

Ole Jølle Aase

Intramyocellulære lipider hos yngre, hos friske eldre og hos skrøpelige eldre, og effekten av en 12-ukers styrketreningsperiode på intramyocellulære lipider hos yngre og friske eldre

Masteroppgave i idrettsvitenskap
Seksjon for fysisk prestasjonsevne
Norges idrettshøgskole, 2017

Sammendrag

Innledning: Ved økende alder taper man muskelmasse og muskelstyrke. Tapet av muskelstyrke er større enn tapet av muskelmassen skulle tilsi. Det betyr at også kvaliteten på muskelmassen er viktig, ikke bare kvantiteten. En faktor som ser ut til å påvirke muskelkvaliteten i negativ retning, er økt fettinfiltrasjon. Det er flere måter fett kan infiltrere muskel på og en av dem er i form intramyocellulære lipider (IMCL). Dette er fettdråper som er lokalisert inne i muskelcellene. Det er sett at eldre har større mengde IMCL sammenlignet med yngre, og dette er rapportert å ha en negativ effekt på muskelstyrke og fysisk funksjon. Hensikten med denne studien var å undersøke mengden av IMCL hos yngre, hos friske eldre og hos skrøpelige eldre. I tillegg undersøkte vi om en periode på tolv uker med tung styrketrening påvirket mengde IMCL i gruppene yngre og friske eldre.

Metode: 10 yngre (20–30 år), 11 friske eldre (71–81 år) og 12 skrøpelige eldre (67–94 år) menn og kvinner gjennomførte en muskelbiopsi fra *m. vastus lateralis*. Den yngre og eldre gruppen gjennomførte en periode med tung styrketrening på tolv uker, med en ny muskelbiopsi etter perioden. Prøvene ble analysert for IMCL ved bruk av oil red O merking av muskelsnitt.

Resultater: Mengden av IMCL var signifikant høyere hos yngre, sammenlignet med friske eldre og skrøpelige eldre, i både fibertype I og II. Det var større mengde IMCL i fibertype I sammenlignet med fibertype II hos yngre og friske eldre, men ingen forskjeller hos skrøpelige eldre. Det ble ikke observert kjønnsforskjeller i mengde IMCL. Det ble ikke observert en signifikant sammenheng mellom IMCL og muskelkvalitet (maksimal voluntær kontraksjonskraft/tverrsnittsareal) for fibertype I ($r=-0,32$; $p=0,3$) eller II ($r=0,39$; $p=0,2$) hos skrøpelige eldre. Treningsperioden endret ikke mengden av IMCL hos verken yngre eller friske eldre.

Diskusjon: Tidligere er det sett at eldre har større mengde IMCL sammenlignet med yngre. Det er derimot sett at utholdenhetstrening fører til økt mengde IMCL. Det tyder på at det er flere mekanismer enn alder som påvirker mengde IMCL.

Konklusjon: I motsetning til vår opprinnelige hypotese fant vi større mengde IMCL i gruppen yngre sammenlignet med både friske eldre og skrøpelig eldre. I denne studien kunne ikke mengde IMCL forklare redusert muskelkvalitet.

Forord

Det er brukt resultater fra to større prosjekter til å skrive denne masteroppgaven. Det ene var «TINE-studien», gjennomført på Norges idrettshøgskole i 2014/2015. Det andre var «Styrketrening av sykehjemsbeboere», gjennomført høsten 2016.

Dette har vært en lang prosess med både opp- og nedturer. Det er flere som fortjener en takk for at denne oppgaven nå er ferdig

Takk til Truls for grundige tilbakemeldinger på utkast og ellers kyndig veiledning. Takk til Sigve for muligheten til å ta del i hans prosjekt, og for hjelpen med både små og store utfordringer underveis. Takk til Kristoffer for hjelp med merkeprotokollene, mikroskopet og ferdigstillingen av resultater, samt gode tilbakemeldinger på oppgaven. Takk til Ingrid og Hege for opplæring på laben.

Takk til fysioterapeutene Cecilie og Anneli for å gjøre turene til Romsås så hyggelige.

Takk til Daniel, Martin og Stian for god humor og godt humør gjennom hele året, og for at vi fikk gjennomført treningsintervensjonen og all testingen tilslutt. Takk til Øyvind og resten av «langrennsgutta» for alltid å ha tid til en «femminutter». Takk til Herman for å ta seg bryet med å lese gjennom oppgaven min.

Takk til min personlige redaktør, Ole Kristian, for å ta seg bryet med å rette opp i norsken min.

Takk til mamma og pappa for god støtte gjennom perioden som masterstudent.

Takk til Maren for at du alltid støtter meg, og for at du alltid vil meg det beste, selv om jeg ikke vil se en time på God morgen Norge sammen med deg før jeg drar på skolen.

Innhold

Sammendrag.....	3
Forord.....	5
Innhold	7
1. Innledning	9
2. Teori	11
2.1 Sarkopeni.....	11
2.1.1 Muskelmasse	11
2.1.2 Muskelstyrke	12
2.1.3 Fysisk prestasjon.....	13
2.1.4 Mekanismene bak tap av muskelmasse og fysisk funksjonsevne.....	13
2.2 Muskelkvalitet.....	14
2.2.1 Kroppsfett	14
2.2.2 Intermuskulært fettvev	15
2.2.3 Intramuskulært fett.....	17
2.2.4 Intramyocellulære lipider.....	18
2.3 Effekt av trening	19
2.4 Oppsummering.....	21
3. Metode.....	23
3.1 Studiedesign.....	23
3.1.1 Utvalg	23
3.1.2 Rekruttering og inklusjon	23
3.1.3 Inndeling av grupper.....	25
3.2 Testing.....	26
3.2.1 Dual-energy X-ray absorptiometry	26
3.2.2 Maksimal voluntær kontraksjon	26
3.2.3 Computertomografi.....	27
3.3 Akuttdag	28
3.4 Treningsintervensjon.....	28
3.5 Muskelbiopsier	29
3.5.1 Kutting av muskelbiopsi	29
3.6 Immunhistokjemi.....	29
3.6.1 Mikroskopet.....	30
3.6.2 Kvantifisering av fibertype	30

3.6.3	Kvantifisering av intramyocellulære lipider	30
3.6.4	Kvantifisering av IMCL til tilhørende fibertype.....	31
3.7	Statistikk	32
4.	Resultater	35
4.1	Baseline verdier	35
4.2	Treningseffekt	37
4.3	Sammenhenger	38
5.	Diskusjon	41
5.1	IMCL relatert til alder	41
5.2	IMCL og fibertype	43
5.3	Kjønnforskjeller	45
5.4	Treningseffekt	46
5.5	Muskelkvalitet	48
6.	Konklusjon	51
	Referanser	53
	Tabelloversikt	71
	Figuroversikt	73
	Forkortelser	75
	Vedleggsoversikt	77
	Vedlegg 1	79
	Vedlegg 2	89
	Vedlegg 3	91
	Vedlegg 4	93
	Vedlegg 5	95
	Vedlegg 6	97

1. Innledning

Aldring er assosiert med hemmet muskelfunksjon, som gir hele muskelen en redusert evne til å produsere kraft. Kombinert med muskelatrofi fører disse endringene til redusert muskelstyrke og muskelkvalitet, definert som spesifikk styrke (kraft per tverrsnittsareal) (Ding et al., 2007; Hunter, McCarthy, & Bamman, 2004). Det er flere mekanismer som fører til redusert muskelkvalitet ved aldring. En konsekvens er redusert fysisk funksjonsnivå. For å forebygge en reduksjon i fysisk funksjonsnivå er det derfor viktig å identifisere disse mekanismene. Faktorer som påvirker muskelkvaliteten, er muskelsammensetningen (bl.a. fettinfiltrasjon og andel ikke-kontraktile vev), muskelarkitektur, aktiveringsgrad og kontraktile egenskaper på fibernivå. I denne studien skal det undersøkes om fettinfiltrasjon i form av intramyocellulære lipider (IMCL) er en av bidragsyterne til redusert muskelkvalitet og muskelstyrke ved aldring.

Både absolutt og relativ mengde kroppsfett øker ved aldring (Ding et al., 2007). Stor mengde kroppsfett er assosiert med lav muskelstyrke og dårlig muskelkvalitet hos eldre (Choi et al., 2016; Koster et al., 2011), samt å bidra til redusert fysisk funksjon ved aldring (Koster et al., 2011). Det er videre sett at aldring kan resultere i omfordeling av kroppsfettet (Beaufreire & Morio, 2000). Det bidrar bl.a. til at eldre har større mengde intermuskulært fett (fett mellom muskelgrupper) og intramuskulært fett (fett mellom muskelfibrene). Det er også sett større mengde IMCL, som er fett inne i muskelcellene (Crane, Devries, Safdar, Hamadeh, & Tarnopolsky, 2010). Økt fettinfiltrasjon i muskulaturen forbindes med lavere muskelstyrke og eksplosivitet (Goodpaster, Carlson, et al., 2001; Visser et al., 2002). Økt fettinfiltrasjon er også en sterk predikator for reduksjon i fysisk funksjon hos eldre (Beavers et al., 2013).

Det er sett økt mengde IMCL hos eldre (Crane et al., 2010), og hos overvektige eldre og yngre (Choi et al., 2016; Goodpaster, He, Watkins, & Kelley, 2001). Imidlertid kan godt utholdenhetstrening yngre ha økt mengde IMCL sammenlignet med utrente yngre. Dermed sees økt mengde IMCL på som en adaptasjon til utholdenhetstrening (Goodpaster, He, et al., 2001). Disse blandede resultatene fører til spekulasjoner om

hvorvidt økt mengde IMCL er negativt eller positivt for muskelfunksjonen. IMCL er et fettlager som brukes til å produsere energi i cellen. Det er når denne prosessen ikke går som optimalt man kan tenke seg at IMCL gir en negativ innvirkning på cellens funksjon. Hos godt utholdenhetstrente er det sett flere mitokondrier, bedre transport av fettstoffer inn i muskelceller, økt fettoksidasjon og mer optimal lokalisering av IMCL i forhold til mitokondrier (Tarnopolsky et al., 2007). Det er også sett at den økte mengden IMCL kommer av flere fettdråper, ikke større, noe som er gunstig med tanke på overflateareal til proteiner involvert i omsetning av IMCL. For eldre er det imidlertid sett større fettdråper, færre fettdråper i nær kontakt med mitokondrier og redusert fettoksidasjon (Crane et al., 2010). Dette er faktorer som kan føre til at IMCL hos eldre gir en negativ effekt på muskelcellen. Fettinfiltrasjon er derfor en av faktorene som kan føre til en redusert muskelkvalitet hos eldre. Styrketrening har vist å være effektivt for å bedre muskelkvaliteten hos eldre. Derfor kan det tenkes at som for utholdenhetstrening, kan også styrketrening påvirke IMCL på en positiv måte.

Problemstillingene for denne studien er:

Vil eldre ha større mengde intramyocellulære lipider enn yngre, og vil funksjonsstatus være av betydning for mengde intramyocellulære lipider hos eldre?

Vil en periode på tolv uker med tung styrketrening påvirke mengde intramyocellulære lipider hos utrente yngre og eldre menn og kvinner?

Hypoteser:

Utrente eldre vil ha større mengde intramyocellulære lipider sammenlignet med utrente yngre.

Skrøpelige eldre vil ha større mengde intramyocellulære lipider sammenlignet med utrente yngre og eldre.

Tung styrketrening vil redusere mengde intramyocellulære lipider hos utrente eldre, men ikke hos utrente yngre.

2. Teori

2.1 Sarkopeni

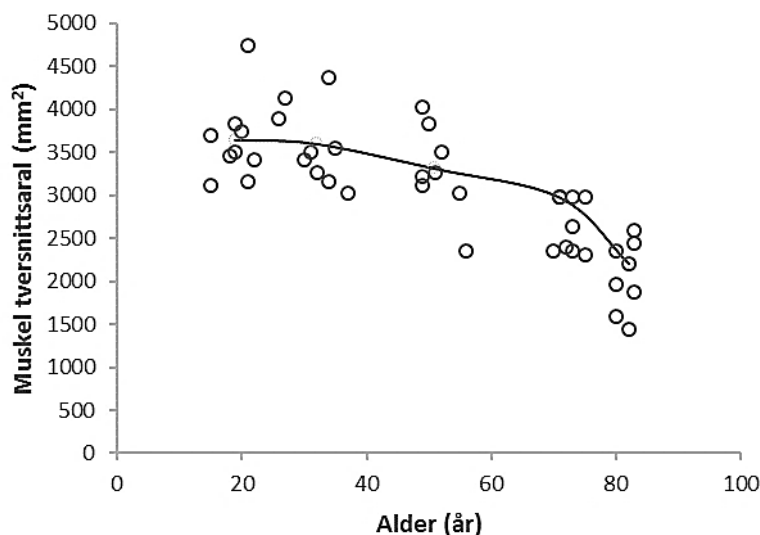
Sarkopeni er en tilstand som rammer mange eldre. Det er sett en prevalens på 5–10 % hos personer over 65 år, og 11–50 % hos personer over 80 år (Morley, Anker, & von Haehling, 2014). Det kjennetegnes av en progressiv nedgang i muskelmasse og muskelstyrke samt et lavt fysisk funksjonsnivå (Cruz-Jentoft et al., 2010). «European Working Group on Sarcopenia in Older People» har definert sarkopeni som tilstedeværelse av liten muskelmasse sammen med enten lav muskelstyrke og/eller lavt funksjonsnivå (Cruz-Jentoft et al., 2010).

Samme gruppe diskuterer skrøpeligheit («*frailty*»). Det overlapper med sarkopeni, og det har en prevalens på ca. halvparten (Morley, 2008). Skrøpeligheit kjennetegnes av mangler i flere organsystemer, som gir redusert psykisk, kognitiv og sosial funksjon, samt fysiske begrensninger. Skrøpeligheit medfører høy risiko for fall, uførhet og dødelighet (Cruz-Jentoft et al., 2010). Det er definert av fem kriterier, hvor minst tre av disse må være tilstede. Det er utilsiktet vekttap (4,5 kilo det siste året), selvrapportert utmattelse, svakhet (målt som grepsstyrke), lav ganghastighet (målt som tid på 4,6 meter) og lavt fysisk aktivitetsnivå (målt som kalorier per uke) (Fried et al., 2001).

2.1.1 Muskelmasse

Tap av muskelmasse skjer gradvis ved økende alder (figur 2-1). Når tapet av muskelmasse starter er det sprikende resultater på. Det er blitt rapportert muskeltap allerede ved en alder på 27 år (Silva et al., 2010), mens andre rapporterer at muskeltapet starter ved 45-årsalderen (Janssen, Heymsfield, Wang, & Ross, 2000). Uavhengig av sprikende funn ser det ut til at tapet av muskelmasse er lite (5–10 %) fra alderen 20 til 50 år. I perioden fra 50 til 80 år ser tapet ut til å eskalere, og en reduksjon på 30–40 % i tillegg til allerede tapt muskelmasse er rapportert (Hunter et al., 2004). Menn ser ut til å ha et større prosentvis tap av muskelmasse sammenlignet med kvinner. Årsaken kan være at menn har større muskelmasse i utgangspunktet (Janssen et al., 2000). Tapet for begge kjønn er størst i underkroppen. Dette kan henge sammen med størst muskelmasse i underkroppen, og en nedgang i fysisk aktivitet hos eldre. Redusert fysisk aktivitet vil

føre til mindre bruk av muskulatur i beina sammenlignet med overkroppen. Det er fordi bruken av beina er nødvendig i daglige aktiviteter, som gange, eller å gå i trapper (Janssen et al., 2000).



Figur 2-1 Sammenhengen mellom alder og tverrsnittsareal for *m. vastus lateralis*. Heltrukket linje er basert på gjennomsnittstall fra fem aldersgrupper: 20, 30, 50, 70, 80. Figuren er basert på resultater fra Lexell, Taylor, and Sjostrom (1988).

2.1.2 Muskelstyrke

Tap av muskelmasse sees på som en av de bestemmende faktorene for tap av muskelstyrke ved økende alder. Tapet av muskelstyrke er sett å være 2–5 ganger så stort sammenlignet med muskelmasse (Delmonico et al., 2009; Goodpaster et al., 2006). Vedlikehold, eller til og med en økning av muskelmasse motvirker nødvendigvis ikke tapet av muskelstyrke (Goodpaster et al., 2006). Det tyder på at det også er andre faktorer enn muskelmasse som er viktig for muskelstyrke. Blant annet kvaliteten på muskelmassen har vist stor betydning for muskelstyrken (Delmonico et al., 2009). Det ser ut til at tap av styrke er tydeligst i beina (Landers, Hunter, Wetzstein, Bamman, & Weinsier, 2001), noe som kan tenkes å henge sammen med at det også er der tapet av muskelmasse er størst.

Evnen til å utvikle kraft hurtig (eksplosiv styrke) hos eldre reduseres ved økende alder. Den ser ut til å reduseres i større grad enn muskelstyrke, og reduksjonen starter tidligere

sammenlignet med nedgangen i muskelstyrke (Foldvari et al., 2000; Kostka, 2005). Eksplosiv styrke er vist å korrelere med prestasjon på ulike funksjonelle tester, og redusert eksplosiv styrke kan føre til at eldre får vanskeligheter med å klare daglige gjøremål. Det vil også hemme dem i avgjørende situasjoner som blant annet å unngå fall (Caserotti, Aagaard, Simonsen, & Puggaard, 2001). Eldre kvinner kan være spesielt utsatt for fall. Det er på grunn av at de kan være halvparten så eksplosiv i beina sammenlignet med eldre menn (Basseby et al., 1992).

2.1.3 Fysisk prestasjon

Å måle fysisk prestasjon er viktig for å kunne forutse og forebygge blant annet sarkopeni og skrøpeligheit. Resultat av *Short Physical Performance Battery* (SPPB) kan predikere uførhet og dødelighet hos eldre mennesker (Guralnik et al., 1994). SPPB måler mobilitet ved hjelp av ganghastighet, balanse og evnen til å reise seg fra en stol. Ganghastighet alene er en god prediktor for uførhet for eldre mennesker (Guralnik et al., 2000).

Muskelstyrke og eksplosivitet i beina er viktig for å kunne gjennomføre fysiske utfordringer, som blant annet testene i SPPB. Derfor kan muskelstyrke og eksplosivitet i beina være gode prediktorer for hvor godt eldre mennesker presterer på funksjonelle tester (Bean et al., 2002). Eksplosiv styrke er sett å være den mest bestemende faktoren for fysisk prestasjon blant eldre (Puthoff & Nielsen, 2007), og kan ha opptil tre ganger så stor innvirkning på begrensinger for mobilitet hos eldre sammenlignet med maksimal muskelstyrke (Bean et al., 2003).

2.1.4 Mekanismene bak tap av muskelmasse og fysisk funksjonsevne

Fysisk inaktivitet blir ofte brukt som forklaring på at eldre mister muskelmasse og fysisk funksjonsevne. Det er derfor interessant at uavhengig av aktivitetsnivå vil man tape muskelmasse ved økende alder (Goodpaster et al., 2008; Kyle et al., 2001a). Trening vil derimot forebygge et hurtig tap. Det er sett at en aktiv 85 år gammel vektløfter var like sterk som en 65 år gammel. Det vil gi en 20 års fordel i favør en vektløfter (Pearson et al., 2002). Samme effekt er også sett hos moderat aktive eldre kvinner (Caserotti, Aagaard, Buttrup Larsen, & Puggaard, 2008). Bak aldersrelatert tap av muskelmasse og fysisk funksjonsevne må det være noen spesifikke mekanismer som

ikke bare handler om at man er i mindre aktivitet. Det kan tenkes at det både handler om muskulære faktorer, som strukturelle og funksjonelle endringer, oksidativt stress, fettinfiltrasjon og mitokondriell dysfunksjon, og ikke-muskulære faktorer som tap av motoneuroner og hormonelle endringer (Angulo, El Assar, & Rodriguez-Manas, 2016).

2.2 Muskelkvalitet

Tap av muskelmasse har tradisjonelt sett fått skylden for en nedgang i muskelstyrke og fysisk funksjonsnivå hos eldre. Funn tyder imidlertid på at kvaliteten på muskelvevet også har betydelig innvirkning på muskelstyrke og fysisk funksjon hos eldre (Kennis et al., 2014; Reinders et al., 2015). Muskelkvalitet blir ofte målt som kraft per tverrsnittsareal, og definert som spesifikk styrke (Hunter et al., 2004). Faktorer som påvirker muskelkvaliteten er muskelsammensetningen (bl.a. fettinfiltrasjon og andel ikke-kontraktile vev), muskelarkitektur, aktiveringsgrad og kontraktile egenskaper på fibernivå.

2.2.1 Kroppsfett

Ved økende alder taper man muskelmasse, mens fettmasse øker (Kyle et al., 2001a). Økt fettmasse er assosiert med økt fettinfiltrasjon i muskulaturen hos eldre (Forsberg, Nilsson, Werneman, Bergstrom, & Hultman, 1991). Stor andel fett inne i muskelen er vist å redusere muskelstyrke (Choi et al., 2016) og føre til tap av funksjonalitet hos eldre mennesker (Beavers et al., 2013). For å måle muskulaturens sammensetning av fett og muskelvev er computertomografi (CT) en godt etablert metode (Goodpaster, Kelley, Thaete, He, & Ross, 2000).

Det er ofte rapportert at eldre kan ha like stort totalt tverrsnitt av låret som yngre, men forskjellen er at hos eldre er det en betydelig større andel fett. Overend, Cunningham, Paterson, and Lefcoe (1992) så at eldre (71 år) hadde 59–127 % større andel fett i lårmuskulaturen sammenlignet med yngre (24 år). En økning på 18 % i løpet av et år er blitt sett i en gruppe eldre (77 år) med moderate funksjonelle begrensinger (SPPB på 7).

Fysisk aktivitet har vist seg å forhindre både tap av styrke og den store økningen i fettinfiltrasjon i muskulaturen (Goodpaster et al., 2008).

2.2.2 Intermuskulært fettvev

I litteraturen er det brukt flere forskjellige navn og definisjoner på intermuskulært fettvev (IMFV), som blant annet myostatis og inter- og intramuskulært fett. Grunnen til det er at muskulært fettvev er en bred definisjon av fett som infiltrerer muskulaturen. Det refererer til lagring av lipider i adipocytter under muskelfascien. Det er både fett som er lokalisert mellom muskelgrupper (intermuskulært fett) og mellom muskelfibrene (intramuskulært fett). I tillegg finnes det et lager av fett inne i selve muskelcellene, kjent som IMCL (Addison, Marcus, Lastayo, & Ryan, 2014). IMCL lagres som intramuskulære triglycerider i fettdråper, og brukes til blant annet energi under fysisk arbeid (Coen & Goodpaster, 2012).

Studier tyder på at mengde IMFV øker ved aldring (Delmonico et al., 2009; Gallagher et al., 2005; Marcus, Addison, Kidde, Dibble, & Lastayo, 2010; Song et al., 2004). Det er sett en økning på alt fra 9 gram/år (Gallagher et al., 2005) til opptil 70 gram/år (Song et al., 2004). Studier som har sett på aldersrelatert økning i IMFV, er små og korte studier som ikke har tatt hensyn til aktivitetsnivå og sykdomshistorie. Til tross for disse svakhetene tyder studiene på at en aldersrelatert økning i IMFV er uunngåelig (Gallagher et al., 2005; Marcus et al., 2010; Song et al., 2004). Det er sett at en økning i kroppsvekt fører til en enda større økning i IMFV over en femårsperiode. Vektnedgang og stabil vekt over samme periode viser også en økning i IMFV, bare ikke i like stor grad (Delmonico et al., 2009).

Intermuskulært fettvev kan være med på å forklare aldersrelatert reduksjon i muskelstyrke, muskelkvalitet og fysisk funksjonsevne (Goodpaster, Carlson, et al., 2001; Marcus et al., 2012; Tuttle, Sinacore, & Mueller, 2012)(figur 2-2). Dette er sett i lår- og leggmuskulatur, som er muskulatur som er spesielt viktig for fysisk funksjonsnivå (Goodpaster, Carlson, et al., 2001; Tuttle et al., 2012). Økt IMFV er også sett hos unge med et lavt aktivitetsnivå (Manini et al., 2007).

	Timed up and go (s)	Stair up (s)	Stair down (s)	Lower extremity power (W)	Knee extension strength (N)
Subject 07	8.4	6.6	7.0	88.2	194.8
Subject 44	6.5	4.9	4.4	139.5	248.3
Difference	25%	29%	45%	45%	24%



Subject 07
Lean: 99.5 cm²
IMAT: 18.8 cm²



Subject 44
Lean: 100.7 cm²
IMAT: 9.8 cm²

Figur 2-2. Resultater fra fysiske og funksjonelle tester for to kvinner i samme alder, lik kroppsmasseindeks og lik mengde fettfrimasse, men forskjellig innhold av intermuskulært fett. Hentet med Addison et al. (2014).

Det er sett at høye nivåer av IMFV kan hemme aktiveringen av muskulaturen hos eldre (Yoshida, Marcus, & Lastayo, 2012). I denne studien ble IMFV målt ved magnetresonanstomografi (MR), og normalisert til kroppsmasseindeks (KMI). Det ble sammenlignet med aktiveringsgrad av kneekstensorene. De fant en negativ sammenheng mellom IMFV og aktiveringsgrad. Intermuskulært fettvev kan også hindre muskulære adaptasjoner etter en styrketreningsperiode (Marcus, Addison, & LaStayo, 2013). I en studie hvor de så på endring i muskelkvalitet i tre grupper etter tolv uker med kombinert styrke-, utholdenhets- og balansetrening, fant de kun signifikant endring i gruppen med lavest mengde IMFV. Ikke i gruppene med middels og stor mengde IMFV (Marcus et al., 2013).

Forholdet mellom IMFV og muskelfunksjon er viktig. Enda viktigere er kanskje forholdet mellom IMFV og fysisk funksjonsevne. Det ser ut til at det er en sterk sammenheng mellom mengde IMFV og fysisk funksjonsevne hos eldre (Marcus et al.,

2012; Tuttle et al., 2012; Visser et al., 2005). Høyt innhold av IMFV er assosiert med en nedgang i gangdistanse på en seksminutterstest (Marcus et al., 2012; Tuttle et al., 2012), lav ganghastighet (Visser et al., 2002), vanskeligheter med å reise seg fra en stol (Visser et al., 2002) og dårligere resultat på en modifisert fysisk prestasjonstest (Hilton, Tuttle, Bohnert, Mueller, & Sinacore, 2008; Tuttle et al., 2012). Den modifiserte fysiske prestasjonstesten inneholder ni øvelser som tester evnen til å utføre daglige aktiviteter, og et dårlig resultat er assosiert med uførhet for eldre (M. Brown et al., 2000).

2.2.3 Intramuskulært fett

Intramuskulære fettlagre (IMAT) inkluderer IMCL og ekstracellulære lipider (EMCL). IMCL er fettdråper som finnes inne i muskelcellene, mens EMCL er lag av fett mellom muskelfibrene. Både IMCL og EMCL har metabolske funksjoner for muskulaturen. IMCL tilfører energi hurtig under fysisk aktivitet, mens EMCL omgjøres saktere til energi og fungerer mer som et lager. Det er sett at eldre mennesker har høyere innhold av IMCL enn yngre (Nakagawa et al., 2007). Det er nødvendigvis ikke flere fettdråper enn hos yngre, men hver enkelt fettdråpe ser ut til å være større (Crane et al., 2010).

Det er flere måter å undersøke og måle de forskjellige typene IMAT på. To av metodene er oil red O (ORO) farging og morfometrisk analyse ved hjelp av elektronmikroskop. Disse metodene krever muskelvev fra en biopsi (Schrauwen-Hinderling et al., 2005). ORO er et fettløselig fargestoff som farger fett i blant annet muskelceller, og er en hyppig benyttet metode for å undersøke IMCL (Mehlem, Hagberg, Muhl, Eriksson, & Falkevall, 2013). Ved bruk av elektronmikroskop kan man kvantifisere individuelle fettdråper inne i muskelceller. Fordelen med elektronmikroskop er at man kan måle størrelse på fettdråpene. Man kan også se hvor de ligger inne i cellen, og spesielt interessant er plassering i forhold til mitokondriene (Hoppeler, 1986). En metode som ikke krever muskelvev, er proton magnetisk resonans spektroskopi (H-MRS). Denne metoden er mye brukt fordi det er en ikke-invasiv måte å måle mengde IMAT på, i tillegg til at den kan skille mellom IMCL og EMCL. Den gjør det også mulig å ta repeterte målinger av et stort område med muskel. Andre ikke-invasive metoder er CT og MR. Problemet med CT og MR er at man ikke kan skille mellom IMCL og EMCL (Schrauwen-Hinderling et al., 2005).

2.2.4 Intramyocellulære lipider

Majoriteten av IMCL er lagret i fettdråper lokalisert inne i muskelcellene. Det er runde strukturer som varierer i størrelse. De har en kjerne som i hovedsak består av triglyserider, noen også av kolesterol. Kjernen er omgitt av et fosfolipidmonolag (Hsieh et al., 2012). Fettdråpene er dekket av en rekke proteiner som endrer fettdråpenes sammensetning ved å regulere fettsyreoksidasjon. Blant disse proteinene har Perilipin (PLIN)-familien vist seg å være viktig for fettmetabolismen (Billecke et al., 2015). Hvor og hvordan fettdråpene dannes, er usikkert. En teori er at de dannes i endoplasmatisk retikulum (Thiam, Farese, & Walther, 2013), men det er ikke mye kunnskap om hvilke mekanismer og regulerende faktorer som er involvert. En ting som er godt kjent, er at de er et viktig lager av fett for hurtig tilgang til energi. Før ble fettdråpene sett på som et mer passivt lager av fett. I nyere tid er det blitt sett på som en aktiv organelle som deltar i flere viktigere funksjoner inne i cellen (Fujimoto & Parton, 2011), som biogenese av membraner og syntese av steroidhormoner, samt signalering (Farese & Walther, 2009). I normale friske skjelettmuskler er det sett en diameter på mellom 0,3µm og 1,5µm for fettdråpene (Fujimoto & Parton, 2011). Det er en tendens til flere og større fettdråper i fibertype I sammenlignet med fibertype II (Gueugneau et al., 2015; He, Goodpaster, & Kelley, 2004).

Hos eldre mennesker (65–75 år) er det sett større mengde IMCL sammenlignet med yngre (20–30 år) (Crane et al., 2010; Cree et al., 2004; Nakagawa et al., 2007). Den økte mengden IMCL kan komme av økt kroppsfett (Nakagawa et al., 2007), som vil føre til større fettdråper (Crane et al., 2010). Det at vi ser økt mengde IMCL hos betyr ikke nødvendigvis at økt mengde IMCL er negativt. I en studie av Goodpaster, He, et al. (2001) så de blant annet at godt utholdenhetstrente personer hadde større andel IMCL sammenlignet med en gruppe utrente og en gruppe overvektige (Goodpaster, He, et al., 2001). Dette henger sammen med at utholdenhetstrening har vist å øke innholdet IMCL (Tarnopolsky et al., 2007). Forskjellen mellom yngre og eldre kan ligge i at eldre har færre IMCL i direkte kontakt med mitokondrier, i tillegg til dårligere transport og oksidering av fett (Crane et al., 2010). For yngre kan økt IMCL være en fordel med tanke på å maksimere overflatearealet for lipolyse (Tarnopolsky et al., 2007). Fra et metabolsk ståsted vil det være gunstig med flere små fettdråper, sammenlignet med

samme volum dekket av større dråper. Dette for å gi en større overflate til proteiner tilknyttet IMCL (Tarnopolsky et al., 2007). Analyser på enkeltfibernivå har vist at stor andel IMCL fører til reduksjon i muskelkraft og eksplosivitet, samt en tregere kontraksjon av myofibrillene (Choi et al., 2016).

Mye tyder på at kvinner har større andel IMCL sammenlignet med menn (Forsberg et al., 1991; Roepstorff et al., 2002; Steffensen, Roepstorff, Madsen, & Kiens, 2002). Dette kommer i hovedsak av flere fettdråper, og ikke av at fettdråpene blir større (Tarnopolsky et al., 2007). For eldre er det derimot sett at eldre menn har større fettdråper, sammenlignet med både yngre og eldre kvinner (Crane et al., 2010). Det spekuleres på om større mengde IMCL hos kvinner kan komme av påvirkninger fra kjønns hormoner. Dette er ikke vist hos mennesker, men hos rotter er det sett at kvinnelig kjønns hormon, østrogen, kan påvirke tilgjengelighet og fordeling av fett til muskulaturen (Ellis, Lanzajacoby, Gow, & Kendrick, 1994). Den positive sammenhengen mellom mengde kroppsfett og mengde IMCL observert hos eldre (Nakagawa et al., 2007), kan tenkes oppstår fordi kvinner generelt har større andel kroppsfett.

2.3 Effekt av trening

Flere studier har vist at skjelettmuskulatur hos eldre responderer godt på styrketrening med bl.a. en markant økning i muskelmasse og muskelstyrke (A. B. Brown, McCartney, & Sale, 1990; Peterson, Rhea, Sen, & Gordon, 2010; Peterson, Sen, & Gordon, 2011), samt eksplosiv styrke (Earles, Judge, & Gunnarsson, 2001; Hakkinen, Kraemer, Newton, & Alen, 2001; Newton et al., 2002). Hos skrøpelige eldre er det vist at tung styrketrening kan øke muskelstyrke og muskelmasse, gi bedre mobilitet og føre til økt fysisk aktivitet (Fiatarone et al., 1994). Økt styrke kommer nødvendigvis ikke fra økt muskelmasse. I en studie av Fiatarone et al. (1994) så de at de som var svakest, men ikke hadde et betydelig tap av muskelmasse, var dem som hadde størst effekt av treningen. Mønsteret var at de hadde stor økning i styrke, men en beskjeden økning i muskelmasse. Misforholdet mellom økning i muskelstyrke og muskelmasse kan potensielt forklares av ulike faktorer, blant annet økt nevralt aktivering av allerede eksisterende skjelettmuskelceller (Fiatarone et al., 1994).

For å redusere mengde IMFV er vektreduksjon, trening eller en kombinasjon av disse mye undersøkt. Mye tyder på at dette er effektive metoder for å redusere mengde IMFV (Avila, Gutierrez, Sheehy, Lofgren, & Delmonico, 2010; Durheim, Slentz, Bateman, Mabe, & Kraus, 2008; Murphy et al., 2012; Prior et al., 2007). Vektreduksjon alene vil kunne føre til reduksjon i IMFV. Trening med tilstrekkelig intensitet og varighet kan gi opptil to ganger så stor reduksjon i IMFV (Murphy et al., 2012). Hvis det er slik at vektreduksjon er nødvendig for å redusere IMFV, kan det imidlertid skape problemer for eldre. For skrøpelige eldre med allerede lav kroppsmasse kan en reduksjon i vekt også føre til tap av muskelmasse. Problemet med de fleste av disse studiene er at de er gjort på yngre og overvektige (Christiansen et al., 2009; Durheim et al., 2008; Goodpaster, Kelley, Wing, Meier, & Thaete, 1999), noe som gjør det vanskelig å generalisere til skrøpelige eldre. Det er noen få studier som tyder på at økt fysisk aktivitet vil stabilisere (Goodpaster et al., 2008), eller til og med føre til reduksjon (Santanasto et al., 2011; Taaffe et al., 2009) av IMFV hos eldre.

Majoriteten av litteraturen på IMCL og trening omhandler effekten av utholdenhetstrening. Det rapporteres større mengde IMCL hos godt trente utholdenhetsutøvere sammenlignet med kontroller (Goodpaster, He, et al., 2001; van Loon et al., 2004). Det er også tydelig at utholdenhetstrening fører til økt mengde IMCL hos både yngre (Goodpaster, He, et al., 2001) og eldre (Pruchnic et al., 2004). Større mengde IMCL er gunstig med tanke på at IMCL er en energikilde under langvarig aktivitet, og kan derfor sees på som en adaptasjon til utholdenhetstrening (Goodpaster, He, et al., 2001). En av grunnene til økt mengde kan være større andel fibertype I, som påvirkes av utholdenhetstrening, og er sett å inneholde størst mengde IMCL av de ulike fibertypene (van Loon et al., 2004). Det er ikke mye litteratur når det kommer til effekt av styrketrening på IMCL. En studie fant ingen effekt av en periode med styrketrening på IMCL hos eldre (Ngo, Denis, Saafi, Feasson, & Verney, 2012). Hos yngre er det derimot sett økt mengde IMCL etter en periode med styrketrening (Shepherd et al., 2014). Muskelkvalitet til eldre påvirkes imidlertid positivt av styrketrening (Hunter et al., 2004; Tracy et al., 1999). Vi vet at fettinfiltrasjon er en av faktorene som kan påvirke muskelkvaliteten. På bakgrunn av mangelfull litteratur rundt styrketrening og

IMCL er det foreløpig vanskelig å konkludere med om styrketrening eventuelt kan bidra til å redusere IMCL hos eldre.

2.4 Oppsummering

Det er godt dokumentert at det er en aldersrelatert reduksjon av muskelmasse og muskelstyrke, og at dette fører med seg negative konsekvenser for fysisk funksjon. At eldre har lavere muskelkvalitet, er også veletablert. Flere faktorer påvirker muskelkvaliteten og flere av disse er kjent og undersøkt. Det er allikevel usikkert i hvor stor grad forskjellige faktorer påvirker muskelkvalitet, og hvilke tiltak man kan iverksette for å bedre muskelkvaliteten. Økt fettinfiltrasjon til muskulaturen er en av faktorene som får skylden for redusert muskelkvalitet ved aldring. Fettinfiltrasjon skjer på flere forskjellige måter, hvor IMCL er én. Stor mengde IMCL blir sett på som negativt for eldre, mens hos yngre utholdenhetsutøvere er det positivt. Økt mengde IMCL er derfor sett på som en positiv respons av utholdenhets trening. Det kan tyde på at økt mengde IMCL ikke er negativt, men at andre faktorer assosiert med IMCL fører til negative konsekvenser assosiert med økte mengder IMCL hos eldre.

3. Metode

I denne masteroppgaven benyttes resultater fra to større prosjekt: Ett som ble gjennomført på Norges idrettshøgskole (NIH) høsten 2016 på skrøpelige eldre (STAS-studien), og ett gjennomført på NIH i 2014/2015 på friske yngre og eldre (TINE-studien). Begge prosjektene er godkjent av regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, Sør-Øst Norge. Det ble gjennomført mange tester i disse to prosjektene, hvor ikke alle er relevante for denne masteroppgaven. Derfor vil denne metoddelen kun inneholde det som er relevant for denne masteroppgaven.

3.1 Studiedesign

Prosjektet «Styrketrening av sykehjemsbeboere» (STAS) kan karakteriseres som en randomisert kontrollert studie. Formålet var å undersøke effekten av en periode på ti uker med tung styrketrening på eldre med lavt funksjonsnivå.

Prosjektet «TINE-studien» (TINE) var en dobbeltblindet, randomisert kontrollert studie. Formålet var å over en tolvukers periode undersøke effekten av styrketrening samt to forskjellige proteintilskudd på utrente mennesker.

3.1.1 Utvalg

I STAS ble menn og kvinner som var 65 år eller eldre, benyttet som forsøkspersoner. Gruppen besto av personer i alderen 67 til 96 år med lavt funksjonsnivå.

I TINE ble det rekruttert forsøkspersoner til to forskjellige grupper. En gruppe yngre (18–45 år) og en gruppe eldre (>70 år). Det ble rekruttert både menn og kvinner som ikke drev med styrketrening.

3.1.2 Rekrutering og inklusjon

Til STAS ble sykehjem i Oslo-området kontaktet for rekrutering av forsøkspersoner. Alle forsøkspersoner bodde på sykehjem, eller benyttet seg av et dagsenter tilhørende et sykehjem. Aktuelle forsøkspersoner fikk utdelt informasjonsskriv om prosjektet (vedlegg 1), og representanter fra prosjektet reiste rundt og informerte om prosjektet til

både forsøkspersoner og personell på aktuelle sykehjem/dagsenter. I noen tilfeller ble også pårørende kontaktet og informert om prosjektet.

For å kartlegge om personer var aktuelle for studien ble *Fried Frailty Criteria (FFC)* brukt. FFC består av fem forskjellige kriterier (vektnedgang, styrke, utmattelse, ganghastighet, aktivitetsnivå). En eldre person (>65) regnes som skrøpelig hvis tre eller flere av disse kriteriene oppfylles. Personer karakterisert som skrøpelige, ble inkludert, i tillegg til personer som oppfylte minst to av kriteriene: styrke, ganghastighet og fysisk aktivitet. Vedlegg 2 gir en oversikt over testene og verdiene som brukes til å vurdere kriteriene. I tillegg gjennomførte forsøkspersonene et testbatteri, *Short Physical Performance Battery (SPPB)* (vedlegg 3). Personer som hadde lav poengsum (0–6) på SPPB, ble inkludert uavhengig av FFC resultatet. Resultat fra *Mini mental status examination (MMSE)* ble brukt for å kartlegge om forsøkspersonene hadde god nok kognitiv funksjon til å bli inkludert. Alle forsøkspersonene fylte også ut et helseskjema (vedlegg 4). I tabell 3-1 er kriterier for inklusjon og eksklusjon for STAS presentert.

Tabell 3-1. Inklusjon- og eksklusjonskriterier for STAS

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
Menn og kvinner ≥ 65 år.	Skade eller sykdom som umuliggjør trening.
SPPB ≤ 6 .	
FFC ≥ 2 .	
MMSE på ≥ 22 .	

Til TINE-studien ble det rekruttert 30 forsøkspersoner til en eldre gruppe, og 41 til en yngre gruppe. I tabell 3-2 er kriterier for inklusjon og eksklusjon for TINE presentert.

Tabell 3-2. Inklusjon- og eksklusjonskriterier for TINE

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
<u>Yngre</u>	
18-45 år.	Laktoseintoleranse eller melkeallergi.
Ingen regelmessig styrketrening siste seks måneder.	Allergi mot lokalbedøvelse.
Frisk – ingen muskel- og skjelettskader.	Inntak av kosttilskudd (kan delta hvis slutta senest en uke før testing).
<u>Eldre</u>	
≥ 70 år.	Ikke bruke spesifiserte medisiner.
Tilgjengelig for trening 3 ganger i uka på NIH.	Laktoseintoleranse eller melkeallergi.
Ikke jevnlig drive med styrketrening.	Allergi mot lokalbedøvelse.
	Bruk av kortikosteroider siste seks måneder.
	Benmineraltetthet under 0,84 g/cm ² i L2–L4.
	Hjerteinfarkt siste seks måneder.

3.1.3 Inndeling av grupper

I STAS ble 18 stykker inkludert i studien. Femten av disse gjennomførte muskelbiopsi før intervensjonsperioden. Etter perioden var det kun åtte stykker som gjennomførte muskelbiopsi. To av disse kunne ikke betegnes som skrøpelige og ble derfor ekskludert fra analysen. For én ble det ikke nok muskelvev til å kunne gjennomføre analyser. På bakgrunn av det store frafallet blir det kun brukt baseline-prøver fra STAS videre i masteroppgaven.

Fra TINE ble det trukket ut et tilfeldig utvalg forsøkspersoner som videre ble brukt i denne masteroppgaven. En gruppe yngre (n=11) og en gruppe eldre (n=10). Her ble det tatt muskelbiopsi både før og etter intervensjonsperioden.

Videre i oppgaven vil forsøkspersonene være delt i tre grupper: yngre, eldre og skrøpelige eldre. Baseline karakteristikk for disse tre gruppene er beskrevet i tabell 3-3.

Tabell 3-3 Oversikt over baselineverdier for alle gruppene inkludert i studien

	Yngre (n=11)	Eldre (n=10)	Skrøpelige eldre (n=12)
Mann/Kvinne (antall)	5/6	7/3	6/6
Alder (år)	25 ±3 ^{ab}	74 ±3 ^c	86 ±9
Vekt (kg)	74,6 ±11,9 ^b	74,8 ±12 ^c	63,0 ±11,7
Høyde (m)	1,76 ±0,09 ^b	1,70 ±0,11	1,64 ±0,08
KMI (kg/m ²)	23,9 ±2,7	24,8 ±2,8	23,4 ±3,6
LBM (kg)	51,7 ±9,3 ^b	50,7 ±9,6	41,6 ±6,5
FFMB (kg)	18,3 ±3,7 ^b	17,6 ±4	14,0 ±2,3
KF (%)	28,2 ±6,2	29,6 ±6,8	31,9 ±6,3
FMB (%)	28,9 ±7,8	27,2 ±8,0	28,8 ±5,3
MVK.H (N)	461 ±117 ^{ab}	331 ±86 ^c	203 ±57

KMI= Kroppsmasseindeks, LBM = Lean body mass, FFMB = Fettfri masse i bein, KF = Kroppsfett, FMB, Fettmasse i bein, MVK.H = Maksimal voluntær kontraksjonskraft for høyre bein. ^a signifikant forskjell mellom yngre og eldre, ^b signifikant mellom yngre og skrøpelige eldre, ^c signifikant mellom eldre og skrøpelige eldre (p=≤0,05).

3.2 Testing

Alle tester (bortsett fra CT) ble gjennomført på NIH.

3.2.1 Dual-energy X-ray absorptiometry

Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) gjennomføres vanligvis fastende, men for gruppen skrøpelige eldre ble det for vanskelig å gjennomføre. Matinntak vil primært påvirke resultatene for mageregionen, og ikke resultatene for beina. Flere av de skrøpelige eldre hadde problemer med å ligge flatt på benken. Individuelle tilpasninger ble derfor gjort. Det ble gjort tre forskjellige analyser. Først ble ryggvirvlene T12–L4 og lårhalsen på begge bein analysert for å kunne måle beinmineraltetthet. Tilslutt ble en fullkroppsanalyse for å måle hele kroppssammensetningen gjennomført. For forsøkspersonene i TINE-studien ble DXA-analysen gjort fastende.

3.2.2 Maksimal voluntær kontraksjon

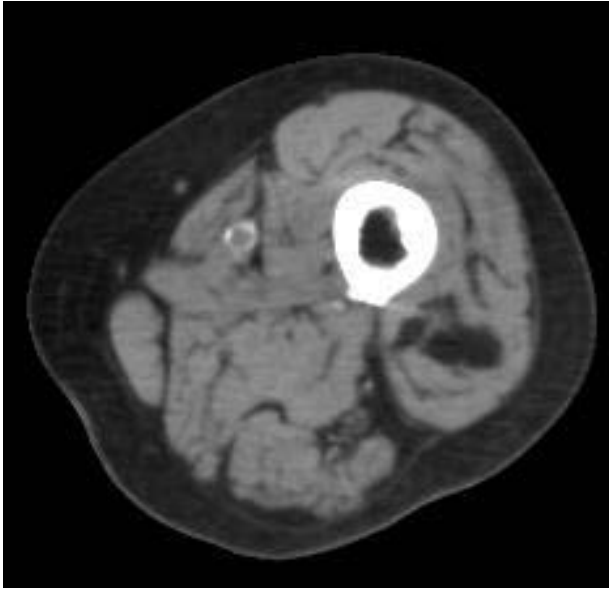
Maksimal isometrisk kneekstensjon med 90° i kneleddet ble utført i et Gym2000 (Gym Equipment, Vikersund, Norway) kneekstensjonsapparat, koblet til en kraftcelle (HBM U2AC2, Darmstadt, Tyskland). Kraftcellen var koblet til en arbeidsstasjon med

analyseprogrammet Labview 8.2 (National instr., Austin, Texas). Testen besto av tre maksimale forsøk på hvert bein. Før de maksimale forsøkene gjennomførte forsøkspersonene to isometriske oppvarmingskontraksjoner med begge bein på 50 og 80 % av MVK. Oppvarmingskontraksjonene ble holdt i 5–10 sekunder. Under MVK-testen fikk forsøkspersonene beskjed om å yte maksimalt i ca. 3 sekunder. Hvert bein fikk ett minutt pause mellom hvert forsøk. Alle forsøkspersoner gjennomførte denne testen. Resultatene fra denne testen ble brukt for å sammenligne MVK på tvers av gruppene.

Maksimal isometrisk kneekstensjon med 70° knevinkel ble utført i Humac (Humac NORM, Computer Sports Medicine Incorporated (CSMi), Stoughton, MA, USA). Testen besto av tre maksimale forsøk på venstre bein, med to minutters pause mellom hvert forsøk. Før de maksimale forsøkene gjennomførte forsøkspersonene en oppvarmingsprotokoll med isokinetiske og isometriske kontraksjoner, med gradvis økning i kraft. Kun skrøpelige eldre gjennomførte denne testen.

3.2.3 Computertomografi

Det ble gjennomført CT for gruppen med skrøpelige eldre. CT ble gjennomført hos Aleris Røntgen på Oslo City. Det ble tatt bilder av tre ulike snitt av både venstre og høyre lår. Bildene ble tatt $1/3$, $1/2$ og $2/3$ av avstanden mellom leddspalte i kneet og *trochanter major*. Dette for å få snitt fra midtre del av låret, samt ett semi-proksimalt og ett semi-distalt snitt. I denne masteroppgaven benyttes kun resultater fra *m. quadriceps femoris* fra snittet midt på låret (figur 3-1). CT-analysen gir informasjon om ulike variabler, blant annet tverrsnitt, mengde intramuskulært fettvev (IMFV), i tillegg til andel av muskulaturen med normal og lav tetthet.



Figur 3-1. CT-bilde av midtre del av låret til en av de skrøpelige eldre.

3.3 Akuttdag

Alle forsøkspersonene inkludert i denne masteroppgaven har gjennomført en akuttdag, med biopsi før og etter en treningsøkt. For forsøkspersonene fra gruppene yngre og eldre benyttes første muskelbiopsi tatt under akuttdag 1 (før intervensjon) og første muskelbiopsi tatt under akuttdag 2 (etter intervensjon). For de skrøpelige eldre benyttes bare hvilebiopsien tatt under akuttdag 1 (før intervensjon). For gruppen skrøpelige eldre ble det også tatt en fastende blodprøve, som ble analysert for triglyserider, high-density lipoprotein og low-density lipoprotein av Fürst (Fürst Medisinsk Laboratorium, Oslo, Norge). Før biopsiene ble det gitt en standardisert frokost, og biopsi ble tatt en time etter denne.

3.4 Treningsintervensjon

De yngre og eldre gruppene fra TINE-studien gjennomførte et helkroppsprogram tre ganger i uken. Det var kontinuerlig progresjon i programmet. To av øktene var med treningssett til utmattelse, mens den siste var på submaksimal belastning. Øvelsene de gjorde var knebøy, beinpress, kneekstensjon, sittende roing, benkpress, nedtrekk, magefleksjon i apparat og rygghev. De eldre gjennomførte hacksquat og brystpress istedenfor knebøy og benkpress. De hadde også tettere oppfølging under treningsøktene sammenlignet med den yngre gruppen.

3.5 Muskelbiopsier

Prosedyren for muskelbiopsi var lik for alle forsøkspersonene. Det ble tatt en muskelbiopsi fra *m. vastus lateralis*. Før inngrepet ble biopsiområdet desinfisert med klorhexidin, og lokalbedøvelse (Xylocain adrenalin 10mg/ml+5mikrog/ml, AstraZeneca, København, Danmark) ble satt i huden og muskelfascien. Det ble brukt skalpell for å lage et snitt på 15–20 mm i huden/muskelfascien. En steril 6mm Bergström-nål (Pelomi, Albertslund, Danmark), koblet til en sprøyte for å skape vakuum, ble ført inn gjennom det åpne snittet og inn til muskelen i distal eller proksimal retning. For hver biopsi ble det tatt ut omtrent 150–200 mg muskelvev, som krevde at man var inne med nåla 1–3 ganger. Muskelvevet ble rensset for eventuelt blod, fett og bindevev før de ble fordelt til ulike formål. Muskelvev til immunhistokjemiske analyser ble lagt i en form med O.C.T compound (CellPath, Newtown, Wales, UK). Formen ble så direkte nedfrost i isopentan nedkjølt i flytende nitrogen (tilnærmet -120 C°). Formen ble deretter lagret i en ultrafryser ved -80 C° for senere analyser.

3.5.1 Kutting av muskelbiopsi

Muskelbiopsiene ble tatt ut av ultrafryseren og lagt i en kryostat (CM 1860UV, Leica Microsystems, Nussloch, Tyskland) som holdt en temperatur på ca. -21°C. Her lå biten i ca. 20 minutter før den ble videre behandlet. Muskelbiten ble så festet på en kutt skrue med O.C.T compound, før den ble montert til kuttehodet. Muskelbiten ble trimmet for å få en fin kutteflate, hvorpå kvaliteten på snittene ble undersøkt under et lysmikroskop. Avhengig av formålet ble snittene kuttet med en tykkelse på enten 8 eller 10 µm og plassert på et objektivglass (Superfrost Plus, Thermo Scientific, MA, USA). Deretter ble de pakket og direkte lagt tilbake i ultrafryser. Snittene brukt til ORO merking, ble pakket i kryostaten for å unngå at de tinte.

3.6 Immunhistokjemi

Ulike primære og sekundære antistoffer, samt en fargeløsning, ble brukt for å undersøke muskelsnittene til forsøkspersonene. I tabell 3-4 er antistoffene presentert. Det ble brukt to merkeprotokoller (vedlegg 5 og 6). En for fibertype og cellemembranen, for å kunne undersøke fibertypesammensetning, og en for å undersøke intramyocellulære lipider med ORO.

Tabell 3-4. Oversikt over primære og sekundære antistoff

	Antistoff	Binder seg til	Opprinnelse	Produsent	Fortynning	Produktnummer
Primærantistoff	Anti-MHC1	Type 1 muskelfibre	Mus	DSHB	1:1000	BA-D5
Primærantistoff	Anti Dystrofin	Dystrofin	Kanin	Abcam	1:1000	Ab15277
Sekundærantistoff	Alexa Fluor 488	Anti-mus	Geit	Molecular probes	1:200	A11001
Sekundærantistoff	Alexa Fluor 594	Anti-kanin	Geit	Molecular probes	1:200	A11012

MHC1 = myosin heavy chain 1/myosin tungkjede 1

3.6.1 Mikroskopet

For å undersøke snittene farget med ORO ble det brukt et lysmikroskop (Olympus BX61, Japan). Dette mikroskopet var tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO, XII20PC, Canada) som ble brukt for å se på merkingen av de forskjellige antistoffene. Mikroskopet var tilkoblet et digitalt kamera (Olympus DP72, Japan) som ble brukt til å ta bilder av snittene.

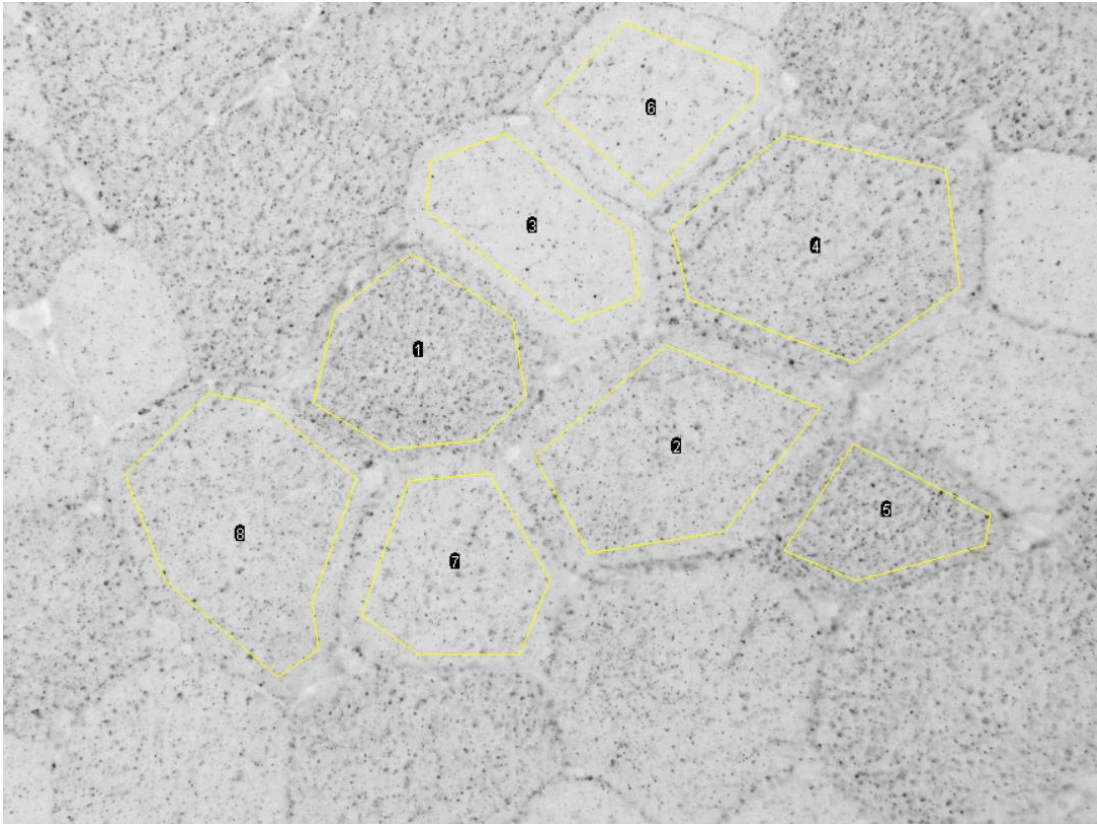
3.6.2 Kvantifisering av fibertype

Det ble brukt snitt kuttet med 8 µm tykkelse til analyse av fibertype. De ble merket med antistoff mot myosin tungkjede (MHC) I og dystrofin. Det ble tatt et bilde gjennom et 4x objektiv hvor så mye som mulig av snittet ble inkludert.

3.6.3 Kvantifisering av intramyocellulære lipider

Det ble brukt ferske snitt kuttet med 10 µm tykkelse til analyse av IMCL. Snittene ble dyppet i en fargeløsning (ORO) som setter en rødfarge på IMCL som kan sees under et lysmikroskop. Det ble tatt et oversiktsbilde av snittene gjennom et 4x objektiv, og 3–5 bilder gjennom et 20x objektiv til IMCL analyser. Alle bildene på tvers av forsøkspersonene, ble tatt med samme innstillinger på mikroskopet og kamera. Dette for å kunne gjøre sammenligninger mellom snitt/forsøkspersoner. Bildene ble åpnet i analyseprogrammet Fiji (Schindelin et al., 2012) for analyse av fargeintensitet. Først ble bildene konvertert til 8-bits svart-hvitt bilder. Så ble ROI (region of interest) merket i

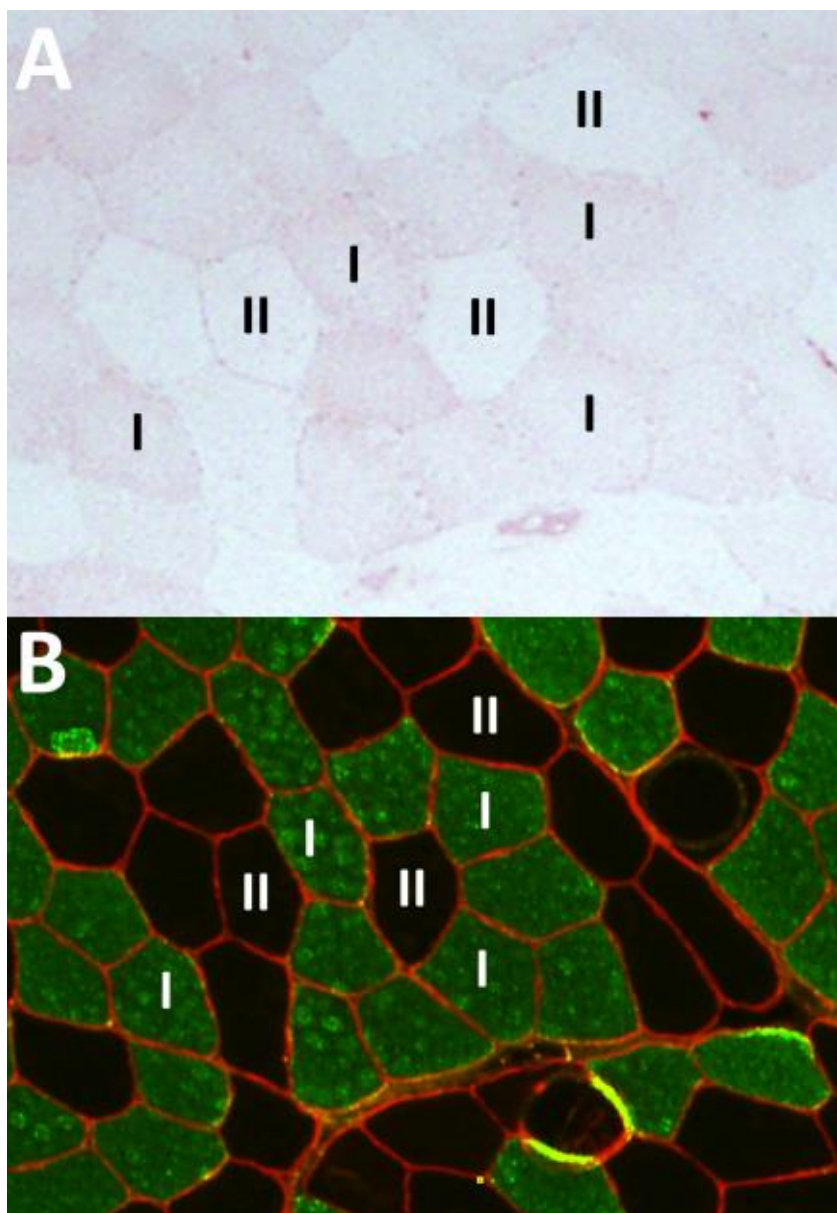
hver fiber for å kunne kvantifisere intensiteten av gråtoner i hver muskelfiber (figur 3-2). Dette ble gjort for ca. 100 tilfeldige muskelfibre per forsøksperson.



Figur 3-2. Fibrene er merket med nummer og hvordan ROI for hver enkelt fiber ble definert.

3.6.4 Kvantifisering av IMCL til tilhørende fibertype

For å finne ut hvilke fibertype de forskjellige muskelfibrene analysert for IMCL var, ble hver analyserte fiber sammenlignet med fibertypemerkingen gjort på et nabosnitt (se figur 3-3).



Figur 3-3. Bilder brukt for å sammenligne IMCL med fibertype. Det ble brukt et bilde av ORO merking (A) og et bilde fra et nabosnitt hvor fibertype og cellemembran er lagt over hverandre (B). I representerer fibertype I og II representere fibertype II.

3.7 Statistikk

I studien ble det undersøkt forskjeller mellom grupper, og endringer innad i grupper før og etter intervensjonsperioden. Det ble også sett på sammenhenger mellom forskjellige variabler. Normaliteten ble undersøkt med D'Agostino-Pearson-test. Alle data, bortsett fra fibertype II for gruppen skrøpelige eldre, var normalfordelte. For å finne signifikante forskjeller mellom flere enn to grupper ble det brukt enveis-ANOVA med Tukey's

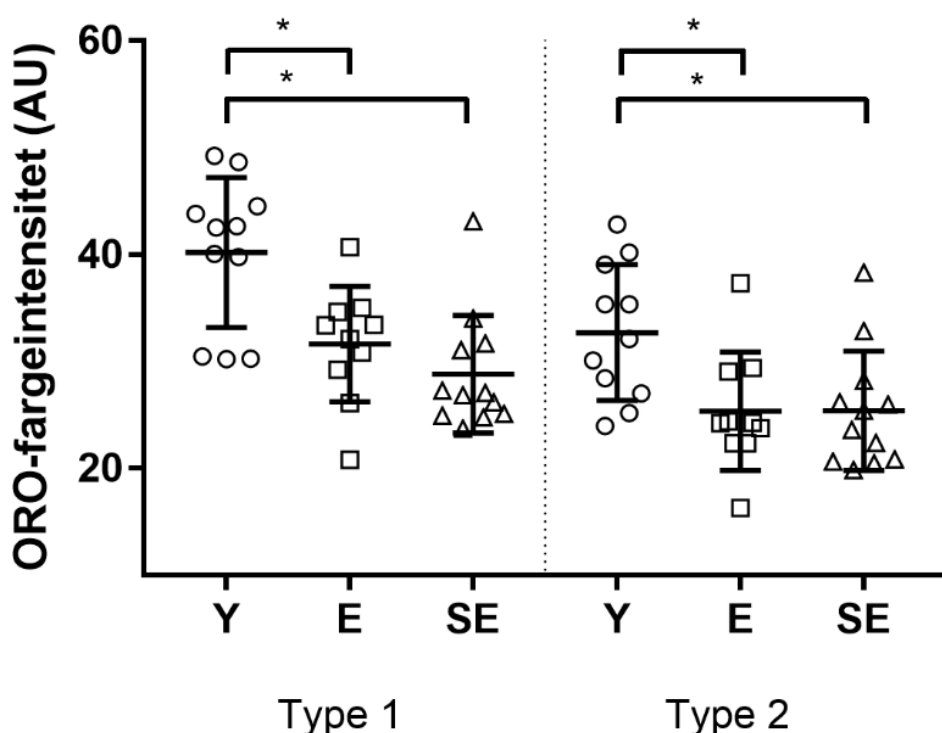
posthoc-test. For å finne signifikante forskjeller mellom to grupper (forskjell mellom kvinner og menn) ble det brukt uparet t-test, mens det ble brukt parett t-test for å finne forskjeller innad i en gruppe (endringer før og etter intervensjonsperiode). At fibertype II for skrøpelige eldre ikke var normalfordelt, ble sett bort ifra og enveis-ANOVA ble brukt. Dette fordi det var en verdi som kunne regnes som uteligger (to standardavvik fra gruppegjennomsnittet), og fordi enveis-ANOVA er en robust test uavhengig av normalfordeling. I oppgaven defineres signifikante forskjeller som $p \leq 0,05$, og resultater presenteres som gjennomsnitt \pm standardavvik (SD). For å se på sammenhenger ble Pearson korrelasjon brukt. Jeg definerer korrelasjoner som veldig svak ($r=0,00-0,19$), svak ($r=0,20-0,39$), moderat ($r=0,40-0,59$), sterk ($r=0,60-0,79$) og veldig sterk ($r=0,80-1,0$). Alle statistiske analyser ble gjort i Prism 7 (GraphPad Software Inc, San Diego, CA, USA).

4. Resultater

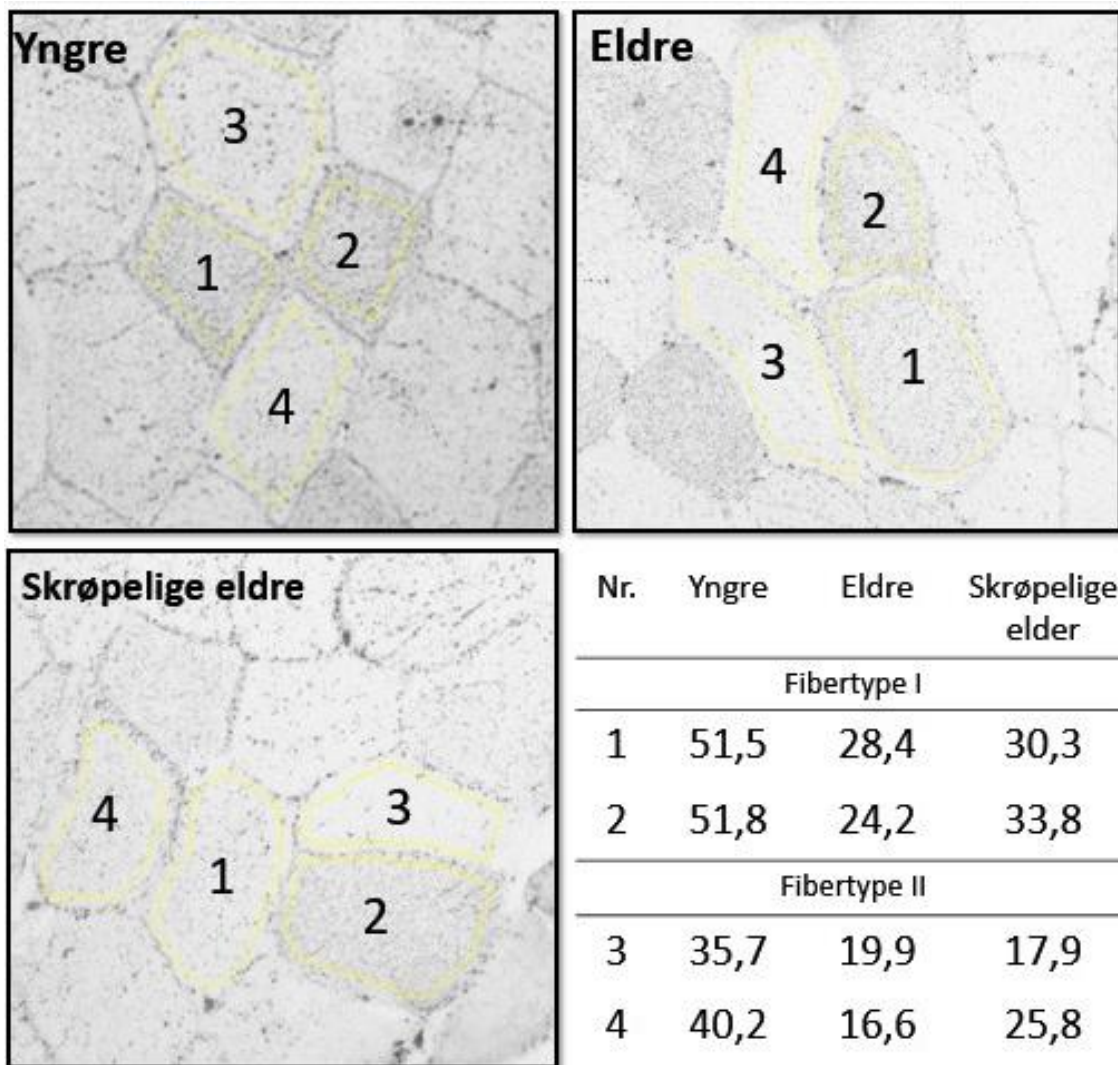
4.1 Baseline verdier

Det var signifikant forskjell mellom alle grupper i alder. Skrøpelige eldre hadde signifikant lavere vekt en yngre og eldre. For høyde, fettfri masse og fettfri masse fordelt i bein var det signifikant forskjell mellom yngre og skrøpelige eldre. Det var ingen forskjeller mellom gruppene i kroppsmasseindeks, i andel kroppsfett og andel fett i bein (tabell 3-3, i metodekapittelet).

For både yngre og eldre var det signifikant høyere ORO-fargeintensitet, som indikerer mengde IMCL, i fibertype I, sammenlignet med fibertype II. Det var imidlertid ingen forskjell i ORO-fargeintensitet mellom fibertype I og II for skrøpelig eldre. For ORO-fargeintensitet var det signifikante forskjeller mellom yngre og eldre, og yngre og skrøpelige eldre i både fibertype I og II. Det var størst innhold av IMCL hos yngre, og minst hos skrøpelige eldre. Mellom eldre og skrøpelige eldre var det ingen signifikante forskjeller (figur 4-1; figur 4-2).

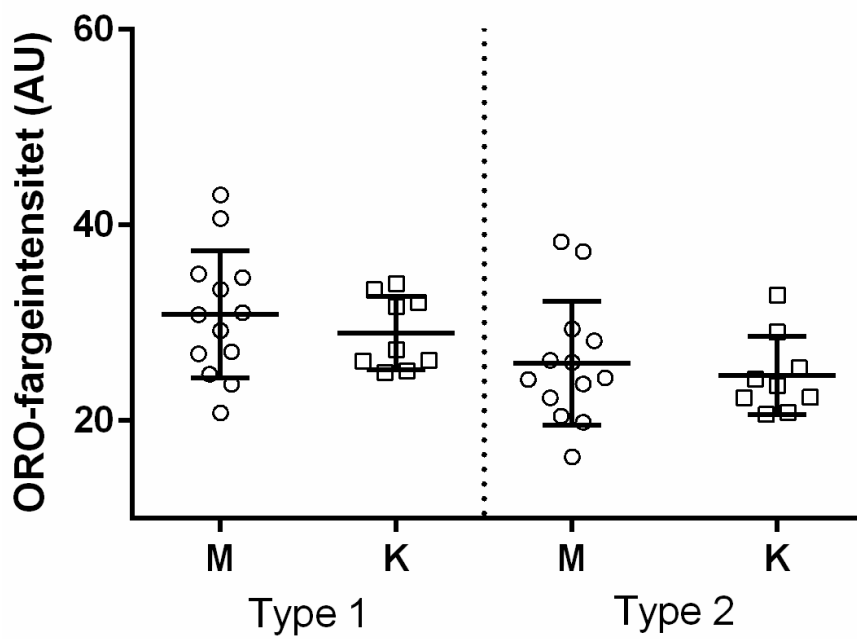


Figur 4-1. ORO-fargeintensitet (AU), som indikerer mengde IMCL i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). * signifikant forskjell mellom gruppene ($P \leq 0,05$).



Figur 4-2. Eksempelsnitt fra yngre, eldre og skrøpelige eldre på intensitet av ORO-farging. Tabell viser ORO-intensiteten (AU) innenfor ROI for merkede fibre.

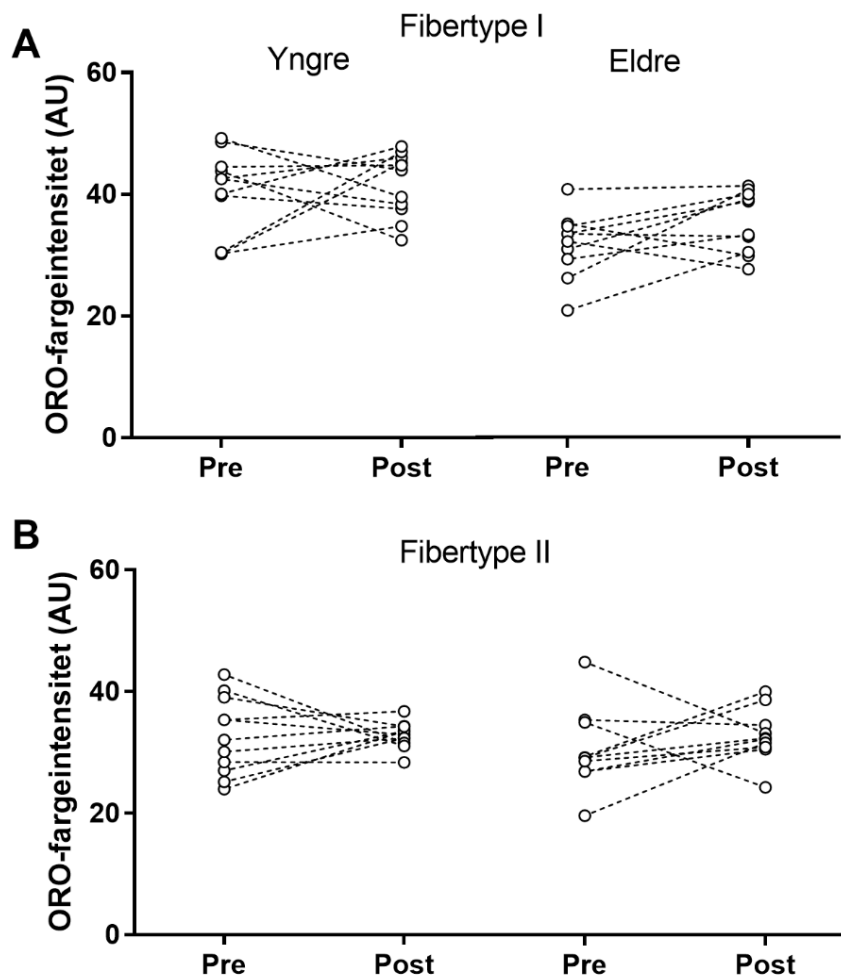
Det var ingen forskjell i ORO-fargeintensitet basert på kjønn i verken fibertype I eller II (figur 4-3) hos eldre. Det ble ikke funnet forskjell i mengde kroppsfett (%) mellom menn ($30,1 \pm 1,5$) og kvinner ($32,1 \pm 2,7$). Her ble gruppen av eldre og skrøpelige eldre slått sammen. Det ble gjort fordi ORO-fargeintensiteten var tilnærmet lik i gruppene.



Figur 4-3. ORO-fargeintensitet (AU), som indikerer mengden IMCL i fibertype I og II mellom eldre (eldre + skrøpelige eldre) menn (M) og kvinner (K).

4.2 Treningseffekt

Det var ingen endring i ORO-fargeintensitet som indikerer mengde IMCL hos yngre og eldre fra før til etter treningsperioden i fibertype I og II (figur 4-4). I begge gruppene er det imidlertid en tendens til at spredningen i mengde IMCL er mindre etter treningsperioden.

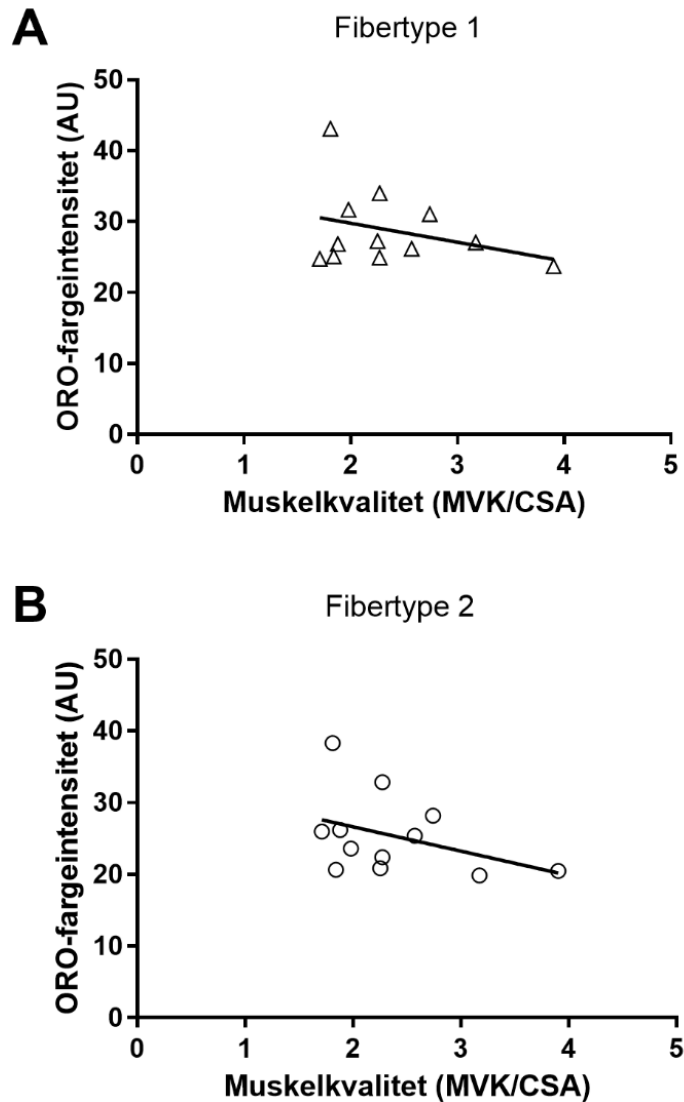


Figur 4-4. ORO-fargeintensitet (AU) av IMCL før (pre) og etter (post) treningsperioden for fibertype I (A) og fibertype II (B) hos yngre og eldre.

4.3 Sammenhenger

For yngre var det moderat ikke signifikant negativ korrelasjon mellom ORO-fargeintensitet og fettprosent i bein ($r=-0,47$; $p=0,14$) i fibertype I. For fibertype II var det en sterk negativ korrelasjon mellom ORO-fargeintensitet og fettprosent i bein ($r=-0,61$; $p=0,04$). For eldre var det en svak ikke signifikant negativ sammenheng mellom ORO-fargeintensitet og fettprosent i bein for fibertype I ($r=-0,26$; $p=0,46$), og ingen korrelasjon i fibertype II ($r=-0,05$; $p=0,88$). For skrøpelig eldre var det svak ikke signifikant positiv korrelasjon mellom ORO-fargeintensitet i fibertype I og fettprosent i bein ($r=0,3$; $p=0,35$), og veldig svak/ingen korrelasjon ($r=0,19$; $p=0,56$) i fibertype II.

For skrøpelig eldre var det svak negativ sammenheng mellom ORO-fargeintensitet i fibertype I og II og muskelkvalitet (MVK/CSA) (I: $r=-0,32$; $p=0,3$; II: $r=-0,39$; $p=0,2$; figur 4-5). For ORO-fargeintensitet og lavtetthetsmuskel (%) var det ingen korrelasjon verken for fibertype I ($r=0,07$; $p=0,84$) eller fibertype II ($r=0,05$; $p=0,88$).



Figur 4-5. Sammenhengen mellom ORO-fargeintensitet og muskelkvalitet (MVK/CSA) for skrøpelige eldre i fibertype I (A) og II (B).

5. Diskusjon

Formålet med denne studien var å undersøke mengde IMCL hos yngre, friske eldre og skrøpelige eldre. Det ble også undersøkt om tolv uker med styrketrening påvirket mengden IMCL hos yngre og friske eldre. Yngre hadde signifikant større mengde IMCL sammenlignet med både friske eldre og skrøpelige eldre. Hos yngre og friske eldre var det signifikant større mengde IMCL i fibertype I, sammenlignet med fibertype II. Det var imidlertid ingen fiberspesifikk forskjell i mengde IMCL hos skrøpelige eldre. Det var heller ingen forskjell mellom eldre kvinner og menn i mengde IMCL. Det ble ikke observert en effekt av styrketrening på mengde IMCL hos yngre og friske eldre, verken i fibertype I eller fibertype II.

5.1 *IMCL relatert til alder*

I denne studien ble det funnet en betydelig større mengde IMCL, målt som intensitet av ORO-merking, hos yngre, sammenlignet med friske eldre og skrøpelige eldre. Flere tidligere studier har sett på mengde IMCL ved økende alder. De fleste studier finner, i motsetning til oss at det er en positiv sammenheng mellom mengde IMCL og alder (Crane et al., 2010; Cree et al., 2004; Nakagawa et al., 2007), mens noen få finner ingen forskjell mellom yngre og eldre i mengde IMCL (Hioki et al., 2016; Johannsen et al., 2012). Dette samsvarer ikke med resultatene fra denne studien, hvor det ble sett størst mengde IMCL hos yngre. Det er imidlertid sett økt mengde IMCL hos godt utholdenhetstrengte yngre personer (Goodpaster, He, et al., 2001) og hos overvektige (Choi et al., 2016; Sinha et al., 2002), slik at det er klare holdepunkter for at andre faktorer enn alder også er viktig for mengde IMCL.

For å undersøke IMCL blir det brukt flere metoder, både invasive, og ikke-invasive, som har sine fordeler og ulemper (Schrauwen-Hinderling et al., 2005). En mye brukt metode er proton magnetisk resonans spektroskopi (H-MRS) (Hwang, Pan, Heydari, Hetherington, & Stein, 2001; Sinha et al., 2002; Vermathen, Kreis, & Boesch, 2004). H-MRS er den eneste ikke-invasive metoden hvor det går an å differensiere mellom IMCL og EMCL. Med andre ikke-invasive metoder som CT og MR er dette ikke mulig. Ved bruk av ikke-invasive metoder vil man heller ikke kunne si noe om størrelse og

lokalisering på fettdråpene (Schrauwen-Hinderling et al., 2005). Flere har også brukt samme metode som oss, altså ORO-merking på muskelvev (Choi et al., 2016; Goodpaster, He, et al., 2001; Gueugneau et al., 2015). Fordelen med ORO-merking er at det går an å kombineres med merking av fibertype, og dermed differensiere mengde IMCL for de forskjellige fibertypene. Det er rapportert økt mengde IMCL hos eldre uavhengig om det er brukt H-MRS (Cree et al., 2004; Nakagawa et al., 2007) eller ORO-merking (Gueugneau et al., 2015). Litteraturen er dermed relativt entydig i et positivt forhold mellom aldring og IMCL, og at eldre har større mengde IMCL sammenlignet med yngre. En utfordring med metodene, men også analysene i flere studier, er at de ikke differensierte på fibertype. Det gir et problem når man vet at fibertypene har forskjellige egenskaper, og dermed et ulikt forbruk av fett som energisubstrat.

Atrofi av muskelfibrene skjer ved aldring, spesielt i fibertype II (Andersen, 2003). Det betyr at fibertype II tar opp et mye mindre areal av total muskelmasse hos eldre sammenlignet med yngre, hvor type II-fibrene ofte er større enn type I-fibrene. Dette kan medføre at studier som ikke differensierer på fibertype, og bare undersøker mengde IMCL på et gitt areal, vil måle lavere mengde IMCL hos yngre, og større mengde IMCL hos eldre fordi type I-fibrene utgjør det største arealet. I vår studie vil imidlertid det ikke endre hovedfunnet om det ikke hadde blitt differensiert mellom på fibertype, fordi mengde IMCL var høyere hos yngre enn eldre både i fibertype I og II. Vi har imidlertid ikke tatt hensyn til muskelfiberareal i disse sammenligningene.

Flere av studiene som undersøker IMCL, ser også på størrelse og lokalisering av fettdråpene (Crane et al., 2010; Tarnopolsky et al., 2007). Dette er ikke blitt gjort systematisk i vår studie på nåværende tidspunkt, men preliminare målinger på noen få utvalgte forsøkspersoner antyder at fettdråpene var større hos de skrøpelige eldre. For eldre er det ofte sett at fettdråpene er større, og at de ikke er plassert i nær kontakt med mitokondriene (Crane et al., 2010; Gueugneau et al., 2015). Hos utholdenhetstrengte yngre er det sett økte mengde IMCL, som i hovedsak kommer av flere, men ikke større fettdråper (Tarnopolsky et al., 2007). På bakgrunn av dette sees økt mengde IMCL i form av flere små fettdråper på som en adaptasjon til utholdenhetstrening (Schrauwen-

Hinderling et al., 2003; Tarnopolsky et al., 2007). Det er også blitt sett at eldre har færre og mindre effektive mitokondrier enn yngre (Crane et al., 2010). Dette er noen av faktorene som kan være med på å forklare resultatene fra denne studien. Det kan tenkes at mange små fettdråper er gunstig for å gi tilgang til energi hurtig. Ved aldring blir fettdråpene større og mindre effektivt utnyttet. På bakgrunn av dette kan det spekuleres på om stor mengde IMCL er positivt, og ikke negativt for muskelfunksjon, så lenge de er lagret på den rette måten. Det kan være måten eldre lagrer og utnytter IMCL på som ikke er optimal i forhold til yngre. For videre å kunne si noe om resultatene fra denne studien, trengs blant annet analyser av størrelse og plassering av fettdråpene.

Intramyocellulære lipider er sett på som en aktiv organell som deltar i flere prosesser. Fra et metabolsk ståsted vil det være gunstig å ha flere små fettdråper, som sett hos yngre. Dette vil øke overflatearealet, slik at plassen til proteiner som er viktige med tanke på oksidering og transport av fett, blir større (Tarnopolsky et al., 2007). PLIN2 og PLIN 5 er to proteiner som er med å regulere fettmetabolismen. PLIN2 kan spille en rolle i akkumulering av IMCL, mens PLIN5 er viktig i forholdet mellom IMCL og mitokondrier (Bosma et al., 2012). Det er sett at PLIN2 øker ved aldring og inaktivitet (Conte et al., 2013). Det er imidlertid også sett økt mRNA-ekspressjon for PLIN2 i respons til utholdenhetstrening (Gjelstad et al., 2012). For PLIN5 er det derimot sett en tendens til reduksjon i en gruppe eldre med begrenset fysisk funksjon (Conte et al., 2015). Siden PLIN5 er vist å ha en sentral rolle i samspillet mellom IMCL og mitokondrier (Bosma et al., 2012), vil det underbygge funn som viser dårligere utnytting og omsetning av IMCL hos eldre mennesker.

5.2 IMCL og fibertype

Resultater fra denne studien viser at det er større mengde IMCL i fibertype I, sammenlignet med fibertype II hos yngre og eldre, men ikke hos skrøpelige eldre. Våre funn er i samsvar med tidligere studier som finner større mengde IMCL i fibertype I, sammenlignet med fibertype II hos yngre (Malenfant et al., 2001; van Loon et al., 2004) og eldre (Choi et al., 2016). Fiberspesifikke forskjeller i IMCL hos skrøpelige eldre er etter min kjennskap til litteraturen ikke blitt undersøkt tidligere. Det er også sett at overvektige (Malenfant et al., 2001) og godt utholdenhetstrengte (van Loon et al., 2004)

har opptil to ganger så stor mengde IMCL i fibertype I sammenlignet med normalvektige og utrente.

Med tanke på egenskapene til fibertype I vil det være gunstig å ha størst mengde IMCL der, og ikke i fibertype II. Fibertype I har større oksidativ aktivitet, og større kapasitet for opptak og lagring av fettsyrer (Gueugneau et al., 2015). Adipose triglyceride lipase (ATGL) kan være noe av grunnen til de fordelaktige egenskapene til fibertype I. ATGL, er sett å være eksklusiv for fibertype I og kan ha en sentral rolle i muskulaturens håndtering av fett (Jocken et al., 2008). Det er sett høyere heparin-releasable lipoprotein lipase aktivitet (Tikkanen, Naveri, & Harkonen, 1996), og økt mengde plasma membran fatty-acid binding protein (Bonen et al., 1998) i fibertype I, sammenlignet med fibertype II. Dette er faktorer som spiller direkte inn på transport av fettsyrer inn til muskelcellen, og kan derfor være en grunn til fiberspesifikke forskjeller i mengde IMCL. Det er sett en to ganger så høy mengde PLIN2 i fibertype I, sammenlignet med fibertype II. Det kan også være med på å forklare fiberspesifikke forskjeller i mengde IMCL, ettersom PLIN2 ser ut til å spille en rolle i reguleringen av blant annet lipolyse og akkumulering av IMCL (Bosma et al., 2012; Shaw, Sherlock, Stewart, & Wagenmakers, 2009).

Det kan være flere potensielle grunner til at det ikke ble sett fiberspesifikke forskjeller i mengde IMCL hos de skrøpelige eldre. En av de kan være dårlig fettoksidasjon i fibertype II hos eldre (Gueugneau et al., 2015). Det kan føre til akkumulering av IMCL og gjøre at forskjellen mellom fibertype I og II forsvinner. I tillegg til allerede dårlig fettoksidasjon kan fysisk aktivitet uten tilstrekkelig intensitet til å aktivere fibertype II, gjøre at det ikke blir omsatt IMCL i det hele tatt. For de skrøpelige eldre sammenlignet med de yngre og friske eldre er det spesielt i fibertype I det er stor forskjell i mengde IMCL. Det kan tenkes at de skrøpelige eldre har et så lavt aktivitetsnivå at til og med fibertype I ikke blir stimulert i sto nok grad til å opprettholde en normal omsetning av IMCL. Forskjeller i uttrykk av MHC er derimot undersøkt i en gruppe skrøpelige eldre, sammenlignbar med gruppen vår (Andersen, 2003; Andersen, Terzis, & Kryger, 1999). De finner at muskelfibrene til skrøpelige eldre ofte uttrykker to eller tre typer av MHC. De konkluderer med at en inndeling i fibertype I og II for skrøpelige eldre, ikke eksisterer, fordi opptil en tredjedel av alle fibrene inneholder både MHC I og MHC II.

Det kan derfor spekuleres på om grunnen til at det ikke ble funnet noen forskjell mellom fibertype I og II hos skrøpelige eldre i vår studie, er at en tydelig separasjon på fibertype ikke er mulig for skrøpelig eldre.

5.3 Kjønnforskjeller

Det ble ikke funnet noen kjønnforskjeller i mengde IMCL hos eldre i denne studien. Andre studier finner forskjeller mellom kjønn i mengde IMCL (Forsberg et al., 1991; Roepstorff et al., 2002; Steffensen et al., 2002; Zehnder et al., 2005a). Det er derimot ikke helt entydig om det er større mengde IMCL hos kvinner eller menn. Studien av Forsberg et al. (1991) fant større mengde IMCL hos kvinner sammenlignet med menn i et stort spenn i alder. Det at kvinner har større mengde IMCL enn menn, er sett i flere studier, hvor muskelbiopsier er tatt fra *m. vastus lateralis* (Crane et al., 2010; Devries, Lowther, Glover, Hamadeh, & Tarnopolsky, 2007; Tarnopolsky et al., 2007). Denne forskjellen ser ut til å vedvare ved aldring (Crane et al., 2010). En kjønnforskjell er også sett for utrente, moderat trente og godt trente kvinner, med muskelbiopsi fra *m. vastus lateralis*. Alle gruppene viste en større mengde IMCL hos kvinner sammenlignet med menn (Steffensen et al., 2002). Zehnder et al. (2005b) er en av få studier som viser større mengde IMCL i *m. vastus lateralis* hos menn. Individuelle data i denne studien kan imidlertid ha ført til et slikt resultat, fordi én mann hadde svært høyt basalnivå av IMCL, og dermed påvirket resultatet i stor grad. Thamer et al. (2003) fant at menn hadde større mengde IMCL enn kvinner i *m. soleus*, mens i *m. tibialis anterior* fant de ingen forskjell (Thamer et al., 2003). Boettcher et al. (2009) fant heller ingen forskjell i mengde IMCL i *m. tibialis anterior* mellom kvinner og menn, men også her var det antydning til noe høyere mengde hos kvinner. Det er begrenset med forskning på kjønnforskjeller og IMCL hos eldre mennesker. Noen studier tyder på at eldre kvinner har større mengde IMCL sammenlignet med eldre menn. Litteraturen kan helle litt mot en større mengde IMCL hos både yngre og eldre kvinner. På bakgrunn av sprikende resultater er det vanskelig å konkludere i en bestemt retning.

I studier som ser på IMCL hos kvinner spekuleres det på noen mekanismer bak funn av større mengde. Kvinner har økt antall, men ikke økt størrelse på de individuelle fettdråpene (Tarnopolsky et al., 2007). Større mengde IMCL hos kvinner kan komme av

påvirkning fra kjønnshormoner. Østrogen (spesielt østradiol) ser ut til å påvirke tilgjengelighet og fordeling av fett til muskel i rotter (Ellis et al., 1994). For eldre kvinner kan imidlertid den teorien utelukkes fordi de er forbi overgangsalderen, og østrogen vil spille en minimal rolle. Mengde kroppsfett øker ved aldring (Kyle et al., 2001b). Det er også sett en positiv sammenheng mellom mengde kroppsfett og mengde IMCL hos eldre (Nakagawa et al., 2007) og overvektige (Choi et al., 2016). Det er sett at overvektige kvinner kan ha opptil to ganger så mye IMCL, sammenlignet med overvektige menn (Haugaard, Mu, Vaag, & Madsbad, 2009). En studie av Crane et al. (2010) så derimot at menn hadde større mengde IMCL enn eldre kvinner, yngre kvinner og menn, på tross av lavest mengde kroppsfett av alle gruppene. I tillegg så de en svak korrelasjon mellom kroppsfett og IMCL. I vår studie ble det ikke funnet noen forskjell i fettprosent mellom eldre menn og kvinner, og vi observerte heller ingen sammenheng mellom IMCL og fettprosent uavhengig av kjønn. Tarnopolsky et al. (2007) så en økning i IMCL etter utholdenhetstrening, men ingen endring i kroppsfett. Disse funnene underbygger resten av litteraturens usikkerhet på kjønnsforskjeller og mengde IMCL. Det kan tyde på at kjønn ikke er den viktigste faktor for om man har høy mengde IMCL, men at faktorer som mengde kroppsfett og treningsstatus kan være viktigere.

5.4 Treningseffekt

Det ble ikke funnet noen effekt av en periode med styrketrening på mengde IMCL hos yngre og eldre. Det er få studier som har undersøkt effekten av en periode med styrketrening på mengde IMCL hos yngre og eldre.

Ngo et al. (2012) undersøkte effekten av en 14-ukersperiode med overkroppsstyrketrening og underkroppsuholdenhetstrening på mengde IMCL hos en gruppe aktive eldre menn. De fant ingen effekt av styrketreningen, men utholdenhetstreningen førte derimot til en økt mengde IMCL. Li et al. (2014) fant ingen endring i mengde IMCL etter en tolvukersperiode med kombinerte utholdenhets- og styrketrening i en gruppe unge menn. Shepherd et al. (2014) fant derimot at en seksukersperiode med styrketrening gav økt mengde IMCL i en gruppe unge menn. Styrketrening førte også til økt nedbrytning av IMCL i både fibertype I og II, målt som endring i absolutt mengde IMCL fra før til etter en times sykling på ca. 65 % av

maksimalt oksygenopptak. Det samme ble undersøkt etter en seksukersperiode med utholdenhets- og sprint intervalltrening. Her ble det kun funnet økt nedbrytning i fibertype I (Shepherd et al., 2013). Disse funnene (Shepherd et al., 2013; Shepherd et al., 2014) tyder dermed på at styrketrening er nødvendig for å øke IMCL-nedbrytning i fibertype II.

Tsintzas et al. (2017) undersøkte akutte effekter av en styrketreningsøkt på en gruppe friske yngre og en gruppe friske eldre menn. I den eldre gruppen, sammenlignet med yngre, så de en respons på gener som indikerer økt inflammatorisk respons, og redusert fettmetabolisme. De fant også molekylære endringer etter styrketreningsøkten som indikerte redusert fettoksidasjon, økt lipogenese og en overdrevet inflammasjon i restitusjonsfasen hos de eldre, sammenlignet med de yngre. De konkluderte med at dette kunne føre til en dårlig respons for IMCL-omsetting ved aldring (Tsintzas et al., 2017). Det ble også sett økt antall fettdråper (IMCL) hos yngre etter en akutt økt med styrketrening (Tsintzas et al., 2017). Akkumulering av IMCL er som regel assosiert med negativ påvirkning på skjelettmuskulaturen. Derfor kan kapasiteten til å omsette IMCL i respons til trening, være viktig for å opprettholde en godt fungerende metabolisme ved økende alder. Funnene i vår studie, at det er ingen endring i IMCL hos eldre etter en periode med styrketrening, støttes av studier som viser at både en treningsperiode (Ngo et al., 2012) og en akutt økt (Tsintzas et al., 2017) med styrketrening ikke påvirker IMCL mengde hos eldre. Vi fant heller ingen endring hos yngre. Dette samsvarer ikke med funnene til Shepherd et al. (2014) og Tsintzas et al. (2017), som viste økt mengde IMCL etter en treningsperiode og en akutt økt med styrketrening hos yngre. Det er derimot lite forskning når det kommer til effekten av styrketrening på mengde IMCL, så mer forskning trengs for å danne et helhetlig bilde av hvordan IMCL reguleres akutt i forbindelse med en økt, og som respons på styrketrening over tid.

Det er langt mer forskning på effekten av utholdenhets trening på IMCL hos yngre og eldre. Det er sett at utholdenhets trening fører til økt mengde IMCL hos både yngre (Goodpaster, He, et al., 2001) og eldre (Ngo et al., 2012; Pruchnic et al., 2004). Effekten er sett å være mindre hos eldre, sammenlignet med friske yngre (Pruchnic et al., 2004). Den økte mengden kommer i hovedsak av flere og ikke større fettdråper

(Tarnopolsky et al., 2007). Som tidligere nevnt gir økt antall fettdråper en metabolsk fordel, hvilket underbygges av at studier som ser økt mengde IMCL, også ser økt oksidativ kapasitet (Ngo et al., 2012; Pruchnic et al., 2004). Med tanke på våre resultater, at det er størst mengde IMCL hos yngre og minst hos skrøpelige eldre, kan det tenkes at fysisk aktivitet kan bidra til disse funnene. Våre forsøkspersoner er utrente, men det er naturlig å tenke at aktivitetsnivået er størst hos de yngre og lavest hos de skrøpelige. Derfor kan det spekuleres på om mengden fysisk aktivitet hos den yngre gruppen, er tilstrekkelig til å øke mengde IMCL, i samme grad som utholdenhetstrening viser, og at de skrøpelige eldre har lav mengde IMCL på grunn av minimalt med fysisk aktivitet. Vi observerte også en tendens til noe mindre individuell spredning etter styrketreningsperioden. Det kan tenkes at muskelcellen har en grense for hva som er optimal mengde IMCL, og at de som hadde mye, derfor fikk noe mindre mengde, og at de som hadde lite, fikk noe større mengde IMCL. Det kan være den oksidative kapasiteten til hver enkelt celle som avgjør hvor mye IMCL det er gunstig å lagre. Det kan også tenkes at variasjonen ble noe mindre på grunn av at gruppenes treningsstatus ble mer homogen. Det blir bare spekulasjoner, og videre forskning trengs for å undersøke individuell respons på IMCL ved styrketrening.

5.5 Muskelkvalitet

Det ble sett svak negativ sammenheng mellom muskelkvalitet og mengde IMCL hos skrøpelige eldre. En studie som sammenlignet IMCL og spesifikk styrke fant en negativ sammenheng hos yngre, men ikke hos eldre (Hioki et al., 2016). Økende alder er assosiert med tap av muskelmasse og muskelstyrke (Frontera, Hughes, Lutz, & Evans, 1991). Lav muskelstyrke er igjen assosiert med dårlig fysisk funksjon (Goodpaster et al., 2006). Siden muskelstyrke er viktig for å opprettholde fysisk funksjon og mobilitet for eldre mennesker, er det viktig å identifisere faktorer som fører til tap av muskelstyrke ved aldring. En av faktorene er fettinfiltrasjon, som har blitt sett å påvirke muskelstyrke og funksjonsnivå (Visser et al., 2002). Ut fra resultatene i denne studien, mer IMCL hos yngre og mindre hos eldre og skrøpelige eldre, kan det tyde på at IMCL ikke er en negativ faktor for muskelkvalitet. Dette støttes også av flere studier som viser at IMCL øker ved utholdenhetstrening for både yngre og eldre, og at det blir sett på som

en positiv adaptasjon til trening (Goodpaster, He, et al., 2001; Ngo et al., 2012; Pruchnic et al., 2004).

6. Konklusjon

Hovedhensikten med denne studien var å se på forskjell i mengde IMCL, målt som intensitet av ORO farging, i tre grupper: utrente yngre, utrente friske eldre og skrøpelige eldre. Det ble også sett på kjønnsforskjeller, og vi undersøkte effekten av en periode med styrketrening på den yngre og eldre gruppen. I kontrast til vår opprinnelige hypotese fant vi større mengde IMCL hos yngre, sammenlignet med friske eldre og skrøpelige eldre. I tråd med våre antagelser fant vi at fibertype I inneholdt større mengde IMCL enn fibertype II, i gruppene yngre og eldre, men noe overraskende var dette ikke tilfellet hos de skrøpelige eldre. Det var ingen forskjell i mengde IMCL mellom kjønn, og styrketreningsperioden påvirket ikke mengden IMCL i noen av gruppene.

Studiens hypotese om at eldre vil ha økt mengde IMCL sammenlignet utrente yngre kan derfor ikke bekreftes av våre resultater. Heller ikke hypotesen om større mengde IMCL hos skrøpelige eldre, sammenlignet med utrente yngre og eldre, kan bekreftes av våre resultater. Tvert imot ser det ut til at de skrøpelige eldre har minst mengde IMCL, spesielt i fibertype I, og videre studier bør undersøke hvilke mulige konsekvenser lav mengde IMCL kan ha for muskelfunksjon.

Studiens hypotese om at tung styrketrening vil føre til redusert mengde IMCL hos utrente eldre, kunne ikke bekreftes av våre resultater, men hypotesen om at utrente yngre ikke endrer mengde IMCL med styrketrening, kan delvis bekreftes av våre resultater. Det var ingen reduksjon i IMCL hos utrente yngre, men heller ikke hos utrente eldre. Med bakgrunn i at eldre hadde lavere mengde IMCL enn yngre før treningsperioden, er det sannsynligvis positivt at IMCL ikke reduseres ytterligere ved trening.

Referanser

- Addison, O., Marcus, R. L., Lastayo, P. C., & Ryan, A. S. (2014). Intermuscular fat: a review of the consequences and causes. *Int J Endocrinol*, 2014, 309570. doi:10.1155/2014/309570
- Andersen, J. L. (2003). Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 13(1), 40-47. doi:DOI 10.1034/j.1600-0838.2003.00299.x
- Andersen, J. L., Terzis, G., & Kryger, A. (1999). Increase in the degree of coexpression of myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle fibers of the very old. *Muscle & Nerve*, 22(4), 449-454. doi:Doi 10.1002/(Sici)1097-4598(199904)22:4<449::Aid-Mus4>3.0.Co;2-2
- Angulo, J., El Assar, M., & Rodriguez-Manas, L. (2016). Frailty and sarcopenia as the basis for the phenotypic manifestation of chronic diseases in older adults. *Mol Aspects Med*, 50, 1-32. doi:10.1016/j.mam.2016.06.001
- Avila, J. J., Gutierrez, J. A., Sheehy, M. E., Lofgren, I. E., & Delmonico, M. J. (2010). Effect of moderate intensity resistance training during weight loss on body composition and physical performance in overweight older adults. *European Journal of Applied Physiology*, 109(3), 517-525. doi:10.1007/s00421-010-1387-9
- Bassey, E. J., Fiatarone, M. A., O'Neill, E. F., Kelly, M., Evans, W. J., & Lipsitz, L. A. (1992). Leg extensor power and functional performance in very old men and women. *Clin Sci (Lond)*, 82(3), 321-327.

- Bean, J. F., Kiely, D. K., Herman, S., Leveille, S. G., Mizer, K., Frontera, W. R., & Fielding, R. A. (2002). The relationship between leg power and physical performance in mobility-limited older people. *J Am Geriatr Soc*, 50(3), 461-467.
- Bean, J. F., Leveille, S. G., Kiely, D. K., Bandinelli, S., Guralnik, J. M., & Ferrucci, L. (2003). A comparison of leg power and leg strength within the InCHIANTI study: Which influences mobility more? *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences*, 58(8), 728-733.
- Beaufriere, B., & Morio, B. (2000). Fat and protein redistribution with aging: metabolic considerations. *European Journal of Clinical Nutrition*, 54, S48-S53.
- Beavers, K. M., Beavers, D. P., Houston, D. K., Harris, T. B., Hue, T. F., Koster, A., . . . Kritchevsky, S. B. (2013). Associations between body composition and gait-speed decline: results from the Health, Aging, and Body Composition study. *American Journal of Clinical Nutrition*, 97(3), 552-560.
doi:10.3945/ajcn.112.047860
- Billecke, N., Bosma, M., Rock, W., Fleissner, F., Best, G., Schrauwen, P., . . . Parekh, S. H. (2015). Perilipin 5 mediated lipid droplet remodelling revealed by coherent Raman imaging. *Integr Biol (Camb)*, 7(4), 467-476. doi:10.1039/c4ib00271g
- Boettcher, M., Machann, J., Stefan, N., Thamer, C., Haring, H. U., Claussen, C. D., . . . Schick, F. (2009). Intermuscular adipose tissue (IMAT): association with other adipose tissue compartments and insulin sensitivity. *J Magn Reson Imaging*, 29(6), 1340-1345. doi:10.1002/jmri.21754
- Bonen, A., Luiken, J. J., Liu, S., Dyck, D. J., Kiens, B., Kristiansen, S., . . . Glatz, J. F. (1998). Palmitate transport and fatty acid transporters in red and white muscles. *Am J Physiol*, 275(3 Pt 1), E471-478.

- Bosma, M., Minnaard, R., Sparks, L. M., Schaart, G., Losen, M., de Baets, M. H., . . . Hesselink, M. K. C. (2012). The lipid droplet coat protein perilipin 5 also localizes to muscle mitochondria. *Histochemistry and Cell Biology*, *137*(2), 205-216. doi:10.1007/s00418-011-0888-x
- Brown, A. B., McCartney, N., & Sale, D. G. (1990). Positive Adaptations to Weight-Lifting Training in the Elderly. *Journal of Applied Physiology*, *69*(5), 1725-1733.
- Brown, M., Sinacore, D. R., Ehsani, A. A., Binder, E. F., Holloszy, J. O., & Kohrt, W. M. (2000). Low-intensity exercise as a modifier of physical frailty in older adults. *Arch Phys Med Rehabil*, *81*(7), 960-965. doi:10.1053/apmr.2000.4425
- Caserotti, P., Aagaard, P., Buttrup Larsen, J., & Puggaard, L. (2008). Explosive heavy-resistance training in old and very old adults: changes in rapid muscle force, strength and power. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *18*(6), 773-782. doi:10.1111/j.1600-0838.2007.00732.x
- Caserotti, P., Aagaard, P., Simonsen, E. B., & Puggaard, L. (2001). Contraction-specific differences in maximal muscle power during stretch-shortening cycle movements in elderly males and females. *Eur J Appl Physiol*, *84*(3), 206-212. doi:10.1007/s004210170006
- Choi, S. J., Files, D. C., Zhang, T., Wang, Z. M., Messi, M. L., Gregory, H., . . . Delbono, O. (2016). Intramyocellular Lipid and Impaired Myofiber Contraction in Normal Weight and Obese Older Adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *71*(4), 557-564. doi:10.1093/gerona/glv169
- Christiansen, T., Paulsen, S. K., Bruun, J. M., Overgaard, K., Ringgaard, S., Pedersen, S. B., . . . Richelsen, B. (2009). Comparable reduction of the visceral adipose tissue depot after a diet-induced weight loss with or without aerobic exercise in

obese subjects: a 12-week randomized intervention study. *Eur J Endocrinol*, 160(5), 759-767. doi:10.1530/EJE-08-1009

Coen, P. M., & Goodpaster, B. H. (2012). Role of intramyocellular lipids in human health. *Trends Endocrinol Metab*, 23(8), 391-398.
doi:10.1016/j.tem.2012.05.009

Conte, M., Vasuri, F., Bertaggia, E., Armani, A., Santoro, A., Bellavista, E., . . . Salvioli, S. (2015). Differential expression of perilipin 2 and 5 in human skeletal muscle during aging and their association with atrophy-related genes. *Biogerontology*, 16(3), 329-340. doi:10.1007/s10522-014-9549-5

Conte, M., Vasuri, F., Trisolino, G., Bellavista, E., Santoro, A., Degiovanni, A., . . . Salvioli, S. (2013). Increased Plin2 expression in human skeletal muscle is associated with sarcopenia and muscle weakness. *PLoS One*, 8(8), e73709.
doi:10.1371/journal.pone.0073709

Crane, J. D., Devries, M. C., Safdar, A., Hamadeh, M. J., & Tarnopolsky, M. A. (2010). The effect of aging on human skeletal muscle mitochondrial and intramyocellular lipid ultrastructure. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 65(2), 119-128. doi:10.1093/gerona/glp179

Cree, M. G., Newcomer, B. R., Katsanos, C. S., Sheffield-Moore, M., Chinkes, D., Aarsland, A., . . . Wolfe, R. R. (2004). Intramuscular and liver triglycerides are increased in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(8), 3864-3871.
doi:10.1210/jc.2003-031986

Cruz-Jentoft, A. J., Baeyens, J. P., Bauer, J. M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., . . . European Working Group on Sarcopenia in Older, P. (2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European

Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*, 39(4), 412-423.
doi:10.1093/ageing/afq034

Delmonico, M. J., Harris, T. B., Visser, M., Park, S. W., Conroy, M. B., Velasquez-Mieyer, P., . . . Body. (2009). Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr*, 90(6), 1579-1585.
doi:10.3945/ajcn.2009.28047

Devries, M. C., Lowther, S. A., Glover, A. W., Hamadeh, M. J., & Tarnopolsky, M. A. (2007). IMCL area density, but not IMCL utilization, is higher in women during moderate-intensity endurance exercise, compared with men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 293(6), R2336-2342. doi:10.1152/ajpregu.00510.2007

Ding, J., Kritchevsky, S. B., Newman, A. B., Taaffe, D. R., Nicklas, B. J., Visser, M., . . . Health, A. B. C. S. (2007). Effects of birth cohort and age on body composition in a sample of community-based elderly. *Am J Clin Nutr*, 85(2), 405-410.

Durheim, M. T., Slentz, C. A., Bateman, L. A., Mabe, S. K., & Kraus, W. E. (2008). Relationships between exercise-induced reductions in thigh intermuscular adipose tissue, changes in lipoprotein particle size, and visceral adiposity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 295(2), E407-E412. doi:10.1152/ajpendo.90397.2008

Earles, D. R., Judge, J. O., & Gunnarsson, O. T. (2001). Velocity training induces power-specific adaptations in highly functioning older adults. *Arch Phys Med Rehabil*, 82(7), 872-878. doi:10.1053/apmr.2001.23838

Ellis, G. S., Lanzajacoby, S., Gow, A., & Kendrick, Z. V. (1994). Effects of Estradiol on Lipoprotein-Lipase Activity and Lipid Availability in Exercised Male-Rats. *Journal of Applied Physiology*, 77(1), 209-215.

- Farese, R. V., Jr., & Walther, T. C. (2009). Lipid droplets finally get a little R-E-S-P-E-C-T. *Cell*, *139*(5), 855-860. doi:10.1016/j.cell.2009.11.005
- Fiatarone, M. A., O'Neill, E. F., Ryan, N. D., Clements, K. M., Solares, G. R., Nelson, M. E., . . . Evans, W. J. (1994). Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *N Engl J Med*, *330*(25), 1769-1775. doi:10.1056/NEJM199406233302501
- Foldvari, M., Clark, M., Laviolette, L. C., Bernstein, M. A., Kaliton, D., Castaneda, C., . . . Singh, M. A. (2000). Association of muscle power with functional status in community-dwelling elderly women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *55*(4), M192-199.
- Forsberg, A. M., Nilsson, E., Werneman, J., Bergstrom, J., & Hultman, E. (1991). Muscle composition in relation to age and sex. *Clin Sci (Lond)*, *81*(2), 249-256.
- Fried, L. P., Tangen, C. M., Walston, J., Newman, A. B., Hirsch, C., Gottdiener, J., . . . Cardiovascular Health Study Collaborative Research, G. (2001). Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *56*(3), M146-156.
- Frontera, W. R., Hughes, V. A., Lutz, K. J., & Evans, W. J. (1991). A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45- to 78-yr-old men and women. *J Appl Physiol (1985)*, *71*(2), 644-650.
- Fujimoto, T., & Parton, R. G. (2011). Not just fat: the structure and function of the lipid droplet. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, *3*(3). doi:10.1101/cshperspect.a004838
- Gallagher, D., Kuznia, P., Heshka, S., Albu, J., Heymsfield, S. B., Goodpaster, B., . . . Harris, T. B. (2005). Adipose tissue in muscle: a novel depot similar in size to visceral adipose tissue. *Am J Clin Nutr*, *81*(4), 903-910.

- Gjelstad, I. M., Haugen, F., Gulseth, H. L., Norheim, F., Jans, A., Bakke, S. S., . . . Drevon, C. A. (2012). Expression of perilipins in human skeletal muscle in vitro and in vivo in relation to diet, exercise and energy balance. *Arch Physiol Biochem*, *118*(1), 22-30. doi:10.3109/13813455.2011.630009
- Goodpaster, B. H., Carlson, C. L., Visser, M., Kelley, D. E., Scherzinger, A., Harris, T. B., . . . Newman, A. B. (2001). Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: The Health ABC Study. *J Appl Physiol (1985)*, *90*(6), 2157-2165.
- Goodpaster, B. H., Chomentowski, P., Ward, B. K., Rossi, A., Glynn, N. W., Delmonico, M. J., . . . Newman, A. B. (2008). Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: a randomized controlled trial. *J Appl Physiol (1985)*, *105*(5), 1498-1503. doi:10.1152/jappphysiol.90425.2008
- Goodpaster, B. H., He, J., Watkins, S., & Kelley, D. E. (2001). Skeletal muscle lipid content and insulin resistance: evidence for a paradox in endurance-trained athletes. *J Clin Endocrinol Metab*, *86*(12), 5755-5761. doi:10.1210/jcem.86.12.8075
- Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., Thaete, F. L., He, J., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle attenuation determined by computed tomography is associated with skeletal muscle lipid content. *J Appl Physiol (1985)*, *89*(1), 104-110.
- Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., Wing, R. R., Meier, A., & Thaete, F. L. (1999). Effects of weight loss on regional fat distribution and insulin sensitivity in obesity. *Diabetes*, *48*(4), 839-847.
- Goodpaster, B. H., Park, S. W., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Nevitt, M., Schwartz, A. V., . . . Newman, A. B. (2006). The loss of skeletal muscle strength, mass,

and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 61(10), 1059-1064.

Gueugneau, M., Coudy-Gandilhon, C., Theron, L., Meunier, B., Barboiron, C., Combaret, L., . . . Bechet, D. (2015). Skeletal muscle lipid content and oxidative activity in relation to muscle fiber type in aging and metabolic syndrome. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 70(5), 566-576. doi:10.1093/gerona/glu086

Guralnik, J. M., Ferrucci, L., Pieper, C. F., Leveille, S. G., Markides, K. S., Ostir, G. V., . . . Wallace, R. B. (2000). Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 55(4), M221-231.

Guralnik, J. M., Simonsick, E. M., Ferrucci, L., Glynn, R. J., Berkman, L. F., Blazer, D. G., . . . Wallace, R. B. (1994). A short physical performance battery assessing lower extremity function: association with self-reported disability and prediction of mortality and nursing home admission. *J Gerontol*, 49(2), M85-94.

Hakkinen, K., Kraemer, W. J., Newton, R. U., & Alen, M. (2001). Changes in electromyographic activity, muscle fibre and force production characteristics during heavy resistance/power strength training in middle-aged and older men and women. *Acta Physiol Scand*, 171(1), 51-62. doi:10.1046/j.1365-201X.2001.00781.x

Haugaard, S. B., Mu, H., Vaag, A., & Madsbad, S. (2009). Intramyocellular triglyceride content in man, influence of sex, obesity and glycaemic control. *Eur J Endocrinol*, 161(1), 57-64. doi:10.1530/EJE-08-0931

- He, J., Goodpaster, B. H., & Kelley, D. E. (2004). Effects of weight loss and physical activity on muscle lipid content and droplet size. *Obes Res*, *12*(5), 761-769. doi:10.1038/oby.2004.92
- Hilton, T. N., Tuttle, L. J., Bohnert, K. L., Mueller, M. J., & Sinacore, D. R. (2008). Excessive adipose tissue infiltration in skeletal muscle in individuals with obesity, diabetes mellitus, and peripheral neuropathy: association with performance and function. *Phys Ther*, *88*(11), 1336-1344. doi:10.2522/ptj.20080079
- Hioki, M., Kanehira, N., Koike, T., Saito, A., Takahashi, H., Shimaoka, K., . . . Akima, H. (2016). Associations of intramyocellular lipid in vastus lateralis and biceps femoris with blood free fatty acid and muscle strength differ between young and elderly adults. *Clin Physiol Funct Imaging*, *36*(6), 457-463. doi:10.1111/cpf.12250
- Hoppeler, H. (1986). Exercise-induced ultrastructural changes in skeletal muscle. *Int J Sports Med*, *7*(4), 187-204. doi:10.1055/s-2008-1025758
- Hsieh, K., Lee, Y. K., Londos, C., Raaka, B. M., Dalen, K. T., & Kimmel, A. R. (2012). Perilipin family members preferentially sequester to either triacylglycerol-specific or cholesteryl-ester-specific intracellular lipid storage droplets. *J Cell Sci*, *125*(Pt 17), 4067-4076. doi:10.1242/jcs.104943
- Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. (2004). Effects of resistance training on older adults. *Sports Med*, *34*(5), 329-348.
- Hwang, J. H., Pan, J. W., Heydari, S., Hetherington, H. P., & Stein, D. T. (2001). Regional differences in intramyocellular lipids in humans observed by in vivo 1H-MR spectroscopic imaging. *J Appl Physiol (1985)*, *90*(4), 1267-1274.

- Janssen, I., Heymsfield, S. B., Wang, Z. M., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 yr. *J Appl Physiol* (1985), 89(1), 81-88.
- Jocken, J. W. E., Smit, E., Goossens, G. H., Essers, Y. P. G., van Baak, M. A., Mensink, M., . . . Blaak, E. E. (2008). Adipose triglyceride lipase (ATGL) expression in human skeletal muscle is type I (oxidative) fiber specific. *Histochemistry and Cell Biology*, 129(4), 535-538. doi:10.1007/s00418-008-0386-y
- Johannsen, D. L., Conley, K. E., Bajpeyi, S., Punyanitya, M., Gallagher, D., Zhang, Z., . . . Ravussin, E. (2012). Ectopic lipid accumulation and reduced glucose tolerance in elderly adults are accompanied by altered skeletal muscle mitochondrial activity. *J Clin Endocrinol Metab*, 97(1), 242-250. doi:10.1210/jc.2011-1798
- Kennis, E., Verschueren, S., Van Roie, E., Thomis, M., Lefevre, J., & Delecluse, C. (2014). Longitudinal impact of aging on muscle quality in middle-aged men. *Age (Dordr)*, 36(4), 9689. doi:10.1007/s11357-014-9689-1
- Koster, A., Ding, J. Z., Stenholm, S., Caserotti, P., Houston, D. K., Nicklas, B. J., . . . Study, H. A. (2011). Does the Amount of Fat Mass Predict Age-Related Loss of Lean Mass, Muscle Strength, and Muscle Quality in Older Adults? *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences*, 66(8), 888-895. doi:10.1093/gerona/qlr070
- Kostka, T. (2005). Quadriceps maximal power and optimal shortening velocity in 335 men aged 23-88 years. *Eur J Appl Physiol*, 95(2-3), 140-145. doi:10.1007/s00421-005-1390-8
- Kyle, U. G., Genton, L., Hans, D., Karsegard, L., Slosman, D. O., & Pichard, C. (2001a). Age-related differences in fat-free mass, skeletal muscle, body cell

mass and fat mass between 18 and 94 years. *Eur J Clin Nutr*, 55(8), 663-672.
doi:10.1038/sj.ejcn.1601198

Kyle, U. G., Genton, L., Hans, D., Karsegard, L., Slosman, D. O., & Pichard, C.
(2001b). Age-related differences in fat-free mass, skeletal muscle, body cell
mass and fat mass between 18 and 94 years. *European Journal of Clinical
Nutrition*, 55(8), 663-672. doi:DOI 10.1038/sj.ejcn.1601198

Landers, K. A., Hunter, G. R., Wetzstein, C. J., Bamman, M. M., & Weinsier, R. L.
(2001). The interrelationship among muscle mass, strength, and the ability to
perform physical tasks of daily living in younger and older women. *J Gerontol A
Biol Sci Med Sci*, 56(10), B443-448.

Lexell, J., Taylor, C. C., & Sjostrom, M. (1988). What Is the Cause of the Aging
Atrophy - Total Number, Size and Proportion of Different Fiber Types Studied
in Whole Vastus Lateralis Muscle from 15-Year-Old to 83-Year-Old Men.
Journal of the Neurological Sciences, 84(2-3), 275-294. doi:Doi 10.1016/0022-
510x(88)90132-3

Li, Y., Lee, S., Langleite, T., Norheim, F., Pourteymour, S., Jensen, J., . . . Holen, T.
(2014). Subsarcolemmal lipid droplet responses to a combined endurance and
strength exercise intervention. *Physiol Rep*, 2(11). doi:10.14814/phy2.12187

Malenfant, P., Joanisse, D. R., Theriault, R., Goodpaster, B. H., Kelley, D. E., &
Simoneau, J. A. (2001). Fat content in individual muscle fibers of lean and obese
subjects. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25(9), 1316-1321.
doi:10.1038/sj.ijo.0801733

Manini, T. M., Clark, B. C., Nalls, M. A., Goodpaster, B. H., Ploutz-Snyder, L. L., &
Harris, T. B. (2007). Reduced physical activity increases intermuscular adipose
tissue in healthy young adults. *Am J Clin Nutr*, 85(2), 377-384.

- Marcus, R. L., Addison, O., Dibble, L. E., Foreman, K. B., Morrell, G., & Lastayo, P. (2012). Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals. *J Aging Res*, 2012, 629637. doi:10.1155/2012/629637
- Marcus, R. L., Addison, O., Kidde, J. P., Dibble, L. E., & Lastayo, P. C. (2010). Skeletal muscle fat infiltration: impact of age, inactivity, and exercise. *J Nutr Health Aging*, 14(5), 362-366.
- Marcus, R. L., Addison, O., & LaStayo, P. C. (2013). Intramuscular adipose tissue attenuates gains in muscle quality in older adults at high risk for falling. A brief report. *J Nutr Health Aging*, 17(3), 215-218. doi:10.1007/s12603-012-0377-5
- Mehlem, A., Hagberg, C. E., Muhl, L., Eriksson, U., & Falkevall, A. (2013). Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease. *Nat Protoc*, 8(6), 1149-1154. doi:10.1038/nprot.2013.055
- Morley, J. E. (2008). Sarcopenia: Diagnosis and treatment. *Journal of Nutrition Health & Aging*, 12(7), 452-456. doi:Doi 10.1007/Bf02982705
- Morley, J. E., Anker, S. D., & von Haehling, S. (2014). Prevalence, incidence, and clinical impact of sarcopenia: facts, numbers, and epidemiology-update 2014. *Journal of Cachexia Sarcopenia and Muscle*, 5(4), 253-259. doi:10.1007/s13539-014-0161-y
- Murphy, J. C., McDaniel, J. L., Mora, K., Villareal, D. T., Fontana, L., & Weiss, E. P. (2012). Preferential reductions in intermuscular and visceral adipose tissue with exercise-induced weight loss compared with calorie restriction. *J Appl Physiol* (1985), 112(1), 79-85. doi:10.1152/jappphysiol.00355.2011

- Nakagawa, Y., Hattori, M., Harada, K., Shirase, R., Bando, M., & Okano, G. (2007). Age-related changes in intramyocellular lipid in humans by in vivo H-MR spectroscopy. *Gerontology*, *53*(4), 218-223. doi:10.1159/000100869
- Newton, R. U., Hakkinen, K., Hakkinen, A., McCormick, M., Volek, J., & Kraemer, W. J. (2002). Mixed-methods resistance training increases power and strength of young and older men. *Med Sci Sports Exerc*, *34*(8), 1367-1375.
- Ngo, K. T., Denis, C., Saafi, M. A., Feasson, L., & Verney, J. (2012). Endurance but not resistance training increases intra-myocellular lipid content and beta-hydroxyacyl coenzyme A dehydrogenase activity in active elderly men. *Acta Physiol (Oxf)*, *205*(1), 133-144. doi:10.1111/j.1748-1716.2011.02379.x
- Overend, T. J., Cunningham, D. A., Paterson, D. H., & Lefcoe, M. S. (1992). Thigh composition in young and elderly men determined by computed tomography. *Clin Physiol*, *12*(6), 629-640.
- Pearson, S. J., Young, A., Macaluso, A., Devito, G., Nimmo, M. A., Cobbold, M., & Harridge, S. D. (2002). Muscle function in elite master weightlifters. *Med Sci Sports Exerc*, *34*(7), 1199-1206.
- Peterson, M. D., Rhea, M. R., Sen, A., & Gordon, P. M. (2010). Resistance exercise for muscular strength in older adults: a meta-analysis. *Ageing Res Rev*, *9*(3), 226-237. doi:10.1016/j.arr.2010.03.004
- Peterson, M. D., Sen, A., & Gordon, P. M. (2011). Influence of resistance exercise on lean body mass in aging adults: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc*, *43*(2), 249-258. doi:10.1249/MSS.0b013e3181eb6265
- Prior, S. J., Joseph, L. J., Brandauer, J., Katzel, L. I., Hagberg, J. M., & Ryan, A. S. (2007). Reduction in midthigh low-density muscle with aerobic exercise training

and weight loss impacts glucose tolerance in older men. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(3), 880-886. doi:10.1210/jc.2006-2113

Pruchnic, R., Katsiaras, A., He, J., Kelley, D. E., Winters, C., & Goodpaster, B. H. (2004). Exercise training increases intramyocellular lipid and oxidative capacity in older adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287(5), E857-862. doi:10.1152/ajpendo.00459.2003

Puthoff, M. L., & Nielsen, D. H. (2007). Relationships among impairments in lower-extremity strength and power, functional limitations, and disability in older adults. *Phys Ther*, 87(10), 1334-1347. doi:10.2522/ptj.20060176

Reinders, I., Murphy, R. A., Koster, A., Brouwer, I. A., Visser, M., Garcia, M. E., . . . Harris, T. B. (2015). Muscle Quality and Muscle Fat Infiltration in Relation to Incident Mobility Disability and Gait Speed Decline: the Age, Gene/Environment Susceptibility-Reykjavik Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 70(8), 1030-1036. doi:10.1093/gerona/glv016

Roepstorff, C., Steffensen, C. H., Madsen, M., Stallknecht, B., Kanstrup, I. L., Richter, E. A., & Kiens, B. (2002). Gender differences in substrate utilization during submaximal exercise in endurance-trained subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282(2), E435-447. doi:10.1152/ajpendo.00266.2001

Santanasto, A. J., Glynn, N. W., Newman, M. A., Taylor, C. A., Brooks, M. M., Goodpaster, B. H., & Newman, A. B. (2011). Impact of weight loss on physical function with changes in strength, muscle mass, and muscle fat infiltration in overweight to moderately obese older adults: a randomized clinical trial. *J Obes*, 2011. doi:10.1155/2011/516576

Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., . . . Cardona, A. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods*, 9(7), 676-682. doi:10.1038/nmeth.2019

Schrauwen-Hinderling, V. B., Kooi, M. E., Hesselink, M. K., Moonen-Kornips, E., Schaart, G., Mustard, K. J., . . . Schrauwen, P. (2005). Intramyocellular lipid content and molecular adaptations in response to a 1-week high-fat diet. *Obes Res*, 13(12), 2088-2094. doi:10.1038/oby.2005.259

Schrauwen-Hinderling, V. B., Schrauwen, P., Hesselink, M. K., van Engelshoven, J. M., Nicolay, K., Saris, W. H., . . . Kooi, M. E. (2003). The increase in intramyocellular lipid content is a very early response to training. *J Clin Endocrinol Metab*, 88(4), 1610-1616. doi:10.1210/jc.2002-021464

Shaw, C., Sherlock, M., Stewart, P., & Wagenmakers, A. (2009). Adipophilin distribution and colocalisation with lipid droplets in skeletal muscle. *Histochemistry and Cell Biology*, 131(5), 575-581. doi:10.1007/s00418-009-0558-4

Shepherd, S. O., Cocks, M., Tipton, K. D., Ranasinghe, A. M., Barker, T. A., Burniston, J. G., . . . Shaw, C. S. (2013). Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. *J Physiol*, 591(3), 657-675. doi:10.1113/jphysiol.2012.240952

Shepherd, S. O., Cocks, M., Tipton, K. D., Witard, O. C., Ranasinghe, A. M., Barker, T. A., . . . Shaw, C. S. (2014). Resistance training increases skeletal muscle oxidative capacity and net intramuscular triglyceride breakdown in type I and II fibres of sedentary males. *Exp Physiol*, 99(6), 894-908. doi:10.1113/expphysiol.2014.078014

- Silva, A. M., Shen, W., Heo, M., Gallagher, D., Wang, Z., Sardinha, L. B., & Heymsfield, S. B. (2010). Ethnicity-related skeletal muscle differences across the lifespan. *Am J Hum Biol*, 22(1), 76-82. doi:10.1002/ajhb.20956
- Sinha, R., Dufour, S., Petersen, K. F., LeBon, V., Enoksson, S., Ma, Y. Z., . . . Caprio, S. (2002). Assessment of skeletal muscle triglyceride content by (1)H nuclear magnetic resonance spectroscopy in lean and obese adolescents: relationships to insulin sensitivity, total body fat, and central adiposity. *Diabetes*, 51(4), 1022-1027.
- Song, M. Y., Ruts, E., Kim, J., Janumala, I., Heymsfield, S., & Gallagher, D. (2004). Sarcopenia and increased adipose tissue infiltration of muscle in elderly African American women. *Am J Clin Nutr*, 79(5), 874-880.
- Steffensen, C. H., Roepstorff, C., Madsen, M., & Kiens, B. (2002). Myocellular triacylglycerol breakdown in females but not in males during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 282(3), E634-642. doi:10.1152/ajpendo.00078.2001
- Taaffe, D. R., Henwood, T. R., Nalls, M. A., Walker, D. G., Lang, T. F., & Harris, T. B. (2009). Alterations in muscle attenuation following detraining and retraining in resistance-trained older adults. *Gerontology*, 55(2), 217-223. doi:10.1159/000182084
- Tarnopolsky, M. A., Rennie, C. D., Robertshaw, H. A., Fedak-Tarnopolsky, S. N., Devries, M. C., & Hamadeh, M. J. (2007). Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and mitochondrial enzyme activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292(3), R1271-1278. doi:10.1152/ajpregu.00472.2006
- Thamer, C., Machann, J., Bachmann, O., Haap, M., Dahl, D., Wietek, B., . . . Stumvoll, M. (2003). Intramyocellular lipids: Anthropometric determinants and

relationships with maximal aerobic capacity and insulin sensitivity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 88(4), 1785-1791. doi:10.1210/jc.2002-021674

Thiam, A. R., Farese, R. V., Jr., & Walther, T. C. (2013). The biophysics and cell biology of lipid droplets. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 14(12), 775-786. doi:10.1038/nrm3699

Tikkanen, H. O., Naveri, H., & Harkonen, M. (1996). Skeletal muscle fiber distribution influences serum high-density lipoprotein cholesterol level. *Atherosclerosis*, 120(1-2), 1-5.

Tracy, B. L., Ivey, F. M., Hurlbut, D., Martel, G. F., Lemmer, J. T., Siegel, E. L., . . . Hurley, B. F. (1999). Muscle quality. II. Effects Of strength training in 65- to 75-yr-old men and women. *J Appl Physiol (1985)*, 86(1), 195-201.

Tsintzas, K., Stephens, F. B., Snijders, T., Wall, B. T., Cooper, S., Mallinson, J., . . . van Loon, L. J. (2017). Intramyocellular lipid content and lipogenic gene expression responses following a single bout of resistance type exercise differ between young and older men. *Exp Gerontol*. doi:10.1016/j.exger.2017.03.018

Tuttle, L. J., Sinacore, D. R., & Mueller, M. J. (2012). Intermuscular adipose tissue is muscle specific and associated with poor functional performance. *J Aging Res*, 2012, 172957. doi:10.1155/2012/172957

van Loon, L. J., Koopman, R., Manders, R., van der Weegen, W., van Kranenburg, G. P., & Keizer, H. A. (2004). Intramyocellular lipid content in type 2 diabetes patients compared with overweight sedentary men and highly trained endurance athletes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 287(3), E558-565. doi:10.1152/ajpendo.00464.2003

- Vermathen, P., Kreis, R., & Boesch, C. (2004). Distribution of intramyocellular lipids in human calf muscles as determined by MR spectroscopic imaging. *Magn Reson Med*, *51*(2), 253-262. doi:10.1002/mrm.10721
- Visser, M., Goodpaster, B. H., Kritchevsky, S. B., Newman, A. B., Nevitt, M., Rubin, S. M., . . . Harris, T. B. (2005). Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *60*(3), 324-333.
- Visser, M., Kritchevsky, S. B., Goodpaster, B. H., Newman, A. B., Nevitt, M., Stamm, E., & Harris, T. B. (2002). Leg muscle mass and composition in relation to lower extremity performance in men and women aged 70 to 79: the health, aging and body composition study. *J Am Geriatr Soc*, *50*(5), 897-904.
- Yoshida, Y., Marcus, R. L., & Lastayo, P. C. (2012). Intramuscular adipose tissue and central activation in older adults. *Muscle Nerve*, *46*(5), 813-816. doi:10.1002/mus.23506
- Zehnder, M., Ith, M., Kreis, R., Saris, W., Boutellier, U., & Boesch, C. (2005a). Gender-specific usage of intramyocellular lipids and glycogen during exercise. *Med Sci Sports Exerc*, *37*(9), 1517-1524.
- Zehnder, M., Ith, M., Kreis, R., Saris, W., Boutellier, U., & Boesch, C. (2005b). Gender-specific usage of intramyocellular lipids and glycogen during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *37*(9), 1517-1524. doi:10.1249/01.mss.0000177478.14500.7c

Tabelloversikt

Tabell 3-1. Inklusjon- og eksklusjonskriterier for STAS	24
Tabell 3-2. Inklusjon- og eksklusjonskriterier for TINE.....	25
Tabell 3-3 Oversikt over baselineverdier for alle gruppene inkludert i studien	26
Tabell 3-4. Oversikt over primære og sekundære antistoff.....	30

Figuroversikt

Figur 2-1 Sammenhengen mellom alder og tverrsnittsareal for m. vastus lateralis. Heltrukket linje er basert på gjennomsnittstall fra fem aldersgrupper: 20, 30, 50, 70, 80. Figuren er basert på resultater fra Lexell, Taylor, & Sjøstrom (1988).	12
Figur 2-2. Resultater fra fysiske og funksjonelle tester for to kvinner i samme alder, lik kroppsmasseindeks og lik mengde fettfrimasse, men forskjellig innhold av intermuskulært fett. Hentet med Addison et al. (2014).	16
Figur 3-1. CT-bilde av midtre del av låret til en av de skrøpelige eldre.	28
Figur 3-2. Fibrene er merket med nummer og hvordan ROI for hver enkelt fiber ble definert.	31
Figur 3-3. Bilder brukt for å sammenligne IMCL med fibertype. Det ble brukt et bilde av ORO merking (A) og et bilde fra et nabosnitt hvor fibertype og cellemembran er lagt over hverandre (B). I representerer fibertype I og II representere fibertype II.	32
Figur 4-1. ORO-fargeintensitet (AU), som indikerer mengde IMCL i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). * signifikant forskjell mellom gruppene ($P \leq 0,05$).	35
Figur 4-2. Eksempelsnitt fra yngre, eldre og skrøpelige eldre på intensitet av ORO-farging. Tabell viser ORO-intensiteten (AU) innenfor ROI for merkede fibre.	36
Figur 4-3. ORO-fargeintensitet (AU), som indikerer mengden IMCL i fibertype I og II mellom eldre (eldre + skrøpelige eldre) menn (M) og kvinner (K).	37
Figur 4-4. ORO-fargeintensitet (AU) av IMCL før (pre) og etter (post) treningsperioden for fibertype I (A) og fibertype II (B) hos yngre og eldre.	38
Figur 4-5. Sammenhengen mellom ORO-fargeintensitet og muskelkvalitet (MVK/CSA) for skrøpelige eldre i fibertype I (A) og II (B).	39
Figur 6-1. Snitt dyppet i ORO working solution	97

Forkortelser

ATGL	Adipose triglyceride lipase
CT	Computertomografi
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
CSA	Tverrsnittsareal
EMCL	Ekstracellulære lipider
FFBM	Fettfrimasse i bein
FFC	Fried Frailty Criteria
FMB	Fettmasse i bein
H-MRS	Proton magnetisk resonans spektroskopi
IMAT	Intramuskulært fett
IMCL	Intramyocellulære lipider
IMFV	Intermuskulært fettvev
KF	Kroppsfett
KMI	Kroppsmasseindeks
LBM	Lean body mass
MHC	Myosin tungkjede
MMSE	Mini Mental Status Examination
MR	Magnetresonanstomografi
MVK	Maksimal voluntær kontraksjonskraft
MVK.H	Maksimal voluntær kontraksjonskraft for høyre bein
ORO	Oil red O
PLIN	Perilipin
ROI	Region of interest
SPPB	Short Physical Performance Battery
STAS	Styrketrening av sykehjemsbeboere

Vedleggsoversikt

- Vedlegg 1: Informasjonsskriv til forsøkspersoner
- Vedlegg 2: Fried Frailty Criteria
- Vedlegg 3: Short Physical Performance Test
- Vedlegg 4: Kartleggings skjema for helse
- Vedlegg 5: Merkeprotokoll for MHC I og dystrofin
- Vedlegg 6: Merkeprotokoll for oil red O

Vedlegg 1



NORGES IDRETTSHØGSKOLE

• FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

STYRKETRENING FOR ELDRE MED LAV MUSKELSTYRKE

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt hvor vi ønsker å undersøke effekten av et enkelt og tidseffektivt styrketreningsopplegg sammen med proteinsupplementering på muskelmasse, muskelstyrke, muskelkvalitet og fysisk prestasjonsevne hos eldre med lavt funksjonsnivå.

Med økende alder ser man en gradvis reduksjon i både muskelmasse og muskelstyrke, men tapet av muskelstyrke er større enn tapet av muskelmasse. Som et resultat reduseres muskelkvaliteten med økende alder (definert som muskelstyrke/muskeltverrsnitt). Ved styrketrening er utviklingen den motsatte; muskelstyrken øker vesentlig mer enn muskelmassen, og muskelkvaliteten økes. Dette er spesielt tydelig hos eldre personer som i utgangspunktet har lav muskelstyrke. Vi vet likevel lite om det relative bidraget fra de ulike faktorene som kan tenkes å påvirke muskelkvaliteten ved styrketrening. Vi ønsker derfor å rekruttere eldre med lav muskelstyrke til en studie hvor vi undersøker endringer i muskelkvalitet som følge av styrketrening og proteinsupplementering. Norges idrettshøgskole er ansvarlig for gjennomføring av prosjektet, og de fleste tester vil gjennomføres her. All styrketrening gjennomføres på ditt sykehjem/dagsenter eller i nærheten av der du bor.

- **HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?**

Dette er en randomisert kontrollert studie. Det betyr at du trekkes tilfeldig til en av to grupper. Den ene gruppen skal gjennomføre styrketrening to ganger per uke i 10 uker, og innta en kartong Tine Styrk (0.33 l) daglig gjennom perioden. Den andre gruppen skal innta samme mengde Tine Styrk, men ikke gjennomføre styrketrening. På denne måten kan vi sammenligne effekten av økt proteininntak alene og økt proteininntak i kombinasjon med styrketrening. Dersom du trekkes til treningsgruppen, vil all trening finne sted på ditt sykehjem, dagsenter, eller like i nærheten av der du bor. Før og etter intervensjonsperioden vil det gjennomføres ulike tester ved Norges idrettshøgskole.

Tester på sykehjemmet/omsorgsboligen

For å vurdere hvorvidt du kan inkluderes som forsøksperson i denne studien, vil vi gjennomføre noen tester der du holder til. Vi kommer til å måle høyde og vekt, blodtrykk og blodprofil (fingerstikk). I tillegg kommer vi til å gjennomføre ulike funksjonelle tester, hvor vi måler balanse, ganghastighet, og hvor raskt du kan reise deg opp fra en stol. Vi vil også gjennomføre en enkel test for å måle grepstyrke. Før du inkluderes som deltaker vil du også måtte besvare et spørreskjema omhandlende hjerteproblematikk, medisinbruk med mer. På bakgrunn av dine svar her vil vi vurdere hvorvidt en legeundersøkelse skal gjennomføres før du eventuelt inkluderes i studien. Vi vil også gjennomføre en test som evaluerer kognitiv funksjon (enkle tester på forståelse av ulike oppgaver). Både funksjonelle tester, kognitiv test, og en eventuell legesjekk vil avgjøre hvorvidt du kan inkluderes i studien eller ikke.

Tester på Norges idrettshøgskole

Dersom du blir inkludert i prosjektet skal du møte på Norges idrettshøgskole tre ganger før treningsperioden og to ganger etter treningsperioden. Vi vil bistå med transport. Hvert oppmøte vil vare i 2-5 timer, og en av disse dagene skal du møte fastende (ikke spise frokost før du ankommer). Tidspunkter for de ulike testdagene avtales individuelt. Felles for alle testdager er at du må avstå fra fysisk trening de siste to dagene før testing.

Testdag 1 gjennomføres den første gangen du kommer til Norges idrettshøgskole.

Denne testdagen tar omtrent 3 timer å gjennomføre. Vi vil bistå med transport til og fra Norges idrettshøgskole.

- *DXA*: En DXA-analyse vil gjennomføres for å måle kroppssammensetningen din. Denne testen innebærer at man ligger stille i ca. 10 minutter.
- *Muskelfunksjonstest*: Gir et mål på styrke og eksplosivitet i musklene som strekker kneleddet.
- *Grad av muskelaktivering*: For å undersøke i hvor stor grad du greier å aktivere muskulaturen når du tar i alt du kan.
- *1RM*: Maksimal styrke i øvelsen kneekstensjon.

Testdag 2 gjennomføres andre gang du møter på Norges idrettshøgskole. Denne dagen skal du gjennomføre de samme testene som du gjennomførte testdag 1, med unntak av DXA. I tillegg skal vi gjennomføre en ultralydundersøkelse av låret ditt denne dagen. Årsaken til at mange av testene gjennomføres to ganger er at noen av testene krever litt tilvenning/trening, og ved å gjennomføre disse to ganger er det større sannsynlighet for at resultatene blir riktige. Testdag 2 vil ta omtrent 3 timer å gjennomføre.

Testdag 3 gjennomføres også på Norges idrettshøgskole. Denne dagen skal du ta muskelbiopsier og blodprøver før og etter en styrketreningsøkt (dersom du trekkes til treningsgruppen). Dersom du trekkes til gruppen som bare får proteinsupplementering, skal du gjennomføre alle testene som er oppført nedenfor, med unntak av treningsøkten. Denne dagen skal du møte fastende, men i likhet med testdag 1 vil du få frokost etter å ha gjennomført de første testene. Nedenfor følger en oversikt over denne testdagen, som tar 4-5 timer å gjennomføre. Det vil bli gode pauser mellom de ulike testene, hvor det er mulighet for å hvile. Vi vil bistå med transport til og fra Norges idrettshøgskole.

- Blodprøve (fastende)
- Standardisert frokost (havregrøt)
- Muskelbiopsi fra ytre lårmuskel

- Styrketreningsøkt med øvelsen kneekstensjon (gjelder bare treningsgruppen)
- Inntak av 0,33 ml Tine Styrk
- Muskelbiopsi fra ytre lårmuskel

Du skal totalt ta to muskelbiopsier denne dagen, men begge biopsiene vil bli tatt fra det samme snittet i huden. Muskelbiopsiene tas ut på følgende måte:

- Huden og bindevevet lokalbedøves der vevsprøven skal tas.
- Et snitt på ca. 1-2 cm gjøres gjennom hud og bindevevet over muskelen.
- En nål med diameter på 6 mm føres inn (2-3 cm) og 1-3 små biter av muskulaturen tas ut (total 200-300 mg muskelvev).
- Snittet lukkes med tape (strips).

CT på Currato røntgen

I tillegg til testdagene på Norges idrettshøgskole, skal du gjennomføre en CT-undersøkelse ved Currato røntgen (Oslo sentrum) både før og etter intervensjonsperioden. Hensikten med denne undersøkelsen er å måle tverrsnittet av lårmusklene dine. CT-bildene gir oss i tillegg muligheten til å undersøke grad av fettinfiltrering i muskulaturen. Denne undersøkelsen tar omtrent en halv time. Vi vil bistå med transport.

Muskelproteinnedbrytning

Vi ønsker å måle muskelproteinnedbrytning hos et utvalg av forsøkspersonene. Disse målingene gjøres ved hjelp av dobbeltmerket vann ($^2\text{H}_2\text{O}$), og forutsetter en ekstra muskelbiopsi mot slutten av intervensjonsperioden. Tre uker før intervensjonsperioden starter, skal du drikke en bestemt mengde dobbeltmerket vann (ca. 2 dl) utblandet i vanlig vann (ca. 2 dl). På denne måten vil muskelproteinene merkes, og vi vil i neste steg kunne måle nedbrytningshastigheten for muskelproteinene omtrent 80 dager senere. Bruken av dobbeltmerket vann er utbredt i forbindelse med forskning og diagnostikk.

Treningsperioden

Dersom du trekkes til treningsgruppen, skal du gjennomføre styrketrening i 10 uker. Treningsperioden starter når du har gjennomført alle testene. Du skal gjennomføre

styrketrening to ganger i uken i grupper på to/tre deltakere. Hver enkelt økt vil ha en varighet på 20-40 minutter, og den vil gjennomføres der du bor (sykehjem, dagsenter, i tilknytning omsorgsbolig). Alle treningsøkter gjennomføres med oppfølging av en instruktør. Treningsprogrammet som skal gjennomføres består av beinpress, kneekstensjon (kneestekk) og to øvelser der du går opp på en kasse. Alle øvelser vil tilpasses den enkeltes funksjonsnivå. Treningsøvelsene som er valgt belaster muskler som innehar en viktig rolle i mange daglige gjøremål. Etter treningsperioden gjennomføres testdag 1 og testdag 3 og CT på Currato røntgen på nytt for å måle endringer.

Vi vil kun lagre informasjon om deg under ditt forsøkspersonnummer. Undervis i forsøket vil vi oppbevare en kodeliste med navn og forsøkspersonnummer. Denne kodelisten vil fysisk være låst inne, slik at det er kun forskerne tilknyttet studien som har adgang til den. Alle som får innsyn i informasjon om deg har taushetsplikt. Innsamlet data vil bli anonymisert etter 15 år (kodelisten destrueres). Det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene av studien når disse publiseres.

• MULIGE FORDELER OG ULEMPER

Tidligere studier har vist at styrketrening har meget god effekt på muskelstyrke og fysisk funksjonsevne, spesielt for eldre som i utgangspunktet har et lavt funksjonsnivå. Forsøkspersoner som trekkes til treningsgruppen vil derfor med stor sannsynlighet oppleve god fremgang i styrke og funksjonsnivå, og potensielt erfare at mange daglige oppgaver vil gå lettere etter treningsperioden. I tillegg vil du som deltaker få god innsikt i hvordan treningen drives slik at du vil være i stand til å fortsette slik trening etter avsluttet prosjekt. Dersom du trekkes til gruppen som bare skal innta protein, vil du få tilbud om treningsoppfølging etter at den første intervensjonsperioden er gjennomført. Denne treningen vil foregå i perioden januar-april i 2018. Du vil med andre ord få treningsoppfølging uansett hvilken gruppe du trekkes til, men du må vente til januar 2018 hvis du trekkes inn i kontrollgruppen.

Deltakelse i prosjektet vil kreve en del tid og oppmerksomhet. Det blir tre oppmøter på

Norges idrettshøgskole før treningsperioden, og to oppmøter etter endt 10-ukersperiode. I tillegg skal du gjennomføre en CT-undersøkelse ved Currato Røntgen i Oslo sentrum både før og etter treningsperioden. Som tidligere nevnt vil vi bistå med transport i forbindelse med all testing dersom det er nødvendig, og for å begrense belastningen for hver enkelt forsøksperson vil en del av testene bare gjennomføres for et utvalg av forsøkspersonene. Dette vil riktignok ikke redusere antall oppmøter, men vil redusere antall tester per oppmøte.

Vevsprøvetakninger (biopsier) medfører en liten infeksjonsfare (minimal), og litt ubehag/smerter kan oppleves under inngrepet. Du kan også oppleve lette til moderate smerter i 1-2 døgn etter inngrepet. Du vil få et lite arr etter snittet i huden; arret vil sakte bli mindre tydelig. Enkelte personer vil kunne få en fortykning av huden i arrområdet.

Voluntær muskelaktivering som gjennomføres under testdag 1 og testdag 2 kan oppleves litt ubehagelig, da lårmusklene ved denne testen aktiveres ved hjelp av strøm-elektroder. Denne testen er ikke invasiv, og elektrodene er "lapper" som festes på huden.

CT-undersøkelsen medfører at forsøkspersonene utsettes for stråling. For å begrense strålemengden, undersøkes bare det ene låret på tre steder.

Selve treningen skal gjennomføres med forholdsvis stor belastning, og vil medføre en viss risiko for skade og følelse av sårhet/stølhhet i muskulaturen.

- FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE SITT SAMTYKKE

Det er frivillig å delta i prosjektet. Dersom du ønsker å delta, undertegner du samtykkeerklæringen på siste side. Du kan når som helst og uten å oppgi noen grunn trekke ditt samtykke. Dersom du trekker deg fra prosjektet, kan du kreve å få slettet innsamlede prøver og opplysninger, med mindre opplysningene allerede er inngått i analyser eller brukt i vitenskapelige publikasjoner. Dersom du senere ønsker å trekke deg eller har spørsmål til prosjektet, kan du kontakte Sigve Nyvik Aas, tlf: 41499074, epost: s.a.nyvik@nih.no

- HVA SKJER MED INFORMASJONEN OM DEG?

Informasjonen som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med studien. Du har rett til innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg og rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene som er registrert. Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjennerende opplysninger. En kode knytter deg til dine opplysninger gjennom en navneliste.

Prosjektleder har ansvar for den daglige driften av forskningsprosjektet og at opplysninger om deg blir behandlet på en sikker måte. Informasjon om deg vil bli anonymisert eller slettet senest femten år etter prosjektslutt.

- **HVA SKJER MED PRØVER SOM BLIR TATT AV DEG?**

Biopsiene og blodprøvene som tas av deg vil bli oppbevart i en forskningsbiobank uten kommersielle interesser (vurdert av Regional Etisk Komite). Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også samtykke til at det biologiske materialet og analyseresultater inngår i biobanken. Prøvene vil bli lagret til år 2031. Ansvarlig for biobanken er Dr. Truls Raastad ved Seksjon for fysisk prestasjonsevne ved NIH. Det biologiske materialet kan bare brukes etter godkjenning fra Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK). Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også ditt samtykke til at prøver og aidentifiserte opplysninger utleveres til universitetet i Padova (Italia) og København (Danmark).

- **FORSIKRING**

Deltakere i prosjektet er forsikret dersom det skulle oppstå skade eller komplikasjoner som følge av deltakelse i forskningsprosjektet. NIH er en statlig institusjon og er således selvsassurandør. Dette innebærer at det er NIH som dekker en eventuell erstatning og ikke et forsikringsselskap.

- **UTLEVERING AV OPPLYSNINGER TIL ANDRE**

Ved å delta i prosjektet, samtykker du også til at vevsprøver (muskelbiopsier og blodprøver) kan utleveres til utlandet. Koden som knytter deg til dine personidentifiserende opplysninger vil ikke bli utlevert.

- **OPPFØLGINGSPROSJEKT**

Det kan være aktuelt med et oppfølgingsprosjekt innen fem år etter at dette prosjektet er gjennomført. Dersom du signerer samtykkeskjemaet, kan det derfor være at vi tar kontakt med deg innen fem år etter gjennomføring av dette prosjektet. Du vil naturligvis stå helt fritt til å avstå fra deltakelse i et eventuelt oppfølgingsprosjekt.

- **GODKJENNING**

Prosjektet er godkjent av Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, REK (2016/895).

- **SAMTYKKE TIL DELTAKELSE I PROSJEKTET**

Hvis du har lest informasjonsskrivet og ønsker å være med som forsøksperson i prosjektet, ber vi deg undertegne nedenfor, og returnere skjemaet til en av personene oppgitt nedenfor. Du bekrefter samtidig at du har fått kopi av og lest denne informasjonen.

Det er frivillig å delta og du kan når som helst trekke deg fra prosjektet uten videre begrunnelse. Alle data vil, som nevnt ovenfor, bli aidentifisert før de blir lagt inn i en database, og senere anonymisert.

Med vennlig hilsen,

Sigve Nyvik Aas, Stipendiat (tlf: 414 99 074)

Truls Raastad, Professor (tlf: 23 26 23 28 / 91 36 88 96)

- **JEG ER VILLIG TIL Å DELTA I PROSJEKTET**

.....
Sted og dato

.....
Deltakers signatur

.....
Deltakers navn med trykte bokstaver

Jeg bekrefter å ha gitt informasjon om prosjektet

.....
Sted og dato

.....
Signatur

.....
Rolle i prosjektet

Vedlegg 2

Kriterium 1: Matlyst <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se neste side Spørsmål 1) Alternativ: Spørsmål 2) Alternativ: Personer som oppgir alternativ 3 på begge spørsmål, oppfyller kriteriet.				
Kriterium 2: Håndgripsstyrke <u>JA</u> <u>NEI</u>	Håndgripsstyrke for dominant hånd (gjennomsnitt av tre målinger)				
	Resultat:	BMI/mann	Cut-off (kg)	BMI/kvinne	Cut-off (kg)
	#1:	≤24	≤29	≤23	≤17
	#2:	24-26	≤30	23-26	≤17.3
	#3:	26-28	≤30	26-29	≤18
	Gj.snitt:	≥28	≤32	>29	≤21
Kriterium 3: Utmattelse <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se neste side Påstand 1) Alternativ: Påstand 2) Alternativ: Personer som oppgir alternativ 3 eller 4 på ett eller begge spørsmålene, oppfyller kriteriet "utmattelse".				
Kriterium 4: Ganghastighet <u>JA</u> <u>NEI</u>	Hentes fra SPPB. Cut-off tid på å gå 4 meter (statisk start)				
	Resultat:	Mann (cm)	Cut-offs (s)	Dame (cm)	Cut-offs (s)
	#1:	≤173	≥6.15 (0.65 m/s)	≤159	≥6.15 (0.65 m/s)
	#2:	>173	≥5.25 (0.76 m/s)	>159	≥5.25 (0.76 m/s)
	Gj.snitt:				
Kriterium 5: Aktivitetsnivå <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se neste side Spørsmål 1) Alternativ: Personer som oppgir alternativ 3 eller 4 oppfyller kriteriet "lavt aktivitetsnivå".				

Personer som oppfyller tre av kriteriene kan inkluderes.

Personer som oppfyller to av kriteriene kan inkluderes, gitt at det er kriterie 2 og 4 som er oppfylt.

Personer som oppfyller ett kriterie kan inkluderes, gitt at det er kriterie 2 eller 4 som er oppfylt, og gitt at samlet SPPB score er ≤ 6.

Kan personen inkluderes som deltaker? JA NEI

Dato:

Kriterium 1

Spørsmål 1: Hvordan har matlysten din vært i det siste?

- 1) God
- 2) Middels
- 3) Dårlig

Spørsmål 2: Hvor mye spiser du nå sammenlignet med for ett år siden?

- 1) Mer
- 2) Like mye
- 3) Mindre

Kriterium 3

Under finner du to påstander om hvordan du kan ha følt deg i det siste. Kryss av for hvor ofte du har følt det på denne måten i løpet av den siste uka.

Påstand 1: "Jeg følte at alt jeg gjorde var et ork"

- 1) Aldri eller nesten aldri (< 1 dag)
- 2) Litt av tiden (1 – 2 dager)
- 3) En del av tiden (3-4 dager)
- 4) Hele eller nesten hele tiden (5-7 dager)

Påstand 2: "Jeg var initiativløs "

- 1) Aldri eller nesten aldri (< 1 dag)
- 2) Litt av tiden (1 – 2 dager)
- 3) En del av tiden (3-4 dager)
- 4) Hele eller nesten hele tiden (5-7 dager)

Kriterium 5

Spørsmål 1: Hvor ofte deltar du i fysisk aktivitet med lav eller moderat intensitet? (hagearbeid, støvsuge, gå tur)

- 1) Flere ganger i uka
- 2) 4-5 ganger per måned
- 3) 1-3 ganger per måned
- 4) Nesten aldri/aldri

Vedlegg 3

Registreringsark

dd/mnd/år:

<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------	----------------------

ID/navn:

<input type="text"/>

1. Balansetest

1.Samlede føtter 10 sekunder



1. sek



2.Semi-tandem 10 sekunder



2. sek



3.Tandem 10 sekunder



3. sek



Gå til gangtest

2. Gangtest



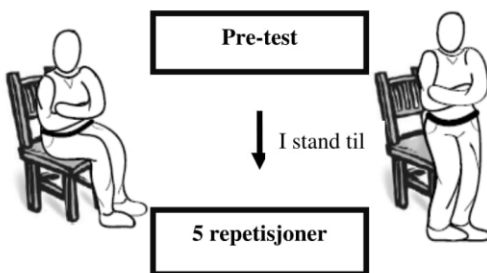
Ganghjelpemidler ved test (kryss av):

- uten
- krykke/stokk (er)
- rollator
- Annet (spesifiser) _____

Tid test 1: sek

Tid test 2: sek

3. Reise/ sette seg



Avslutt
Ikke i stand til

Setehøyde cm

Tid 5 repetisjoner uten armbruk: sek

Tester:

SCORING SPPB:

dd/mnd/år:

ID/navn:

1. Score statisk balanse

Hvis deltageren ikke har forsøkt eller mislyktes, kryss av hvorfor:

- Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
- Deltageren kunne ikke holde stillingen uten hjelp(0p)
- Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
- Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
- Deltager tar ikke instruksjon(missing)
- Annet (spesifiser) _____
- Deltager nektet(missing)



Samlede føtter

=10 sek = 1 p
<10 sek = 0 p



Semi-tandem

=10 sek = 1 p
<10 sek = 0 p



Tandem

=10 sek = 2 p
3 - 9.99 sek = 1 p
< 3 sek = 0 p

=

Sum poeng balanse:

2. Score 4m gangtest

Hvis deltageren ikke har forsøkt eller mislyktes, kryss av hvorfor:

- Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
- Deltageren kunne ikke gå uten assistanse(0p)
- Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
- Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
- Deltager tar ikke instruksjon(missing)
- Annet (spesifiser) _____
- Deltager nektet(missing)



Deltager var ikke i stand til: = 0 poeng
Hvis tiden var > 8.7 = 1 poeng
Hvis tiden var 6.21 - 8.70 = 2 poeng
Hvis tiden var 4.82 - 6.20 = 3 poeng
Hvis tiden var < 4.82 = 4 poeng

Poeng ganghastighet (beste av to forsøk):

3. Score reise/sette seg x5

Hvis deltageren ikke har forsøkt eller mislyktes, kryss av hvorfor:

- Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
- Deltageren kunne ikke reise seg uten hjelp(0p)
- Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
- Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
- Deltager tar ikke instruksjon(missing)
- Annet (spesifiser) _____
- Deltager nektet(missing)

Deltager var ikke istand til/brukte >60 sek = 0 poeng
Hvis tiden var ≥16.7 sek = 1 poeng
Hvis tiden var 13.7 - 16.69 sek = 2 poeng
Hvis tiden var 11.20 - 13.69 sek = 3 poeng
Hvis tiden var ≤ 11.19 sek = 4 poeng



Poeng reise/sette seg x5:

tester:

TOTAL SCORE SPPB 1.+2.+3.:

Vedlegg 4

Kartleggings skjema - Helse

Kjenner du til at du har en hjertesykdom?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Evt. hvilken:	
Har du pacemaker?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Kjenner du til at du har høyt blodtrykk?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesykdom?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Hvis ja på forrige spørsmål; hvilke medisiner?	
Røyker du?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Kjenner du til om du har høyt kolesterolnivå i blodet?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Har du besvimt i løpet av de siste 6 måneder?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Har du sukkersyke/diabetes?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Er du allergisk mot melk/laktose?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Er du allergisk mot lokalbedøvelse (tilsvarende den man får hos tannlege)?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Har du artrose/leddgikt i knær?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Har du artrose/leddgikt i hofte?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Kjenner du til noen annen grunn til at din deltakelse i prosjektet kan medføre helse- eller skaderisiko?	Ja <input type="checkbox"/> Nei <input type="checkbox"/> Vet ikke <input type="checkbox"/>
Evt. hva:	

Vedlegg 5

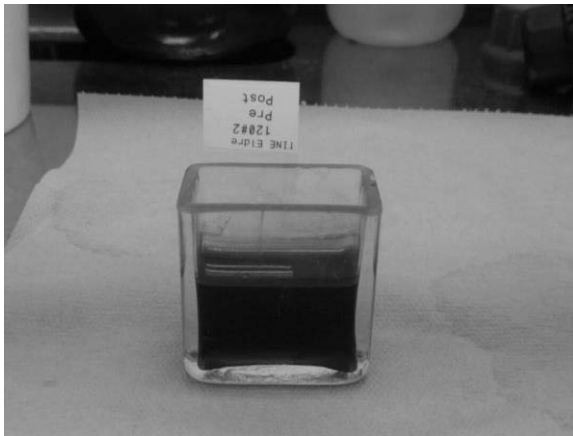
Merkeprotokoll for MHC I og dystrofin

1. Ta ut prøven fra ultrafryser og la den temperere til romtemperatur. Tar ca. ti minutter.
2. Bruk PAP-pennen til å tegne en lipidbarriere rundt snittet
 - a. Tegn nære snittet, men ikke på.
3. Tilsett en 1% BSA-løsning til snittet og la det inkubere i 30 minutter
 - a. Gjøres i fuktekammer for å hindre fordampning.
 - b. Etter endt blokkering ristes BSAen av
4. Tilsett primære antistoff og la det inkubere i kjøleskap over natten.
 - a. Ha snittet i fuktekammer
 - b. Antistoff mot MCH I, BA-D5, 1:1000 i 1% BSA
 - c. Antistoff mot dystrofin, 1:1000 i 1% BSA
 - d. Bland antistoff i samme rør
5. Etter endt inkubering, vask snittet 3x5-10 minutter i PBS-t
6. Tilsett sekundært antistoff i 60 minutter ved romtemperatur
 - a. Ha snittet i fuktekammer
 - b. MCH: alexa fluor 488, fortynn 1:200 i 1% BSA
 - c. Dystrofin: alexa fluor 594, fortynn 1:200 i 1% BSA
 - d. Holde snittet lysfritt på grunn av sekundært antistoff
7. Etter endt inkubering vask snittene 3x5-10 minutter i PBS-t
 - a. Hold lysfritt
8. Monter snittene med «prolong antifate reagent with dapi» og dekkglass
9. Så la snittene ligge over natt før de ses på i mikroskop
 - a. Lysfritt

Vedlegg 6

Oil red O merking, basert på metoden til Mehlem et al. (2013).

1. Lag ORO stock solution
 - a. For eks. 2,5g av ORO til 400ml av 99 % (vol/vol) isopopyl alkohol, og miks i to timer i romtemperatur.
2. Lag ORO working solution
 - a. Tilsett 1,5 del ORO stock solution til 1 del destillert vann (for eks. 18ml ORO til 12 ml destillert vann)
 - b. Sett løsningen i kjøleskap (4°) i 10 minutter, sånn at løsningen tykner
 - c. Så filtreres løsningen gjennom et 45- μ m filter. Bruk løsning innen 6 timer
3. Ta ut snitt av fryser og la det bli romtemperert (tar 10 minutter)
4. Dyp snittet i ORO working solution (se bilde), og la det stå i 10 minutter i romtemperatur



Figur 6-1. Snitt dyppet i ORO working solution

5. Vask snittet i kaldt rennende springvann i 30 minutter.
 - a. Gjøres enkelt ved å sette snittet i vaskestativ under springen og la vannet renne ned i vaskestativet. Ha snittene vendt bort fra vannet.
 - b. Bytt ut hele vannet regelmessig.
6. Sett på dekkglass med et vannoppløselig monteringsmedium og la det tørke i 10-15 minutter
7. Ta bilder innen 24 timer etter merking.

