

# Colostrum og akutt påvirkning av serum IGF-1

- Et pilotprosjekt for å vurdere utslag på framtidige dopingtester



## 5.årsoppgave i Stadium IV- Medisinstudiet ved Universitetet i Tromsø

Anne Weber Øverøyen  
Lene Nymo Trulsen

MK-05

Tromsø Høst 2010

### Veiledere

Johan Svartberg  
Prof. Dr.Med.

IKM  
Universitetet i Tromsø

Yvette Dehnes  
Overingeniør  
Norges laboratorium for dopinganalyse  
Oslo universitetssykehus

## 1.0 SAMMENDRAG

Misbruk av veksthormon er mest aktuelt i idretter som krever styrke og lav fettprosent. Deteksjon av veksthormonbruk blant idrettsutøvere gjøres med et isoform ratio immunoassay utviklet for å skille mellom forholdet av veksthormonisoformer sett ved normale fysiologiske forhold, og de sett etter injeksjon av rekombinant veksthormon. Insulinlignende vekstfaktor-1 (IGF-1) medierer mange av veksthormons effekter, og står i likhet med veksthormon på dopinglisten over forbudte stoffer. Standard dopinganalyse innebærer ennå ikke testing spesifikt på IGF-1 nivå i blod, men det forskes nå på nye metoder for å påvise misbruk av IGF-1. Den mest aktuelle metoden innebærer immunoaffinitetsrensing og massespektrometri for å skille mellom modifisert og endogent IGF-1 i serum. Råmelk (colostrum) fra ku inneholder IGF-1 i tillegg til flere andre helsenyttige stoffer. I en rekke land benyttes slike råmelksprodukter mot halsinfeksjoner. Disse produktene selges i Norge som CuraMed, Vekk-i-morgen, og som kosttilskudd i helsekostbutikker.

Bakgrunnen for vårt prosjekt var studier vedrørende råmelksprodukters innvirkning på fysisk yteevne og påvirkning av serum IGF-1 nivå. Resultatene har ikke vært entydige angående påvirkning av IGF-1 nivå i blod, men noen har vist positive effekter på fysisk yteevne. Hensikten med studien var å undersøke om inntak av slike reseptfrie produkter vil kunne gi utslag på mulige fremtidige dopingtester hvor det testes for IGF-1, og samtidig vurdere risiko ved bruk for idrettsutøvere.

14 menn i aldersgruppen 20-37 ble randomisert til å ta enten CuraMed halstabletter (n=10) eller Colostrum® sugetablett (n=4). Begge produktene er reseptfrie og lett tilgjengelige over disk i apotek, matbutikker og helsekostforretninger. Colostrum® er oppgitt til å ha ca 4 ganger så høy aktiv substans som CuraMed. Vi ville undersøke om oral tilførsel av colostrum påvirket serumnivå av IGF-1. I tillegg ønsket vi å se om det var en doseavhengig forskjell mellom de to produktene. Blodprøver ble tatt av testpersonene før inntak, samt 2 timer og 6 timer etter inntak. Serum ble analysert ved Norges laboratorium for dopinganalyse ved Oslo universitetssykehus ved hjelp av to ulike metoder. I tillegg ble det testet for bindingsproteinet IGFBP3.

Resultatene viste ingen signifikant økning av serum IGF-1 nivå etter oralt inntak av verken CuraMed eller Colostrum®. Antatt hovedårsak til resultatene er begrenset opptak av peptider i gastrointestinalkanalen. Fordi absorpsjonen av disse produktene antas å være svært liten vil ikke denne typen produkter kunne gi utslag på dopingtester hvor det testes for IGF-1, og bør dermed trygt kunne brukes av idrettsutøvere.

Prosjektet har mottatt økonomisk støtte fra Antidoping Norge (ADN).

## INNHOLDSFORTEGNELSE

<b>1.0 SAMMENDRAG .....</b>	<b>2</b>
<b>2.0 INNLEDNING .....</b>	<b>4</b>
2.1 VEKSTHORMON .....	4
2.2 IGF-1 .....	6
2.3 COLOSTRUM .....	7
2.5 DOPING I IDRETTE .....	8
2.5.1 Dopinglisten .....	9
2.6 VEKSTHORMON SOM DOPINGMIDDEL .....	10
2.6.1 Historikk .....	10
2.6.2 Administrasjon .....	10
2.6.3 Påvisning av veksthormon i dopinganalyse .....	11
<b>3.0 MATERIALE OG METODE .....</b>	<b>13</b>
3.1 DELTAGERE .....	13
3.2 DESIGN .....	13
3.3 BLODPRØVETAKING .....	13
3.4 ANALYSE .....	13
3.5 STATISTISK ANALYSE .....	14
<b>4.0 RESULTATER .....</b>	<b>15</b>
4.1 IGF-1 NIVÅ (MANUELL METODE) .....	15
4.2 IGF -1 NIVÅ (IMMULITE 2500) .....	16
4.3 IGFBP3 (IMMULITE 2500) .....	17
4.4 FORSKJELL MELLOM COLOSTRUMGRUPPEN OG CURAMEDGRUPPEN .....	18
4.5 TEST AV OPPTAK/ABSORPSJON .....	18
<b>5.0 DISKUSJON .....</b>	<b>19</b>
5.1 IGF-1 OG COLOSTRUM .....	19
5.2 ABSORPSJON .....	21
<b>6.0 KONKLUSJON .....</b>	<b>23</b>
<b>7.0 REFERANSER .....</b>	<b>24</b>
<b>8.0 VEDLEGG .....</b>	<b>26</b>
8.1 VEDLEGG 1 .....	26
8.2 VEDLEGG 2 .....	28

## 2.0 INNLEDNING

### 2.1 Veksthormon

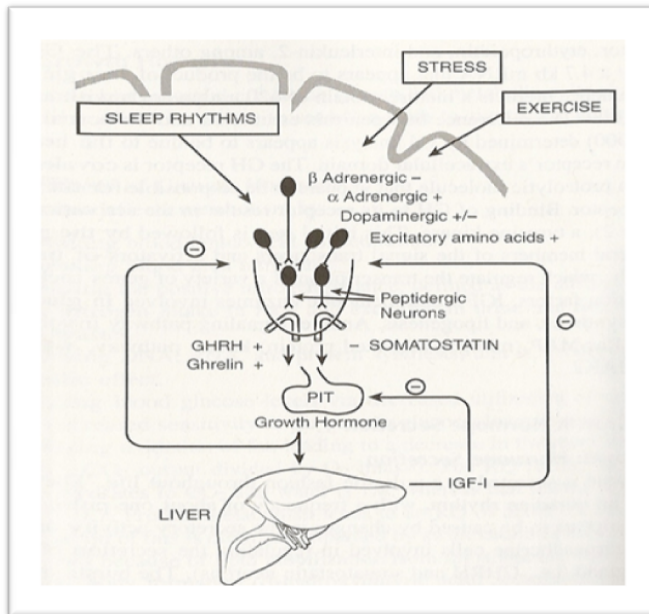
Veksthormon (eller somatotropin, eng. growth hormone (GH)) er et polypeptidhormon bygget opp av 191 aminosyrer (1). Hormonet produseres i somatotrope celler i hypofysens forlapp, skilles ut pulsativt, og opptrer i blod som isoformer av ulik størrelse. 65-80 % skilles ut som 22 kDa, resten som mindre isoformer. Kompleksiteten ved veksthormon forsterkes ytterligere ved at hormonet medierer sin effekt via produksjon av en rekke andre proteiner, deriblant insulinliknende vekstfaktor -1 (IGF-1) (2). En normal hypofyse inneholder ca 10 mg veksthormon, og det skilles ut 0,5 mg veksthormon per døgn. Plasmakonsentrasjonen hos friske mennesker i hvile er høyest i vekstperioden og den reduseres med alderen (3).

Veksthormon er essensielt i vekstfasen da det stimulerer lineær vekst hos barn ved å virke direkte og indirekte på epifyseskivene i rørknoklene. Sammen med insulin og IGF-1 har veksthormon synergistisk anabol effekt på proteinmetabolismen. Hormonet har også markante effekter på den metabolske homeostasen. Det øker glukosenivået i blodet gjennom økt glukoneogenese i lever og glykogenolyse, og reduserer perifert forbruk gjennom å hemme glykogensyntese og glukoseoksidasjon. Samtidig fører det til fosfat-, vann- og natrium retensjon, og øker lipolyse og lipidoksidasjon, med andre ord mobilisering av lagrede triglyserider. Ved eksogen tilførsel av veksthormon ved doping har motivasjonen tradisjonelt ligget i en forsterket effekt på muskeloppbygging samt lipolyse og insulinresistens (4).

Virkningsmekanismen til veksthormon er aktivering av spesifikke reseptorer som finnes på overflaten av alle cellene i kroppen. Videre resulterer intracellulære mekanismer til en rekke biologiske responser, deriblant cellulær proliferasjon, differensiering og migrering, hindret apoptose og regulering av metabolisme (4). De intracellulære reaksjonsveiene stimuleres ikke bare av direkte veksthormonpåvirkning, men som nevnt ovenfor også indirekte via dannelsen av ulike vekstfaktorer; somatomediner C og A (IGF-1 og -2) (5).

Veksthormon binder relativt svakt til plasmaproteiner i blodet, noe som medfører rask frigjøring fra blod til vev. Den korte halveringstiden, i tillegg til den pulsative utskillelsen, bidrar til at veksthormon er ustabil å måle i blod. IGF-1, derimot, har høyere affinitet til

bærerprotein og frigis dermed saktere fra blod til vev (4). Dette bærerproteinet produseres i likhet med IGF-1 i respons til veksthormon, slik at forholdet er relativt stabilt (3). Veksthormon metaboliseres i leveren og har en halveringstid på bare 12-45 min, mens halveringstiden til IGF-1 er opp mot 20 timer. Dette fører til at de vekstfremmende effektene forlenges etter veksthormonutslippene (5)



**Figur 1. Regulering av veksthormonutskillelse.**

GH skilles ut fra hypofysen, og er regulert av GHRH, ghrelin og somatostatin som hhv stimulerer og hemmer utskillelse. GH stimulerer til utskillelse av IGF-1 i leveren, som i sin tur har en negativ feedback regulering, i likhet med GH selv.

(Figur hentet fra Griffin, Textbook of Endocrine Physiology (6))

Sekresjonen av veksthormon kontrolleres av sentrale og perifere faktorer som virker på somatotropene. Fra hypothalamus skilles det ut veksthormon- frigjørende hormon (GHRH) og ghrelin som stimulerer syntese og frisetting, mens somatostatin hemmer sekresjonen. (Figur 1) Balansen mellom disse bestemmer veksthormonsekresjonens størrelse. Hypotalamus er under stadig påvirkning, og både fysisk aktivitet, søvn, ernæringsstatus, alder og kjønn er faktorer som har betydning. (4, 7). I tillegg vil fysisk og psykisk stress, fedme, samt plasmakonsentrasjoner av andre hormoner som IGF-1, stoffskiftehormoner, kjønnshormoner og katekolaminer påvirke. Faste, og med det hypoglykemi, øker sekresjonen, mens man har sett reduserte nivåer hos overvektige. Hyperglykemi undertrykker veksthormonsekresjon hos normale mennesker, mens det hos dårlig regulerte diabetikere sees høye verdier (8).

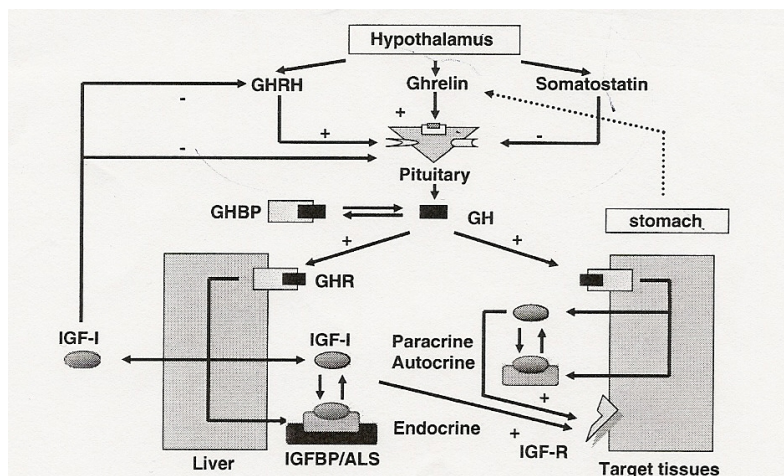
## 2.2 IGF-1

IGF-1 er et polypeptid med strukturelt utseende som insulin. Vekstfaktoren produseres i hele kroppen, men størsteparten av sirkulerende IGF-1 dannes i lever (7). Det produseres både IGF-1 og IGF-2; mens IGF-2 i hovedsak dominerer prenatalt, er IGF-1 den dominerende vekstfaktor i alle utviklingsstadier (6).

Effektene av IGF-1 er tilsvarende virkningene av insulin, men ikke identiske (7).

Vekstfaktoren medierer en stor del av effektene til veksthormon, og da spesielt ved muskeloppbygging, lipolyse i fettvev, karbohydratmetabolisme samt forlengning av lange rørknokler hos individer i vekst (5). Selv om ikke samarbeidet mellom veksthormon, insulin og IGF-1 er fullstendig kartlagt har det vist seg å være et komplisert dynamisk system både når det gjelder regulering og virkning (7).

Som mediator for veksthormon har ikke IGF-1 bare endokrin funksjon; det virker også autokrint og parakrint (4, 7). Virkningsmekanismen skjer ved binding til IGF-1 reseptorer på cellene. Disse reseptorene har mange ganger høyere affinitet til IGF-1 enn til insulin, noe som sikrer til høy spesifisitet (7).



**Figur 2. GH/ IGF-1-akse.** GH skilles ut fra hypofysen, fraktes i blodet bundet til bindingsproteiner og binder seg til spesifikke reseptorer på celleoverflaten. De anabole virkningene er delvis medierte via IGF-1. 95 % av sirkulerende IGF-1 er sterkt bundet til bindingsprotein (IGFBP-familie) som koordinerer og regulerer biologiske funksjoner av IGF-1 og 2. IGF-1 inhiberer GHRH og GH-sekresjon i en klassisk negativ tilbakekoblingsmekanisme. (4))

IGF-1 sirkulerer i blod bundet til spesifikke bindingsproteiner; IGFBP 1-6.

80-95 % av sirkulerende IGF-1 er bundet i kompleks med IGFBP3 og syrelabil subenhet (ALS) (4, 7). Funksjonen til bindingsproteinet er fortsatt noe uklart, men det er påvist å regulere virkningen av IGF-1 og kan lede vekstfaktoren til visse vev og dermed føre til

vevsspesifikke effekter. I tillegg forlenger bindingsproteinet halveringstiden til IGF-1 i sirkulasjonen fra få minutter til opptil 15 timer (7).

Produksjonen av IGF-1 er hovedsakelig stimulert av veksthormon. Videre virker IGF-1 tilbake på hypofysen for å inhibere, og dermed regulere, videre veksthormonsekresjon ved hjelp av negative tilbakekoblingsmekanismer. I tillegg påvirker insulin og næringsstatus produksjonen av vekstfaktoren; langvarig faste eller diabetes uten insulinproduksjon (type 1) fører til lavere nivå av sirkulerende IGF-1 (7).

### **2.3 Colostrum**

Colostrum eller råmelk er melken som produseres i melkekjertlene hos mennesket og alle pattedyr innen de første 72 timer etter fødselen. (9) Fra naturens side er colostrum ment til å beskytte nyfødtes immunsystem og gi bedre passiv beskyttelse mot mikroorganismer til den nyfødte får etablert et eget godt immunforsvar. I tillegg fremmes proteinsyntese, muskelvekst og generell vekst da colostrum er rik på bioaktive komponenter. IGF-1 er den mest fremtredende og best beskrevne av disse substansene. Orale kosttilskudd av colostrum, utvinnet fra kyr, har siden 1980-tallet blitt et etablert supplement for idrettsutøvere i flere land. På tross av det har det ikke kommet entydige studier på at disse produktene har en varig prestasjonsfremmende effekt (10).

Studier publisert om eventuell prestasjonsfremmende effekt av colostrum viser motstridende resultater. Buckley et al 2003 konkluderer i sin studie med at 8 uker med daglig tilskudd av råmelk under trening hadde en signifikant økning i maksimal anaerob styrke, men ingen effekt på anaerob arbeidskapasitet, 1 repetisjon maksimum (1-RM) eller plasma IGF-1 (11) .

I tillegg er det sett forbedring i repeterte sprintøvelser, maksimal kraft i høydehopp og maksimal kraft i sykling. I en studie utført av Shing et al i 2006 fikk syklister lavdosedilskudd i 10 uker inkludert 5 dagers høyintensitetstrening. Det ble der sett en forbigående forbedring i 40 km tidsløp etter perioden med høyintensitetstretningen, samt redusert trøtthet og restitusjonstid (12). Mero et al (1997) oppsummerte sin studie med at 8 dagers lavdose flytende råmelkstilskudd under styrke og hurtighetstrening ikke hadde effekt på hverken vertikal høydehopp eller restitusjonstid (13). En forbedrende effekt ble heller ikke sett i øvelsen 1 repetisjon maksimum i benkpress, tid før utmattelse på tredemølle eller totalt antall repetisjoner ved

submaksimal belastning i benkpress i en studie utført av Antonio et al i -01 (14). I åtte uker fikk aktive menn og kvinner 20 g colostrum per dag, og eneste signifikante økning var i muskulær kroppsvekt, kroppsvekt der fett- og beinmasse var trukket fra (bone-free lean body mass). Det finnes dermed ingen dokumentasjon på varig effekt av colostrumtilskudd.

Mero et al fant at tilskudd med colostrum på doser mellom 1,7 og 74 mcg av IGF-1 pr dag, økte sirkulerende IGF-1 i et dose -respons forhold (13, 15). I motsetning til dette har tre andre studier fra forskjellige laboratorier ikke kunnet vise effekt av colostrumtilskudd på plasma IGF-1(9-11). Dette til tross for at flere av disse studiene har brukt colostrum med høyere konsentrasjoner av IGF-1, og over lengre tid.

### **2.5 Doping i idretten**

Doping og dopingmidler er begreper som fremkaller negative assosiasjoner. Likevel er det viktig å være klar over at de fleste legemidlene på dopinglisten er midler som er utviklet for å behandle symptomer og sykdom. Brukt i en terapeutisk sammenheng, med nødvendig fritak og legeerklæring, vil det ikke ansees som doping (16).

#### *Definisjon*

"Ifølge §12-1 i NIFs lover er det forbudt å rettsstridig bruke midler og metoder som fremgår av WADAs (World Anti-Doping Agency) internasjonale dopingliste og av den nasjonale legemiddellisten. WADA overtok dette ansvaret fra Den Internasjonale Olympiske Komité (IOC) i 2004. I 2003 ble ansvaret for den norske utgaven av dopinglisten overført fra NIF til Stiftelsen Antidoping Norge (ADN)" (16).

I forbindelse med WADAs overtagelse av ansvaret for utarbeidelsen av den internasjonale dopinglisten, gjennomgikk listen en omfattende vurdering og revisjon. De viktigste kriteriene for å inkludere stoffer eller metoder i listen har vært:

- Stoffer eller metoder som har potensiale til prestasjonsforbedring
- Helseisiklo for utøver
- Brudd på idrettens anseelse

Minst to av kriteriene skal være tilstede for å inkludere et stoff eller metode på dopinglista (16).



### 2.5.1 Dopinglisten

*Gjeldende fra 1. januar 2010.*

Alle forbudte stoffer skal betraktes som "spesifiserte substanser" unntatt stoffer i dopinggruppene S1, S2.1-S2.5, S4.4 og S6.a, og de forbudte metoder M1, M2 og M3.

I. Stoffer og metoder som er forbudt både i og utenfor konkurranse

Forbudte stoffer

S1. Anabole stoffer

S2. Peptidhormoner, vekstfaktorer og relaterte substanser

S3. Beta2-agonister

S4. Hormonantagonister og modulatorer

S5. Diuretika (vanndrivende midler) og andre maskeringsmidler

Forbudte metoder

M1. Forbedring av oksygenopptak/oksygentransport

M2. Kjemisk og fysisk manipulasjon

M3. Gendoping

II. Stoffer og metoder som er forbudt i konkurranse

I tillegg til kategoriene S1-S5 og M1-M3 definert over, er også følgende grupper forbudt i konkurranse:

S6. Stimulerende midler

S7. Narkotiske stoffer

S8. Cannabis (cannabinoider)

S9. Glukokortikoider

III. Stoffer som er forbudt innenfor enkelte idretter

P1. Alkohol

P2. Betablokkere (17)

De mest anvendte dopingmidlene er vevsoppbyggende preparater (som anabole androgene steroider), preparater som stimulerer sentralnervesystemet, narkotiske stoffer og bloddoping. I den senere tid er det også kommet nyere og mer avanserte former for doping blant annet gendoping (16).

## **2.6 Veksthormon som dopingmiddel**

### **2.6.1 Historikk**

Veksthormon fra menneskelig hypofyse ble første gang utvinnet i 1945, og ikke lenge etter ble det brukt som behandling til barn med underutviklet hypofyse. Bruk av humant materiale innebærer en viss risiko for Creutzfeldt- Jacob sykdom og andre lidelser, så da rekombinante produkter kom på markedet ble disse raskt tatt i bruk. Både omfang og varighet på veksthormon som dopingmiddel er usikker. Duchaine ga i 1982 ut boken "Underground Steroid handbook" der det blant annet ble beskrevet veksthormonets virkning. Preparatet ble omtalt som dyrt, fasjonabelt og fremtidens doping for styrkeutøvere. Den mest kjente dopinghendelsen med veksthormon involvert var i forbindelse med OL i Seoul 1988. Ben Johnson testet positivt på anabole steroider (Stanazolol) etter 100 meter, og innrømmet i etterkant at han også hadde tatt veksthormon.

Hormonets potensielle effekter gjør det i utgangspunktet mest attraktivt for styrkeidretter, men virkningen i form av lipolyse og redusert fettmasse er trolig årsaken til at store mengder veksthormon ble funnet i en lagbil i Tour de France i 1988. Det er dermed ingen grunn til totalt å utelukke utholdenhetsidretter når det er snakk om veksthormon.

I den senere tid er det gjort flere større beslag, og det har kommet enkelte tilståelser. Etter en rassa på et laboratorium i USA innrømmet eieren at han hadde gitt veksthormon til mange høyt profilerte amerikanske utøvere, deriblant Tim Montgomery og Marion Jones. Montgomery innrømmet bruk og fikk 2 års utestengelse, mens eieren ble satt i fengsel 4 måneder for sin rolle i dopingskandalen (4).

### **2.6.2 Administrasjon**

De typiske rene, framstilte veksthormonproduktene med det generiske navnet somatotropin administreres intramuskulært eller subkutan. Avhengig av kjønn og alder på mottaker er maksimal plasmakonsentrasjon i blod mellom 2-6 timer etter injeksjon. Det er vanlig med injeksjon morgen og kveld blant dopingmisbrukere. Dette på grunn av den korte halveringstiden. Ved klinisk bruk injiseres produktet kun én gang per dag. Dosen ved doping er opptil 10 ganger høyere enn endokrinologisk indikasjon. Dette medfører at misbrukere utsetter seg selv for bivirkninger som diabetes og hypertensjon, og tidligere også Creutzfeld-Jakob sykdom ved bruk av veksthormon utvinnet fra humant materiale(4).

IGF-1 i fri form har for kort halveringstid til at man kan benytte det medisinsk eller i dopingsammenheng. Syntetiske analoger, med angivelig høyere biotilgjengelighet, markedsføres nå som prestasjonsfremmende, og spesielt long-R<sup>3</sup>-IGF-1 varianten har blitt misbrukt i styrkeidrett (18). En kur varer vanligvis ca 4 -12 uker. Ren IGF-1 selges fra Kina i "kit" med 10 x100 mcg IGF-1 Long R. Disse produktene er veldig dyre og blir dermed også ofte utsatt for forfalskninger. Vanlig dose er 20-80 mcg pr dag. Dosen settes intramuskulært fortrinnsvis i den muskelen som skal trenes (19).

### 2.6.3 Påvisning av veksthormon i dopinganalyse

Det første forsøket IOC (internasjonale olympiske komité) gjorde på å lage en test for å detektere doping med humant veksthormon ble startet i 1996 (GH-2000), med et mål om å ha analysen klar til OL i 2000 i Sydney . Testen ble ikke helt ferdigstilt, så da WADA ble stiftet i 1999 for å fremme, koordinere og overvåke kampen mot doping internasjonalt, tok de ansvar for prosjektene innen utvikling av metoder for å detektere doping med GH. Dermed ble fase to av GH-2000 satt i gang: GH-2004 mot OL i Athen. Først i januar 2007 ble prosjektet avsluttet, og konkludert med valg av IGF-1 og P-III-NP som indirekte markører for å detektere eksogen administrasjon av veksthormon (2). Guha et al påpeker at et resultat av forbedrede tester for veksthormonanalyse trolig medfører økt prevalens av IGF-1 misbruk innen idretten. Tester for deteksjon av eksogen IGF-1 tilførsel er fortsatt under utvikling (20).

Veksthormon tilført eksogent som dopingmiddel er vanskelig å detektere i blodet av flere årsaker. Pulsativ sekresjon, kort halveringstid, strukturell likhet med endogent veksthormon samt sensitivitet til positive og negative regulatoriske faktorer har medført utfordringer i utvikling av dopinganalyse (21). Det har vært få studier som har kunnet bevise at eksogent tilført hGH gir økt styrke og andre ønskede effekter, men Gibney et al påpeker at studiene har kort varighet og kan variere mye fra det som blir gjort i dopingsammenheng (22).

Konsentrasjonen av veksthormon i urin er lav og varierer dessuten i stor grad etter aktivitetsnivå. Urin er derfor en dårlig egnet matriks for dopinganalyse. Konsentrasjonen i blod er langt høyere og testen for veksthormon gjøres derfor på serumprøver (22).

Det har vært utviklet to potensielle analysemetoder for veksthormon; en direkte og en indirekte test. Kravet til testen er at den skal kunne oppdage misbruk, samt minimalisere risikoen for falsk prøve (23). Den direkte metoden går ut på å måle det relative forholdet av veksthormon-isoformer. Denne metoden ble utviklet parallelt med GH-2000 og GH-2004, og baserer seg på at hypofysen skiller ut veksthormonfragmenter i flere ulike former og størrelser, hvor 22kDa-isoformen utgjør ca 75 %. Eksogent veksthormon opptrer kun i 22 kDa formen, og ved tilførsel av suprafysiologiske doser undertrykkes endogen sekresjon og ratioen mellom isoformene endres. Metoden innebærer bruk av to ulike antistoffer til å måle serumkonsentrasjonen av de ulike formene, der det ene gjenkjenner 22 kDa isoformen og det andre 20 kDa, 17 kDa og 5 kDa. På denne måten kan ratioen beregnes. Denne metoden ble validert og gjennomgått av WADA i 2004 og godkjent for bruk under OL i Athen. Ulempen med denne testen er at den korte halveringstiden medfører at blodprøven må tas innen 24 timer etter siste injeksjon for deteksjon, samt at sensitiviteten reduseres ved at fysisk aktivitet påvirker endogen sekresjon av 22 kDa versus 20 kDa. Dette gir utfordringer både i planlegging av tester og selve utføring av prøvetaking.

Den andre metoden er fortsatt under utvikling, men baserer seg i hovedsak på måling av serummarkører for veksthormon. IGF-1, IGFBP2/3, PIIIP<sup>1</sup> og andre markører for bein- og bindevevsomsetning har vist doseavhengig respons til administrasjon av rekombinant veksthormon i forhold til placebogruppe. De svinger også mindre i forhold til aktivitet, fra dag til dag, og viser mer stabile forhøyede nivåer i dager etter injeksjon (22). IGF-1 og PIIIP er i tillegg motstandsdyktige mht akutte effekter av trening. De kan potensielt utvide deteksjonsvinduet fra 24-36 timer til opptil 2 uker. Selv om mange markører påvirkes har det vist seg at det er tilstrekkelig å måle IGF-1 og PIIIP. Utfordringer ved denne type målinger har vært å kalibrere for kjønn, alder, etnisitet og nylig oppstått skade (23). Studier har vist at testen kan brukes i kombinasjon med diskriminantanalyse, og dermed justeres for disse faktorene (24). I dag brukes den direkte metoden ved dopinganalyse i Norge, mens den indirekte kan bli gjeldende i fremtiden. Individuelle IGF-1 profiler vil bli kartlagt ved hjelp av regelmessige blodprøver, slik at man tar utgangspunkt i et personlig referanseområde ved fremtidig dopinganalyse. På denne måten tar man høyde for interindividuelle forskjeller i basalt IGF-1 nivå.

---

<sup>1</sup> Prokollagen type III peptid, en av mange markører på biologisk veksthormonaktivitet (2).

### 3.0 MATERIALE OG METODE

#### 3.1 Deltagere

14 friske, veltrente mannlige utøvere, rekruttert fra Norges idrettshøyskole og Antidoping Norge, bidro i studien. Gjennomsnittsalder 25 år (SD 5,1) , gjennomsnittshøyde 179,9 cm (SD 4,8), gjennomsnittsvekt 78,4 kg (SD 5,4) og BMI gjennomsnitt 24, 2 kg/m<sup>2</sup> (SD 1,7).

Testpersonene deltok regelmessig i fysisk aktivitet. Tre av utøverne trente regelmessig 1-3 ganger pr uke, fem av utøverne trente > 5 ganger pr uke og seks utøvere trente mellom 3-5 ganger.

#### 3.2 Design

Studien er en ublindert pilotundersøkelse. Deltagerne skrev på forhånd under en informert samtykkeerklæring og et forenklet spørreskjema (vedlegg 1 og 2). Ti av deltagerne fikk totalt 12 tabletter av CuraMed råmelk (1 tablett inneholder 58 mg råmelk, ref. pakningsvedlegg). For også å vurdere en eventuell dose- eller produktrelatert effekt fikk fire deltakere 12 tabletter av Colostrum® (1 tablett inneholder 200 mg råmelk, ref. innholdsfortegnelse).

#### 3.3 Blodprøvetaking

Deltagerne møtte fastende mellom 0800-0900 prøvedagen. De hadde ikke inntatt kosttilskudd siste døgn. Blodprøvene ble tatt rett i forkant av colostruminntak, samt 2 og 6 timer etter inntak. Tablettene ble inntatt i løpet av 15 min. De fikk instruksjoner om å tygge eller suge tablettene, ikke svelge de hele. Etter inntak (av dose) ble det servert felles frokost. Maten bestod av vanlig norsk husmannskost. Blodprøvene ble tatt fra en sentral albuvene på 8 ml serumglass. Blodprøvene ble deretter vendt 8 ganger, og satt til koagulering 30 min i romtemperatur. Prøvene ble oppbevart i frysebagg med temperaturlogg mellom 2-8 grader til neste dag.

#### 3.4 Analyse

Analysene ble gjennomført ved Norges laboratorium for dopinganalyse. For å styrke resultatene ble prøvene analysert med to ulike metoder, en manuell metode vha et Quantikine® immunoassay kit og maskinelt på IMMULITE 2500 IGF-1.

Dagen etter innsamling ble prøvene sentrifugert 2500 x g i 10 min og serum ble pipettert ut og overført til reagensrør. Serumet ble analysert i triplikater vha et Quantikine<sup>®</sup>, human IGF-1 immunoassay kit, som er et 3,5 timers solid-fase ELISA. Assayet er designet til å måle humant IGF-1 i cellekultur supernatanter, serum og plasma ved hjelp av en kvantitativ sandwich enzym immunoassay teknikk. Et monoklonalt antistoff spesifikt for IGF-1 er blitt tilsatt en mikropate. Metoden innebærer også forbehandling av serum for å skille IGF-1 fra bindingsproteiner. Standarder og forbehandlede serumprøver ble pipettert til brønner og tilstedeværende IGF-1 ble bundet opp av det immobiliserte antistoff. Etter vasking av ubundet materiale, ble et enzymlinket polyklonalt antistoff for IGF-1 tilsatt brønnene. Etter ny vask for å fjerne det som måtte være av ubundet antistoff-enzym reagens ble det tilsatt en substratløsning som farger mengden bundet IGF-1. Fargeutviklingen stoppes, og fargeintensiteten ble så avlest på et Rosys Anthos lit 2 plateleser.

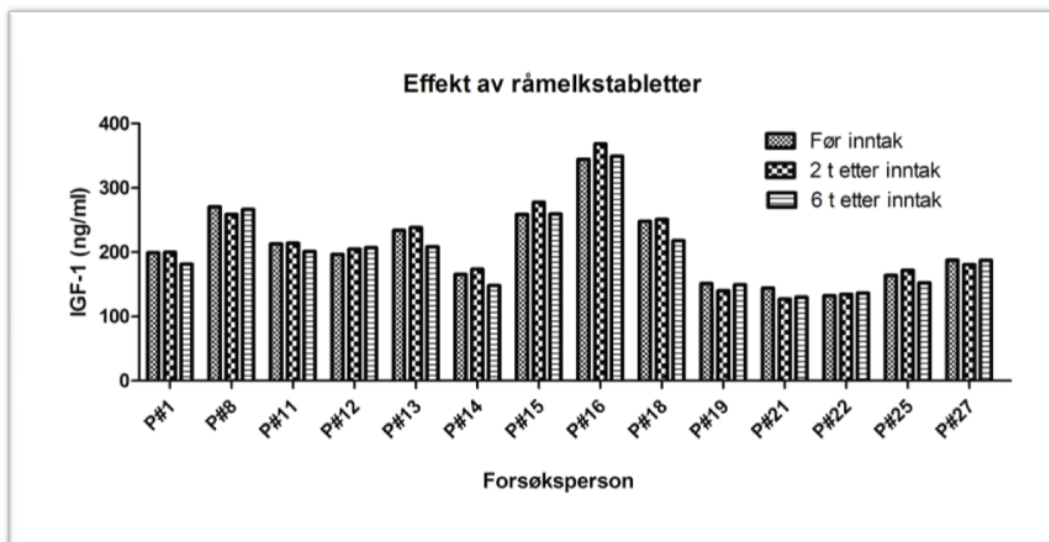
MDD (=minste detekterbare dose) er satt til 0,026 ng/mL ved dette kitet. Dette sikrer en høy sensitivitet. Ifølge metodeveiledningen for Quantikine<sup>®</sup> er referanseområdet for IGF-1 i serum satt til 40-258 (ng/ml) (25).

I tillegg ble 20 µL av serumprøvene analysert på Hormonlaboratoriet ved Oslo universitetssykehus, Aker, vha IMMULITE 2500 IGF-1, som er en solid fase, enzymmerket kjemolumisient immunometrisk assay (26). Prøvene krever også her forbehandling for å fristilles fra bindingsproteiner. Ved denne metoden ble det også analysert for bindingsproteiner, IGFBP-3.

### **3.5 Statistisk analyse**

IGF-1-konsentrasjonen før inntak, ble sammenlignet med inntak etter 2 timer og etter 6 timer ved hjelp av variansanalytisk metode, ANOVA for repeterte målinger. All statistikk ble utført ved SPSS 18 statistikkprogram og GraphPad Prism 5. Statistisk signifikans ble satt ved  $P < 0,05$ . Data blir presentert som gjennomsnitt +/- SD.

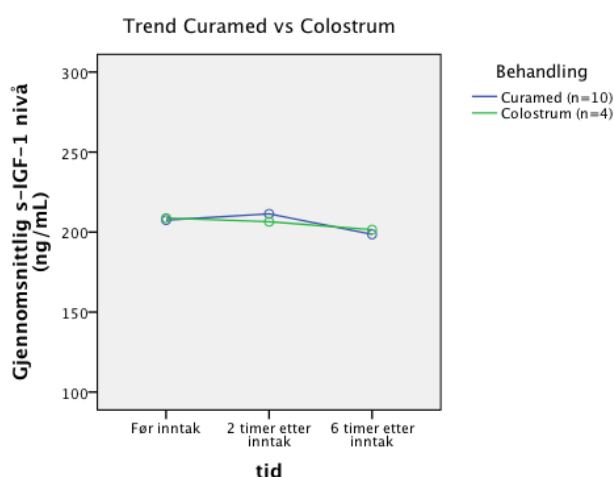
## 4.0 RESULTATER



**Figur 3. Serum-IGF-1 ved manuell metode.** Verdier av serum-IGF-1 (ng/ml) for hver enkelt testperson før, 2 timer og 6 timer etter inntak av hhv Colostrum® (P#8, P#11, P#25 og P#27) og CuraMed sugetabletter. To av utøverne hadde verdier utenfor normalområdet (# 15 og #16). Disse viser likevel samme tendens som resten av gruppa.

### 4.1 IGF-1 nivå (manuell metode)

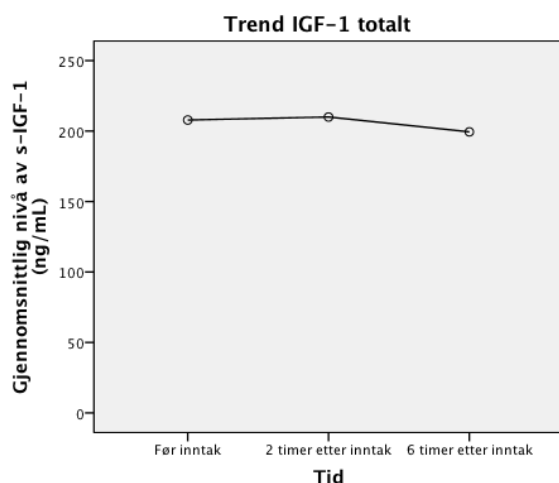
Gjennomsnittsnivå av IGF-1 (ng/mL) for gruppen som fikk CuraMed var før inntak, etter 2 og 6 timer på henholdsvis 207,5 (SD 65,6), 211,4 (SD 75,3) og 198,6 (SD 67,4); for gruppen som fikk Colostrum® på 208,8 (SD 45,5), 206,5 (SD 39,4) og 201,5 (SD 47,7) ; og for begge grupper til sammen 208 (SD 59), 210 (SD 66) og 200 (SD 61) (Se figur 5)



**Figur 4: Manuell metode.** Forskjell i trend mellom de to gruppene ved manuell metode. Begge viser en nedgang i serum IGF-1 nivå etter 6 timer. Colostrum-gruppen viser en jevn nedgang, mens CuraMed-gruppen har en forbigående ikke-signifikant stigning etter 2 timer.

Det var ingen signifikant stigning av IGF-1 i serum etter inntak, men en reduksjon ved 6 timer sett hos åtte av testpersonene er sannsynlig årsak til signifikant verdi totalt sett ( $p = 0,011$ ).

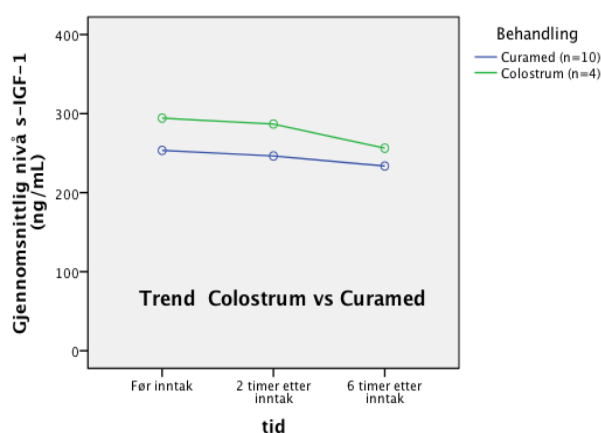
Toveis ANOVA med Bonferroni posttest ble brukt for å se hvorvidt det var en signifikant endring hos enkeltpersoner før og etter inntak av colostrum. Det var ingen signifikant endring verken fra 0 til 2 timer, eller fra 0 til 6 timer etter inntak (samtlige hadde  $p > 0,05$ ).



**Figur 5: Manuell metode.** Viser gjennomsnittlige verdier for begge gruppene (n=14) ved de ulike tidspunktene. Resultatene viser en signifikant nedgang i IGF-1 nivå etter 6 timer. ( $p=0,011$ )

#### 4.2 IGF -1 nivå (Immulite 2500)

Gjennomsnittlig nivå av IGF-1 (ng/mL<sup>2</sup>) for CuraMed-gruppen var før inntak, etter 2 og 6 timer på henholdsvis 253,4 (SD 81,5), 246,7 (SD 79,3) og 233,9 (SD 73,4); for Colostrum®-gruppen på 294,3 (SD 88,4), 286,8 (SD 65,1) og 256,3 (SD 44,4) (Se figur 6); og for hele gruppen 265,7 (SD 82,2), 258,2 (SD 75,3) og 240,3 (SD 65,4) (Se figur 7)

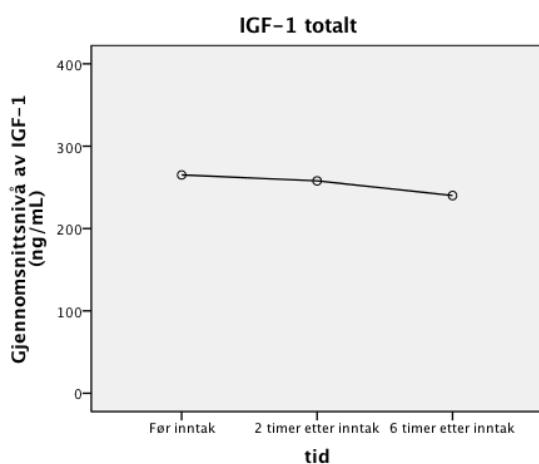


**Figur 6: Immulite 2500.** Forskjell i gjennomsnittsverdier serum IGF-1 fra gruppe som fikk hhv Colostrum og CuraMed tabletter. Ingen av gruppene får en økning i serum IGF-1, men har en jevn nedgang ved 2 og 6 timer etter inntak.

<sup>2</sup> Tallene fra Immulite 2500 er konvertert fra nmol/L til ng/mL vha omregningsfaktor /0,13.



I likhet med manuell metode sees ingen signifikant stigning etter inntak, men en reduksjon ved 6 timer er sannsynlig årsak til signifikant verdi totalt sett ( $p = 0,013$ ). Ved toveis ANOVA Bonferroni posttest ble nedgangen ved både 2 og 6 timer funnet å være signifikant hos en av personene som fikk Colostrum ( $P\#8$ ;  $p < 0,05$ ).

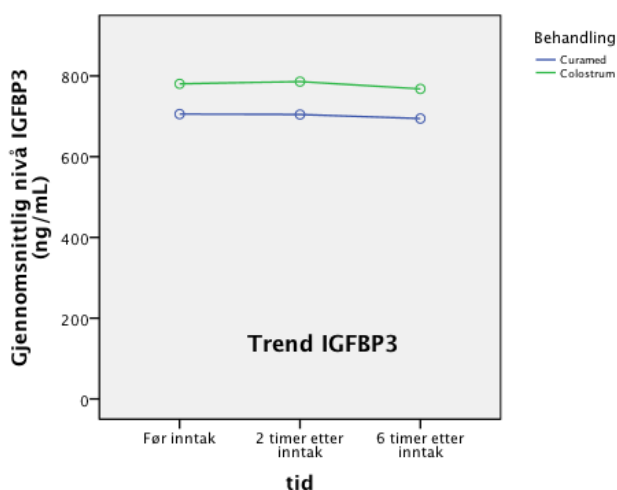


**Figur 7: Immulite 2500.** Viser gjennomsnittlige verdier av IGF-1 for begge gruppene ( $n=14$ ) ved de ulike tidspunktene. Resultatene viser en signifikant nedgang i av IGF-1 etter 6 timer. ( $p=0,013$ )

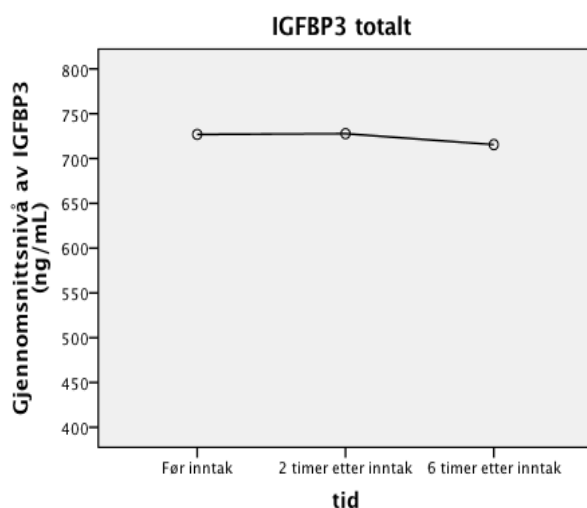
#### 4.3 IGFBP3 (Immulite 2500)

Gjennomsnittlig nivå av IGFBP3 (ng/mL) for CuraMed-gruppen var før inntak, etter 2 og 6 timer 705, 5 (SD 84,0), 704,5 (SD 112,1) og 694,5 (SD 99,6); for Colostrum®-gruppen 780,5 (SD 62,5), 786, 0 (SD 51,6) og 768,0 (SD 40) (Se figur 8); og for hele gruppen 727,4 (SD 83,9), 728,1 (SD 103,9) og 715,9 (SD 91,7) (Se figur 9)

Resultatene viser ingen signifikant forskjell av IGFBP3 ved de ulike målingene ( $p=0.331$ ) for gruppen sett under ett, ei heller ved å se på endringer hos enkeltpersoner ( $p > 0,05$  hos samtlige).



**Figur 8: Immulite 2500.** Forskjell i gjennomsnittsverdier IGFBP3 fra gruppe som fikk hhv Colostrum og CuraMed tabletter. Ingen av gruppene får en økning i IGFBP3, men har totalt en minimal nedgang etter 6 timer.



**Figur 9: Immulite 2500.** Viser gjennomsnittlige verdier IGFBP3 for begge gruppene (n=14) ved de ulike tidspunktene. Resultatene viser ingen signifikant endring av serum IGFBP-3. ( $p=0,33$ )

#### 4.4 Forskjell mellom Colostrumgruppen og CuraMedgruppen

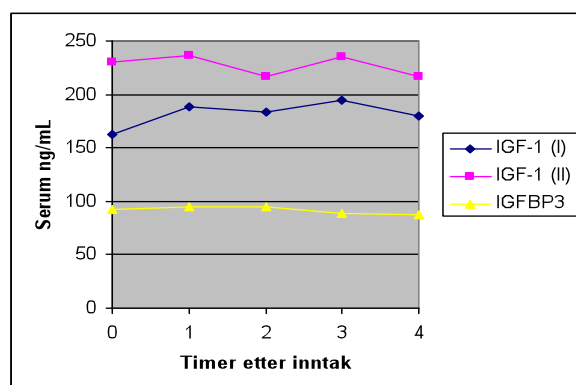
Vi fant ingen forskjell i IGF-1 eller IGFBP3 mellom CuraMed- og Colostrum®-gruppen.

#### 4.5 Test av opptak/absorpsjon

For å få et bilde på optimalt tidspunkt for prøvetaking i forhold til eventuelt toppnivå av IGF-1 i serum inntok en person utenom forsøket tilsvarende dose som Colostrum®-gruppen. Blodprøve ble tatt hver time i fire timer etter inntak. Resultatene viser ingen topp ved de ulike målingene verken 1, 2, 3 eller 4 timer etter inntak ( $p >0,05$ ).

Absorpsjon	Før i	1 time	2 timer	3 timer	4 timer
IGF-1 <sup>3</sup>	163	188	183	195	180
IGF 1 <sup>4</sup>	230	236	216	235	216
IGFBP3	92	95	95	88	87

**Tabell 1.** Tabellen viser de ulike verdiene (ng/mL) av IGF-1 og IGFBP3 målt ved de ulike tidspunktene. (n=1)



**Figur 10:** Serumnivå av IGF-1 og IGFBP3 ved forskjellige tidspunkt etter inntak av colostrum. (I) er verdiene ved manuell metode og (II) er verdiene ved Immulite 2500. Figuren viser svingende IGF-1 verdier som alle ligger innefor referanseområdet, mens IGFBP3 viser en mer stabil kurve.

<sup>3</sup> Manuell metode.

<sup>4</sup> Immulite 2500.

## 5.0 DISKUSJON

### 5.1 IGF-1 og Colostrum

Vekstfaktoren IGF-1 ligger under dopinggruppe S2, "peptidhormoner, vekstfaktorer og relaterte substanser", på dopinglisten (17). Det er påvist strukturell likhet i aminosyresekvensen ved humant IGF-1 og IGF-1 hos kveg/storfe. Dette medfører at produkter basert på råmelk fra disse dyrene inneholder IGF-1 som også har potensiell effekt hos mennesker, og det er her det hypotetiske potensialet for colostrum som dopingmiddel ligger (9). Studier har vist at colostrum gir forbedret prestasjonsevne, men det er stadig diskusjon om virkningsmekanismen. Forslag til mekanismer inkluderer forbedret intramuskulær bufferkapasitet, økt muskelmasse, økning i IgA konsentrasjoner og økning i serum-IGF-1 (9, 11, 27). IGF-1 medierer effekten av veksthormon og spiller en viktig rolle i regulering av metabolismen. Det var ingen statistisk signifikant stigning i nivået av IGF-1 i blodet etter inntak av colostrum i vår studie. Dosene var det dobbelte av døgndosene anbefalt i pakningsvedlegget. Riktignok var det en prøve som viste statistisk signifikant stigning på en av analysemetodene (Immulite), nr 8, men ettersom det bare er tatt prøver en dag og vi vet lite om basalnivået over lengre tid, i tillegg til at endringene ikke var signifikant med den manuelle analysemetoden, er ikke dette nok til å trekke andre slutninger. Verdien på prøvene ligger uansett innenfor et område på gjennomsnitt +/- 2 SD. Det er også verdt å nevne at det var store interindividuelle forskjeller på nivå av IGF-1 i blodet, men som grafene har vist har forholdet individene imellom holdt seg relativt stabilt på målingene før, 2 t- samt 6 timer etter inntak.

Sammenhengen mellom colostrumtilskudd og IGF-1 har blitt studert en rekke ganger, både i forhold til opptak, og dermed nivå i blodet, og i relasjon til fysisk yteevne.

Resultatene har vært delte: mens Buckley, Kuipers og Coombes et al påviste uendrede IGF-1 nivåer etter lengre tids colostruminntak kunne Mero et al i 2003 vise en stigning på 17%. De ulike resultatene er bl.a. blitt forklart med forskjellige analysemetoder og ulik varighet på studien. Mero holdt på i 4 uker, mens de andre hadde opptil dobbel varighet. Mulig forklaring på førstnevntes resultat er en forbigående stigning som over tid balanseres av kroppens egne tilbakekoblingsystem (9-11, 15).

Generelt er de største forskjellene mellom tidligere studier og dette aktuelle prosjektet omfanget, tidsaspektet og ikke minst dosen colostrum som er brukt. Felles for de større og mer langvarige prosjektene er stort fokus på standardisering i form av fastsatt treningsopplegg og kosthold i forkant samt underveis. I vår studie ble det satt krav til

kjønn, alder, fysisk aktivitet, fastende oppmøte og fraværende inntak av kosttilskudd siste døgn. Deltakerne måtte oppgi eventuelle kroniske sykdommer og faste medisiner som kunne påvirke opptaket til den enkelte. Det er ikke blitt tatt prøver for å kontrollere om deltakerne har tatt andre legemidler eller kosttilskudd enn det som er oppgitt på spørreskjemaene.

Vi valgte ikke å bruke placebogruppe da dette var et mindre pilotprosjekt. Derimot delte vi utvalget av 14 deltakere i to, der fire fikk tabletter fra helsekostbutikk med høyere konsentrasjon colostrum enn CuraMed tablettene. Tablettene hadde identisk administrasjonsmåte og størrelse, og deltakerne fikk tilsvarende antall uavhengig av type. Det var ikke avvikende resultater mellom de to testgruppene. I et større prosjekt ville det være helt avgjørende med en placebogruppe for å verifisere normale variasjoner av IGF-1 i løpet av tilsvarende tidsperiode.

Det er mange forhold som påvirker, og regulerer, mengde sirkulerende IGF-1 i blodet. Deriblant nivå av veksthormon, insulin og tyroksin, trening, ernæringsstatus og kroniske sykdommer. Dette medfører en rekke ulike faktorer som må betraktes i tolkningen av resultatene, samt potensielle feilkilder.

Ernæringsstatus er som nevnt en viktig reguleringsfaktor, der energi- og proteinmangel vil gi et naturlig lavere nivå av IGF-1 i blodet. I det aktuelle prosjektet møtte deltakerne fastende på testdagen, og fikk servert felles måltider til gitte tidspunkt. Vi hadde derimot ingen kjennskap til næringsinntak i dagene før forsøket. Svarene fra spørreskjemaene gjorde at diabetes blant deltakerne kunne utelukkes, og vi kan dermed anta at vi verken hadde tilfeller med betydelig hyper- eller hypoglykemi ved prøvetidspunktene.

Tilsvarende er trening en faktor av betydning for IGF-1 nivå, og treningsaktiviteten til deltakerne i tiden før målingene er ikke dokumentert. Det var derimot et krav om jevnlig fysisk aktivitet for deltakelse, og samtlige i utvalget hadde en treningsbakgrunn på minimum ett år. Man kan anta at ulik treningsbakgrunn, samt interindividuelle forskjeller, kan være en mulig forklaring på forskjellig konsentrasjon av IGF-1 i blodet i utgangspunktet, men uavhengig av utgangsnivå viser resultatene samme tendens. En mulig årsak til den signifikante nedgangen etter seks timer kan være at utøverne stilte fastende ved første blodprøve, og en kan tenke seg at inntak av mat i løpet av dagen, som i sin tur påvirker insulinproduksjonen, er en årsak til nedgang i IGF-1 nivå. Alle

nivåene er likevel godt innenfor referanseområdene, og er å anse som naturlige svingninger.

### **5.2 Absorpsjon**

IGF-1 er en vekstfaktor som i likhet med veksthormon er fysiologisk aldersavhengig med tanke på mengde. Toppnivå nåes i puberteten, og derfra faller konsentrasjonen raskt. Våre deltakere var i alder 20-37, et aldersintervall dels valgt på bakgrunn av erfaringer fra tidligere studier og dels på bakgrunn av tilgjengelige deltakere. Resultatene indikerer på ingen måte at de yngste har høyest nivå, vi kan dermed anta at konsentrasjonen er kommet ned på et stabilt nivå, et nivå som ligger omtrent på 40-50 % av pubertalt maksimalnivå.

Vi valgte å bruke såkalte "over disk" preparater som utøvere lett kan få tak i her i Norge. Noen fikk CuraMed halstablett fra matbutikk, og resten fikk Colostrum® fra helsekostbutikk. Sistnevnte hadde ca 4x større dose colostrum per tablett enn CuraMed. Innholdet av råmelk i disse er likevel minimalt i forhold til dose brukt i studiene av Buckley, Coombes og Kuipers der deltakerne fikk 60g colostrum i pulverform per dag (9-11). Selv med dobbel dose av anbefalt døgndose er totalinntaket i det aktuelle prosjektet lite sett i forhold til de andre studiene. Det er bevisst benyttet preparater som er lett tilgjengelig, og dosen er satt for å sikre at anbefalt døgndose i alle fall ikke vil slå ut på en dopingprøve der det testes for IGF-1. Det er viktig å understreke at man i den aktuelle studien var ute etter akutt effekt, og dermed ikke kan utelukke at IGF-1 nivået kan påvirkes etter en lengre inntaksperiode, enten i form av økt opptak eller påvirkning til økt endogen produksjon. Men det er grunn til å tro at så små mengder colostrum man finner i slike preparater vil bli brutt ned i tarmen.

Deltakerne fikk såkalte sugetabletter. Disse skulle ikke svelges hele, men suges/tygges i løpet av 15 minutter. Opptak gjennom slimhinnen i munnen antas å være en relativt rask prosess. Derimot kan man diskutere om to timer etter inntak er for sent tidspunkt å ta første prøve. På den andre siden fikk deltakerne utdelt såpass mange tabletter at tygging ble nødvendig for å komme innen tidsfristen. Vi hadde òg en testperson, utenom selve prosjektet, som inntok tilsvarende dose Colostrum® som deltakerne, men der det ble tatt blodprøve hver time etter inntak. Resultatene fra testpersonens IGF-1 nivå viser ingen tydelig konsentrasjonstopp, noe som verken støtter eller forkaster vårt valg av prøvetidspunkt. Dette kan være nok en indikasjon på at colostrum brytes ned i tarmen.

Ifølge Rang, Dale & Ritter(1999) er 75% av legemidler gitt peroralt tatt opp fra GI-traktus i løpet av de første 1-3 timer etter inntak (28). Flere faktorer spiller inn; bla GI-motilitet, blodforsyning, fysiokjemiske egenskaper, partikkelstørrelse og form. I vårt forsøk ble det gitt sugetabletter som løser seg lett opp til mindre partikler før de når tarmlumen, noe som skulle tilsi raskt opptak uten at vi kan si noe sikkert om dette. Et annet viktig hinder er førstepassasjemetabolisme. Legemidler må i tillegg til å passere tarmmembranen også møte en rekke enzymer som kan inaktivere legemidlet både i tarmveggen og i lever. Biotilgjengelighet, den fraksjonen av et inntatt legemiddel som når systemisk sirkulasjon etter absorpsjon og førstepassasjemetabolisme (28), antas å være liten når råmelk inntas peroralt, men dette er ennå ikke godt nok undersøkt.

Mero et al forklarer studiens økning i IGF-1 nivå enten som resultat av direkte absorpsjon eller som forsterket stimulering av endogen IGF-1 syntese (15). Disse teoriene støttes begge av dyreforsøk; det er observert hos kalver at colostrum tilsatt kosten har gitt økt nivå IGF-1. På den annen side har forsøk på voksne rotter har vist at mesteparten av IGF-1 har blitt brutt ned i gastrointestinaltraktus (15). Våre resultater støtter sistnevnte; at det er grunn til å tro at også hos mennesker blir colostrum og IGF-1 i aktuelle doser brutt ned i tarmsystemet. Ut i fra våre resultater kan det da tyde på at idrettsutøvere kan fortsette å bruke CuraMed og tilsvarende tabletter ved sår hals uten å være bekymret for at dette skal kunne slå ut på en dopingprøve der det testes for IGF-1.

## 6.0 KONKLUSJON

Tilskudd av colostrum, enten i form av CuraMed eller Colostrum® sugetabletter, ga ingen akutt økning av serum-IGF-1 konsentrasjonen hverken 2 eller 6 timer etter inntak. Studien viser heller ingen doseavhengig forskjell mellom inntak av produkter med ulike konsentrasjoner av colostruminnhold. Med stor sannsynlighet kan disse resultatene forklares med lav biotilgjengelighet på grunn av redusert absorpsjon i gastrointestinalkanalen samt førstepassasjemetabolisme i lever.

## 7.0 REFERANSER

1. Kraemer WJ, Nindl BC, Rubin MR. *Growth Hormone: Physiological Effects of Exogenous Administration*. In Bahrke MJ, Yesalis CE. *Performance-Enhancing Substances in Sport and Exercise*. Champaign, Illinois: Human Kinetics; 2002. p.65-78.
2. Barroso O, Schamasch P, Rabin O. *Detection of GH abuse in sport: Past, present and future*. *Growth Horm IGF Res*. 2009 Aug;19(4):369-74.
3. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of Medical Physiology*. Eleventh edition. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2006. p. 922-925.
4. Holt RI, Sonksen PH. *Growth hormone, IGF-I and insulin and their abuse in sport*. *Br J Pharmacol*. 2008 Jun;154(3):542-56.
5. George AJ. *Peptide and glycoprotein hormones and sport*. In Mottram DR, editor. *Drugs in Sport*. New York: Routledge; 2005. p.191-206.
6. Griffin JE, Ojeda SR. *Textbook of Endocrine Physiology*, fifth edition. New York: Oxford University Press; 2004. p.140.
7. Guha N, Dashwood A, Thomas NJ, Skingle AJ, Sonksen PH, Holt RI. *IGF-I abuse in sport*. *Curr Drug Abuse Rev*. 2009 Sep;2(3):263-72.
8. Hansen EH, Havsø S, Schaffalitzkyde Mackadell OB. *Medicinsk Kompendium*, 16. utgave. København: Nyt Nordisk forlag Arnold Busck; 2004 p.2130-2131
9. Coombes JS, Conacher M, Austen SK, Marshall PA. *Dose effects of oral bovine colostrum on physical work capacity in cyclists*. *Med Sci Sports Exerc*. 2002 Jul;34(7):1184-8.
10. Kuipers H, van Breda E, Verlaan G, Smeets R. *Effects of oral bovine colostrum supplementation on serum insulin-like growth factor-I levels*. *Nutrition*. 2002 Jul Aug;18(7-8):566-7.
11. Buckley JD, Brinkworth GD, Abbott MJ. *Effect of bovine colostrum on anaerobic exercise performance and plasma insulin-like growth factor I*. *J Sports Sci*. 2003 Jul;21(7):577-88.
12. Shing CM, Jenkins DG, Stevenson L, Coombes JS. *The influence of bovine colostrum supplementation on exercise performance in highly trained cyclists*. *Br J Sports Med*. 2006 Sep;40(9):797-801.
13. Mero A, Miikkulainen H, Riski J, Pakkanen R, Aalto J, Takala T. *Effects of bovine colostrum supplementation on serum IGF-I, IgG, hormone, and saliva IgA during training*. *J Appl Physiol*. 1997 Oct;83(4):1144-51.
14. Antonio J, Sanders MS, Van Gammeren D. *The effects of bovine colostrum supplementation on body composition and exercise performance in active men and women*. *Nutrition*. 2001 Mar;17(3):243-7.



15. Mero A, Kahkonen J, Nykanen T, Parviainen T, Jokinen I, Takala T, et al. *IGF-I, IgA, and IgG responses to bovine colostrum supplementation during training*. J Appl Physiol. 2002 Aug;93(2):732-9.
16. <http://www.legemiddelhandboka.no/xml/y>  
Foreningen for utgivelse av Norsk legemiddelhåndbok . [01.10.09; 11.09.10].
17. <http://www.antidoping.no/internett/medisinsk-info/dopinglista/>  
Antidoping Norge [01.01.10; 11.09.10].
18. Thevis M, Bredehoft M, Kohler M, Schanzer W. *Mass spectrometry-based analysis of IGF-1 and hGH*. Handb Exp Pharmacol. 2010(195):201-7.
19. <http://www.steroider.net/content/view/41/27/>  
Ståle Wadsworth [11.09.10; 11.09.10].
20. Guha N, Sonksen PH, Holt RI. *IGF-I abuse in sport: current knowledge and future prospects for detection*. Growth Horm IGF Res. 2009 Aug;19(4):408-11.
21. Healy ML, Russell-Jones D. *Growth hormone and sport: abuse, potential benefits, and difficulties in detection*. Br J Sports Med. 1997 Dec;31(4):267-8.
22. Gibney J, Healy ML, Sonksen PH. *The growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in exercise and sport*. Endocr Rev. 2007 Oct;28(6):603-24.
23. Bassett EE, Erotokritou-Mulligan I. *Statistical issues in implementing the marker method*. Growth Horm IGF Res. 2009 Aug;19(4):361-5.
24. Holt RI. *Detecting growth hormone abuse in athletes*. Drug Test Anal. 2009 Sep;1(9-10):426-33.
25. R&D systems, Europe Ltd. Quantikine®, Human IGF-1  
Abingdon, UK ; 2009 [Metodebok]
26. The Quality System of Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.  
Immulite 2500, IGF-1; 2003 [Metodebok]
27. Shing CM, Hunter DC, Stevenson LM. *Bovine colostrum supplementation and exercise performance: potential mechanisms*. Sports Med. 2009;39(12):1033-54.
28. Rang HP, Dale MM, Ritter JM. *Pharmacology*. Fourth edition. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1999. p.69-70

## 8.0 VEDLEGG

### 8.1 Vedlegg 1

Forespørsel om deltakelse i forskningsprosjektet

## ”Colostrums påvirkning av IGF-1 i blodet”

### Bakgrunn

Dette er et spørsmål til deg om å delta i en forskningsstudie for å se om råmelk/colostrum påvirker nivået av IGF-1 i blodet. IGF-1 er en vekstfaktor som er et uttrykk for nivå av veksthormon i kroppen. Studien skal gjøres som et pilotprosjekt i samarbeid med Antidoping Norge, for å se om inntak av råmelk, her i form av cura-med-tabletter, kan påvirke blodnivået og dermed slå ut på en dopinganalyse.

### Hva innebærer studien?

Prosjektet er et studentprosjekt, og vi er to medisinstudenter fra Universitetet i Tromsø som skal gjennomføre forsøket. Du er en av et utvalg av fysisk aktive gutter i alderen 18 til 30 år. Vi vil ta blodprøve i forkant samt 2 og 6 t etter inntak av en viss mengde cura-med-tabletter. Vi vil ikke koble noen av prøvene med personalopplysninger, vi er kun ute etter eventuelle utslag på IGF-1 i blodet før og etter inntak.

Vi har en veileder på hormonlaboratoriet på Aker sykehus, Yvette Dehnes, og en veileder på Universitetet i Tromsø, Johan Svartberg. Dersom det er noe du lurer på kan du kontakte disse på mail: yvdehne@h-lab.no og/eller johan.svartberg@unn.no

### Mulige fordeler og ulemper

Du vil ikke ha noen spesielle fordeler av studien, men erfaringer fra studien vil kunne brukes ift tolkning av dopinganalyser i fremtiden. Dosen cura-med dere får skal normalt ikke gi noen bivirkninger, men det er nevnt i pakningsvedlegget av det kan ha noe lakserende effekt.

### Hva skjer med prøvene og informasjonen om deg?

Prøvene tatt av deg og informasjonen som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med studien. Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og direkte gjenkjennende opplysninger. En kode knytter deg til dine opplysninger og prøver gjennom en navneliste. Det er kun autorisert personell knyttet til prosjektet som har adgang til navnelisten og som kan finne tilbake til deg. Det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene av studien når disse publiseres. Hvis du sier ja til å delta i studien, har du rett til å få innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg. Du har videre rett til å få korrigeret eventuelle feil i de opplysningene vi har registrert. Dersom du trekker deg fra studien, kan du kreve å få slettet innsamlede opplysninger. Opplysningene vil bli senest slettet september 2010, da vår oppgave skal innleveres.

### Frivillig deltakelse

Det er frivillig å delta i studien. Dersom du ikke ønsker å delta, trenger du ikke å oppgi noen grunn.

Dersom du ønsker å delta, undertegner du samtykkeerklæringen på neste side. Om du nå sier ja til å delta, kan du senere trekke tilbake ditt samtykke. Dersom du senere ønsker å trekke deg, kan du kontakte Anne Øverøyen på telefon 984 906 54.

Studien er meldt til Personvernombudet for forskning, Norsk samfunnsvitenskapelig datatjeneste A/S.

## Samtykke for deltakelse i studien

Jeg er villig til å delta i studien

-----

-----

(signert av prosjektdeltaker, dato)

## Bekreftelse på at informasjon er gitt deltakeren i studien

Jeg bekrefter å ha gitt informasjon om studien

-----

-----

(signert, rolle i studien, dato)

## 8.2 Vedlegg 2

### SPØRRESKJEMA FOR DELTAKERE I COLOSTRUMPROSJEKT

Nr: (føres på av prosjektansvarlig)

Kjønn: Gutt Jente

Alder:

Vekt: Høyde: (BMI, beregnes: )

Idrett:

Varighet treningsbakgrunn (år):

Treningsnivå: 1-3 økter per uke  
3-5 økter per uke  
> 5 økter per uke

Kroniske sykdommer: Ja Nei

- Vekstforstyrrelser
- Diabetes
- Stoffskiftesykdom
- Malabsorbsjonssykdom  
(Mb. Crohn, ulcerøs colitt, cøliaki etc)
- Annen, i så fall hvilken:.....

Faste medikamenter:

Kosttilskudd: