dei fyrste sekunda etter ein plutseleg auke av K^+ effl.

Blodsirkulasjon aukar sin "reguleringskapasitet" når blodflow aukar. Såvidt eg veit er det ingen som har målt venøs blodflow med stor nok oppløysing til å gi eit bilete på korleis denne aukar dei fyrste sekunda etter start av eit arbeid.

I kvile er blodflow til skjelettmuskulaturen $40 \text{ ml kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Sjølv om blodflow aukar rettlinja mot tid åtte gongar dei fyrste 8 s vil dette berre utgjere ca 10 ml plasma (20 ml blod). Dette er ca 10% av interstitievolumet pr. kg muskel. Det viser at blodet berre kan ta opp (og fjerne) 10% av det kaliumet som kjem ut av muskelcellene, altså ca $200 \text{ nmol kg}^{-1} \text{ AP}^{-1}$. Dette høver bra

med det Hnik og medarbeidare (1976) fann. I ein periode på 20s med 50 Hz stimulering, tapte ein muskel (gastrocnemius) hjå katt gjennomsnittleg $300 \text{ nmol AP}^{-1} \text{ kg}^{-1}$. (Det er det ein reknefeil i artikkelen som gjer at han får $300 \text{ pmol AP}^{-1} \text{ kg}^{-1}$).

Dette viser at heller ikkje sirkulasjonen kan dempa den initielle konsentrasjonsauken vesentleg i starten av arbeidet.

Oppsummert kan vi seie at det ikkje er overraskande at $[K^+]_e$ aukar raskt i starten av arbeidet sjølv ved lave arbeidsbelastningar. Den målte auken kan vi ta som eit direkte mål på den auka kaliumeffluksen.

4.3.1.3 T-tubuli systemet (TT)

Mine data tyder på at $[K^+]_i$ i interstitiet aukar minimum 0.02 mM for kvart AP. I TT er fordelingsvolumet pr. membranoverflate mykje mindre, og ein må såleis rekna med ein betydeleg større auke her. Membranpotensialet er bestemt av $[K^+]_i$ både i TT-rørene og i interstitiet. Dessutan kan det henda at konsentrasjons- og permeabilitetsforholda for klorid er slik at desse har stor betydning for membranpotensialet (sjå innleiinga). Dette kan bety at membranpotensialet i TT er meir negativt enn likevektspotensialet for kalium, slik at det elektrokjemiske potensialet vil drive kalium inn i cella. Sjølv om dette er i godt samsvar med at det er fleire kaliumkanalar i TT og færre Na^+/K^+ -pumper er dette noko spekulativt. Ein slik mekanisme ville imidlertid bety at sjølv om den AP-avhengige K^+ effl er større enn 4 pmol cm^{-2} (kanskje det dobbelte), vil ikkje interstitiet "sjå" alt kaliumet som har vore ut av cella og at dermed kanskje $3\text{-}5 \text{ pmol cm}^{-2}$ er eit rimeleg tal å rekna med når det gjeld endringar i interstitiet.

4.3.1.4 Andre mekanismar

Sjølv om dei umiddelbare raske endringane i samband med arbeidet sin start og stopp, tyder på at effluksen er direkte knytt til arbeidet, kan kaliumfluksar også skuldast andre indirekte mekanismar. Det er bl.a. vist at kalium i anna vev er ein aktiv volumregulator (Gilles, 1983; Hoffmann, 1977). Sidan det skjer volumendringar i samband med muskelarbeid, kan det tenkjast at det skjer kaliumforflytting knytt til volumreguleringsmekanismar. Hnik og medarb. (1976) viste imidlertid at det ikkje var nokon forskjell i kaliumeffluks enten han stimulerte muskelen isotont uten belastning eller isometrisk. Stimulering utan belastning skulle gi mindre kraftutvikling og dermed lavare metabolsk aktivitet, som igjen skulle gi mindre behov for volumregulering. Det er dessutan vist at K^+ og H^+ har svært ulikt konsentrasjonsforløp i blod (Hermansen og medarb., 1984). Dette tyder på at volumendringsmekanismar kun i liten grad kan bidra til den auka $[K^+]_e$ vi observerer.

4.3.1.5 Oppsummering

Eg finn altså ein kaliumeffluks på minimum $10 \mu\text{mol s}^{-1} \text{kg}^{-1}$ ved 100% av det maksimale oksygenopptaket. Denne verdien kan vere meir enn 50% høgare om alle faktorane som er nemd tidlegare verkar samtidig med "maksimal styrke": Ufullstendig diffusjon mellom interstitiet og blodet (10%), fortynning av blodet frå ikkje-arbeidande musklar og hud (15-25%), tap til blodbana (10%), og tilbakepumping (5%). Den ekstra kaliumeffluksen kan forklarast ut frå AP-avhengig kaliumeffluks. Eit rimeleg tal på AP-avhengig effluks er $2-4 \mu\text{mol AP}^{-1} \text{kg}^{-1}$, men på grunn av TT-systemet kan det tenkjast at interstitiet ikkje "ser" alt kaliumet som kjem ut før det går tilbake i cella.

4.3.2 Etter knekkpunktet

Når den interstitielle $[K^+]$ ikkje held fram å auke like mykje etter knekkpunktet som før knekkpunktet, viser det at enten (1) minkar effluksen av kalium frå cellene, eller så (2) blir kalium i interstitiet regulert.

4.3.2.1 Depolarisert av cellemembran endrar AP

Når $[K^+]_e$ aukar blir cellemembranen depolarisert. På nerveceller er det vist at dette endrar formen på AP (Keynes og Lewis, 1951). Jones (1981) viste at dette også var tilfelle på human muskel. Amplituden blei mindre og AP varte lenger. Den reduserte amplituden vil isolert bety redusert AP-avhengig K^+ -effl, medan effluksen vil auke med varigheten p.g.a. den lengre overlappinga mellom Na^+ -infl og K^+ -effl. Sjølv om K^+ -effl kan variere utover arbeidet, er det lite sannsynleg at det skjer dramatiske endringar. Det er heller ingenting som tyder på at slike endringar skjer brått og dermed kan forklare knekkpunktet (sjå nedanfor).

4.3.2.2 Regulering etter knekkpunktet

Tap av kalium til blodbana kan ein måle ved å måle blodflow og arteriovenøs-differanse (AV-diff) for kalium. Linton og medarb. (1984) viste at den arterielle $[K^+]$ ($[K^+]_{art}$) fyrst begynte å auka 17 - 20 s etter arbeidsstart. Før dette vil AV-diff vera lik auken i $[K^+]_v$. Vøllestad og Sejersted (1985) viste at etter at $[K^+]_{art}$ begynte å stiga, nærma den seg $[K^+]_v$ utover i arbeidet. Ved arbeid på 85% av det maksimale oksygenopptaket var det ingen AV-diff etter 4 - 5 min, medan AV-diff ved arbeid på ca 110% av det maksimale oksygenopptaket var 0.3 mM etter 3 min. AV-diff er difor størst etter ca 20s arbeid. Det viser at blodet fjernar kalium mest effektivt her (kalium pr. liter blod). Inntil 20 s aukar både blodflow og AV-diff og difor også sirkulasjonen sin

Diskusjon

betydning for regulering av $[K^+]_e$. Etter 20 s vil sirkulasjonen sin betydning for kaliumreguleringa vera svært avhengig av arbeidsbelastning. Både AV-diff og blodflow vil vera større di høgge arbeidsintensiteten er. Uansett blodflow vil det ikkje skje nokon utvasking når AV-diff er null som etter 5 min ved 85% av det maksimale oksygenopptaket. Ved 110% spelar sirkulasjon ei vesentleg rolle for reguleringa heilt til arbeidsslutt. Ein rimeleg verdi for maksimal blodflow ved desse arbeida er $1.0 - 1.6 \text{ l min}^{-1}\text{kg}^{-1}$ (d.v.s. ca $0.6 - 0.8 \text{ l plasma}$) (Andersen og Saltin, 1985). Med ein AV-diff på $0,3 \text{ mM}$ tyder det at blod tar bort ca $4 \mu\text{mol s}^{-1}$ eller 20 - 30% den ekstra kaliumeffluksen.

Ionepumpa si tilbakepumping av kalium vil som nemd tidlegare auka utover i arbeidet i takt med $[K^+]_e$ og $[Na^+]_i$. Ved arbeidsbelastningar under 100% av det maksimale oksygenopptaket er konsentrasjonen stabil etter 3-5 min sykling. Utan nokon AV-diff må kalium effluksen vere lik kalium influksen. Mest sannsynleg er influksen for det meste knytt til aktiv tilbakepumping.

Av figur 10 ser vi at den stabile sluttkonsentrasjonen aukar eksponensielt med arbeidsbelastninga. Sidan den auka kaliumeffluksen i samband med arbeid er proporsjonal med arbeidsbelastninga (figur 9), har sluttkonsentrasjonen eit eksponensielt forhold til kaliumeffluksen. Sidan influks er lik effluks ved stabil konsentrasjon, kan det sjå ut som om ionepumpeaktiviteten har eit logaritmisk forhold til $[K^+]_e$. Det imidlertid som nemd tidlegare, lite sannsynlegt at det er $[K^+]_e$ som direkte regulerer aktiviteten, men det kan vera andre faktorer som varierer parallelt med kalium.

Ved belastningar over 100% av det maksimale oksygenopptaket, når ikkje $[K^+]_e$ nokon stabil verdi, altså er ei grense for regulering av kalium er nådd. Som nemd i innleiinga er muskelen sin metabolske aktivitet og dei

Diskusjon

elektriske eigenskapane til ein viss grad avhengig av kvarandre. Det er difor interessant å observere at oksygenopptaket som er knytt metabolismen, og reguleringa av kalium som er knytt til den elektriske aktiviteten, ser ut til å ha si grense ved same arbeidsbelastning.

Kvifor observerer vi eit knekkpunkt? Det er sannsynleg at dette skuldast ein brå auke i blodflow. Som nemd tidlegare er sirkulasjonsreguleringa mest effektiv på dette tidspunktet fordi AV-diff er stor. Auka blodflow har to effektar: (1) Minke den tida blodet er i muskelen og dermed kunne redusere graden av ekvilibrering mellom muskel og blod, og (2) auke fortynningsvolumet for det ekstra kaliumet og dermed redusere konsentrasjonsauken. Ein plutseleg auke i tilbakepumping vil også kunne gi ein slik effekt. Det er imidlertid sannsynleg at ei slik regulering ville vere lokal, og difor ikkje inntre nøyaktig på same tidspunkt over alt. Dette ville føre til "mjukare" endringar.

4.3.2.3 Oppsummering

Etter knekkpunktet aukar kalium konsentrasjonen mindre enn før knekkpunktet. Dette antar eg skuldast at kalium blir regulert, sidan den arbeidsinduserte effluksen sannsynlegvis er konstant. Reguleringa må vera eit samspel mellom tap av kalium til blodbana og auka pumping av kalium tilbake til cellene. Blodsirkulasjonen er viktigast som regulering i starten av arbeidet sidan AV-diff er størst her. Som konsekvens av dette og av at ionepumpa treng tid for å oppnå maksimal aktivitet, er aktiv tilbakepumping viktigast etter 3-5 min der AV-diff er minst (null ved lave belastningar). Ved arbeidsbelastningar over 100% klarar ikkje ionepumpene å oppnå likevekt med kaliumeffluksen, og konsentrasjonen aukar heile tida. Ved desse belastningane varar AV-diff heile arbeidet, slik at muskelen taper kalium heilt til arbeidsslutt.

4.3.3 Etter arbeidsslutt

I kapittel 4.3.1 konkluderte eg med at all eller nesten all arbeidsindusert kaliumeffluks skuldast muskelen sin elektriske aktivitet i samband med muskelarbeid. Det vil seie at om vi stopper arbeidet, stoppar den ekstra effluksen brått. Fallet i konsentrasjon etter arbeidsstans gir difor eit mål på influksen. Sidan mesteparten av denne influksen skuldast ionepumpene, kan vi sjå på fallet umiddelbart etter arbeidsstans, som eit mål på den aktiviteten ionepumpene hadde like før arbeidsslutt.

Figur 11 viser at det er ein rettlina samanheng mellom verdiane eg fann for effluks i starten på arbeidet og dei eg fann for influks etter arbeidet. Det er minst to faktorar som kan vere med å forklare kvifor "influksen" er noko mindre enn "effluksen".

(1) Når muskelen arbeidar, skjer det ei rad endringar som vil påverka dei osmotiske forholda i muskelen, og både volumet av muskelcellene og det interstitielle volumet vil auke (Sjøgaard og Saltin, 1982). Det volumet som ionepumpene "tar" kaliumet frå er såleis større og same mengde kalium fjerna/tatt opp vil ha mindre effekt på konsentrasjonen.

(2) Dessutan vil vi på slutten av arbeidet ha mykje større blodflow slik at "reservoaret" for kaliumet er enda større. Denne effekten er imidlertid begrensa om vi ser på ein kort periode (få sekund) etter arbeidsstopp (jfr. kapittel 4.3.1.2).

Forskjellen mellom effluks og influks er konstant ca $20 \mu\text{mol s}^{-1}$ for arbeidsbelastningar som gir stabil eller nesten stabil $[K^+]$ ved arbeidsslutt. Ved arbeid på 140% av det maksimale oksygenopptaket er ikkje "influksen" større enn ved 110%. Dette tyder på at den maksimale

"pumpekapasiteten" blei nådd ved 110%, noko som rimer med at dette er grensa for stabil sluttkonsentrasjon (sjå ovanfor).

4.4 Oppsummering og konklusjonar

4.4.1 Problemstilling og metode

Den størst fordelten med kontinuerlege målingar samanlikna med "samplings" metodar er evna til å plukke opp raske ulinjære endringar. Forsøka mine viste slike endringar. Ved å variere arbeidsprotokollen kan vi studere influksar og effluksar under ulike vilkår, til dømes ved ulike arbeidsbelastningar slik eg har gjort. Sidan effluks direkte er knytt til arbeidet, kan ein når som helst "slå på" eller "slå av" denne ved starte eller stoppe arbeidet, eller berre endre effluksen underveis ved å endre arbeidsbelastninga. Ein kan så måle den spontane reaksjonen på $[K^+]_v$ og danna seg eit relativt bilete av storleiken på influksen. Såleis kan vi få informasjon om korleis Na^+/K^+ -pumpeaktiviteten varierer under varierende vilkår. Ein kunne t.d. stoppe arbeidet etter 7 s og sjå om tilbakefluksen var så liten som eg antyda i kapittel 4.3.1.2.

Med berre små endringar av den metoden eg har utvikla og nytta i dette studiet, er det også muleg å måle $[K^+]_{art}$. Nøyaktig og samtidig måling av $[K^+]_{art}$ og $[K^+]_v$ vil gi viktig informasjon om reguleringa av $[K^+]_{en}$ i muskel under arbeid.

Dette arbeidet er såleis ein start på eit større arbeid som har som mål å kunne gi meir presise svar på hovedproblemstillinga: Korleis $[K^+]_{en}$ i muskel blir regulert under arbeid.

4.4.2 Konklusjoner

- 1: Det er berre liten regulering av ekstracellulær kalium dei fyrste 7 - 8 s av arbeidet.
- 2: Tap til blodbana er den viktigaste reguleringa i starten av arbeidet, medan ionepumpa er viktigast etter 3 - 5 min.
- 3: Ved arbeidsbelastningar under 100% av det maksimale oksygenopptaket kan Na/K-pumpa åleine oppretthalda likevekt.
- 4: Tilbakepumpingmekanismene har nådd sin maksimale kapasitet ved 100% av det maksimale oksygenopptaket, og ved arbeidsbelastningar større enn dette blir det ikkje oppnådd likevekt før utmatting.
- 5: Det er eit rettlina forhold mellom initiell kaliumefluks og arbeidsbelastning.
- 6: Det er eit eksponensielt forhold mellom stabil likevektkonsentrasjon og arbeidsbelastning.
- 7: Kontinuerleg måling av $[K^+]$ i blod (med elektrode) er eit naudsynt hjelpemiddel i kartlegginga av kaliumbalansen i muskel.

LITTERATURLISTE

- AKAIKE, N. (1976) Intracellular concentration and electrical activity in potassium-depleted mammalian soleus muscle fibers.
Pflügers Arch. 362, 15 - 20.
- ANDERSEN, P. and SALTIN, B. (1985) Maximal perfusion of skeletal muscle in man.
J. Physiol. 366, 233 - 249.
- BAND, D.M., KRATOCHVIL, J., POOLE WILSON, P.A. (1978) Relationship between activity and concentration measurements of plasma potassium.
Analyst. 103, 246 - 251.
- BELLEMARE, F., WOODS, J.J., JOHANSSON, R., BIGLAND-RITCHIE, B. (1983) Motor-unit rates in maximal voluntary contractions of three human muscles.
J. Neurophysiol. 50(6), 1380 - 1392.
- BERNSTEIN, J. (1902) Untersuchungen zur Termodynamik der bioelektrischen Ströme. Erster Theil.
Pflügers Arch. 82, 521 - 562.
- CHINET, A. and CLAUSEN, T. (1984) Energetics of active sodium-potassium transport following stimulation with insulin, adrenaline or salbutamol in rat soleus muscle.
Pflügers Arch. 401, 160 - 166.
- CLAUSEN, J.P. (1976) Circulatory adjustments to dynamic exercise and effect of physical training in normal subjects and patient with coronary artery disease.
Progress in Cardiovascular disease. 18, 459 - 495.

Litteraturliste

- CLAUSEN, T. (1986) Regulation of active $Na^+ - K^+$ transport in skeletal muscle.
Physiol. Rev. 66, 542 - 580.
- CLAUSEN, T. and EVERTS, M.E. Is the Na,K-pump capacity in skeletal muscle inadequate during sustained work.
Manus (In press)
- CLAUSEN, T. and FLATMANN, J. (1977) The effect of catecholamines on Na-K transport and membrane potential in rat soleus muscle.
J. Physiol. 270, 415 - 430.
- COSTILL, D.L. and SALTIN, B. (1975) Muscle glycogen and electrolytes following exercise and thermal dehydration.
In: Metabolic adaptation to prolonged physical exercise. (Ed. Howald, A. and Poortmans, J.R.) Basel: Birkhäuser Verlag. 352 - 360.
- CREESE, R., HASHISH, D.E.E., SCHOLLES, N.W. (1958) Potassium movements in contracting diaphragm muscle.
J. Physiol. 143, 307 - 324.
- CRONE, C., FRØKJÆR-JENSEN, J., FRIEDMAN, J.J., CHRISTENSEN, O. (1978) The permeability of single capillaries to potassium ions.
J. Gen. Physiol. 71, 195 - 220.
- DAWSON, M.J., GADIAN, D.G., WILKIE D.R. (1978) Muscular fatigue investigated by phosphorus nuclear magnetic resonance.
Nature 274, 861 - 866.
- DONALDSON, P.J. and LEADER, J.P. (1984) Intracellular ionic activities in the EDL muscle of the mouse.
Pflügers Arch. 400, 166 - 170.

- EDWARDS, R.H.T. (1981) Human muscle function and fatigue.
In: Ciba Foundation Symposium on Human Muscle Fatigue:
Physiological Mechanisms. (Ed. Porter, R. and Whelan,
J.) London: Pitman Medical. 1 - 18. (New Ser. 82).
- ELLINGSEN, Ø., SEJERSTED, O.M., LERAAND, S., ILEBEKK, A.
(1987) Catecholamine-induced myocardial potassium
uptake mediated by β_1 -adrenoceptors and adenylate
cyclase activation in the pig.
Circ. Res. 60, 540 - 550.
- FENN, W.O. and COBB, D.M. (1936) Electrolyte changes in
muscle during activity.
Am. J. Physiol. 115, 320 - 370.
- FOLKOW, E., NEIL, E. (1971) Circulation.
London: Oxford University Press.
- FOZZARD, H.A. Foredrag, Universitetet i Oslo 26/6 1987.
- FRØKJÆR-JENSEN, J. (1982) Permeability of single muscle
capillaries to potassium ions.
Microvasc. Res. 24, 168 - 183.
- GEBERT, G. (1972) Messung der K^+ - und Na^+ -Aktivität mit
Mikro-Glaselektroden im Extracellulärraum des Kanin-
chenskelettmuskels bei Muskelarbeit.
Pflügers Arch. 331, 204 - 214.
- GILLES, R. (1983) Volume maintenance and regulation in
animal cells: Some features and trends.
Mol. Physiol. 4, 3 - 16.
- GLYNN, I.M. and KARLISH, S.J.D. (1975) The sodium pump.
Ann. Rev. Physiol. 37, 13 - 53.

- GOLDMANN, D.E. (1943) Potential, impedance, and rectification i membranes.
J. Gen. Physiol. 27, 37 - 60.
- GREGOR, R.J., KOMI, P.V., JÄRVINEN, M. (1987) Achilles tendon forces during cycling.
Int. J. Sports Med. 8, 9 - 14.
- GRIMBY, L. (1984) Firing properties of single human motor units during locomotion.
J. Physiol. 346, 195 - 202.
- HERMANSEN, L. (1974) Oxygen transport during exercise in human subjects.
Acta Physiol. Scand. 90, suppl. 399.
- HERMANSEN, L. (1981) Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise.
In: Ciba Foundation Symposium on Human Muscle Fatigue Physiological Mechanisms. (Ed. Porter, R. and Whelan, J.) London: Pitman Medical. 75 - 88. (New Ser. 82).
- HERMANSEN, L., ORHEIM, A., SEJERSTED, O.M. (1984) Metabolic acidosis and changes in water and electrolyte balance in relation to fatigue during maximal exercise of short duration.
Int. J. Sports Med. 5, 110 - 115. (suppl)
- HILL, J.L., GETTES, L.S., LYNCH, M.R., HERBERT, N.C. (1978) Flexible valinomycin electrodes for on-line determination of intravascular and myocardial K^+ .
Am. J. Physiol. 235, H455 - H459.
- HILLE, B. (1984) Ionic channels of excitable membranes. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Ass. Inc.

Litteraturliste

- HIRCHE, H., SCHUMACHER, E., HAGEMANN, H. (1980) Extra-cellular K^+ concentration and K^+ balance of the gastrocnemius muscle of the dog during exercise. *Plügers Arch.* 387, 231 - 237.
- HNIK, P., I., KRIZ, N., VYSKOCIL, F., SMIESKO, V., MEJSNAR, J., UJEC, E., HOLAS, M. (1972) Work-induced potassium changes in muscle venous effluent blood measured by ion-specific electrodes. *Pfugers Arch.* 338, 177 - 181.
- HNIK, P., HOLAS, M., KREKULE, I., KRIZ, N., MEJSNAR, J., SMIESKO, V., UJEC, E., VYSKOCIL, F. (1976) Work-induced potassium changes in skeletal muscle and effluent venous blood assessed by ion-exchanger micro-electrodes. *Pflügers Arch.* 362, 84 - 94.
- HODGKIN, A.L. (1951) The ionic basis of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Rev.* 26, 339 - 409.
- HODGKIN, A.L. AND HUXLEY, A.F. (1952) A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117, 500 - 544.
- HODGKIN, A.L. and HOROWICZ, P. (1959) Movements of Na and K in single muscle fibers. *J. Physiol.* 145, 405 - 432.
- HOFFER, J.A., O'DONOVAN, M.J., PRATT, C.A., LOEB, G.E. (1981) Discharge patterns of hindlimb motoneurons during normal cat locomotion. *Science.* 213, 466 - 468.

- HOFFMANN, E.K. (1977) Control of cell volum.
In: Transport of ions and water in animals. (Ed. Cupta, B.J., Oshman, J.L., Moreton, R.B., Wall, B.J. 285 - 332. London Academic Press.
- JONES, D.A. (1981) Muscle fatigue due to changes beyond the neuromuscular junction.
In: Ciba Foundation Symposium on Human Muscle Fatigue Physiological Mechanisms. (Ed. Porter, R. and Whelan, J.) London: Pitman Medical. 178 - 196. (New Ser.82).
- JUEL, C. (1986) Potassium and sodium shift during in vitro isometric muscle contraction, and the time course of the ion-gradient recovery.
Pflügers Arch. 406, 458 - 463.
- KEYNES, R.D. and LEWIS, P.R. (1951) The sodium and potassium content of cephalopod nerve fibers.
J. Physiol. 114, 151 - 182.
- KJELLMER, I. (1965) The potassium ion as a vasodilator during muscular exercise.
Acta Physiol. Scand. 63, 460 - 468.
- KNUTTGEN, H.G. and SALTIN, B. Muscle metabolites and oxygen uptake in short-term submaximal exercise in man.
J. Appl. Physiol. 32, 690 - 694.
- KROG, A. (1913) A bicycle ergometer and respiration apparatus for the experimental study of muscular work.
Scand. Arch. Physiol.
- KUGELBERG, E., LINDEGREN, B. (1979) Transmission and contraction fatigue of rat motor units in relation to succinate dehydrogenase activity of motor unit fibres. J. Physiol. 288, 285 - 300.

- LANGER, G.A. (1968) Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility.
Physiol. Rev. 48, 708 - 757.
- LANGER, G.A. (1983) The "sodium pump lag" revisited.
J. Mol. Cell. Cardiol. 15, 647 - 651.
- LIND, A.R., McNICOL, G.W., DONALD, K.W. (1966) Circulatory adjustments to sustained (static) muscular activity.
In: Proceedings of the Beitostølen Symposium. (Ed. Evang, K. and Lange Andersen, K.) Baltimore, MD: Williams and Wilkins. 39 - 63.
- LIM, M., LINTON, R.A.F., BAND, D.M. (1982) Continuous intravascular monitoring of epinephrine-induced changes in plasma potassium.
Anesthesiol. 57, 272 - 278.
- LINTON, R.A.F., LIM, M., WOLFF, C.B., WILMSHURST, P., BAND, D.M. (1984) Arterial plasma potassium measured continuously during exercise in man.
Clin. Sci. 67, 427 - 431.
- MEDBØ, J.I., and SEJERSTED, O.M. (1985) Acid-base and electrolyte balance after exhausting exercise in endurance-trained and sprint trained subjects.
Acta Physiol. Scand. 125, 97 - 109.
- MELLANDER, S. (1981) Differentiations of fibers composition, circulation, and metabolism in limb muscle of dog, cat and man.
In: Mechanisms of Vasodilatation. (Ed. Vanhoutte, P.M. and Leusen, I.) 243 - 254.

- MORAD, M. (1980) Physiological implications of K accumulations in heart muscle.
Fed. Proc. 39(5), 1533 - 1539.
- NASSAR-GENTINA, V., PASSONNEAU J.V., VERGARA, J.L.
RAPAPORT S.I. (1978) Metabolic correlates of fatigue recovery from fatigue in single frog muscle fibers.
J. Gen. Physiol. 72, 593 - 606.
- OWEN, D.B. (1962) Handbook of statistical tables.
Addison-Wesley publ. com. USA.
- RENKIN, E.M. (1959) Transport of potassium-42 from blood to tissue in isolated mammalian skeletal muscle.
Am. J. Physiol. 197, 1205 - 1210.
- SCHOLANDER, P.F. (1947) Analyzer for accurate estimation of respiratory gases in one-half cubic centimetre samples.
J. Biol. Chem. 167, 235 - 250.
- SEJERSTED, O.M. and HALLEN, J. (1987) Na,K homeostasis of skeletal muscle during activation.
Med. Sport. Sci. 26, in press.
- SHEEHAN, R.M. and RENKIN, E.M. (1972) Capillary, interstitial, and cell membrane barriers to blood-tissue transport of potassium and rubidium in mammalian skeletal muscle.
Circ. Res. 30, 588 - 607.
- SJØGAARD, G., ADAMS, R.P., SALTIN, B. (1985) Water and ion shifts in skeletal muscle of humans with intense dynamic knee extension.
Am. J. Physiol. 248, R190 - R196.

- SJØGAARD, G. and SALTIN, B. (1982) Extra- and intracellular water spaces in muscle of man at rest and with dynamic exercise.
Am. J. Physiol. 243, R271 - R280.
- SKOU, J.C. (1957) The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves.
Biochim. Biophys. Acta 23, 394 - 401.
- SRETER, F.A. (1963) Cell water, sodium, and potassium in stimulated red and white mammalian muscles.
Am. J. Physiol. 205, 1295 - 1298.
- TAYLOR, H.L., BUSKIRK, E., HENSCHER, A. (1955) Maximal oxygen intake as an objective measure of cardio-respiratory performance.
J. Appl. Physiol. 8, 73 - 80.
- TOSTESON, D.C. and HOFFMANN, J.F. (1960) Regulation of cell volume by active cation transport in high and low potassium sheep red cell.
J. Gen. Physiol. 44, 169 - 194.
- TREASURE, T. and BAND, D.M. (1977) A catheter-tip potassium-selective electrode.
J. Med. Eng. Technol. 271 - 273.
- VERATTI, E. (1902) Investigations on the fine structure of the striated muscle fiber. Transl. by Bruni et al.
J. Biophys. Biochem. Cytol. (1961) 10(4), 3 - 59.
- VYSKOCIL, F., HNIK, P., REHFELDT, H., VEJSADA, R., UJEC, E. (1983) The measurement of Ke^+ concentration changes in muscle during volitional contractions.
Pflügers Arch. 399, 235 - 237.

- VYSKOCIL, F. and KRIZ, N. (1972) Modification of single and double-barrel potassium-specific microelectrodes for various physiological experiments. *Plügers Arch.* 337, 265 - 276.
- VYSKOCIL, F. (1985) Samtale med HNIK, P.
- VØLLESTAD, N.K. and SEJERSTED, O.M. (1985) Plasma K⁺ during exercise of various intensity in normal humans. *Clin. Physiol.* 5, suppl.4.
- WALKER, J.L. jr. (1971) Ion-specific liquid ion exchanger microelectrodes. *Analytical Chem.* 43, 89A - 92A.
- WOODBURY, J.W. (1963) Interrelationships between transport mechanisms and excitatory events. *Fed. Proc.* 22, 31 - 35.
- ÅSTRAD, P.O. and RODAHL, K. (1977) Textbook of Work Physiology. McGraw-Hill Book Company. USA.

V E D L E G G

ORIENTERING TIL FORSØKSPERSONER

SALTBALANSEN I MUSKULATUR VED VARIERENDE ARBEIDSINTENSITETER

Hensikten med forsøkene er delt i to:

- 1) Å studere hvilken betydning arbeidets intensitet har på saltbalansen i musklene.
- 2) Å teste ut en elektrode som måler kaliumkonsetrasjonen i blodet direkte.

En måte å studere dette på, er å undersøke innholdet av ulike salter i det blod som er på vei til muskelen (arterielt blod) og i det blod som kommer fra muskelen (venøst blod). Dette vil sette oss istand til å se hva muskelen har sluppet ut og hva den har tatt opp fra blodet.

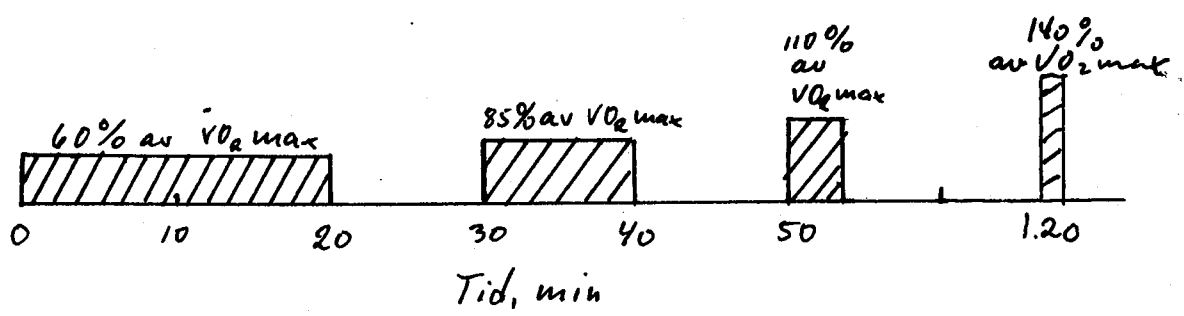
Analysene av blodprøvene vil omfatte følgende parametre:

Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻

Forsøksdagen

Forsøkspersonene spiser en lett frokost (brød, vann, melk) hjemme. De må ikke drikke kaffe eller te!

Deretter møter du på Muskelfysiologisk institutt kl 9.00. Før syklingen starter vil en av legene legge inn et kateter (tynn plastslange) i venen lysken (se egen beskrivelse) på høyre side. I dette kateteret blir kalium-elektroden lagt inn. Når det er gjort, tar det ca 30 min før arbeidsforsøkene starter som illustrert nedenfor.



I hver arbeidsperiode blir det tatt minst en blodprøve før og en under arbeidet. Etter at syklingen er ferdig, blir katetrene og elektroden tatt ut og kompresjon opprettholdt i ca. 10 minutter. Hvis alt går etter planen, vil vi være ferdige med forsøkene omtrent kl. 13.

7/10-1981
LH/AGJ

BLODPRØVER

For å svare på en rekke spørsmål om hva som skjer i musklene etter ulike former for arbeid av varierende intensitet og varighet, er det ønskelig å kunne ta prøver fra det blod som føres til og fra musklene. For å unngå å stikke mer enn en gang blir blodprøvene tatt gjennom et såkalt kateter (tynn plastslange). Kateterisering blir rutinemessig brukt ved et stort antall laboratorier i mange land.

Ved MFI kan det bli aktuelt å kateterisere følgende årer:

- albuevenen
- håndleddsarterien
- lårarterien
- lårvenen

Ved kateterisering av albuevenen benyttes en enkel teknikk der et tynt plastkateter som er tredd utenpå en sprøytespiss stikkes inn i årene. Sprøytespissen trekkes tilbake, og plastkateteret blir liggende inne i åren.

Kateterisering av andre årer blir foretatt ved hjelp av den såkalte Seldinger teknikk, som blir utført på følgende måte:

- Huden over den/de aktuelle årene barberes og vaskes med en desinfiserende oppløsning.
- En vanlig sprøytespiss settes inn i åren.
- En tynn, myk metalleder føres inn i åren gjennom sprøytespissen.
- Sprøytespissen trekkes ut mens metallederen ligger på plass inne i åren.
- Utenpå metallederen tres et tynt plastrør (kateter) som føres langs metallederen inn i åren.
- Metallederen trekkes ut gjennom kateteret, som blir liggende på plass i åren.

Når undersøkelsen er ferdig, trekkes kateteret ut. Manuell kompresjon opprettholdes i 10 minutter etter at kateteret er

tatt ut av en arterie. (Kompresjon = over det lille såret legges en kompress som presses mot arterien for å forhindre en eventuell blødning.) Deretter opprettholdes kompresjonen ved hjelp av trykkbandasje resten av dagen. Forsøkspersonen får ikke lov til å drive fysisk aktivitet, utover daglig virke, resten av dagen. Han/hun skal ikke foreta tunge løft resten av dagen.

Hvis du har deltatt i undersøkelser der kateterisering ved hjelp av Seldinger teknikk er blitt gjennomført, skal du kontakte forsøksleder dagen etter forsøket og en uke etter forsøket for å informere om dine erfaringer.

Dersom det oppstår noen uforutsette plager eller andre forhold som kan settes i sammenheng med forsøket, skal du kontakte instituttets lege så snart som mulig.

Gjennomlest:

.....

Sted

.....

Dato

.....

Signatur

Rapport fra forsøkspersonen etter forsøket:

Dato I

Signatur forsøksleder

Dato II

Signatur forsøksleder

ARBEIDSFORSKNINGSINSTITUTTENE

MUSKELFYSIOLOGISK INSTITUTT

Gydas vei 8, Postboks 8149 Dep

Oslo 1

Telefon: 02/46 68 50

┌

└

┌

└

Deres ref.:

Vår ref.:

Dato:

Når du nå har vært forsøksperson i en av våre undersøkelser, ønsker Muskelfysiologisk institutt å opprettholde kontakten med deg for å høre om dine erfaringer. Jeg ber deg derfor om å kontakte forsøksleder:

(navn)

på dag(er), dato(er):

Dersom det skulle oppstå et forhold av medisinsk karakter som du mener kan settes i sammenheng med forsøket, ber jeg deg om å kontakte meg snarest, uansett tid på døgnet.

Telefon kontor: 46 68 50

Telefon privat: 14 89 53

Vennlig hilsen

Ole M. Sejersted

Spes. lege, MFI