

Simen Helset Rognlien

---

Effekten av styrketrening på satellittceller,  
myokjerner og fiberareal hos eldre  
personer med lavt fysisk funksjonsnivå

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2018



## Sammendrag

Ved økende alder skjer det en kvantitativ og kvalitativ reduksjon i muskelmassen, og redusert evne til å utvikle kraft kan påvirke funksjonsnivået og dermed livskvaliteten i negativ retning. Styrketrening er et effektivt tiltak for å motvirke de aldersrelaterte endringene i muskulaturen, men svært få studier har gjort biopsianalyser for å undersøke effekten av styrketrening hos eldre individer med lavt fysisk funksjonsnivå. De aldersrelaterte endringene i fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall rammer i størst grad type II-muskelfibrene. Hensikten med denne studien var derfor å undersøke effekten av styrketrening på endringer i fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall i type I og type II-fibrene hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå.

Trettitre eldre med lavt fysisk funksjonsnivå ble rekruttert til studien.

Deltakerne ble randomisert inn i to grupper, hvor den ene gruppen gjennomførte 10 uker med styrketrening og proteinsupplementering (ST+PRO), og den andre gruppen *kun* inntok proteinsupplement (PRO). Før og etter treningsperioden ble det gjennomført styrketester (1 RM i kneekstensjon), funksjonstester (ganghastighet og stoltest), CT-skann av lår, DEXA-skann for kroppssammensetning, samt en muskelbiopsi fra *m.vastus lateralis*. Fiberareal (n=17), myokjerner (n=14) og satellittceller (n=15) i type I og type II-muskelfibrene ble undersøkt med immunohistokjemi.

Baselineverdiene viste at fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall var lavere i type II enn i type I-fibrene, men det var ingen endring hverken i type I eller type II-fibrene etter 10 uker med styrketrening. Ingen endring i fiberareal var noe overraskende fordi det ble observert en 7.5 % økning i tverrsnittsareal av *m.quadriceps femoris*. Dette kan tyde på at adaptasjonene i muskulaturen har skjedd i andre deler av *m.quadriceps femoris* enn *m.vastus lateralis*, eller at endringen ikke var stor nok til å kunne oppdages på biopsianalysene. 10 uker med styrketrening bidro til økt maksimal muskelstyrke hos ST+PRO, og vedlikehold av fysisk funksjonsnivå da det ble vist en reduksjon i prestasjon på de funksjonelle testene hos PRO. Funnene tyder på at styrketrening to ganger i uken i 10 uker er en effektiv strategi for å øke maksimal muskelstyrke og vedlikeholde fysisk funksjonsnivå selv om det ikke ble observert endringer på muskelfibernivå.

## Forord

Denne masteroppgaven er en del av prosjektet STAS-prosjektet, som ble gjennomført fra høsten 2016 til våren 2018. Det siste året har vært utfordrende, men inspirerende veiledere har bidratt til at dette også har vært en lærerik og spennende prosess.

Først og fremst vil jeg rette en stor takk veilederne mine som har vært svært hjelpsomme og motiverende i gjennom hele perioden. Kristoffer har bidratt til at jeg forhåpentligvis ikke er en «IHC-noob» lenger, samtidig som han har hjulpet meg med alt jeg har lurt på. Takk for at du har vært tilgjengelig til alle døgnets tider, og stilt opp for meg selv om du har veldig mye annet du skulle ha gjort. Takk til Sigve for raske og gode tilbakemeldinger, du er helt RÅ på mails. Rekker så vidt å sende mailen før jeg får svar tilbake. Takk for at du tar deg tid til oss masterstudentene samme hvor travelt du har det!

Takk til Truls for god veiledning med oppgaven, selv om du fikk den tilsendt lovlig seint.

Takk til lab ingeniørene (Hege og Marthe) for god veiledning på laben.

Takk til gutta i kollektivet (Kokvik og Lars) som har måttet høre på mye klaging og syting det siste halve året. Alltid hyggelig å møte dere på kjøkkenet etter å ha sittet i timevis inne i mørket og telt satellittceller.

Takk til alle deltakerne som har gjort dette prosjektet mulig. Dere har vært positive og engasjerte i gjennom hele perioden.

Vil rette en spesiell takk til foreldrene mine for at dere alltid stiller opp og motiverer meg samme hva det måtte gjelde. Uten dere hadde jeg ikke vært der jeg er i dag.

# Innhold

<b>Forord</b> .....	<b>4</b>
<b>1. Innledning</b> .....	<b>7</b>
1.1 Problemstilling og hypoteser.....	9
<b>2. Teori</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Skrøpelighet</b> .....	<b>10</b>
2.1.1 Utvikling av muskelmasse, muskelstyrke og eksplosivitet.....	10
2.1.2 Hvordan endres muskelmassen?.....	12
2.1.3 Effekten av trening .....	13
<b>2.2 Satellittcellen</b> .....	<b>15</b>
2.2.1 Identifisering av satellittcellen.....	17
2.2.2 Satellittceller og aldring.....	18
2.2.3 Effekten av trening .....	18
<b>2.3 Myokjerner</b> .....	<b>19</b>
2.3.1 Myokjerner og aldring .....	19
2.3.2 Effekten av trening .....	20
<b>2.4 Oppsummering</b> .....	<b>21</b>
<b>3. Metode</b> .....	<b>22</b>
3.1 Utvalg.....	22
3.2 Formål.....	23
3.3 Studiedesign.....	23
<b>3.4 Tester</b> .....	<b>24</b>
3.4.1 Computertomografi (CT).....	24
3.4.2 Maksimal muskelstyrke (1RM) .....	24
3.4.3 Stoltest .....	25
3.4.4 Ganghastighet .....	25
<b>3.5 Treningsprotokoll</b> .....	<b>26</b>
3.5.1 Protein supplement .....	27
<b>3.6 Muskelbiopsier</b> .....	<b>27</b>
3.6.1 Snitting av muskelbiopsiene .....	27
3.6.2 Immunohistokjemi – metode utprøving.....	28
<b>3.7 Immunohistokjemi</b> .....	<b>31</b>
3.7.1 Antistoff for identifisering av satellittceller.....	31
3.7.2 Mikroskopet.....	32
3.7.3 Kvantifisering av satellittceller.....	32
3.7.4 Kvantifisering av myokjerner .....	33
3.7.5 Kvantifisering av muskelfibertype og muskelfiberareal.....	35
<b>3.8 Statistikk</b> .....	<b>36</b>

<b>4.</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Baselinemålinger.....</b>	<b>37</b>
4.1.1	Karakteristikk .....	37
4.1.2	Biopsianalyser .....	38
<b>4.2</b>	<b>Treningseffekt .....</b>	<b>39</b>
4.2.1	<i>Tverrsnittsareal av m. quadriceps femoris</i> .....	39
4.2.2	1 RM kneekstensjon .....	40
4.2.3	Funksjonelle tester (stoltest og normal ganghastighet).....	41
4.2.4	Fiberareal .....	42
4.2.5	Satellittceller .....	44
	Myokjerner.....	44
<b>5.</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>46</b>
<b>5.1</b>	<b>Fettfri masse og muskeltverrsnitt.....</b>	<b>46</b>
<b>5.2</b>	<b>1 RM kneekstensjon.....</b>	<b>47</b>
<b>5.3</b>	<b>Funksjonelle tester .....</b>	<b>47</b>
<b>5.4</b>	<b>Fiberareal .....</b>	<b>49</b>
5.4.1	Baselinemålinger .....	49
5.4.2	Treningseffekt.....	49
<b>5.5</b>	<b>Satellittceller.....</b>	<b>52</b>
5.5.1	Baselinemålinger .....	52
5.5.2	Treningseffekt.....	52
<b>5.6</b>	<b>Myokjerner.....</b>	<b>53</b>
5.6.1	Baselinemålinger .....	53
5.6.2	Treningseffekt.....	54
<b>6.</b>	<b>Konklusjon.....</b>	<b>56</b>
	<b>Referanser.....</b>	<b>57</b>
	<b>Tabelloversikt .....</b>	<b>69</b>
	<b>Figuroversikt.....</b>	<b>70</b>
	<b>Forkortelser .....</b>	<b>72</b>
	<b>Vedlegg 1: Informert samtykke.....</b>	<b>73</b>
	<b>Vedlegg 2: Fried Frailty, modifisert.....</b>	<b>81</b>
	<b>Vedlegg 3: SPPB .....</b>	<b>83</b>
	<b>Vedlegg 4: Kartleggingsskjema, helse.....</b>	<b>85</b>

# 1. Innledning

Andelen eldre er stadig økende og estimerer på verdensbasis predikerer at 2 milliarder mennesker vil være over 60 år i 2050 (United Nations 2015). Vedlikehold av funksjonsnivå og helse er utfordrende ved økende alder og mange eldre har nedsatt funksjonsnivå, noe som påvirker evnen til å leve et selvstendig liv. Nedsatt selvstendighet er vist å redusere livskvaliteten (Clark & Manini, 2010). Mindre selvhjelp fører også til økt påkjenning på helsevesenet, samt store samfunnsmessige kostnader. Reduksjon i muskelmasse og muskelstyrke er en sentral faktor for nedsatt funksjonsnivå (McGregor et al., 2014). Muskelens kontraktile funksjon blir ofte målt som muskelens evne til å utvikle kraft målt som styrke, eksplosivitet (kraft x hastighet) eller funksjon, og muskelkvalitet defineres vanligvis som kraft per tverrsnittsareal. Muskelkvaliteten avhenger av muskelens sammensetning, arkitektur, ultrastruktur og de elementære kontraktile elementene. Stor variasjon i muskelkvalitet mellom jevnaldrende individer tyder på at de kvalitative endringene som observeres ved aldring avhenger i større grad av inaktivitet enn den biologiske aldringsprosessen (Karavirta et al., 2011). Litteraturen viser at styrketrening er en hensiktsmessig og effektiv metode for å motvirke tap av muskelmasse, styrke og funksjon ved aldring (Clark & Manini, 2010).

Ved aldring reduseres muskelfibrene i både antall (hypoplasi) og størrelse (atrofi). Det er noe motstridende funn i litteraturen om hvor vidt hypoplasi forekommer hyppigere i type-II enn i type I-fibre (Lexell, Henriksson-Larsen, & Sjöstrom, 1983; McGregor, Cameron-Smith, & Poppitt, 2014). Det er derimot konsistente funn som viser at atrofi av type II er større enn i type I-fibre ved aldring (Andersen, 2003; McGregor et al., 2014). Type II muskelfibrene påvirkes imidlertid i større grad av trening enn type I-fibrene, og potensiale for hypertrofi ser dermed ut til å være størst i disse fibrene (Kryger & Andersen, 2007).

Hypertrofi av muskelfibrene krever dannelsen av flere myokjerner slik at kjernedomenet opprettholdes (Allen, Roy, & Edgerton, 1999). Hvorvidt det skjer en endring i antall myokjerner ved aldring er imidlertid omdiskutert (Snijders, Verdijk, & van Loon, 2009). Det er vist økt antall myokjerner som følge av aldring (Kadi, Charifi, Denis, & Lexell, 2004a; Verdijk et al., 2007), men det er også rapportert om ingen endring (Roth et al., 2000). En nyere studie tyder på redusert antall myokjerner i type II-fibrene hos eldre individer (70-86 år) sammenliknet med unge voksne (19-49 år).

(Verdijk et al., 2014) Det er også motstridende funn om hvorvidt antall myokjerner endres ved hypertrofi som følge av styrketrening hos eldre. Noen studier finner en proporsjonal økning i antall myokjerner som følge av treningsindusert hypertrofi (Kadi & Thornell, 2000; Petrella, Kim, Cross, Kosek, & Bamman, 2006), mens andre studier finner ingen endring (Hikida et al., 1998; Kadi et al., 2004b). Manglende fiberspesifikke data kan forklare noe av de varierende funnene mellom de ulike studiene.

Siden muskelfibrene ikke kan utføre mitose, er regenerasjonen av muskulaturen avhengig av en liten gruppe celler; satellittcellene. Satellittcellene er fysiologisk adskilt fra muskelfibrene og befinner seg mellom sarkolemma og basal lamina (Hawke & Garry, 2001). Helt overordnet ser det ut til at satellittcellene er viktige for vedlikehold, reparasjon og vekst av muskelfibrene (Hawke & Garry, 2001). Forskning viser at aldring fører til ingen endring (Petrella et al., 2006), eller mindre antall (Kadi et al., 2004a) satellittceller rundt muskelfibrene hos eldre i forhold til yngre individer. Varierende funn i litteraturen kan også her skyldes mangel på muskelfiberspesifikke data. Separate analyser av type I og type II muskelfibre har nemlig vist færre satellittceller rundt type II-fibrene hos eldre sammenliknet med yngre (Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014).

Styrketrening kan være en god strategi for å øke muskelmassen og det er vist at styrketrening fører til hypertrofi av type II-fibrene hos eldre (Verdijk et al., 2009). På en annen side er det også vist ingen endring i fiberareal etter en periode med styrketrening (Mackey et al., 2007). Sprikende funn i litteraturen kan igjen skyldes en fiberspesifikk hypertrofi av type II-fibrene som ikke avsløres i studier som har analysert fiberareal samlet for alle fibrene (Kryger & Andersen, 2007; Verdijk et al., 2009). Styrketrening er et stimuli for å aktivere satellittcellen. Det er vist økt antall satellittceller hos eldre (Mackey et al., 2007; Roth et al., 2001), men også ingen endring (Petrella et al., 2006) etter en periode med styrketrening. Ved analyser av fiberspesifikke data er det vist en økning i antall satellittceller rundt type II-fibrene og ingen endring i type I-fibrene (Verdijk et al., 2014).

Få studier gjort på eldre med lavt fysisk funksjonsnivå, har gjort analyser på muskelbiopsier. På bakgrunn av dette foreligger det lite fiberspesifikk informasjon om hvordan fiberareal, myokjerner og satellittceller påvirkes av styrketrening hos denne populasjonen. Biopsianalyser kan dermed bidra til en bedre forståelse om hvordan styrketrening påvirker de tre ovennevnte faktorene i en gruppe eldre som er i ferd med å miste funksjonsnivået som er avgjørende for deres selvstendighet i hverdagen. Eldre har



generelt et lavere proteininntak enn yngre, og tillegg er det vist at eldre individer trenger mer proteiner daglig sammenliknet med yngre (Bauer et al., 2013). Med bakgrunn i dette ble det bestemt at proteinsupplement skulle gis til begge grupper (ST+PRO og PRO).

## **1.1 Problemstilling og hypoteser**

På bakgrunn av lite dokumentasjon på hvordan styrketrening påvirker muskulaturen hos eldre med redusert fysisk funksjonsnivå kom vi frem til følgende problemstilling for denne masteroppgaven:

*Hvordan påvirkes fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå av 10 uker med styrketrening og proteinsupplementering?*

Hypotese:

*10 uker med styrketrening og proteinsupplementering vil resultere i økt fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall i type II-fibrene, men ikke i type I-fibrene, hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå.*

## 2. Teori

### 2.1 *Skrøpelighet*

Aldring er assosiert med både redusert livskvalitet og selvstendighet. Det er derimot observert store variasjoner i helse og funksjonsnivå hos individer med samme alder (de Labra, Guimaraes-Pinheiro, Maseda, Lorenzo, & Millán-Calenti, 2015). På bakgrunn av misforholdet mellom alder og helsestatus blir definisjonen *frail elderly* “skrøpelige eldre” anvendt i forskning. Forskjellige tilnærminger anvendes for å diagnostisere individer. En av tilnærmingene omfatter det fysiologiske aspektet av skrøpelighet (de Labra et al., 2015). I følge denne definisjonen må tre eller flere av de følgende kriteriene oppfylles: lav grepsstyrke, lavt energinivå, nedsatt ganghastighet, lavt aktivitetsnivå og ukontrollert vekttap. Denne tilnærmingen er mye benyttet i forskning og individene klassifiseres inn i en av de følgende kategoriene: ikke-skrøpelig, pre-skrøpelig og skrøpelig (Xue, 2011).

Skrøpelighet er en multidimensjonell tilstand som har innflytelse på flere faktorer i dagliglivet. Ganghastighet, mobilitet, balanse, muskelstyrke, utholdenhet og fysisk aktivitetsnivå er viktige aspekter som påvirkes i negativ retning hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Skrøpelighet er direkte relatert til økt fallrisiko, funksjonshemming, svekket selvstendighet og dødelighet (de Labra et al., 2015). En studie av Fried og medarbeidere (2001) viste at forekomsten av skrøpelighet var 7-12% hos eldre amerikanere over 65 år. Prevalensen økte fra 3.9% hos eldre mellom 65-74 år til 25% hos individer over 85 år. Så vidt undertegnede kjenner til finnes det ingen data på forekomsten av skrøpelighet i Norge, men det kan tenkes at det er relativt likt som i USA.

#### 2.1.1 **Utvikling av muskelmasse, muskelstyrke og eksplosivitet**

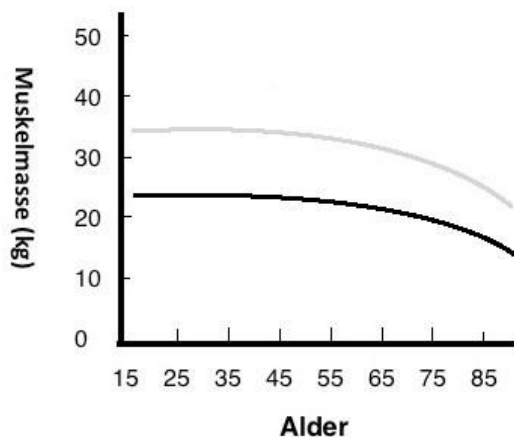
Forskningen viser en reduksjon i muskelmasse, muskelstyrke og eksplosivitet ved aldring. Sarkopeni beskriver den aldersrelaterte reduksjonen i muskelmasse, og er assosiert med redusert muskelstyrke og nedsatt funksjonsnivå (Clark & Manini, 2010; Fragala, Kenny, & Kuchel, 2015). Selv om de to begrepene sarkopeni og skrøpelighet overlapper hverandre, så defineres sarkopeni på bakgrunn av tap av muskelmasse, mens skrøpelighet er mer tilknyttet nedgang i muskelkvalitet og funksjon som følge av aldring. Avhengig av populasjonen og hvilke definisjoner som anvendes er forekomsten av sarkopeni estimert til å være 3-30% blant eldre på verdensbasis (Patel et al., 2013).

En tverrsnittsstudie på eldre i New Mexico viste at forekomsten var 10-20% mellom 60 og 70 år og 30-45% for personer i 80-årene (Baumgartner et al., 1998). Sarkopeni medfører store samfunnsmessige kostnader. I USA var tilstanden ansvarlig for omtrent 140 milliarder kroner i helseutgifter (2009). For å sette dette i perspektiv var beløpet 16 milliarder høyere enn utgifter knyttet til frakturer som følge av osteoporose (Clark & Manini, 2010).

Det er vist at reduksjonen i muskelstyrke skjer hurtigere enn endringen i muskelmasse (Clark & Manini, 2010). Muskelstyrken reduseres med 15% per tiår mellom 50 og 70 år, og rundt 30% per tiår etter fylte 70 år (Goodpaster et al., 2006). Mellom 50- og 80 års alder reduseres muskelmassen med omtrent 30-40% (Hunter, McCarthy, & Bamman, 2004). Delmonico et al. (2009) fulgte 1678 eldre mellom 70 og 79 år over 5 år. Kroppssammensetningen ble målt med DXA og analysene av tverrsnittsareal for lårmuskulaturen ble utført ved bruk av CT. Dataene fra studien viste at nedgangen av muskelstyrke i kneekstensorene var over 3 ganger større enn reduksjonen i muskelmassen. Nedgangen i muskelstyrke var henholdsvis 16% for menn og 13% for kvinner versus 5 og 3% reduksjon i tverrsnittsarealet av lårmuskulaturen (Delmonico et al., 2009). Dette stemmer overens med en metaanalyse av Mitchell et al. (2012), hvor reduksjonen i muskelmasse presentert som medianen av alle studiene var 0,47% per år for menn og 0,37% per år for kvinner. Dataene fra metaanalysen antyder at tap av muskelmasse og muskelstyrke skjer hurtigere etter 75 års alderen; nedgangen i muskelmasse per år var 0,80-0,98% for menn og 0,64-0,70% for kvinner etter fylte 75 år. Nedgangen i muskelstyrke per år var 3-4% for menn og 2,5-3% for kvinner (Mitchell et al., 2012). Funnene understreker at tap av muskelstyrke skjer hurtigere enn reduksjonen i muskelmasse, og at den årlige nedgangen skjer raskere jo eldre man blir.

Janssen et al. (2000) rapporterer om forskjell i tap av muskelmasse mellom kvinner og menn (figur 1). Menn, som generelt har større muskelmasse enn kvinner, mister mest muskelmasse som følge av aldring (Janssen, Heymsfield, Wang, & Ross, 2000). Det kan tenkes at potensiale for tap av muskelmasse er større hos menn på grunnlag av at utgangspunktet er høyere. Det er videre observert at eksplosiviteten synker i større grad enn både muskelstyrken og muskelmassen ved aldring (Lauretani et al., 2003).

Misforholdet mellom muskelmasse og muskelstyrke/eksplosivitet indikerer at det også er andre faktorer enn muskelmassen som er betydningsfulle for muskelstyrken.



Figur 1: Forholdet mellom muskelmasse og alder. Grå linje representerer menn, og svart linje representerer kvinner (Karsrud 2017). Basert på figur fra Jansen et al., 2000.

### 2.1.2 Hvordan endres muskelmassen?

Ved aldring endres flere faktorer som er viktig for muskelmasse, muskelstyrke og eksplosivitet. Det er vist en reduksjon både i antall (hypoplasi) og størrelse (atrofi) av muskelfibrene. Det er noe motstridende funn i litteraturen om hvorvidt hypoplasi forekommer hyppigere av type II enn type I-fibre (Lexell et al., 1983; McGregor et al., 2014). Det er derimot konsistente funn som viser at atrofi av type II er større enn av type I-fibre ved aldring (Andersen, 2003; McGregor et al., 2014). Det er observert 25% mindre fiberareal i type I-fibre hos eldre (88 år), sammenliknet med unge (25 år). Atrofi av type II-fibrene er vist å være det dobbelte (57%) av det som er observert i type I-fibrene. Årsaken kan være manglende aktivering og bruk av type II-fibrene, som videre kan føre til atrofi som følge av lite stimuli (Andersen, 2003). Det ser ut til at fibertypesammensetningen er relativt lik hos eldre sammenliknet med yngre. Det er derimot vist at det prosentvise området bestående av type II-fibre er signifikant lavere hos eldre sammenliknet med yngre individer (Verdijk et al., 2014). Type II-fibre har høy forkortningshastighet og er viktige for muskelens evne til å generere maksimal kraft og eksplosivitet (Fragala et al., 2015). Reduksjonen i fiberarealet av type II-fibrene er derfor en viktig faktor for redusert eksplosivitet hos eldre (Hunter et al., 2004). I tillegg til reduksjon i fiberareal er det også funn som tyder på at type II-fibernes kontraktile egenskaper endres ved aldring. Endringer i volum og funksjon av sarkoplasmatiske retikulum (SR) kan medføre redusert kontraksjonshastighet og dermed påvirke

eksplosiviteten (Fragala et al., 2015). Selv om fokuset har vært mest rettet mot aldrende muskulatur og makrostrukturer, er det viktig å ta i betraktning de kvalitative endringene i ultrastrukturen (Fragala et al., 2015). Muskelens kontraktile egenskaper avhenger av kryssbroformasjon og myofilamentglidning. Endringer i mengden kontraktile proteiner kan påvirke muskelfiberens evne til å produsere kraft (Frontera et al., 2000).

### **2.1.3 Effekten av trening**

Forskjellige treningsprotokoller er vist å være effektive for økning i muskelmasse, muskelstyrke og muskelkvalitet hos eldre. Tung styrketrening med tilstrekkelig treningsmotstand (70-90 % av 1 repetisjon maksimum (RM), frekvens og varigheten (tre dager i uken i 8-12 uker), gir gode effekter på muskelmasse og muskelstyrke hos eldre individer (De Vos et al., 2005; Fielding, 1995). En metaanalyse av Peterson et al. (2010) tok for seg 47 studier med totalt 1079 deltakere (>50 år). Varigheten på studiene var i hovedsak mellom 6 og 24 uker (én studie på 26 uker og to over 1 år).

Treningsmotstanden varierte fra 40 til 80% av 1RM. Den prosentvise endringen var henholdsvis 29% (beinpress), 24% (benkpress), 33% (kneekstensjon) og 25% for nedtrekk (Peterson, Rhea, Sen, & Gordon, 2010). Prosentvis økning i muskelstyrke er nesten like stor som hva som rapporteres for yngre individer (Kraemer, Ratamess, & French, 2002).

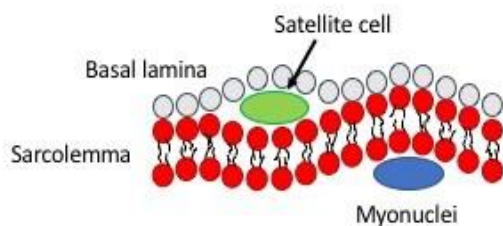
På muskelfibernivå fører styrketrening til hypertrofi av muskelfibre og økt omsetning av muskelspesifikke proteiner. I tillegg er det vist et skifte i uttrykket av myosin heavy chain (MHC) isoformene fra MHC IIx til MHC IIa (Fragala et al., 2015). Fibertype IIx kjennetegnes av høy kontraksjonshastighet, men til gjengjeld er denne fibertypen lite energiøkonomisk. Fibertype IIa har en rask-moderat kontraksjonshastighet og oksidativ kapasitet (Scott, Stevens, & Binder-Macleod, 2001). Studier tyder på at økningen i det totale muskelfiberarealet i hovedsak skyldes hypertrofi av type II muskelfibre (Häkkinen et al., 1998; Kryger & Andersen, 2007). Studiene analyserte type II-fibre samlet uten spesifikk analyse av subgruppene (MHC IIx og MHC IIa) til fibertypen. På bakgrunn av type II-fibrenes høye forkortningshastighet, så vil hypertrofi av type II-fibre bidra til økt eksplosivitet hos eldre (Hunter, 2004).

Selv om det er vist at styrketrening gir god hypertrofisk effekt hos eldre individer, så kan det ut som effekten er noe mindre hos de aller eldste (Slivka, Raue, Hollon, Minchev, & Trappe, 2008). Etter 12 uker med styrketrening ble det observert en økning på 2,5% i tverrsnittsareal av låret målt med CT hos eldre menn mellom 80 og 86

år (Slivka et al., 2008). Det ble også gjort analyser av enkeltfibre som viste ingen endring i diameter, kontraktil funksjon og MHC distribusjon. Den samme forskergruppen gjennomførte en liknende protokoll på eldre menn mellom 60 og 80 år, og etter 12 uker med styrketrening ble det rapportert om 7% økning i tverrsnittsareal av låret (Godard, Williamson, & Trappe, 2002). Dette kan tyde på at effekten av styrketrening avtar noe når eldre menn passerer 80 år.

## 2.2 Satellittcellen

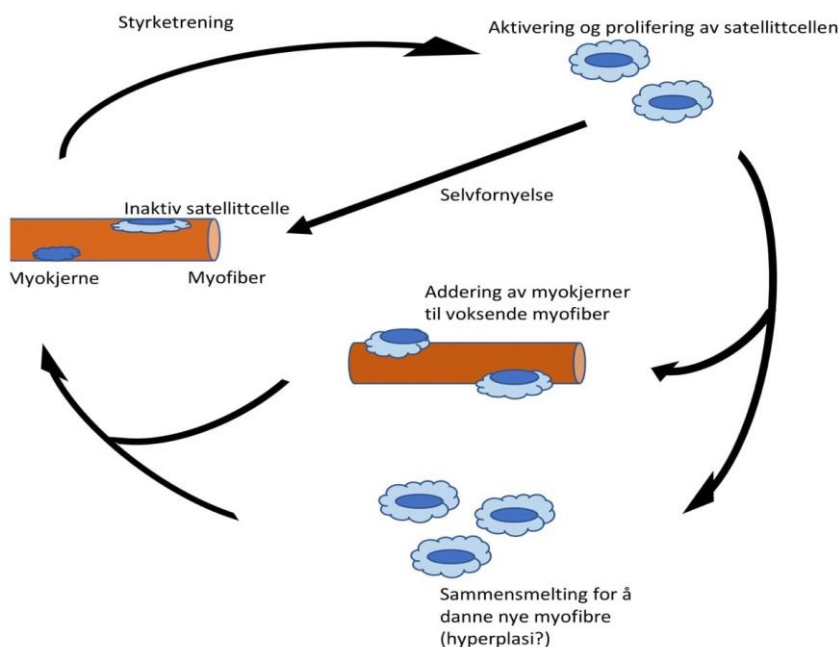
Hypertrofi av muskelfibrene ser ut til å være avhengig av dannelsen av flere myokjerner slik at kjernedomenet opprettholdes (Hawke & Garry, 2001). Siden muskelfibrene ikke kan utføre mitose, er økning i antall cellekjerner i muskelfibrene avhengig av en liten gruppe celler, satellittcellene. Satellittcellene er fysiologisk adskilt fra muskelfibrene, og befinner seg mellom sarkolemma og basal lamina (figur 2). Som respons til stimuli som for eksempel ved skade på muskelfiberen som følge av styrketrening, aktiveres satellittcellene. Cellene prolifererer og «smelter» sammen med eksisterende muskelfibre (hypertrofi), eller smelter sammen med hverandre for å danne nye fibre (hyperplasi) (figur 3) (Hawke & Garry, 2001). Satellittceller kan også generere nye datterceller for å vedlikeholde eller øke mengden tilgjengelige satellittceller (Mackey et al., 2007). Helt overordnet ser det ut til at satellittcellene er viktige for vedlikehold, reparasjon og vekst av muskelfibrene (Verdijk et al., 2007).



Figur 2: Satellittcellen ligger mellom sarkolemma og basal lamina i motsetning til myokjernen som ligger på insiden av sarkolemma (Karsrud 2017).

Opp igjennom tidene har forskere forsøkt å forstå hvilke signalveier som fører til aktivering, proliferering og differensiering av satellittcellen. Det ser ut til at insulin-like growth factors I og II (IGF-I og IGF-II) bidrar til å øke prolifereringen og differensieringen av satellittcellen. I en dyrestudie ble intramuskulære injeksjoner av vekstfaktorene utført på skadede dyr. Dette resulterte i økt proliferering av satellittcellene og økning i muskelmassen. MRFene (en gruppe regulatoriske faktorer som er viktig for utviklingen av muskelceller), *nitrogenoksid (NO)* og *hepatocyte growth factor (HGF)* er andre regulatoriske faktorer som er assosiert med prolifereringen av satellittcellen (Hawke & Garry, 2001).

En nyere studie av Goh & Millay (2017) gjennomført på mus, har vist at myomaker, et muskelspesifikt membranprotein, kan være essensielt for fusjon av satellittcellen. Proteinet er primært oppregulert i aktiverte satellittceller, og etter 14 uker med overbelastning av *m.plantaris* hos myomaker «knockout» mus var det ingen endring i verken muskelfiberareal, muskelfiberantall, anabol signalering eller proteinsyntese. Hos ordinære mus ble det derimot vist en tydelig økning i alle faktorene. Studien viste også at fusjonen av satellittceller var blokkert hos myomaker knockout mus etter 14 dager med overbelastning. Dette ble gjort ved inntak av daglige doser 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) igjennom hele overbelastningsperioden for at BrdU skulle bindes til prolifererende celler (inkludert satellittceller). Videre ble det undersøkt hvor stor andel BrdU positive myokjerner som var inkorporert i muskelfiberen. Resultatene viste en fusjon av satellittceller i cirka 30% av muskelfibrene hos kontroll mus (overbelastning uten myomaker knockout). Hos myomaker knockout mus ble det derimot observert ingen fusjon av BrdU positive satellittceller (Goh & Millay, 2017). Disse funnene tyder på at myomaker er et interessant protein i mysteriet om hvilke faktorer som kan påvirke fusjonen av satellittceller. Studien er gjennomført på mus og resultatene er ikke nødvendigvis direkte overførbare til mennesker under treningsindusert hypertrofi.



*Figur 3: Satellittcellen kan aktiveres som følge av styrketrening. Satellittcellen returner tilbake til en hvilende tilstand eller starte prolifisering. Etter prolifisering kan satellittcellen enten addere flere myokjerner til en voksende muskelfiber eller smelte sammen med andre satellittceller for å danne nye fibre (figur Karsrud 2017; basert på Hawke & Garry 2001)*



### 2.2.1 Identifisering av satellittcellen

*Elektronmikroskopi* anses å være gullstandarden for identifisering av satellittcellen. På en annen side byr metoden på ulike utfordringer. Vevsmengden som analyseres er svært liten (vanligvis mindre en 1x2 mm) og analysene er svært tidkrevende. På bakgrunn av dette har immunohistokjemiske markører blitt utviklet for identifisering av satellittcellen (S Hikida, 2011).

*Paried box protein 7 (PAX7)* er kjent for å være uttrykt i kjernen av satellittceller under utvikling, og er kun uttrykt i voksen-stadiet. PAX7 er den mest anvendte markøren for identifisering av satellittcellen i dyrestudier. PAX7 er vist å være en spesifikk markør uttrykt i alle hvilende og prolifererende satellittceller (Seale et al., 2000) i flere forskjellige arter, inkludert mennesker (McLoon & Wirtschafter, 2003). De siste årene har antistoff mot PAX7 blitt benyttet i flere studier på mennesker. Fra 2009-2014 ble det publisert i overkant av 30 artikler hvor merking mot PAX7 ble brukt for å identifisere satellittcellen (Snijders et al., 2015). Dette tyder på at antistoff mot PAX7 er blitt mer akseptert for å identifisere satellittcellen hos mennesker de siste årene.

Studier har undersøkt validiteten til antistoff mot PAX7 ved å sammenlikne med andre antistoffer. Reimann et al. (2004) sammenliknet antistoff mot PAX7 og M-cadherin (M-cad) for identifisering av satellittceller i friske muskelceller som er differensiert og ferdig utviklet. Studien viste et lavere antall PAX7 positive celler i satellittcelle posisjon i forhold til satellittceller merket med antistoff mot M-cad. Studien konkluderte med at antistoff mot M-cad burde prioriteres foran PAX7 for identifisering av satellittcellen (Reimann et al., 2004). På en annen side er det også vist at merking med antistoff mot M-cad kan underestimere antall satellittceller (Cornelison & Wold, 1997). Sajko et al. (2004) brukte antistoff mot M-cad for å identifisere satellittcellen. Resultatene fra studien viste det laveste antallet satellittceller rundt muskelfibrene som noen gang er observert hos mennesker. Andre studier har sammenliknet merking mot PAX7 med antistoff mot neural cell adhesion molecule (NCAM/CD56) (Lindström & Thornell, 2009; Mackey et al., 2009; McKay, Toth, Tarnopolsky, & Parise, 2010; Mikkelsen et al., 2009; Verdijk et al., 2007). Noen av studiene viste at en høyere prosentandel satellittceller ble merket av NCAM i forhold til Pax7 (ca. 5%) (Lindström & Thornell, 2009; Mackey et al., 2009; Mikkelsen et al., 2009), mens andre studier har vist det motsatte (McKay et al., 2010; Verdijk et al., 2007). På bakgrunn av spesifikk binding til satellittceller i muskulaturen, så ser det ut til

at antistoff mot PAX7 er et pålitelig og nøyaktig antistoff for identifisering av satellittcellen.

### **2.2.2 Satellittceller og aldring**

Det er motstridende funn i litteraturen om hvorvidt mengden satellittceller endres ved aldring. Noen studier rapporterer om lik mengde hos unge og eldre (Hikida et al., 1998; Roth et al., 2000), mens funn i andre studier tyder på at mengden satellittceller er redusert hos eldre (Kadi et al., 2004a; Sajko et al., 2004). Studiene har anvendt ulike metoder for identifisering av satellittcellen, noe som gjør det vanskelig å sammenlikne resultatene. Hikida et al. (1998) og Roth et al. (2000) analyserte med bruk av elektronmikroskopi, mens Kadi et al. (2004) og Sajko et al. (2004) brukte en immunhistokjemisk metode, men med ulike antistoffer (anti-NCAM og anti-M-cad). Det ser ut til at det er muskelfiberspesifikke forskjeller i reduksjonen i antall satellittceller ved aldring da det er observert størst forskjell mellom yngre og eldre i type II muskelfibre (Verdijk et al., 2007). En studie av Verdijk et al. (2014) sammenliknet muskelbiopsier fra yngre (<18 år), unge voksne (18-49 år), eldre (50-69 år) og gamle (70-86 år) individer. Korrelasjonsanalysene viste en sammenheng mellom økende alder og reduksjon i antall satellittceller rundt type II muskelfibre ( $r = -0.57$ ). Det var ingen korrelasjon mellom økende alder og antall satellittceller rundt type I-fibre. Satellittcelleantall rundt type II-fibre relativt til totalt antall myokjerner, og per kvadratmillimeter av muskelfiberareal, var vesentlig lavere ved aldring. Hos de yngste deltakerne var det ingen forskjell i satellittcelle innhold rundt type I og type II-fibre.

### **2.2.3 Effekten av trening**

Styrketrening er et stimuli for å aktivere satellittcellen og det er rapportert 70% høyere mengde satellittceller i *m. trapezius* hos erfarne styrkeløftere i forhold til utrente kontroller (Kadi et al., 2005). En nyere studie av Damas et al. (2018) på utrente menn viste at antall satellittceller rundt muskelfibre økte allerede 48 timer etter den første styrkeøkten i forhold til pre-verdier (Damas et al., 2018). Dette tyder på at antall satellittceller øker raskt når utrente begynner med styrketrening. Også hos eldre kvinner og menn er det rapportert om økt antall satellittceller etter en periode med styrketrening. Tolv uker med styrketrening medførte 27% økning i NCAM positive celler. Resultatene fra studien viste også ingen sammenheng hverken mellom alder og antall satellittceller ved baseline, eller mellom alder og satellittcellerespons som følge av trening. Det var

heller ingen kjønnsesifikke forskjeller (Mackey et al., 2007). At det skjer en økning i satellittcelleantall etter styrketrening støttes opp av en annen studie hvor eldre menn og kvinner gjennomførte 9 ukers styrketrening. Styrketreningen førte til økt andel satellittceller i forhold til kontrollgruppen (Roth et al., 2001). Verdijk et al. (2014) rapporterer om fiberspesifikke endringer i antall satellittceller etter en periode med styrketrening. 12 uker med styrketrening førte til en økning i antall satellittceller i type II-fibrene fra 0.049 per fiber ved baseline til 0.074 ved post-test. Den samme studien viste ingen endring i type I-fibrene. Ved baseline var fiberareal og satellittcelle innhold lavere i type II-fibrene sammenliknet med type I-fibrene. Etter 12 uker med tung styrketrening var det ingen forskjell mellom fibertypene. (Verdijk et al., 2014).

## **2.3 Myokjerner**

Muskelcellen er multinukleær og hver myokjerne styrer et spesifikt område av muskelcellen (Hall & Ralston, 1989; Pavlath, Rich, Webster, & Blau, 1989). «Styrer» vil si at hver enkelt myokjerne regulerer gentranskripsjonen og dermed proteinsyntesen i et bestemt område av cytoplasma, området omtales ofte som kjernedomenet (Cheek, Holt, Hill, & Talbert, 1971; Rehfeldt et al., 2007). Det ser ut som at størrelsen på kjernedomenet ikke alltid holdes konstant, og eksempelvis atrofi som følge av aldring, kan føre til at kjernedomenet reduseres. Dette som følge av at reduksjonen i fiberareal overstiger nedgangen i antall myokjerner (Petrella et al., 2006). I tillegg er det vist at økning av proteinsyntesen i eksisterende myokjerner kan føre til hypertrofi uten dannelse av nye myokjerner (Edgerton & Roy, 1991). I motsetning til dette er det også vist korrelasjon mellom antall myokjerner og muskelfiberareal (Allen et al., 1999).

### **2.3.1 Myokjerner og aldring**

Hvorvidt det skjer en endring i antall myokjerner direkte relatert til aldring er omdiskutert (Snijders et al., 2009). Noen studier viser muskelatrofi som følge av aldring uten reduksjon i antall myokjerner (Roth et al., 2000; Verdijk et al., 2007), mens andre studier rapporterer et økt innhold myokjerner hos eldre (Kadi et al., 2004a; Verdijk et al., 2007). I tillegg rapporterer Verdijk et al. 2014 om lavere innhold myokjerner i type II-fibrene hos eldre individer (70-86 år) sammenliknet med unge voksne (19-49 år). Data fra den samme studien viste også lavere innhold myokjerner i type II-fibrene vs. type I-fibrene hos eldre (50-69 år) og gamle (70-86 år). Hos de unge voksne var det ingen forskjell mellom fibertypene (Verdijk et al., 2014). Ulike resultater mellom de forskjellige studiene kan skyldes manglende muskelfiberspesifikke data. Det ser ut som

den aldersrelaterte endringen av myokjerneinnhold er størst i type II-fibrene og analyser av begge fibertypene samlet vil ikke kunne avsløre dette. Selv om endringer i antall myokjerner er noe usikkert ved aldring kan det tenkes at det forekommer endringer i funksjon og størrelse av hver enkelt myokjerne. En studie utført på rotter undersøkte dette og det ble det vist strukturelle og funksjonelle endringer i myokjernene i type II-fibrene. Eldre rotter hadde mindre myokjerner og økt mengde kondensert kromatin. Dette kan føre til redusert mengde pre-mRNA som videre kan påvirke syntesen av muskelspesifikke proteiner (Malatesta, Perdoni, Muller, Zancanaro, & Pellicciari, 2009). Studien var derimot ikke gjennomført på mennesker, og resultatene bør tolkes med forsiktighet.

### **2.3.2 Effekten av trening**

Det er sprikende funn om hvorvidt antall myokjerner endres etter en periode med styrketrening. Lite konsistente funn i forskningen kan skyldes ulik grad av hypertrofi som følge av styrketreningen i de forskjellige studiene. Ulik grad av hypertrofi er betydningsfullt, da det er vist at 10% økning i fiberareal er den nedre grensen for addering av nye myokjerner (Conceição et al., 2018). I tillegg er det rapportert at høyere grad av hypertrofi kan føre til større addering av nye myokjerner (S Hikida, 2011). Hikida et al. (1998) undersøkte effekten av styrketrening på endringer i antall myokjerner hos eldre (65 år) og yngre menn (23 år). Det ble vist en økning i antall myokjerner etter 8 uker med styrketrening hos de utrente unge mennene. De eldre deltakerne gjennomførte samme styrketreningsprotokoll som de yngre, bortsett fra at intervensjonen varte i 16 uker (12 økter mer enn de yngre). Det ble observert ingen endring i antall myokjerner etter 16 uker med styrketrening. Studien viste at antall myokjerner var relatert til fiberarealet hos de yngre (både før og etter treningsintervensjonen). Denne relasjonen ble ikke observert hos de utrente eldre (pre-test), men etter styrketreningsperioden ble det vist en sammenheng mellom de to ovennevnte variablene (Hikida et al., 1998). Det er vist økt antall myokjerner etter en styrketreningsintervensjon hos eldre kvinner (Mackey et al., 2007), men studier har også rapportert at hypertrofi kan forekomme uten økning i antall myokjerner hos eldre (Verdijk et al., 2009; Verney et al., 2008). Så vidt meg bekjent finnes det per i dag kun én studie som har undersøkt endringer i myokjerneantall etter en styrketreningsperiode hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (Dirks et al., 2017). I denne studien gjennomførte 34 kvinner og menn (77 år) en styrketreningsintervensjon i 24 uker. Den ene gruppen inntok to proteinsupplement daglig, mens kontrollgruppen kun

gjennomførte styrketreningen. Seks måneder med trening resulterte i en økning fiberareal av type II-fibre i proteingruppen uten endringer i hverken myokjerne- eller satellittcelleantall (Dirks et al., 2017). Dataene fra studien kan tyde på at hypertrofi kan forekomme uten endringer i myokjerne- og/eller satellittcelleantall hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Studien viste også at tilstrekkelig med proteiner er vesentlig for økning i muskelmasse og muskelstyrke hos de aller eldste (Dirks et al., 2017). Økt hypertrofi uten endring i antall myokjerner kan forklares ved at atrofi av muskelfibre kan skje uten tap av myokjerner. Det kan se ut som at eldre generelt har større tetthet av myokjerner og lavere kjernedomenet enn yngre individer. Dette kan føre til at betydelig hypertrofi kan forekomme uten addering av nye myokjerner.

## **2.4 Oppsummering**

Ved aldring skjer det en reduksjon i muskelmasse og muskelstyrke som videre vil påvirke den fysiske funksjonsevnen i negativ retning. Muskelstyrken reduseres i større grad enn muskelmassen ved aldring, noe som tyder på kvalitative endringer av muskelfibre. Begrepet muskelkvalitet tar utgangspunkt i dette misforholdet, og er en viktig faktor for utviklingen av skrøpelighet. Det er noe usikkerhet rundt årsaken til reduksjonen i muskelmasse og muskelstyrke ved aldring. Kombinasjonen av den biologiske aldringsprosessen og nedsatt fysisk aktivitetsnivå ser ut til å være sterke årsaksfaktorer. Stor variasjon i muskelmasse og muskelstyrke mellom jevnaldrende individer tyder på at redusert aktivitetsnivå, nok er den viktigste av de to faktorene. Aldring fører til en fiberspesifikk reduksjon av fiberareal med påfølgende redusert antall satellittceller rundt type II-fibre. Styrketrening kan bidra til å motvirke denne reduksjonen. I tillegg ser det ut til at styrketrening er en effektiv strategi for hypertrofi av type II-fibre, samt å øke antall satellittceller rundt fibertypen. Styrketrening kan også øke antall myokjerner hos eldre, men betydningen av antall myokjerner er noe usikker da hypertrofi kan forekomme uten endringer i antall myokjerner. Mangel på biopsianalyser gjør det vanskelig å si hvordan muskulaturen endres som følge av styrketrening hos eldre med lavt funksjonsnivå. Data fra én enkelt studie bør tolkes med forsiktighet, men det kan se ut som hypertrofi kan forekomme uten endringer i myokjerne- og satellittcelleantall hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå.

### **3. Metode**

Denne oppgaven er en del av et større prosjekt «STAS – styrketrening for eldre med lavt fysisk funksjonsnivå». Første runde av prosjektet ble gjennomført i 2016 og andre runde i 2017. Dette var omfattende prosjekter hvor det ble gjennomført mange ulike tester. Denne oppgaven vil kun inkludere relevante resultater for å besvare min problemstilling. Prosjektene ble gjennomført i henhold til Helsinki deklarasjonen, og ble godkjent i regional etisk komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, Sør-Øst Norge. Alle deltakerne som ble inkludert i studien underskrev informert samtykke (vedlegg 1) og ble informert om potensielle risikoer ved å delta i prosjektet.

#### **3.1 Utvalg**

Totalt ble trettitre deltakere rekruttert til studien. Studien inkluderte menn og kvinner i alderen 67-96 år. Deltakere ble rekruttert fra aldersboliger, dagsenter og eldrecenter, og «the Fried Frailty Criteria» (vedlegg 2) ble brukt for å undersøke om deltakerne kunne delta i studien. Disse kriteriene består av fem ulike aspekter (vekttap, utmattelse, lavt aktivitetsnivå, lav håndgrepsstyrke og lav ganghastighet). Deltakerne fikk en poengsum mellom 0-5 poeng og en eldre person (>65 år) ble ansett som skrøpelig hvis tre eller flere av disse kriteriene var innfridd. Individuer med en eller to av kriteriene ble ansett som pre-skrøpelig. Alle deltakerne som oppfylte tre eller flere kriterier ble inkludert. I tillegg ble deltakere karakterisert som pre-skrøpelig inkludert dersom de oppfylte minst to av kriteriene «svakhet», «treghet» og «lavt aktivitetsnivå». Ved inklusjon til studien gjennomførte potensielle deltakere et testbatteri for å måle fysisk prestasjon (vedlegg 3). Deltakere med lav poengsum på testbatteriet (0-6) kunne inkluderes uavhengig av poengsummen fra «the Fried Frailty Criteria». Ved inklusjon ble blodtrykk og blodprofil målt, samt at alle deltakere fylte ut «kartleggingskjema for helse» (vedlegg 4).

## 3.2 Formål

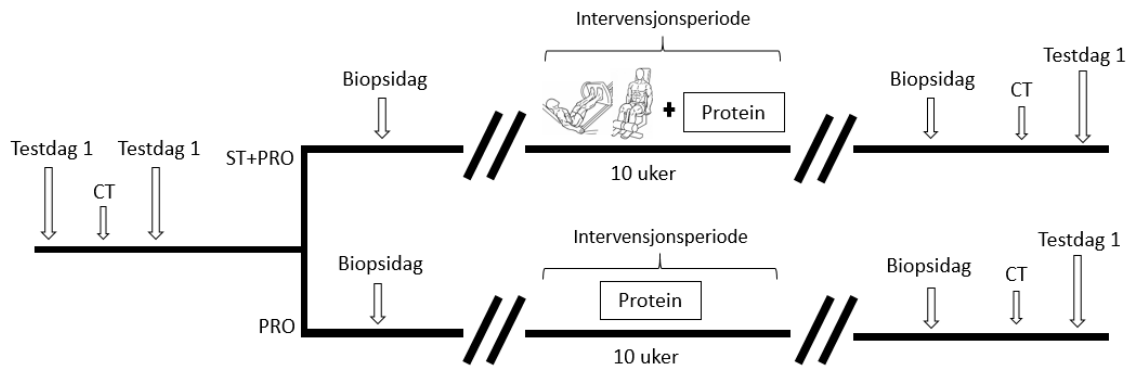
Formålet med studien var å undersøke muskelkvalitet og hvordan styrketrening kan påvirke muskelkvaliteten hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Denne oppgaven har hovedfokus på endringer i myokjerner, satellittceller og fiberareal etter ti uker med styrketrening. For å oppnå optimal effekt av styrketreningen fikk deltakerne utdelt én kartong med *Tine Styrk* hver dag, som inneholdt 17 g protein og 290 kilokalorier,

## 3.3 Studiedesign

Trettitre deltakere ble randomisert i to grupper ved bruk av stratifisert randomisering på bakgrunn av utvalgte baselineverdier (relativ muskelstyrke, stoltest og ganghastighet).

Den ene gruppen gjennomførte tung styrketrening to ganger i uken i ti uker i tillegg til å motta proteinsupplement daglig under hele perioden (ST+PRO) (n=19).

Kontrollgruppen fikk *kun* proteinsupplement, og gjennomførte ikke styrketrening (PRO) (n=14). 25 deltakere fullførte intervensjonen. Det høye frafallet skyldtes urelaterte helseplager, knesmerter, hoftesmerter, manglende motivasjon eller død. På grunn av stort frafall i ST+PRO (n=7) fikk deltakerne i PRO mulighet til å gjennomføre samme treningsintervensjon som ST+PRO, for deretter å bli testet på nytt. Syv deltakere i PRO var villig til å delta, hvorav fem deltakere fullførte treningsperioden. Kun en av disse ble inkludert i analysene i denne oppgaven på grunn av at biopsitakingen ble gjennomført etter analysene var utført (2018), og dårlig kvalitet på biopsiene (2017). Av ulike grunner kunne ikke alle deltakerne gjennomføre alle testene, og antall deltakere på biopsianalysene er spesielt lavt. Dette skyldes at enkelte deltakere ikke kunne ta biopsi på grunn av medisinbruk (n=2), fordi biopsitaking ble problematisk på grunn av liten muskelbuk og/eller mye underhudsfett (n=3), og fordi kvaliteten på muskelbiopsiene i noen tilfeller ikke var tilfredsstillende (n=4). Treningen ble gjennomført på deltakernes respektive aldersbolig, dagsenter eller eldresenter, og testingen ble utført på Norges Idrettshøgskole (NIH). På testdagen utførte deltakerne måling av kroppssammensetning, tykkelse og arkitektur av *m. quadriceps femoris* (ultralyd), maksimal frivillig aktivering av *m. quadriceps femoris* (twitch interpolerings teknikk), maksimal muskelstyrke (1 RM kneekstensjon) og funksjonelle tester (stoltest x5 og ganghastighet). Testene ble utført to ganger før intervensjonsperioden, og en gang etter. I tillegg ble det utført Computed Tomography (CT)-skanninger både før og etter intervensjonsperioden (ved Aleris Røntgen, Oslo).



Figur 4: Studiedesign

### 3.4 Tester

#### 3.4.1 Dual energy x-ray absorptiometry (DEXA)

Fettprosent og fettfri masse i bein ble undersøkt ved bruk av Dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) (Lunar iDXA, GE Healthcare). Testen ble ikke gjennomført fastende, men dette vil ha minimal påvirkning på fettfri masse i bein.

#### 3.4.2 Computertomografi (CT)

Alle deltakerne gjennomførte en CT skann på Aleris Røngten. Tre ulike snitt av venstre og høyre lår ble avbildet. Bildene ble tatt ved 1/3, 1/2 og 2/3 av den totale distansen mellom leddspalten i kneet og *trochanter major*. I denne oppgaven vil resultatene fra *m. quadriceps femoris* fra snittet midt på låret benyttes. Bildene ble analysert med Fiji (Imagej2, Maryland, USA). Vevet ble delt i fettmasse og muskelmasse basert på tetthet (gråtoneskala).

#### 3.4.3 Maksimal muskelstyrke (1RM)

Maksimal muskelstyrke ble testet i et kneekstensjonsapparat (Gym Equipment, Vikersund, Norway). Testen ble gjennomført på hvert bein separat (unilateralt). I forkant av testen gjennomførte deltakerne en generell oppvarming bestående av 5 minutter sykling på 70 watt etterfulgt av en spesifikk oppvarming i kneekstensjonsapparatet. Den spesifikke oppvarmingen bestod av 10, 6 og 3 repetisjoner med gradvis økende belastning. Deretter gjennomførte deltakerne maksimale forsøk på annethvert bein helt til de ikke lenger var i stand til å oppnå godkjent løft. Det første forsøket ble utført på en vekt som tilsvarte 90-95 % av forventet 1RM, og vekten ble økt med rundt 2,5-5% for hvert godkjent forsøk. Hvert forsøk ble adskilt med 2-3 minutters pause. Deltakerne ble instruert til å ta i maksimalt i



hvert forsøk og verbal oppmuntring ble gitt helt til deltakerne oppnådde tilstrekkelig ekstensjon i kneleddet. Tiltak ble gjort for å sørge for at deltakerne *kun* utøvde kraft med ønsket bein (belte over hofte og fysisk tilbakeholdelse av motsatt bein). Godkjent løft ble individuelt målt for hver enkelt deltaker under den spesifikke oppvarmingen. En pinne ble montert horisontalt over vektskivene på det punket hvor hver enkelt deltaker oppnådde full ekstensjon i kneleddet. Forsøket ble godkjent så lenge toppen av vektskiven berørte pinnen. Både lokalisasjonen av pinnen og innstillinger på apparatet ble notert, og de samme innstillingen ble brukt på post-testene.

#### **3.4.4 Stoltest**

Hensikten med denne testen var å undersøke deltakernes funksjonsnivå relatert til å reise seg opp fra en stol. Deltakerne ble instruert til å reise seg opp og sette seg ned på en stol så raskt de klarte 5 ganger. Deltakerne måtte ha full ekstensjon i kneleddet i øvre posisjon og sitte ned markant ved å løfte føttene fra bakken i nedre posisjon. Testen startet i nedre posisjon og stoppeklokken ble stoppet i øvre posisjon på siste repetisjonen.

#### **3.4.5 Ganghastighet**

Hensikten med testen var å teste deltakernes vanlige og maksimale ganghastighet. En gangbane på 10 meter ble målt opp, og fotoceller (Brower Timing Systems) ble plassert på 2 og 8 meter. Deltakerne ble instruert til å gå i sitt vanlige gangtempo over gangbanen tre ganger og gjennomsnittet av de tre forsøkene ble brukt til å definere ganghastighet under vanlig gange. Deretter gjennomførte deltakerne den samme testen, men med maksimal hastighet. Det beste resultatet av de tre målingene ble brukt som maksimal ganghastighet. Det var tillatt med hjelpemiddel dersom deltakeren følte seg utrygg uten, og de som anvendte hjelpemiddel under pre-test brukte det samme hjelpemiddelet ved post-test.

### 3.5 Treningsprotokoll

Treningsprogrammet for ST+PRO bestod av step-up, beinpress, kneekstensjon og modifisert ett-beins knebøy. Belastningen ble tilpasset basert på individuell progresjon. Hver økt varte mellom 20-40 minutter. Tabell 1 viser treningen som ST+PRO-gruppen gjennomførte

Tabell 1: Styrketreningsprogrammet som ble gjennomført av ST+PRO

Oppvarming: 5 min sykling  
på ergometersyssel

Uke	Øvelse	Økt 1			Økt 2		
		Serier	Rep	Motstand	Serier	Rep	Motstand
1	Step-up på kasse	1	10	<RM	1	10	<RM
	Beinpress	3	12	<RM	3	12	<RM
	Kneekstensjon	3	12	<RM	3	12	<RM
	Ettbeins knebøy	2	12	<RM	2	12	<RM
		Serier	Rep	Motstand	Serier	Rep	Motstand
2-4	Step-up på kasse	1	10	<RM	1	10	<RM
	Beinpress	3	12	RM	3	10	RM
	Kneekstensjon	3	12	RM	3	10	RM
	Ettbeins knebøy	2	10	RM	2	10	RM
		Serier	Rep	Motstand	Serier	Rep	Motstand
5-7	Step-up på kasse	1	10	<RM	1	8	RM
	Beinpress	3	10	RM	3	8	RM
	Kneekstensjon	4	10	RM	4	8	RM
	Ettbeins knebøy	2	10	RM	2	8	RM
		Serier	Rep	Motstand	Serier	Rep	Motstand
8-10	Step-up på kasse	1	8	<RM	1	6	<RM
	Beinpress	3	8	RM	4	6	RM
	Kneekstensjon	4	8	RM	4	6	RM
	Ettbeins knebøy	2	8	RM	2	6	RM

<, submaksimal motstand

### 3.5.1 Proteinsupplement

Begge gruppene inntok Tine Styrk 330 ml hver dag under hele intervensjonsperioden. Drikken inneholdt 151,8 kcal, 3,5 g fett, 18,5 g karbohydrat og 17,8 gram protein per enhet, og deltakerne inntok denne på kvelden. Deltakerne i ST+PRO-gruppen konsumerte supplementet innen to timer etter økten på trenings dager og på kvelden på de resterende dagene.

## 3.6 Muskelbiopsier

Pre (før intervensjonen) og post (etter intervensjonen) ble det tatt muskelbiopsi av *m. vastus lateralis* en time etter en standardisert frokost med lavt proteininnhold. 30 min senere gjennomførte deltakerne i ST+PRO-gruppen en styrketreningsøkt med en varighet på 20 min. To og en halv time etter økten ble det tatt enda en biopsi fra *m. vastus lateralis*. Før inngrepet ble huden rundt inngrepsområdet desinfisert. Det ble gitt lokal anestesi (xylocain adrenalin, 10 mg/ml+5mikrog/ml) før biopsitakingen. Det ble snittet 10-15mm gjennom huden og muskelfascien. Biopsitakingen ble gjennomført etter en modifisert Bergström metode med vakum; En steril 6 mm biopsinål ble ført inn gjennom det åpne snittet og videre inn i muskelen. Det ble tatt to til tre 50-100 mg muskelbiopsier. Vevet ble videre fordelt til ulike formål. Biten til immunohistokjemi bestod av en bunt fine og rette fibre. Biten ble lagt i en form og dekket med OCT (CellPath O.C.T embedding matrix, Newtown, Storbritannia) før det ble fryst på isopentan kjølt ned til smeltepunkt på flytende nitrogen. Prøvene ble så lagret og oppbevart i ultrafryser (-80°C) frem til videre analyser.

### 3.6.1 Snitting av muskelbiopsiene

Muskelbiopsiene ble tatt ut av ultrafryseren (-80°C) og lagt i kryostat (CM 1860UV, Leica Microsystems, Nussloch, Tyskland) i 30 min sammen med annet utstyr (skalpell, pinsetter og pensler) som benyttes under snitting. Vevsbiten ble festet til en kutteskruer med OCT før kutteskruen ble montert til kryostaten. Vevsbiten ble trimmet for å undersøke kvaliteten på snittene og får å oppnå en klar kutteflate. Snittene ble kuttet med en tykkelse på 8 µm og plassert på SuperFrost Plus objektglass (J1800AMNZ, Thermo Scientific, MA, USA). Alle muskelbiopsiene fra samme deltaker ble fordelt på ett objektglass.

### 3.6.2 Immunohistokjemi – metode utprøving

Å analysere muskelvev fra svært gamle individer har vist seg å by på utfordringer. Erfaringsmessig gir muskelvev fra eldre mer uspesifikk merking og autofluorescens i forhold til prøver fra yngre. Det ble derfor gjennomført metodetester for å finne den mest gunstige metoden for å identifisere satellittcellen.

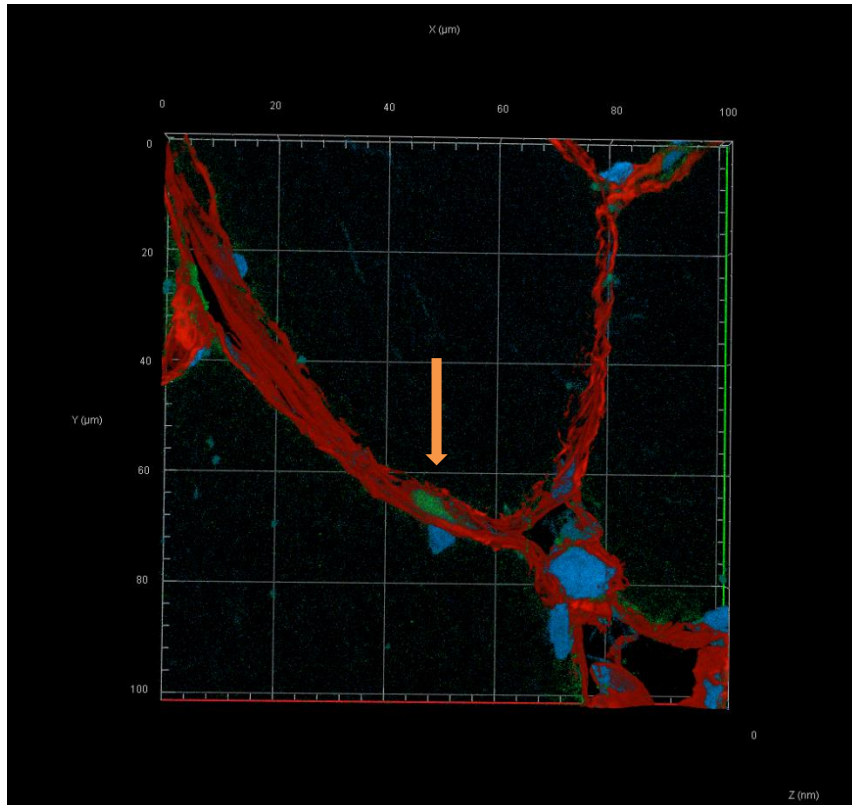
#### 3.6.2.1 Metode utprøving for kvantifisering av satellittceller

Merking med to de primære antistoffene mot neural cell adhesion molecule (NCAM) og PAX7 ble sammenliknet for å finne den mest ideelle metoden. Det viste seg at NCAM merkingen ga mer uspesifikk merking enn PAX7, noe som førte til at en stor andel satellittceller merket med NCAM måtte ekskluderes under metodeutprøvingen. Antistoff mot NCAM ble brukt i en masteroppgave av Karsrud (2017) som sammenliknet antall satellittceller mellom yngre, eldre og eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (data fra første runde av vårt prosjekt). Resultatene fra denne oppgaven viste et relativt lavt antall satellittceller, spesielt hos de eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (Karsrud, 2017). PAX7 er vist å være en spesifikk markør for satellittceller hos både hos dyr og mennesker (McLoon & Wirtschafter, 2003), og dermed vil antistoff mot PAX7 kun bindes spesifikt til satellittceller i muskelvev. NCAM derimot er uttrykt i flere andre strukturer deriblant myoblaster, myotuber, muskelfibre under utvikling og i nerveceller (Cashman, Covault, Wollman, & Sanes, 1987; Illa, Leon-Monzon, & Dalakas, 1992). Lite «støy» og spesifikk binding gjorde at kvantifiseringen ble mye enklere ved bruk av antistoff mot PAX7 i forhold til NCAM. Dette førte til at antistoff mot PAX7 ble valgt som metode for å identifisere satellittcellen.

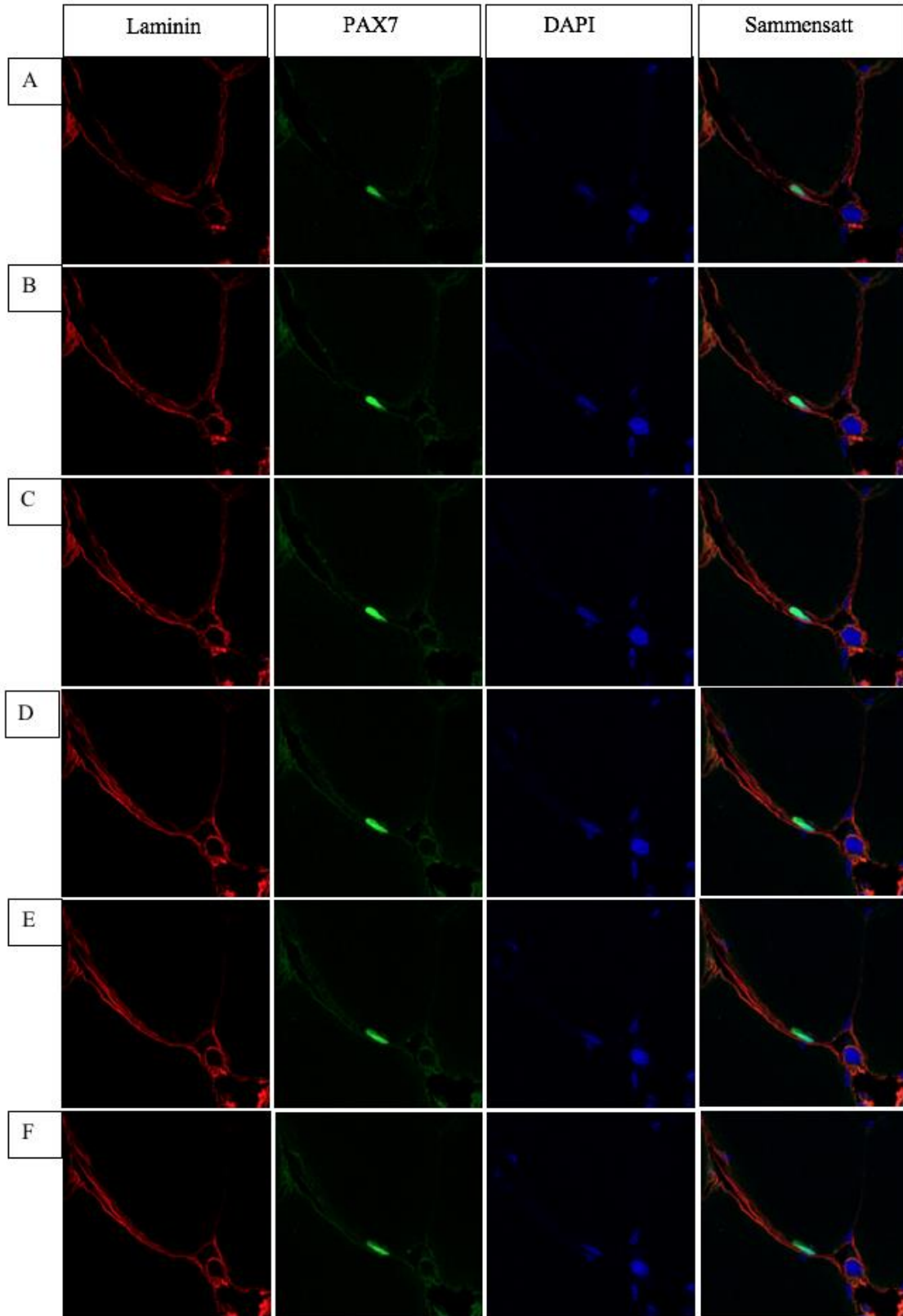
Antistoff mot Laminin ble brukt for å merke basal laminina. Ved oppstart av metodetestingen var et av kriteriene at PAX7 positive celler måtte ligge innenfor laminin merkingen. Det ble observert at en andel av disse cellene lå oppå laminin merkingen, selv om både myokjerne markøren og satellittcelle merkingen var tilstede, med samme form og størrelse. Denne problematikken førte til at et konfokalmikroskop ble anvendt for å undersøke ti «problematiske» satellittceller.

Alle satellittcellene viste seg å være omfavnet av basal lamina (figur 5 og 6). På bakgrunn av metodetesten ble satellittceller som lå oppå basal lamina inkludert i analysene, dersom det var mulig å tyde hvilken celle den tilhørte (den cellen hvor størst

andel av satellittcellen lå). Satellittceller hvor celletilhørighet ikke kunne avgjøres ble ekskludert fra analysene hvis de lå mellom to celler med ulik fibertype.



*Figur 5: Bildet viser et 3D-bilde av satellittcellenes posisjon (grønn merking) i forhold til basal lamina (rød merking). Oransje pil viser lokalisasjonen av satellittcellen. Satellittcellen tilhører den øverste cellen.*



*Figur 6: Bildeserie som viser laminin, PAX7 og DAPI, samt et sammensatt bilde av alle merkingene*  
**A:** Bildet til høyre illustrerer at satellittcellen (grønn farge) ligger oppå laminin merkingen (rød farge). **B-F:** Ved å gå dypere ned i snittet ser man at satellittcellen «beveger» seg mot innsiden av basal lamina. Bildet til høyre på bildeserie **F** viser at satellittcellen tilhører den øverste cellen

### 3.7 Immunohistokjemi

#### 3.7.1 Antistoff for identifisering av satellittceller

Ulike primære og sekundære antistoffer ble benyttet for å identifisere proteiner og strukturer (tabell 2). Det ble anvendt tre merkeprotokoller, en for å finne muskelfibertype (MHC1), myokjerner (DAPI og PCM1), og en for satellittceller (PAX7). I tillegg ble det benyttet antistoffer for å vise cellemembranen (antistoff mot dystrofin eller laminin). Antistoffene er listet opp i tabell 2.

Tabell 2: Primære og sekundære antistoff\*

Antistoff	Binder seg til	Produsent	Vert	Fortynning	Produktnummer
Anti PAX7	Paired box transcription factor 7	DSHB	Kylling	1:20	Ab528428
Anti-laminin	Laminin	Dako	Kanin	1:200	Z0097
Anti-dystrofin	Dystrofin	Abcam	Kanin	1:200	AB15277
MANDYS8	Dystrofin	DSHB	Mus	1:20	AB2618170
DAPI	DNA i cellekjerner	Invitrogen		Finnes i monterings medium	P36935
Anti MHC I	Myosin heavychain I	DSHB	Mus	1:1000	BA-D5
PCM1	Protein pericentriolar material 1	SIGMA	Kanin	1:1000	HPA023370
Alexa 488 *	(Anti-)mus	Invitrogen	Geit	1:200	A11001
Alexa 488*	(Anti-)kanin	Invitrogen	Geit	1:200	A11008
Alexa 594*	(Anti-)kanin	Invitrogen	Geit	1:200	A11012

### 3.7.2 Mikroskopet

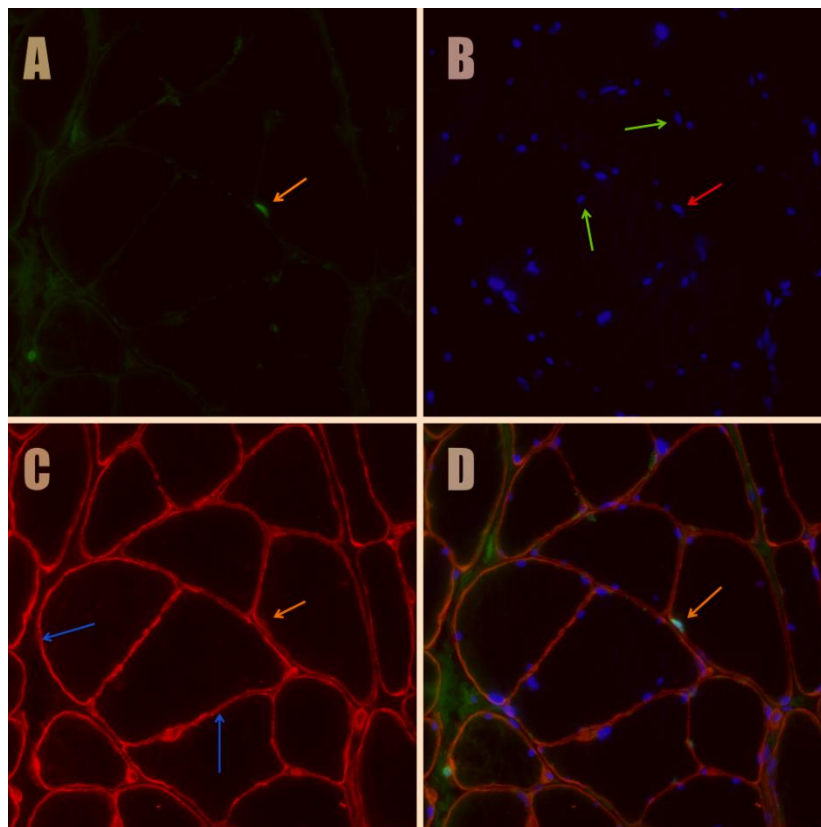
Et lysmikroskop (BX61, Olympus, Tokyo, Japan) ble brukt for å undersøke merkingen av de ulike antistoffene. Mikroskopet var tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO X-Cite 120PC-Q, Ontario, Canada), og et tilkoblet digitalt kamera (DP72, Olympus) ble brukt til å ta bilder av snittene.

### 3.7.3 Kvantifisering av satellittceller

Snittene ble tatt ut av fryseren for å romtempereres før de ble inkubert i en løsning bestående av 4% Formaldehyd og Triton-x100 (0,05%) i 10 min. Videre ble snittene vasket i 3x3 min i PBS. Snittene ble blokkert med serumfri protein block (X0909, Dako, Glostrup, Danmark) i 10 min. Deretter ble snittene inkubert i primært antistoff mot PAX7 og laminin over natten ved fire grader. Dagen etter ble snittene vasket før sekundært antistoff mot PAX7 (Alexa 488 konjugert anti-mus) og laminin (Alexa 594 konjugert anti-kanin) ble tilsatt i 60 min ved romtemperatur. Etterfulgt av vasking ble snittene montert med et dekkglass (0107222, No. 1,5H, Marienfeld, Lauda-Könighofen, Tyskland) og et monteringsmedia (som inneholder DAPI; ProLong Gold Antifade mountant w/DAPI, P36935, Invitrogen, Thermo Scientific, Rockford, IL, USA). Ett tilfredsstilt snitt fra pre og ett fra post ble valgt ut for analysen. Snittene ble undersøkt med et mikroskop gjennom et 10x objektiv (UPlanFL N, 0,55 NA, Olympus), og bildesekvenser mot merking av PAX7, laminin og DAPI ble tatt ved hjelp av en fluoriserende lyskilde. Det ble også tatt et oversiktsbilde av snittet gjennom et 4x objektiv (UPlanFL N, 0,13 NA, Olympus) som senere ble skrevet ut i papirform og brukt til å lokalisere hvilken fibertype satellittcellene tilhørte. Positiv PAX7 merking ble vist med en synlig grønn merking. Tellekriteriene for satellittcellene var at PAX7-merkingen (grønn farge) måtte være identisk som DAPI-merkingen (blå farge) både i form, størrelse og plassering (figur 7).



Satellittcellene vil bli presentert som antall satellittceller per 100 type I-fibre og 100 type II-fibre. For å identifisere hvilken muskelfibertype hver satellittcelle tilhørte ble det brukt et nabosnitt merket med antistoff mot myosin heavy chain I og dystrofin.

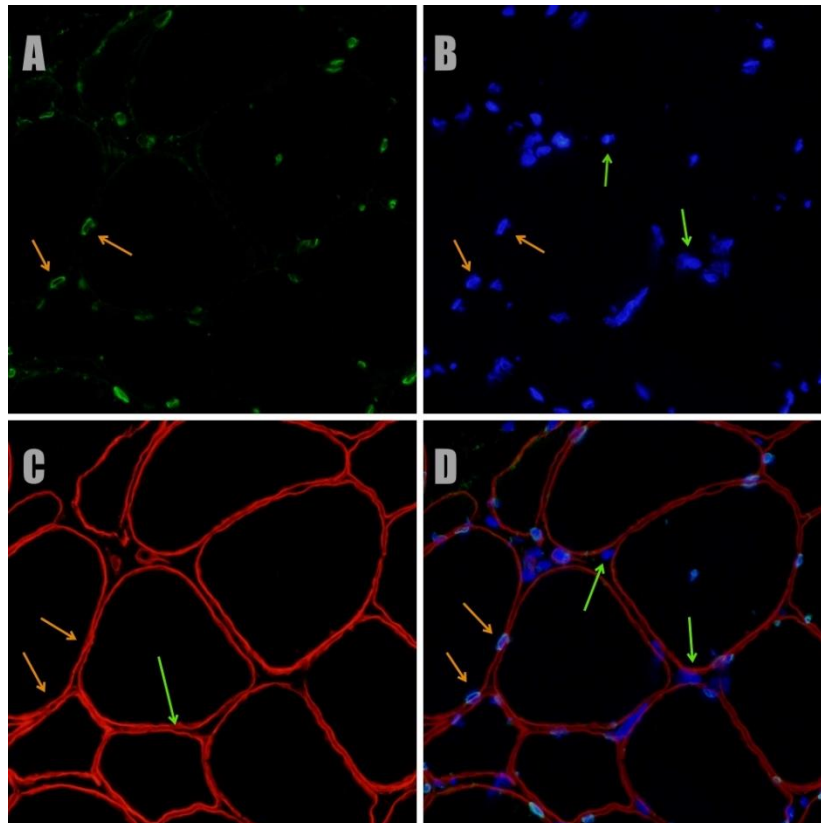


*Figur 7: A: PAX7 positiv satellittcelle vises som grønn merking. Oransje pil viser lokalisasjonen av satellittcellen. B: Rød pil viser lokalisasjonen til den identifiserte satellittcellen fra bilde A. Grønne piler viser myokjerner merket med DAPI. C: Basal lamina er merket mot laminin og vises med rød farge. Blå piler viser merkingen av Basal lamina. Oransje pil viser lokalisasjonen av satellittcellen innenfor laminin merkingen. D: Merking mot PAX7, DAPI og Laminin satt sammen. Oransje pil viser lokalisasjonen til satellittcellen.*

#### **3.7.4 Kvantifisering av myokjerner**

Snittene ble tatt ut av fryseren for å romtepereres før de ble preinkubert med 1% BSA i PBS og Triton-x100 (0,05%) (PBS-t) i 30 minutter. Snittene ble videre inkubert med primært antistoff mot PCM1 og dystrofin i en løsning bestående av 1% BSA i PBS-t over natten ved 4 grader. Dagen etter ble snittene vasket 3x10 minutter i PBS. Deretter ble snittene tilsatt sekundært antistoff PCM1 (Alexa 488 konjugert anti-kanin) og dystrofin (Alexa 594 konjugert anti-kanin) 1% BSA i PBS-t i en time. Snittene ble vasket i 3x10 min med PBS. Etterfulgt av vasking ble snittene montert med et dekkglass og et monteringsmedia med DAPI. Snittene ble undersøkt gjennom et 10x objektiv

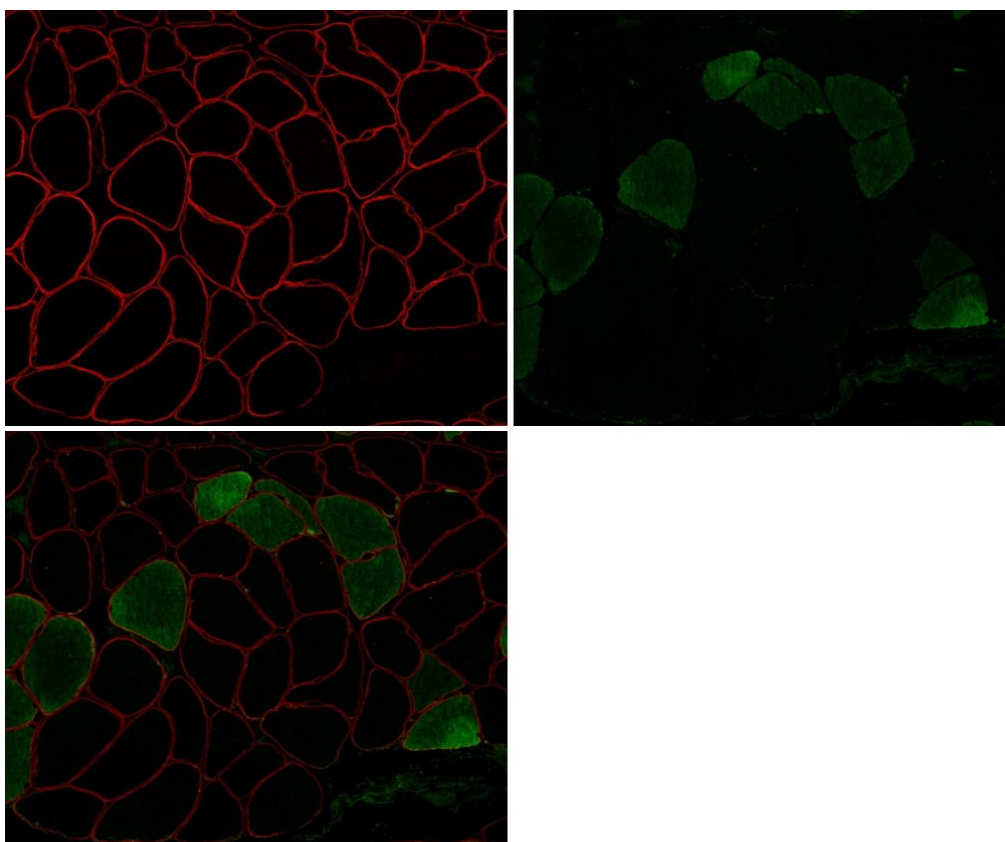
(UPlanFL N, 0,55 NA, Olympus), og det ble tatt to bilder av hvert snitt. Bildet fra fibertypemerkingen ble brukt til å markere fibertypen for 50 type I og 50 type II-fibre. Tellekriteriet var at myokjernen måtte være merket med både DAPI og PCMI, med samme form og størrelse (figur 8). Myokjerner vil bli presentert som antall myokjerner per type I og type II-fibre separat. PCMI er validert i en nyere studie og er vist å være en spesifikk markør for myokjerner (Winje et al., 2018).



*Figur 8: A: Bildet viser merking mot PCMI. De oransje pilene viser noen av de PCMI positive myokjernene. B: Bildet viser merking mot DAPI. De oransje pilene viser de identifiserte myokjernene fra bilde A. Grønne piler illustrerer cellekjerne som ikke er myokjerner. C: Viser merking mot laminin. De oransje pilene viser lokalisasjonen av de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. Grønn pil peker på laminin merkingen. D: S sammensatt bilde av PCMI, DAPI og Laminin. De oransje pilene viser de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. De grønne pilene peker mot cellekjerne som ikke er myokjerner.*

### 3.7.5 Kvantifisering av muskelfibertype og muskelfiberareal

Snittene ble tatt ut av fryseren og romtemperert før de ble inkubert med primært antistoff mott myosin heavy chain I (DSHB, USA) og dystrofin (Abcam, UK). Det ble tatt bilde av snittet gjennom et 4x objektiv, deretter ble bildet lastet inn i programmet TEMA (Checkvision, Denmark) for å regne ut fiberspesifikt fiberareal og fibertypesammensetning. Muskelfibre i ytterkant av snittet eller med unormal form (lang eller ujevn cellemembran) ble ekskludert fra analysen. Muskelfiberareal vil bli presentert som  $\mu\text{m}^2$ .



*Figur 9: Bildene viser et lite område av oversiktsbildene som ble brukt for analyse av muskelfibertype og fiberareal. **A:** Viser merking mot dystrofin. **B:** Viser merking mot MHC I med grønn farge, de resterende cellene er MCH II. **C:** Dystrofin og MCH I merkingen satt sammen til ett bilde.*

### **3.8 Statistikk**

I denne oppgaven ble det undersøkt forskjeller mellom gruppene, men også innad i gruppene før og etter treningsintervensjonen. Paret og uparet t-test ble anvendt for å undersøke forskjeller innad og mellom gruppene før og etter treningsintervensjonen. Korrelasjonsanalyse ble brukt for å undersøke korrelasjon mellom tverrsnittsareal av *m.quadriceps femoris* og fiberareal i *m.vastus lateralis* ved baseline, og prosentvis endring fra pre til post-test. Signifikansnivået ble satt til  $P < 0,05$  for alle de statistiske testene. Figurer illustrerer individuelle resultater, gjennomsnitt og standardavvik. Utregninger ble gjennomført i Prism 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

## 4. Resultater

### 4.1 Baselinemålinger

#### 4.1.1 Karakteristikk

BMI, vekt og fettprosent var signifikant høyere i PRO sammenliknet med ST+PRO ( $P < 0,05$ ). For alder, kjønn, høyde, tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris*, 1RM i kneekstensjon, stoltest og ganghastighet var det ingen forskjell mellom gruppene ved baseline (tabell 3).

*Tabell 3: Gjennomsnittsverdier for deltakerne som gjennomførte målinger av kroppssammensetning (Fett % og fettfri masse i bein), 1 repetisjon maksimum i kneekstensjon (1 RM) og funksjonelle tester (stoltest og vanlig ganghastighet) ved baseline. Fire av deltakerne gjennomførte treningsintervensjonen etter at de hadde vært i kontrollgruppen, og er dermed inkludert i begge gruppene. Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik.*

	ST+PRO (n=23)	PRO (n=14)
Mann/kvinne (%)	50/50	60/40
Alder (År)	87,2 $\pm$ 6,9	83,5 $\pm$ 6,4
Vekt (Kg)	65,7 $\pm$ 12,7	75,7 $\pm$ 13,3*
BMI	23,8 $\pm$ 3,5	27,0 $\pm$ 3,4*
Fett (%)	32,3 $\pm$ 7,3	38,5 $\pm$ 5,8*
Fettfri masse i låret (Kg)	14,2 $\pm$ 2,9	15,7 $\pm$ 4,2
Stoltest (s)	18,0 $\pm$ 16,7	18,3 $\pm$ 19,9
1 RM (Kg)	18,7 $\pm$ 7,3	21,2 $\pm$ 9,4
Vanlig ganghastighet (m/s)	0,7 $\pm$ 0,2	0,8 $\pm$ 0,3

\*, Signifikant forskjell mellom gruppene ( $P < 0,05$ )

#### 4.1.2 Biopsianalyser

Det var ingen forskjell i fiberareal, fibertypesammensetning, antall satellittceller per 100 fibre eller antall myokjerner per fiber mellom gruppene ved baseline (tabell 4). Uheldigvis oppstod det frostskeer på muskelvevet under nedfrysing og/eller lagring av noe av biopsimaterialet. Dette medførte store utfordringer i forhold til biopsianalysene, og *kun* områder uten skader ble analysert. De snittene hvor frostskeerene var for omfattende og det dermed ikke var mulig å analysere et tilfredsstillende antall muskelfibre, ble ekskludert fra analysene. Frostskeer og utfordringer i forhold til «støy» på merkingen på enkelte snitt førte til at antall deltakere varierer i de forskjellige analysene.

Tabell 4: Baselineverdier for fiberareal ( $\mu\text{m}^2$ ), prosentvis fibertypefordeling (fiber%), antall satellittceller per 100 fibre (SC per 100 fibre) og antall myokjerner per fiber separat for ST+PRO og PRO, samt for begge gruppene samlet (ST+PRO og PRO). Tabellen viser både fiberspesifikke og samlede verdier for begge fibertypene (Type I og Type II). Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik.

	ST+PRO		PRO		ST+PRO og PRO
<b>Fiberareal (<math>\mu\text{m}^2</math>)</b>	<b>n=9</b>	<b>a = 84 <math>\pm</math> 5 år</b>	<b>n=8</b>	<b>a = 84 <math>\pm</math> 6 år</b>	
Type I	4182 $\pm$ 1579		4947 $\pm$ 2640		4542 $\pm$ 2109
Type II	2688 $\pm$ 1131*		3323 $\pm$ 1320*		2987 $\pm$ 1228*
	3434 $\pm$ 1538		4135 $\pm$ 2184		3476 $\pm$ 1874
<b>Fiber%</b>					
Type I	51 $\pm$ 20		49 $\pm$ 14		50 $\pm$ 17
Type II	49 $\pm$ 20		51 $\pm$ 14		50 $\pm$ 17
<b>SC per 100 fibre</b>	<b>n=8</b>	<b>a = 85 <math>\pm</math> 4 år</b>	<b>n=7</b>	<b>a = 84 <math>\pm</math> 5 år</b>	
Type I	9,20 $\pm$ 12,0		8,85 $\pm$ 3,63		9.03 $\pm$ 8,78
Type II	7,82 $\pm$ 7,91		3,33 $\pm$ 0,87*		5.72 $\pm$ 6,08*
Type I og type II	8,50 $\pm$ 9,81		6,09 $\pm$ 3,83		7.38 $\pm$ 7,61
<b>Myokjerner per fiber</b>	<b>n=6</b>	<b>a = 87 <math>\pm</math> 4 år</b>	<b>n=8</b>	<b>a = 85 <math>\pm</math> 6 år</b>	
Type I	3,03 $\pm$ 0,579		2,79 $\pm$ 0,81		2,90 $\pm$ 0,58
Type II	2,72 $\pm$ 0,67 (*)		2,33 $\pm$ 0,67(*)		2,47 $\pm$ 0,67*
Type I og type II	2,88 $\pm$ 0,62		2,55 $\pm$ 0,76		2,69 $\pm$ 0,70

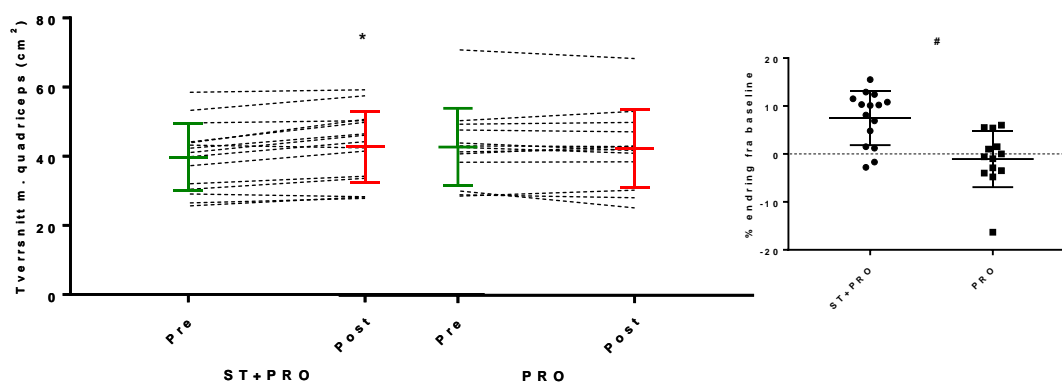
\*= Signifikant forskjell fra type I-fibre ( $p < 0.05$ )    n= antall deltakere

(\*) = Tendens til forskjell fra type I-fibre ( $p < 0.10$ )    a= gjennomsnittlig alder for deltakerne

## 4.2 Treningseffekt

### 4.2.1 Tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris*

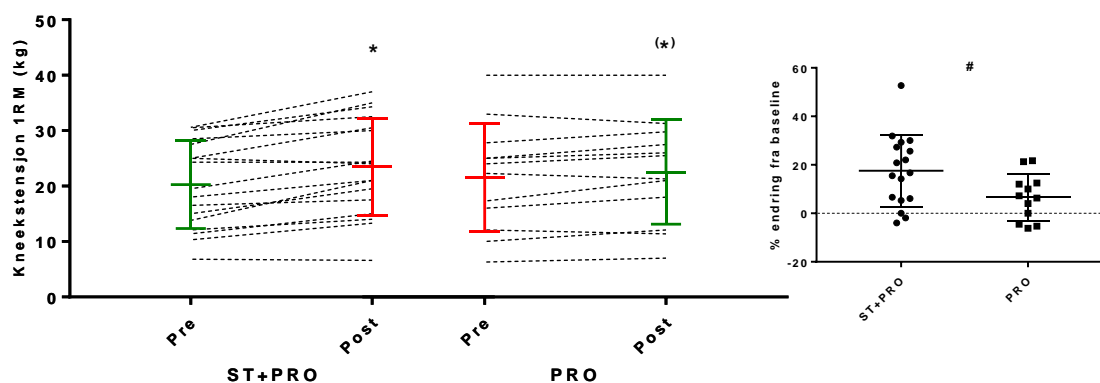
Det var en signifikant økning i tverrsnitt av *m. quadriceps femoris* i ST+PRO ( $7,5 \pm 5,7$  %) ( $P=0,0003$ ) og økningen var signifikant større sammenliknet med PRO ( $-0,1 \pm 5,8$  %) ( $P=0,0006$ ) (figur 10).



Figur 10: Tverrsnitt av *m. quadriceps femoris* ( $\text{cm}^2$ ) angitt som gjennomsnitt av begge bein for ST+ PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre illustrerer prosentvis endring fra baseline til post-test for ST+PRO og PRO. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P<0,05$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,05$ ).

#### 4.2.2 1 RM kneekstensjon

Det var en signifikant økning i 1 RM kneekstensjon ( $17,7 \pm 14,7$  %) hos ST+PRO ( $P < 0,0001$ ) og tendens til økning i PRO ( $6,5 \pm 9,8$  %) ( $P = 0,052$ ). ST+PRO viste en signifikant større økning enn PRO ( $P = 0,032$ ) som følge av treningsintervensjonen (figur 11).

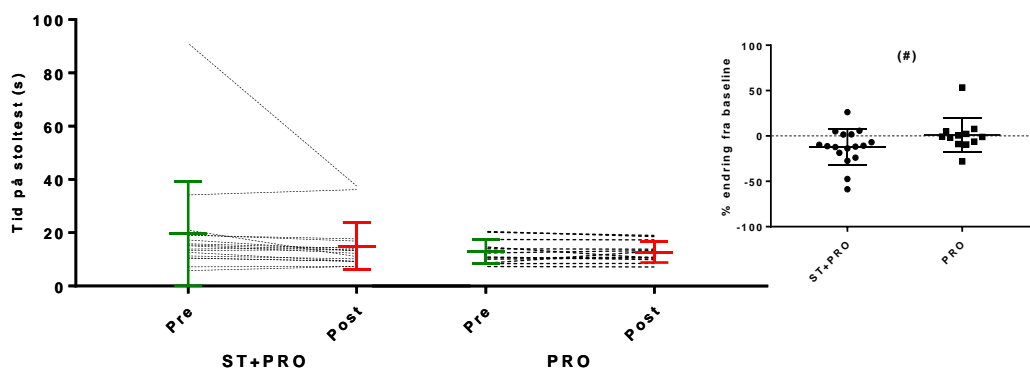


Figur 11: 1 RM i kneekstensjon (kg) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P < 0,05$ ) (\*), tendens til endring fra pre til post ( $P < 0,10$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene fra pre til post ( $P < 0,05$ ).

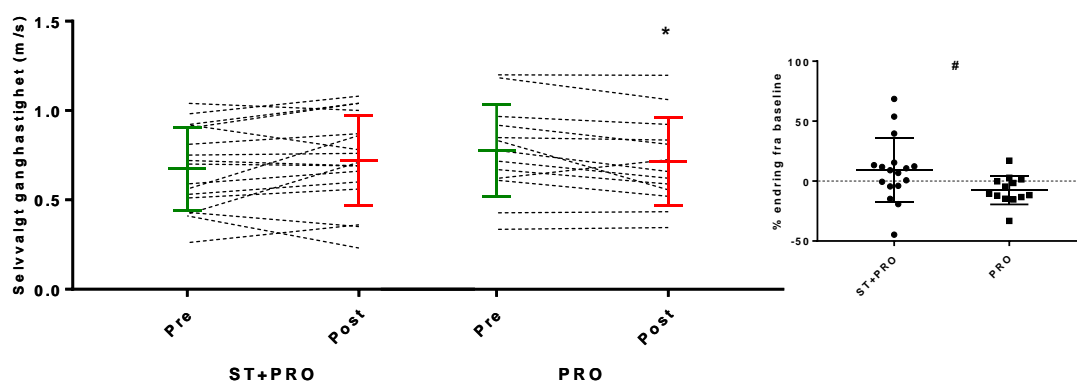


### 4.2.3 Funksjonelle tester (stoltest og normal ganghastighet)

Det var en tendens til forskjell mellom gruppene i reduksjon i tid på stoltesten i favør av ST+PRO ( $P=0,077$ ), men det var ingen endring innad i gruppene (figur 12). Hverken ST+PRO eller PRO økte selvvalgt ganghastighet, men på grunn av 10% nedgang i PRO ( $P=0,028$ ) ble det observert en signifikant forskjell mellom gruppene ( $P=0,048$ ) (figur 13).



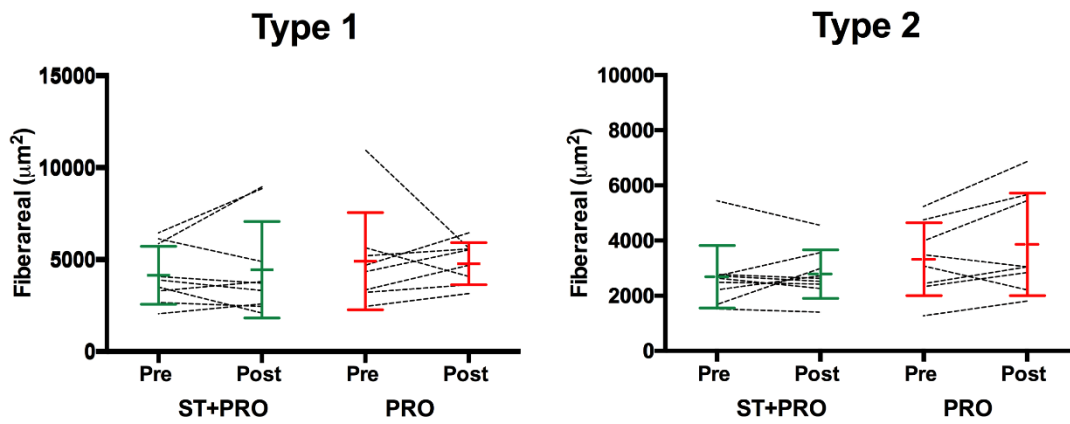
Figur 12: Tid på stoltest (s) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. (#), tendens til forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,10$ )



Figur 13: Selvvalgt ganghastighet (m/s) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P<0,05$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,05$ )

#### 4.2.4 Fiberareal

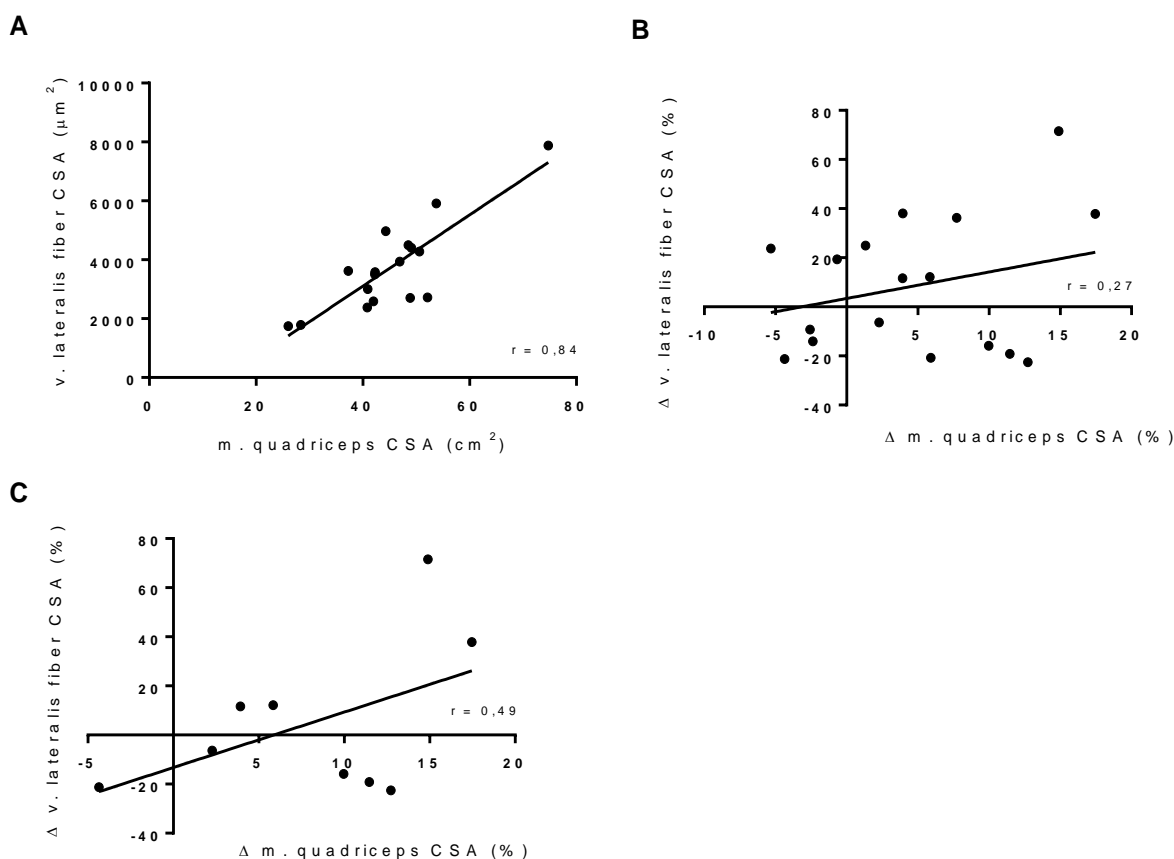
Det var ingen endring i fiberareal av type I og type II-fibrene hos ST+PRO og PRO og det var ingen forskjell mellom gruppene. Hos ST+PRO var fiberarealet i type I-fibrene  $4182 \pm 1579 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $4484 \pm 1579 \mu\text{m}^2$  (post) versus.  $4947 \pm 2640 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $4807 \pm 1144 \mu\text{m}^2$  (post) i PRO. I type II-fibrene var fiberarealet  $2688 \pm 1131 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $2784 \pm 880 \mu\text{m}^2$  (post) i ST+PRO versus.  $3323 \pm 1320 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $3863 \pm 1855 \mu\text{m}^2$  (post) hos PRO (figur 14).



Figur 14: Fiberareal ( $\mu\text{m}^2$ ) i type I og type II-fibrene i ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen

## Korrelasjoner

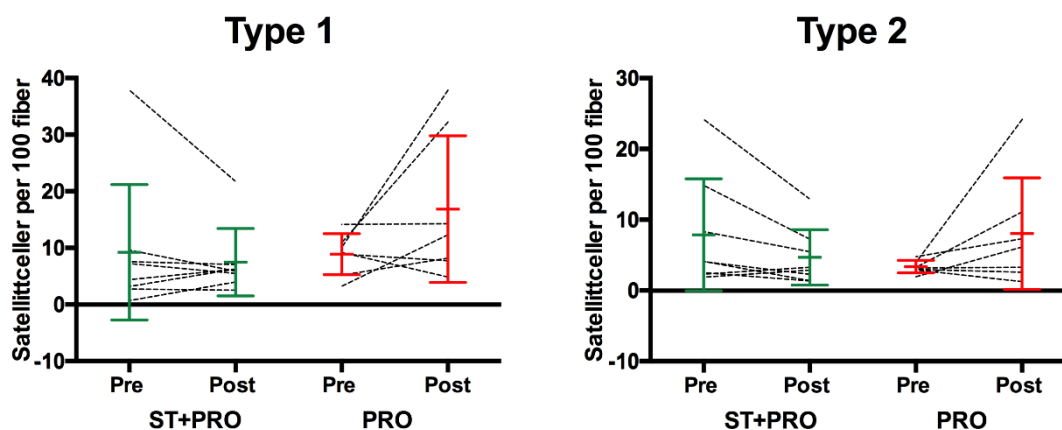
Det var en signifikant korrelasjon mellom fiberareal av *m. vastus lateralis* og tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* ved baseline ( $r=0,84$ ;  $P<0,0001$ ). Det var ingen korrelasjon mellom prosentvis endring i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* og endring i fiberareal i *m. vastus lateralis*, hverken for begge gruppene samlet ( $r=0,27$ ) eller for ST+PRO alene ( $r=0,49$ ) (figur 15).



Figur 15: Fiberareal av *m. vastus lateralis* er presentert som gjennomsnittlig fiberareal av type I og type II-fibre med hensyn til fibertypesammensetning for hver enkelt deltaker. **A:** Korrelasjon mellom tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* og fiberareal i *m. vastus lateralis* ved baseline for ST+PRO og PRO. **B:** Korrelasjon mellom prosentvis endring i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* og fiberareal i *m. vastus lateralis* for ST+PRO og PRO. **C:** Korrelasjon mellom prosentvis endring fiberareal i *m. vastus lateralis* og tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* for ST+PRO.

#### 4.2.5 Satellittceller

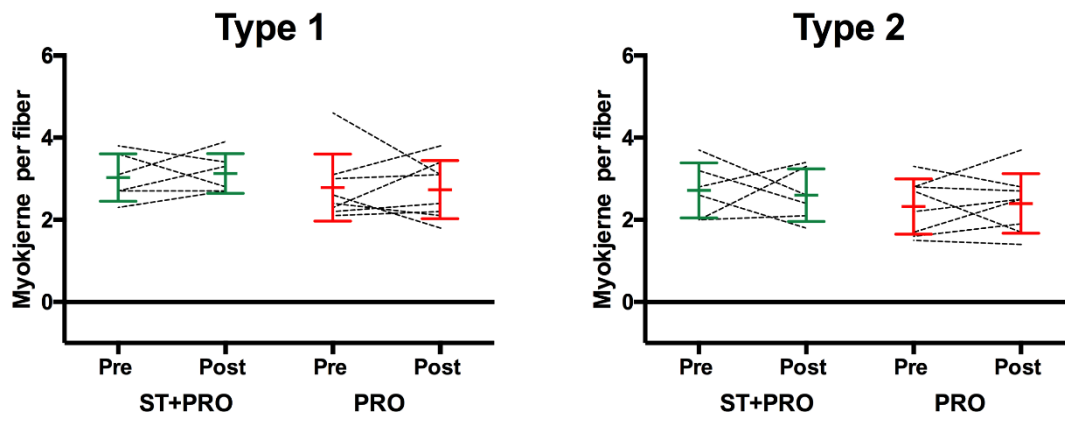
Det var ingen endring i antall satellittceller rundt type I og type II-fibrene i ST+PRO og PRO som følge av treningsintervensjonen (figur 16). Antall satellittceller per 100 fibre i type I-fibrene var  $9,2 \pm 12,0$  (pre) og  $7,4 \pm 6,0$  (post) hos ST+PRO versus.  $8,9 \pm 3,6$  og  $16,8 \pm 13,0$  i PRO. For type II-fibrene hadde ST+PRO  $7,8 \pm 7,9$  satellittceller per 100 fibre (pre) og  $4,6 \pm 3,9$  (post) versus.  $3,3 \pm 0,9$  og  $8,0 \pm 7,9$  hos ST (figur 16). Det var ingen forskjell i prosentvis endring mellom gruppene.



Figur 16: Antall satellittceller (antall per 100 fiber) per fibertype I og II i styrketreningsgruppen ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen

#### Myokjerner

Det var ingen endring i antall myokjerner i fibertype I og II hos ST+PRO og PRO (figur 17). Myokjerner per fiber var henholdsvis  $3,0 \pm 0,6$  (pre) og  $3,1 \pm 0,5$  (post) i type I-fibrene hos ST+PRO versus.  $2,8 \pm 0,8$  og  $2,7 \pm 0,7$  i PRO. For type II-fibrene var verdiene  $2,7 \pm 0,7$  (pre),  $2,6 \pm 0,6$  (post) for ST+PRO og  $2,3 \pm 0,7$  (pre),  $2,4 \pm 0,7$  (post) hos ST. Det var ingen forskjell i prosentvis endring mellom gruppene (figur 17). Det var heller ingen endring i kjernedomene i type I og type II-fibrene hos ST+PRO og PRO. Kjernedomenet var  $1605 \pm 505 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $1758 \pm 634 \mu\text{m}^2$  (post) i type I-fibrene hos ST+PRO versus.  $1657 \pm 476 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $1706 \pm 151 \mu\text{m}^2$  (post) i PRO. For type II-fibrene var kjernedomenet  $1035 \pm 255 \mu\text{m}^2$  (pre) og  $1316 \pm 366$  (post)  $\mu\text{m}^2$  for ST+PRO og  $1449 \pm 396$  (pre),  $1606 \pm 494$  (post) hos ST. Det var ingen forskjell i prosentvis endring mellom gruppene.



Figur 17: Antall myokjerner per type I og type II fiber i ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen

## 5. Diskusjon

Hovedhensikten med denne studien var å undersøke hvordan fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall påvirkes i type I og type II-fibre av 10 uker med styrketrening og proteinsupplementering hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Det ble observert en signifikant økning i 1 RM i kneekstensjon for ST+PRO og økningen var større sammenliknet med endringen i gruppen som bare inntok proteinsupplementet. Det var en tendens til bedret prestasjon i stoltest i ST+PRO og signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene på ganghastighet til fordel for ST+PRO. Det var ingen endring i fiberareal i type I og II type-fibre selv om tverrsnittsarealet av *m. quadriceps femoris* økte med 7.5% som følge av styrketreningen. Det var en sterk korrelasjon mellom tverrsnittsarealet av *m. quadriceps femoris* og fiberareal i *m. vastus lateralis* ved baseline, men ingen signifikant korrelasjon mellom prosentvis endring i de to variablene. For myokjerne- og satellittcelleantall var det ingen endring hos ST+PRO og PRO, og det var heller ingen forskjell mellom gruppene.

### 5.1 Fettfri masse og muskeltverrsnitt

Deltakerne hadde i snitt 15,0 kg fettfri masse i låret før treningsintervensjonen noe som samsvarer godt med deltakerne (77år) i studien til Dirks et al. (2017) (15,1 kg). Gjennomsnittlig tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* i begge bein var 42,9 cm<sup>2</sup> hos PRO og 39,8 cm<sup>2</sup> i ST+PRO. Baselineverdiene i denne studien er lavere enn hva som vanligvis observeres hos yngre individer. Nilwik et al. (2013) viste 80 cm<sup>2</sup> i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* hos unge friske menn (25 år) og 68 cm<sup>2</sup> hos de eldre deltakerne i studien (71 år). Våre funn støtter tidligere forskning som viser at muskelmassen reduseres svært hurtig mellom 70 og 85 års alder (Goodpaster et al., 2006). Ti uker med styrketrening førte til økt tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* hos ST+PRO (7,5%). En systematisk oversiktsartikkel av Stewart et al. (2014) undersøkte muskelvekst som følge av styrketrening på eldre individer over 75 år. Tre av fire studier observerte en økning i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* på 2-9 % etter en periode med styrketrening. I en annen oversiktsartikkel av Cadore et al. (2014) ble det vist en gjennomsnittlig økning på 8.3 % i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* basert på data fra åtte studier utført på eldre individer (61-80 år). Resultatene fra oversiktsartiklene er i samsvar med data fra denne studien og våre funn viser at muskelvekst kan oppnås uavhengig av alder og funksjonsnivå. Den observerte økningen

i muskelmasse er spesielt viktig for denne populasjonen, da det er vist at økt muskelmasse kan relateres til bedret muskelstyrke og funksjon (Clark & Manini, 2010).

## **5.2 1 RM kneekstensjon**

Det ser ut som at eldre individer kan oppnå samme relative forbedring i muskelstyrke som yngre individer etter en periode med styrketrening (Häkkinen, Kraemer, Newton, & Alen, 2001; Moritani & Devries, 1980). I en metaanalyse ble data fra 28 studier satt sammen og deltakerne med et gjennomsnitt på 67 år økte 33% i kneekstensjon etter en periode med styrketrening (Peterson et al., 2010). ST+PRO økte 17% i 1 RM i kneekstensjon etter treningsintervensjonen. Mindre fremgang i denne studien sammenliknet med metanalysen av Peterson et al. (2010) kan skyldes at mange av studiene hadde lengre varighet og høyere treningsfrekvens (tre økter i uken) enn i vår studie. Ved å se på prosentvis økning i treningsbelastning per økt, så samsvarer våre data godt med Peterson et al. (2010). Økningen var omtrentlig 0,9% per økt i vår studie versus 0,7% i studiene i Peterson et al. (2010). Det er funn som viser at styrkeøkningen er størst i starten av en treningsperiode hos utrente individer (Ahtiainen, Pakarinen, Alen, Kraemer, & Häkkinen, 2003). Intervensjonen i vår studie varte 10 uker versus 17,6 uker i Peterson et al. (2010), og dersom økningen er størst i starten av treningsperioden, så kan dette forklare større prosentvis økning per økt i vår studie i forhold til Peterson et al. (2010). Dataene fra vår studie tyder på at selv svært gamle personer med lavt fysisk funksjonsnivå har potensiale til å øke muskelstyrken som følge av tung styrketrening.

## **5.3 Funksjonelle tester**

Det var ingen reduksjon i tid på stoltest hos ST+PRO og PRO selv om det ble observert en tendens til forskjell mellom gruppene i favør av ST+PRO. Det er noe sprikende funn i litteraturen om effekten av styrketrening på prestasjon i stoltest. Noen studier rapporterer bedret prestasjon (Chalé et al., 2012; Dias et al., 2015; Pinto et al., 2014; Schot, Knutzen, Poole, & Mrotek, 2003), mens andre studier viser ingen endring (Judge, Whipple, & Wolfson, 1994; Schlicht, Camaione, & Owen, 2001; Singh, Clements, & Fiatarone, 1997). Sprikende funn i forskningen kan muligens være relatert til ulikt funksjonsnivå blant deltakerne ved baseline. Det kan tenkes at lavere fysisk funksjonsnivå ved baseline skaper større forbedringspotensialet som videre kan påvirke effekten av styrketrening på prestasjon i stoltest. På bakgrunn av denne teorien ville det

være naturlig å anta at deltakerne i denne studien oppnådde stor effekt, noe som ikke var tilfellet. Mange av deltakerne hadde problemer med å reise seg opp på stoltesten før intervensjon, og det kan tenkes at styrkeøkningen ikke var tilstrekkelig for å nå terskelen for økt prestasjon hos disse deltakerne. I tillegg til muskelstyrke stiller stoltesten også krav til koordinasjon fordi øvelsen inkluderer bevegelser over flere ledd. Krav til koordinasjon kan føre til at samspill mellom ulike muskelgrupper og teknikk kan spille en rolle for prestasjonen. Selv om det ikke ble observert en signifikant bedret prestasjon hos ST+PRO, så går tallene i riktig retning. Det må også tas i betraktning at det var stor individuell variasjon mellom deltakerne i prosentvis endring (-58,8 – 26,3 % endring) og relativt få deltakere i hver gruppe. Mindre variasjon og flere deltakere ville ha økt den statiske styrken, og kunne muligens ha bidratt til at vi hadde sett en signifikant bedring på stoltesten hos ST+PRO.

Det var ingen endring i selvvalgt ganghastighet etter treningsintervensjonen for ST+PRO og PRO viste en signifikant reduksjon ( $P < 0.05$ ). Reduksjon i ganghastighet hos PRO førte til en signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene (figur 13). Ingen endring i selvvalgt ganghastighet etter styrketrening er vist i tidligere studier på eldre individer (De Vreede, Samson, Van Meeteren, Duursma, & Verhaar, 2005; Skelton, Young, Greig, & Malbut, 1995), men det er også vist økt prestasjon. I en metaanalyse av Hortobágyi et al. (2015) viste data fra 24 studier 9.3 % høyere selvvalgt ganghastighet etter en periode med styrketrening hos eldre individer (72 år). Det må nevnes at deltakerne i De Vreede et al. (2005) og Skelton et al. (1995) var eldre (75-90 år) enn deltakerne i metaanalysen til Hortobágyi et al. (2015) (72 år). Funnene til De Vreede et al. (2005) og Skelton et al. (1995) samsvarer godt med dataene i vår studie, og funnene kan tyde på at effekten av styrketrening på ganghastighet reduseres når eldre personer passerer 75 års alder. Data fra de funksjonelle testene kan tyde på at tung styrketrening to ganger i uken i 10 uker ikke var tilstrekkelig for å øke prestasjon på stoltest og selvvalgt ganghastighet. Det er muligens behov for høyere treningsvolum og/eller mer spesifikke øvelser for å oppnå økt funksjon hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. På en annen side viser våre data at styrketreningen var tilstrekkelig for å vedlikeholde funksjonsnivået hos ST+PRO og at fravær av trening førte til nedsatt funksjon hos PRO.



## **5.4 Fiberareal**

### **5.4.1 Baselinemålinger**

Det er konsistente funn som viser at reduksjonen i muskelmasse som følge av aldring i hovedsak skyldes atrofi av type II-fibrene, og denne studien støtter opp under dette da det ble observert signifikant mindre fiberareal i type II-fibrene sammenliknet med type I-fibrene (Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014). Forskjell i fiberareal mellom type I og type II-fibrene er ulikt fra hva som vanligvis observeres hos yngre individer. I en oversiktsartikkel av Hikidia (2011) viste dataene fra tre studier på yngre menn et tilnærmet identisk fiberareal av type I ( $5343 \mu\text{m}^2$ ) i forhold til type II-fibrene ( $5344 \mu\text{m}^2$ ). Baselineverdiene i denne studien er noe lavere enn tidligere rapportert av Dirks et al. (2017) for eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Årsaken kan være at deltakerne i studien av Dirks et al. (2017) var yngre enn deltakerne i denne studien (77 år vs. 84 år). En metaanalyse av Mitchell et al. (2012) viste at det skjer en reduksjon på 0.65-0.98 % i muskelmasse per år etter fylte 75 år noe som understreker årsaken til lavere fiberareal i denne studien sammenliknet med Dirks et al. (2017). Dette gjenspeiles også i studien av Andersen et al. (2003) som undersøkte fiberareal hos eldre mellom 85 og 97 år med lavt fysisk funksjonsnivå. De svært gamle deltakerne i denne studien hadde et lavere fiberareal ( $2891 \mu\text{m}^2$  i type I og  $1704 \mu\text{m}^2$  i type II-fibrene) enn baselineverdiene i vår studie ( $4542 \mu\text{m}^2$  og  $2987 \mu\text{m}^2$ ), men omtrent samme forhold mellom type I og type II-fibrene. Ulike studier bør derimot sammenliknes med forsiktighet, ettersom ulike metoder for biopsitaking, merking og analyser vil være av stor betydning. Våre funn viser at aldring fører til en tydelig atrofi av type II-fibrene, og at fiberarealet i type I og type II-fibrene var vesentlig lavere hos våre deltakere sammenliknet med yngre individer. Atrofi av type II-fibre er kritisk for denne populasjonen da det er vist at fibertypen produserer større kraft og har en høyere kontraksjonshastighet enn type I-fibre (Malisoux, Francaux, Nielens, & Theisen, 2006). Atrofi av type II-fibrene vil derfor redusere eksplosiviteten hos denne populasjonen, noe som videre kan medføre redusert selvstendighet, funksjonalitet og økt risiko for å falle.

### **5.4.2 Treningseffekt**

Det var noe overraskende at det ikke ble observert økning av fiberarealet i type II-fibrene, da dette er observert tidligere hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (Dirks et al., 2017). Styrketreningsintervensjonen i studien av Dirks et al. (2017) som medførte hypertrofi av type II-fibrene hadde til sammenligning over dobbelt så lang varighet som

denne studien (24 uker vs. 10 uker). På en annen side ble hypertrofi observert allerede etter 12 uker hos deltakerne i Dirks et al. (2017). Det kan derfor tenkes at vi ville observert hypertrofi i vår studie etter 10 uker med styrketrening. Det må nevnes at *kun* gruppen som fikk proteinsupplement sammen med styrketreningen i studien av Dirks et al. (2017) økte i fiberareal av type II-fibre, mens gruppen som *kun* gjennomførte styrketrening viste ingen økning. Funnene kan tyde på at inntak av tilstrekkelig med proteiner er viktig for å få full effekt av styrketreningen hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Det var planlagt at deltakerne i vår studie skulle innta to proteinsupplement daglig, men under første runde av studien viste det seg at flere av deltakerne hadde problemer med å innta begge supplementene. Dette førte til at deltakerne *kun* inntok ett supplement daglig som muligens ikke var tilstrekkelig for optimal effekt av styrketreningen. På grunn av svekket hukommelse var det problematisk å gjennomføre kostholds-registrering for deltakerne, noe som førte til at deltakerne ble instruert til å spise som normalt. Forholdet mellom energiinntak og energiforbruk er avgjørende for muskelvekst og en økning på 500-900 kcal per dag utover energibalansen vil sikre vekttoppgang og dermed også optimale forhold for muskelvekst under en periode med styrketrening (Hawley & Burke, 1998). De fleste deltakerne i ST+PRO økte eller vedlikeholdt kroppsvekten noe som tyder på at gunstige forhold for hypertrofi har vært tilstede. Én av deltakerne i ST+PRO hadde imidlertid en nedgang på 2 kg som resulterte i redusert fiberareal av type II-fibre som følge av treningsintervensjonen (-5,2 %). Vektreduksjonen gjaldt *kun* for en deltaker og vil mest sannsynlig ha påvirket gjennomsnittlig endring i liten grad. Med unntak av varigheten på intervensjonen og alder på deltakerne var intervensjonen i denne studien relativt lik som studien av Dirks et al. (2017). Siden det ble observert hypertrofi allerede etter 12 uker kan det tenkes at alderen på deltakerne i vår studie kan ha påvirket hypertrofi-responsen. Nedsatt respons til styrketrening som følge av aldring er rapportert av Slivka et al. (2008) hvor 12 uker med styrketrening førte til ingen endring i diameter og kontraktil funksjon i enkeltfibere hos eldre menn mellom 80 og 86 år. Endringen i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* var derimot betydelige høyere i vår studie (7.5%) i forhold til i studien av Slivka et al. (2008) (2.5%). Vi observert en sterk korrelasjon mellom i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* og fiberareal av *m. vastus lateralis* ved baseline, men det var ingen sammenheng mellom prosentvis endring mellom de to variablene som følge av treningsintervensjonen. Bjørnsen et al. (2014) rapporterte om størst økning i tverrsnittsareal av *m. rectus femoris* i forhold til tre andre

musklene i *m. quadriceps femoris* etter 12 uker med tilsvarende øvelser som i denne studien (kneekstensjon og beinpress). Vi målte *kun* tverrsnittsareal av de fire musklene av *m. quadriceps femoris* samlet og dersom det var forskjeller i hypertrofi i de fire musklene, kan dette forklare noe av den fraværende korrelasjonen mellom prosentvis endring i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris* og endring i fiberareal av *m. vastus lateralis*.

Med forsiktighet kan man også stille spørsmålsteget rundt hvor representativt en enkelt biopsi er for hele muskelen hos denne populasjonen. Andersen et al. (2003) viste en tydelig fiberspesifikk gruppering av fibre og at små fibre ofte lå samlet i ett område hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Det kan derfor være utfordrende å treffe et representativt område ved hver biopsitaking. Dersom man eksempelvis tar en biopsi fra et område med mange små fibre eller et regenerativt område, så vil dette direkte påvirke representativiteten til hele muskelen, samt nøyaktigheten av den reelle endringen i muskulaturen som følge av styrketreningen. Andersen et al. (2003) rapporterte også at en stor andel muskelfibre hos eldre var hybrid fibre som uttrykket både MHC I og MHC IIA. Det er derfor noe usikkert hvilken fibertype disse fibre kategoriseres som under fibertypemerkningen, noe som muligens kan ha påvirket resultatene. Det er vist at høyt treningsvolum er viktig for hypertrofi av type II-fibre hos eldre (Petrella & Chudyk, 2008). De fleste deltakerne i vår studie var svært fysisk inaktive. Det kan tenkes at eldre individer som sitter mye stille trenger større mengde styrketrening for å kunne se endringer på muskelfibernivå. I tillegg hadde noen av deltakerne problemer med å oppnå ønsket belastning på øktene på grunn av skader og/eller manglende evne til å presse seg. Ferieturer, skader og manglende motivasjon førte også til at et lite antall deltakere i ST+PRO ikke fikk gjennomført alle øktene. På bakgrunn av den gode økningen i tverrsnittsareal av *m. quadriceps femoris*, så kan det tenkes at manglende hypertrofi av type II-fibre i hovedsak skyldes metodiske utfordringer. Det kan spekuleres i at én enkelt biopsi ikke er representativ nok for hele muskelen og/eller at hypertrofi har forekommet i andre deler av *m. quadriceps femoris* enn *m. vastus lateralis*.

## **5.5 Satellittceller**

### **5.5.1 Baselinemålinger**

Ved baseline var det ingen forskjell mellom gruppene i antall satellittceller rundt type I og type II-fibrene. Antall satellittceller per fiber var noe lavere i denne studien (tabell 5) sammenliknet med Hikida (2011) (7,4 vs. 9,2 SC per 100 fibre). Noe av forskjellen kan forklares ved at 7 av de 8 studiene som er presentert i oversiktsartikkelen brukte antistoff mot NCAM og *kun* én av studiene anvendte antistoff mot PAX7. Flere studier har sammenliknet merking med antistoff mot NCAM og PAX7 for identifisering av satellittcellen (Lindström & Thornell, 2009; Mackey et al., 2009; McKay et al., 2010; Mikkelsen et al., 2009; Verdijk et al., 2007) og majoriteten av studiene viste at antistoff mot NCAM merket et høyere antall satellittceller enn PAX7 (ca 5%) (Lindström & Thornell, 2009; Mackey et al., 2009; Mikkelsen et al., 2009). På en annen side er det også viste det motsatte (McKay et al., 2010; Verdijk et al., 2007), som samsvarer med observasjonene som ble gjort under metodeuttestingen i forkant av analysene. En annen forklaring kan være reduksjon i antall satellittceller rundt type II-fibrene som følge av økende alder. Gjennomsnittsalderen i studiene fra oversiktsartikkelen til Hikida (2011) var 71 år, sammenliknet med 85 år i vår studie. Verdijk et al. (2014) sammenliknet satellittcelleantall fra yngre (<18 år), unge voksne (18-49 år), eldre (50-69 år) og gamle (70-86 år) individer og korrelasjonsanalysen viste en sammenheng mellom økende alder og reduksjon i antall satellittceller rundt type II-fibrene (Verdijk et al., 2014). Dette gjenspeiles i vår studie hvor det ble observert et signifikant lavere antall satellittceller rundt type II-fibrene i forhold til type I-fibrene. Baselineverdiene fra denne studien samsvarer derimot godt med Dirks et al (2017) hvor antallet PAX7 positive satellittceller ble undersøkt hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (7,4 vs. 7,0 satellittceller per fiber). I samsvar med vår studie viste Dirks et al (2017) lavere antall satellittceller rundt type II-fibrene i forhold til type I-fibrene ved baseline.

### **5.5.2 Treningseffekt**

10 uker med styrketrening medførte ingen endring i antall satellittceller rundt type I eller type II-fibrene i ST+PRO. Funnene er i kontrast med tidligere studier som rapporterer om økt antall satellittceller i type II-fibrene som følge av styrketrening hos eldre (Mackey et al., 2007; Verdijk et al., 2009; Verdijk et al., 2014). Verdijk et al. (2014) viste at de eldre deltakerne som hadde størst økning i antall satellittceller rundt type II-fibrene, også hadde størst i økning i fiberareal. Det kan dermed se ut som at en

økning i antall satellittceller er viktig for hypertrofi av muskelfibrene. Dette støttes opp av en studie av Egner (2016) utført på mus hvor det ble utført ablasjon av satellittcellene i *m. plantaris* og *m. extensor digitorum longus*. Etter en periode med overbelastning ble det vist ingen økning i fiberareal hos mus uten fungerende satellittceller, mens det ble vist en økning hos kontrollmus med intakte satellittceller. Selv om studien ble utført på gangere, så kan det tenkes at dette også gjelder i muskulaturen hos mennesker. På en annen side rapporterer en nyere studie av Dirks et al. (2017) om ingen endring i antall satellittceller rundt type II-fibrene etter tjuefire uker med styrketrening, som medførte hypertrofi av type II-fibrene hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. Det kan tenkes at fraværet av hypertrofi av type II-fibrene i vår studie muligens kan skyldes manglende økning i antall satellittceller rundt muskelfibrene, som videre kan hemme dannelsen av nye myokjerner.

## **5.6 Myokjerner**

### **5.6.1 Baselinemålinger**

Dataene fra denne studien viste ingen forskjell mellom gruppene i antall myokjerner i type I og type II-fibrene ved baseline. Utrekning av gjennomsnittlig antall myokjerner, uten hensyn til fibertype, viste en verdi på 2,7 myokjerner per fiber samlet for alle deltakerne. Dette stemmer overens med dataene fra en oversiktsartikkelen av Hikida (2011) hvor det ble rapportert om 2,7 myokjerner per fiber som gjennomsnitt av ni studier utført på eldre individer (S Hikida, 2011). Antall myokjerner i type I og type II-fibrene var marginalt høyere enn baselineverdiene i studien av Dirks et al. (2017). Marginalt høyere antall myokjerner i denne studien sammenliknet med Dirks et al. (2017) kan forklares med bruken av PCM1 som tilleggsmarkør sammen med DAPI. Det er vist at dobbeltmerking med disse antistoffene merker et noe høyere antall myokjerner enn *kun* DAPI alene (Winje et al., 2018). I samsvar med Verdijk et al. (2014) viste vår studie lavere antall myokjerner i type II-fibrene i forhold til type I-fibrene. Studien til Verdijk et al. (2014) rapporterte også om lavere antall myokjerner i type II -fibrene hos gamle individer (70-86 år) sammenliknet med både eldre (50-69 år) og yngre (18-48 år). Disse funnene er derimot i kontrast med en tidligere studie fra den samme forskergruppen, hvor det ble vist at eldre hadde flere myokjerner i type II-fibrene sammenliknet med yngre (Verdijk et al., 2007). Det er foreslått at siden reduksjonen i fiberareal som følge av aldring ser ut til å være størst i type II-fibrene, vil endringer i

antall myokjerner hovedsakelig berøre type II-fibre (Verdijk et al., 2007).

Baselineverdiene i vår studie støtter denne teorien.

For kjernedomenet var baselineverdiene i denne studien lavere enn hva som er observert tidligere hos eldre (Dirks et al., 2017; Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014). Det er vist at aldring kan føre til økt tetthet av myokjerner, noe som fører til lavere kjernedomene (S Hikida, 2011). Deltakerne i vår studie hadde i utgangspunktet lavere fiberareal enn hva som rapporteres i de ovennevnte studiene. Dersom muskelminneteorien som er vist i dyrestudier er gjeldende (Bruusgaard et al., 2012; Bruusgaard, Johansen, Egner, Rana, & Gundersen, 2010), og våre deltakere tillegg har hatt større atrofi av muskelfibre som følge av høyere alder, kan dette ha ført til det lave kjernedomenet observert her. Antistoff mot PCM1 som tilleggsmarkør for myokjerner kan også ha påvirket kjernedomeneresultatet ved at flere myokjerner ble identifisert i vår studie i forhold til Dirks et al. (2017), Verdijk et al. (2007) og Verdijk et al. (2014). Baselineverdiene i vår studie tyder på at det skjer en fiberspesifikk nedgang i antall myokjerner i type II-fibre ved aldring, og at kjernedomenet reduseres ved økende alder. Det ble vist at kjernedomenet i type II-fibre var lavere enn i type I-fibre ved baseline (dataene er ikke presentert i resultatkapittelet). Dermed kan det spekuleres i hvor betydningsfull den fiberspesifikke forskjellen i antall myokjerner per fiber er, hvis hver myokjerne allikevel kontrollerer et mindre område i type II-fibre enn i type I-fibre.

### **5.6.2 Treningseffekt**

Antall myokjerner i type I og type II-fibre endret seg ikke hos ST+PRO som følge av treningsintervensjonen. Fraværet av endring i antall myokjerner var ikke overraskende da det er vist at økningen i myokjerner skjer parallelt med hypertrofi av muskelfibre (Allen et al., 1999). En nyere metanalyse av Conceição et al (2018) viste at 10% hypertrofi av muskelfibre ser ut til å være den nedre grensen for addering av nye myokjerner både for eldre og yngre individer. Det er også rapportert at hypertrofi kan forekomme uten økning i antall myokjerner både hos eldre (Verdijk et al., 2009) og eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (Dirks et al., 2017). Tjuefire uker med styrketrening førte til ingen endring i antall myokjerner hverken i type II eller type I-fibre hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå (Dirks et al., 2017). Petrella et al (2006) undersøkte endringer i fiberareal og antall myokjerner per fiber hos unge kvinner (20-35 år), unge menn (20-35 år), eldre menn (60-75 år) og eldre kvinner (60-75 år). Alle gruppene økte fiberarealet av muskelfibre, mens økning i antall myokjerner per fiber *kun* ble vist hos

de yngre mennene. Våre funn og funnene til Petrella et al. (2006) kan derimot ikke direkte sammenliknes da de eldre deltakerne i studien til Petrella var yngre (63 år), og det ble påvist en signifikant hypertrofi av muskelfibrene samlet uten fiberspesifikke analyser. Fravær av hypertrofi av muskelfibrene ser ut til å være hovedårsaken til at antall myokjerner per type II-fiber var uendret etter 10 uker med styrketrening. Selv om fravær av hypertrofi muligens er årsaksfaktoren for uendret antall myokjerner, så kan det også tenkes at kvaliteten på myokjernene kan begrense hypertrofiresponsen. Kvaliteten på myokjernene ble undersøkt i en rottestudie utført av Malatesta et al. (2009). Studien viste at eldre rotter hadde mindre myokjerner og økt mengde kondensert kromatin i forhold til yngre rotter. Slike strukturelle og funksjonelle endringer av myokjernene kan påvirke syntesen av muskelspesifikke proteiner. Med forsiktighet i å sammenlikne rotter med mennesker, kan det allikevel tenkes at det skjer kvalitative endringer i myokjernene hos eldre individer, som muligens kan påvirke myokjernes evne til å syntetisere pre-mRNA som videre kan påvirke muskelprotein syntesen.

## 6. Konklusjon

Hovedhensikten med denne studien var å undersøke effekten av 10 uker med styrketrening og proteinsupplementering på fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall i type I og type II-fibre hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå. I motsetning til vår hypotese var det ingen endring i hverken fiberareal eller myokjerne- og satellittcelleantall i type II-fibre som følge av treningsintervensjonen. I tråd med vår hypotese var det heller ingen endring i fiberareal, myokjerne- og satellittcelleantall i type I-fibre. Det ble likevel vist en økning i tverrsnittsareal av *m.quadriceps femoris* hos ST+PRO noe som kan tyde på at muskelmassen økte i andre deler av *m.quadriceps femoris* enn *m.vastus lateralis*. Ti uker med styrketrening bidro til økt maksimal muskelstyrke hos ST+PRO, og vedlikehold av fysisk funksjonsnivå da det ble vist en reduksjon i prestasjon på de funksjonelle testene hos PRO. Funnene tyder på at styrketrening to ganger i uken i 10 uker er en effektiv strategi for å øke maksimal muskelstyrke og vedlikeholde fysisk funksjonsnivå hos eldre med lavt fysisk funksjonsnivå, selv om det ikke ble observert adaptasjoner på muskelfibernivå.



## Referanser

- Ahtiainen, J. P., Pakarinen, A., Alen, M., Kraemer, W. J., & Häkkinen, K. (2003). Muscle hypertrophy, hormonal adaptations and strength development during strength training in strength-trained and untrained men. *European journal of applied physiology*, 89(6), 555-563.
- Allen, D. L., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (1999). Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. *Muscle & nerve*, 22(10), 1350-1360.
- Andersen, J. L. (2003). Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 13(1), 40-47.
- Bauer, J., Biolo, G., Cederholm, T., Cesari, M., Cruz-Jentoft, A. J., Morley, J. E., . . . Teta, D. (2013). Evidence-based recommendations for optimal dietary protein intake in older people: a position paper from the PROT-AGE Study Group. *Journal of the American Medical Directors Association*, 14(8), 542-559.
- Baumgartner, R. N., Koehler, K. M., Gallagher, D., Romero, L., Heymsfield, S. B., Ross, R. R., . . . Lindeman, R. D. (1998). Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *American journal of epidemiology*, 147(8), 755-763.
- Bruusgaard, J. C., Egner, I. M., Larsen, T. K., Dupre-Aucouturier, S., Desplanches, D., & Gundersen, K. (2012). No change in myonuclear number during muscle unloading and reloading. *Journal of applied physiology*, 113(2), 290-296.
- Bruusgaard, J. C., Johansen, I., Egner, I., Rana, Z., & Gundersen, K. (2010). Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(34), 15111-15116.

- Cadore, E. L., Pinto, R. S., Bottaro, M., & Izquierdo, M. (2014). Strength and endurance training prescription in healthy and frail elderly. *Aging and disease*, 5(3), 183.
- Cashman, N. R., Covault, J., Wollman, R. L., & Sanes, J. R. (1987). Neural cell adhesion molecule in normal, denervated, and myopathic human muscle. *Annals of neurology*, 21(5), 481-489.
- Chalé, A., Cloutier, G. J., Hau, C., Phillips, E. M., Dallal, G. E., & Fielding, R. A. (2012). Efficacy of whey protein supplementation on resistance exercise–induced changes in lean mass, muscle strength, and physical function in mobility-limited older adults. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 68(6), 682-690.
- Cheek, D. B., Holt, A. B., Hill, D. E., & Talbert, J. L. (1971). Skeletal muscle cell mass and growth: the concept of the deoxyribonucleic acid unit. *Pediatric Research*, 5(7), 312.
- Clark, B. C., & Manini, T. M. (2010). Functional consequences of sarcopenia and dynapenia in the elderly. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 13(3), 271.
- Conceição, M. S., Vechin, F. C., Lixandrão, M., Damas, F., Libardi, C. A., Tricoli, V., . . . Ugrinowitsch, C. (2018). Muscle Fiber Hypertrophy and Myonuclei Addition: A Systematic Review and Meta-analysis. *Medicine and science in sports and exercise*.
- Cornelison, D., & Wold, B. J. (1997). Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Developmental biology*, 191(2), 270-283.
- Damas, F., Libardi, C. A., Ugrinowitsch, C., Vechin, F. C., Lixandrão, M. E., Snijders, T., . . . Tricoli, V. (2018). Early-and later-phases satellite cell responses and

myonuclear content with resistance training in young men. *PloS one*, *13*(1), e0191039.

de Labra, C., Guimaraes-Pinheiro, C., Maseda, A., Lorenzo, T., & Millán-Calenti, J. C. (2015). Effects of physical exercise interventions in frail older adults: a systematic review of randomized controlled trials. *BMC geriatrics*, *15*(1), 154.

De Vos, N. J., Singh, N. A., Ross, D. A., Stavrinou, T. M., Orr, R., & Fiatarone Singh, M. A. (2005). Optimal load for increasing muscle power during explosive resistance training in older adults. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *60*(5), 638-647.

De Vreede, P. L., Samson, M. M., Van Meeteren, N. L., Duursma, S. A., & Verhaar, H. J. (2005). Functional-task exercise versus resistance strength exercise to improve daily function in older women: a randomized, controlled trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, *53*(1), 2-10.

Delmonico, M. J., Harris, T. B., Visser, M., Park, S. W., Conroy, M. B., Velasquez-Mieyer, P., . . . Newman, A. B. (2009). Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *The American journal of clinical nutrition*, *90*(6), 1579-1585.

Dias, C. P., Toscan, R., de Camargo, M., Pereira, E. P., Griebler, N., Baroni, B. M., & Tiggemann, C. L. (2015). Effects of eccentric-focused and conventional resistance training on strength and functional capacity of older adults. *Age*, *37*(5), 99.

Dirks, M. L., Tieland, M., Verdijk, L. B., Losen, M., Nilwik, R., Mensink, M., . . . van Loon, L. J. (2017). Protein supplementation augments muscle fiber hypertrophy but does not modulate satellite cell content during prolonged resistance-type exercise training in frail elderly. *Journal of the American Medical Directors Association*, *18*(7), 608-615.

- Edgerton, V. R., & Roy, R. R. (1991). Regulation of skeletal muscle fiber size, shape and function. *Journal of biomechanics*, 24, 123-133.
- Egner, I. M., Bruusgaard, J. C., & Gundersen, K. (2016). Satellite cell depletion prevents fiber hypertrophy in skeletal muscle. *Development*, 143(16), 2898-2906.
- Fielding, R. A. (1995). The role of progressive resistance training and nutrition in the preservation of lean body mass in the elderly. *Journal of the American College of Nutrition*, 14(6), 587-594.
- Fragala, M. S., Kenny, A. M., & Kuchel, G. A. (2015). Muscle quality in aging: a multi-dimensional approach to muscle functioning with applications for treatment. *Sports Medicine*, 45(5), 641-658.
- Frontera, W. R., Suh, D., Krivickas, L. S., Hughes, V. A., Goldstein, R., & Roubenoff, R. (2000). Skeletal muscle fiber quality in older men and women. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 279(3), C611-C618.
- Godard, M. P., Williamson, D. L., & Trappe, S. W. (2002). Oral amino-acid provision does not affect muscle strength or size gains in older men. *Medicine and science in sports and exercise*, 34(7), 1126-1131.
- Goh, Q., & Millay, D. P. (2017). Requirement of myomaker-mediated stem cell fusion for skeletal muscle hypertrophy. *elife*, 6.
- 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. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 61(10), 1059-1064.

- Hall, Z. W., & Ralston, E. (1989). Nuclear domains in muscle cells. *Cell*, 59(5), 771-772.
- Hawke, T. J., & Garry, D. J. (2001). Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of applied physiology*, 91(2), 534-551.
- Hawley, J., & Burke, L. (1998). *Peak performance: training and nutritional strategies for sport*: Allen & Unwin St Leonards.
- Hikida, R. S., Walsh, S., Barylski, N., Campos, G., Hagerman, F. C., & Staron, R. S. (1998). Is hypertrophy limited in elderly muscle fibers? A comparison of elderly and young strength-trained men. *BAM-PADOVA*, 8, 419-428.
- Hortobágyi, T., Lesinski, M., Gäbler, M., VanSwearingen, J. M., Malatesta, D., & Granacher, U. (2015). Effects of three types of exercise interventions on healthy old adults' gait speed: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 45(12), 1627-1643.
- Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. (2004). Effects of resistance training on older adults. *Sports Medicine*, 34(5), 329-348.
- Häkkinen, K., Kallinen, M., Izquierdo, M., Jokelainen, K., Lassila, H., Mälkiä, E., . . . Alen, M. (1998). Changes in agonist-antagonist EMG, muscle CSA, and force during strength training in middle-aged and older people. *Journal of applied physiology*, 84(4), 1341-1349.
- Häkkinen, K., Kraemer, W., Newton, R., & 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 Physiologica*, 171(1), 51-62.
- Illa, I., Leon-Monzon, M., & Dalakas, M. C. (1992). Regenerating and denervated human muscle fibers and satellite cells express neural cell adhesion molecule

recognized by monoclonal antibodies to natural killer cells. *Annals of neurology*, 31(1), 46-52.

Janssen, I., Heymsfield, S. B., Wang, Z., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *Journal of applied physiology*, 89(1), 81-88.

Judge, J. O., Whipple, R. H., & Wolfson, L. I. (1994). Effects of resistive and balance exercises on isokinetic strength in older persons. *Journal of the American Geriatrics Society*, 42(9), 937-946.

Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., & Lexell, J. (2004a). Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. *Muscle & nerve*, 29(1), 120-127.

Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., Lexell, J., Andersen, J. L., Schjerling, P., . . . Kjaer, M. (2005). The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? *Pflügers Archiv*, 451(2), 319-327.

Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, L. L., Charifi, N., Madsen, J. L., Christensen, L. R., & Andersen, J. L. (2004b). The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *The Journal of physiology*, 558(3), 1005-1012.

Kadi, F., & Thornell, L.-E. (2000). Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. *Histochemistry and cell biology*, 113(2), 99-103.

Karavirta, L., Häkkinen, K., Kauhanen, A., Arija-Blazquez, A., Sillanpää, E., Rinkinen, N., & Häkkinen, A. (2011). Individual responses to combined endurance and strength training in older adults. *Medicine and science in sports and exercise*, 43(3), 484-490.

- Karsrud, S. (2017). *Satellitceller, myokjerner og fiberareal hos yngre, eldre og skrøpelige eldre: Status hos utrente og effekter av styrketrening.*
- Kraemer, W. J., Ratamess, N. A., & French, D. N. (2002). Resistance training for health and performance. *Current sports medicine reports*, 1(3), 165-171.
- Kryger, A., & Andersen, J. (2007). Resistance training in the oldest old: consequences for muscle strength, fiber types, fiber size, and MHC isoforms. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 17(4), 422-430.
- Lauretani, F., Russo, C. R., Bandinelli, S., Bartali, B., Cavazzini, C., Di Iorio, A., . . . Ferrucci, L. (2003). Age-associated changes in skeletal muscles and their effect on mobility: an operational diagnosis of sarcopenia. *Journal of applied physiology*, 95(5), 1851-1860.
- Lexell, J., Henriksson-Larsen, K., & Sjöström, M. (1983). Distribution of different fibre types in human skeletal muscles. 2. A study of cross-sections of whole m. vastus lateralis. *Acta Physiologica Scandinavica*, 117(1), 115-122.
- Lindström, M., & Thornell, L.-E. (2009). New multiple labelling method for improved satellite cell identification in human muscle: application to a cohort of power-lifters and sedentary men. *Histochemistry and cell biology*, 132(2), 141-157.
- Mackey, A., Esmarck, B., Kadi, F., Koskinen, S., Kongsgaard, M., Sylvestersen, A., . . . Kjaer, M. (2007). Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 17(1), 34-42.
- Mackey, A. L., Kjaer, M., Charifi, N., Henriksson, J., Bojsen-Møller, J., Holm, L., & Kadi, F. (2009). Assessment of satellite cell number and activity status in human skeletal muscle biopsies. *Muscle & nerve*, 40(3), 455-465.

- Malatesta, M., Perdoni, F., Muller, S., Zancanaro, C., & Pellicciari, C. (2009). Nuclei of aged myofibres undergo structural and functional changes suggesting impairment in RNA processing. *European journal of histochemistry: EJH*, 53(2).
- Malisoux, L., Francaux, M., Nielens, H., & Theisen, D. (2006). Stretch-shortening cycle exercises: an effective training paradigm to enhance power output of human single muscle fibers. *Journal of applied physiology*, 100(3), 771-779.
- McGregor, R. A., Cameron-Smith, D., & Poppitt, S. D. (2014). It is not just muscle mass: a review of muscle quality, composition and metabolism during ageing as determinants of muscle function and mobility in later life. *Longevity & healthspan*, 3(1), 9.
- McKay, B. R., Toth, K. G., Tarnopolsky, M. A., & Parise, G. (2010). Satellite cell number and cell cycle kinetics in response to acute myotrauma in humans: immunohistochemistry versus flow cytometry. *The Journal of physiology*, 588(17), 3307-3320.
- McLoon, L. K., & Wirtschafter, J. (2003). Activated satellite cells in extraocular muscles of normal adult monkeys and humans. *Investigative ophthalmology & visual science*, 44(5), 1927-1932.
- Mikkelsen, U., Langberg, H., Helmark, I., Skovgaard, D., Andersen, L., Kjaer, M., & Mackey, A. (2009). Local NSAID infusion inhibits satellite cell proliferation in human skeletal muscle after eccentric exercise. *Journal of applied physiology*, 107(5), 1600-1611.
- Mitchell, W. K., Williams, J., Atherton, P., Larvin, M., Lund, J., & Narici, M. (2012). Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Frontiers in physiology*, 3.



- Moritani, T., & Devries, H. A. (1980). Potential for gross muscle hypertrophy in older men. *Journal of Gerontology*, 35(5), 672-682.
- Nilwik, R., Snijders, T., Leenders, M., Groen, B. B., van Kranenburg, J., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. (2013). The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. *Experimental gerontology*, 48(5), 492-498.
- Patel, H. P., Syddall, H. E., Jameson, K., Robinson, S., Denison, H., Roberts, H. C., . . . Aihie Sayer, A. (2013). Prevalence of sarcopenia in community-dwelling older people in the UK using the European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition: findings from the Hertfordshire Cohort Study (HCS). *Age and ageing*, 42(3), 378-384.
- Pavlat, G. K., Rich, K., Webster, S. G., & Blau, H. M. (1989). Localization of muscle gene products in nuclear domains. *Nature*, 337(6207), 570-573.
- Peterson, M. D., Rhea, M. R., Sen, A., & Gordon, P. M. (2010). Resistance exercise for muscular strength in older adults: a meta-analysis. *Ageing research reviews*, 9(3), 226-237.
- Petrella, J. K., Kim, J.-s., Cross, J. M., Kosek, D. J., & Bamman, M. M. (2006). Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 291(5), E937-E946.
- Petrella, R. J., & Chudyk, A. (2008). Exercise prescription in the older athlete as it applies to muscle, tendon, and arthroplasty. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 18(6), 522-530.
- Pinto, R. S., Correa, C. S., Radaelli, R., Cadore, E. L., Brown, L. E., & Bottaro, M. (2014). Short-term strength training improves muscle quality and functional capacity of elderly women. *Age*, 36(1), 365-372.

- Rehfeldt, C., Mantilla, C. B., Sieck, G. C., Hikida, R. S., Booth, F. W., Kadi, F., . . . Lowe, D. A. (2007). Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *Journal of applied physiology*, *103*(3), 1104-1106.
- Reimann, J., Brimah, K., Schröder, R., Wernig, A., Beauchamp, J. R., & Partridge, T. A. (2004). Pax7 distribution in human skeletal muscle biopsies and myogenic tissue cultures. *Cell and tissue research*, *315*(2), 233-242.
- Roth, S., Martel, G., Ivey, F., Lemmer, J., Tracy, B., Metter, E., . . . Rogers, M. (2001). Skeletal muscle satellite cell characteristics in young and older men and women after heavy resistance strength training. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *56*(6), B240-B247.
- Roth, S. M., Martel, G. F., Ivey, F. M., Lemmer, J. T., Metter, E. J., Hurley, B. F., & Rogers, M. A. (2000). Skeletal muscle satellite cell populations in healthy young and older men and women. *The Anatomical Record*, *260*(4), 351-358.
- S Hikida, R. (2011). Aging changes in satellite cells and their functions. *Current aging science*, *4*(3), 279-297.
- Sajko, Š., Kubínová, L., Cvetko, E., Kreft, M., Wernig, A., & Eržen, I. (2004). Frequency of M-cadherin-stained satellite cells declines in human muscles during aging. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, *52*(2), 179-185.
- Schlicht, J., Camaione, D. N., & Owen, S. V. (2001). Effect of intense strength training on standing balance, walking speed, and sit-to-stand performance in older adults. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, *56*(5), M281-M286.
- Schot, P. K., Knutzen, K. M., Poole, S. M., & Mrotek, L. A. (2003). Sit-to-stand performance of older adults following strength training. *Research quarterly for exercise and sport*, *74*(1), 1-8.

- Scott, W., Stevens, J., & Binder-Macleod, S. A. (2001). Human skeletal muscle fiber type classifications. *Physical therapy*, 81(11), 1810.
- Seale, P., Sabourin, L. A., Girgis-Gabardo, A., Mansouri, A., Gruss, P., & Rudnicki, M. A. (2000). Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell*, 102(6), 777-786.
- Singh, N. A., Clements, K. M., & Fiatarone, M. A. (1997). A randomized controlled trial of progressive resistance training in depressed elders. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 52(1), M27-M35.
- Skelton, D. A., Young, A., Greig, C. A., & Malbut, K. E. (1995). Effects of resistance training on strength, power, and selected functional abilities of women aged 75 and older. *Journal of the American Geriatrics Society*, 43(10), 1081-1087.
- Slivka, D., Raue, U., Hollon, C., Minchev, K., & Trappe, S. (2008). Single muscle fiber adaptations to resistance training in old (> 80 yr) men: evidence for limited skeletal muscle plasticity. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 295(1), R273-R280.
- Snijders, T., Nederveen, J. P., McKay, B. R., Joannisse, S., Verdijk, L. B., van Loon, L. J., & Parise, G. (2015). Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Frontiers in physiology*, 6.
- Snijders, T., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. (2009). The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. *Ageing research reviews*, 8(4), 328-338.
- Stewart, V., Saunders, D., & Greig, C. (2014). Responsiveness of muscle size and strength to physical training in very elderly people: a systematic review. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 24(1).

- Verdijk, L. B., Gleeson, B. G., Jonkers, R. A., Meijer, K., Savelberg, H. H., Dendale, P., & van Loon, L. J. (2009). Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 64(3), 332-339.
- Verdijk, L. B., Koopman, R., Schaart, G., Meijer, K., Savelberg, H. H., & van Loon, L. J. (2007). Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292(1), E151-E157.
- Verdijk, L. B., Snijders, T., Drost, M., Delhaas, T., Kadi, F., & van Loon, L. J. (2014). Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. *Age*, 36(2), 545-557.
- Verney, J., Kadi, F., Charifi, N., Féasson, L., Saafi, M. A., Castells, J., . . . Denis, C. (2008). Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle & nerve*, 38(3), 1147-1154.
- Winje, I., Bengtsen, M., Eftestøl, E., Juvkam, I., Bruusgaard, J., & Gundersen, K. (2018). Specific labelling of myonuclei by an antibody against Pericentriolar material 1 (PCM1) on skeletal muscle tissue sections. *Acta Physiologica*.
- Xue, Q.-L. (2011). The frailty syndrome: definition and natural history. *Clinics in geriatric medicine*, 27(1), 1-15.

## Tabelloversikt

Tabell 1: Styrketreningsprogrammet som ble gjennomført av ST+PRO .....	26
Tabell 2: Primære og sekundære antistoff* .....	31
Tabell 3: Gjennomsnittsverdier for deltakerne som gjennomførte målinger av kroppssammensetning (Fett % og fettfri masse i bein), 1 repetisjon maksimum i kneekstensjon (1 RM) og funksjonelle tester (stoltest og vanlig ganghastighet) ved baseline. Fire av deltakerne gjennomførte treningsintervensjonen etter at de hadde vært i kontrollgruppen, og er dermed inkludert i begge gruppene. Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt med standardavvik ( $\pm$ ). .....	37
Tabell 4: Baselineverdier for fiberareal ( $\mu\text{m}^2$ ), prosentvis fibertypefordeling (fiber%), antall satellittceller per 100 fibre (SC per 100 fibre) og antall myokjerner per fiber separat for ST+PRO og PRO, samt for begge gruppene samlet (ST+PRO og PRO). Tabellen viser både fiberspesifikke og samlede verdier for begge fibertypene (Type I og Type II). Verdiene er oppgitt som gjennomsnitt med standardavvik ( $\pm$ ). .....	38

## Figuroversikt

Figur 1: Forholdet mellom muskelmasse og alder. Grå linje representerer menn, og svart linje representerer kvinner (Karsrud 2017). Basert på figur fra Jansen et al., 2000..... 12

Figur 2: Satellittcellen ligger mellom sarkolemma og basal lamina i motsetning til myokjernen som ligger på insiden av sarkolemma (Karsrud 2017)..... 15

Figur 3: Satellittcellen kan aktiveres som følge av styrketrening. Satellittcellen returner tilbake til en hvilende tilstand eller starte proliferering. Etter proliferering kan satellittcellen enten addere flere myokjerner til en voksende muskelfiber eller smelte sammen med andre satellittceller for å danne nye fibre (figur Karsrud 2017; basert på Hawke & Garry 2001)..... 16

Figur 4: Studiedesign..... 24

Figur 5: Bildet viser et 3D-bilde av satellittcellenes posisjon (grønn merking) i forhold til basal lamina (rød merking). Oransje pil viser lokalisasjonene av satellittcellen. Satellittcellen tilhører den øverste cellen. .... 29

Figur 6: Bildeserie som viser laminin, PAX7 og DAPI, samt et sammensatt bilde av alle merkingene **A**: Bildet til høyre illustrerer at satellittcellen (grønn farge) ligger oppå laminin merkingen (rød farge). **B-F**: Ved å gå dypere ned i snittet ser man at satellittcellen «beveger» seg mot innsiden av basal lamina. Bildet til høyre på bildeserie **F** viser at satellittcellen tilhører den øverste cellen lokalisert på innsiden av basal lamina. .... 30

Figur 7: **A**: PAX7 positiv satellittcelle vises som grønn merking. Oransje pil viser lokalisasjonen av satellittcellen. **B**: Rød pil viser lokalisasjonen til den identifiserte satellittcellen fra bilde A. Grønne piler viser myokjerner merket med DAPI. **C**: Basal lamina er merket mot laminin og vises med rød farge. Blå piler viser merkingen av Basal lamina. Oransje pil viser lokalisasjonen av satellittcellen innenfor laminin merkingen. **D**: Merking mot PAX7, DAPI og Laminin satt sammen. Oransje pil viser lokalisasjonen til satellittcellen..... 33

Figur 8: **A**: Bildet viser merking mot PCM1. De oransje pilene viser noen av de PCM1 positive myokjernene. **B**: Bildet viser merking mot DAPI. De oransje pilene viser de identifiserte myokjernene fra bilde A. Grønne piler illustrerer cellekjerne som ikke er myokjerner. **C**: Viser merking mot laminin. De oransje pilene viser lokalisasjonen av de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. Grønn pil peker på laminin merkingen. **D**: Sammensatt bilde av PCM1, DAPI og Laminin. De oransje pilene viser de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. De grønne pilene peker mot cellekjerne som ikke er myokjerner. .... 34

Figur 9: Bildene viser et lite område av oversiktsbildene som ble brukt for analyse av muskelfibertype og fiberareal. **A**: Viser merking mot dystrofin. **B**: Viser merking mot MHC I med grønn farge, de resterende cellene er MCH II. **C**: Dystrofin og MCH I merkingen satt sammen til ett bilde..... 35

Figur 10: Tverrsnitt av m. quadriceps femoris (cm<sup>2</sup>) angitt som gjennomsnitt av begge bein for ST+ PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til

høyre illustrerer prosentvis endring fra baseline til post-test for ST+PRO og PRO. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P<0,05$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,05$ )..... 39

Figur 11: 1 RM i kneekstensjon (kg) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P<0,05$ ) (\*), tendens til endring fra pre til post ( $P<0,10$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene fra pre til post ( $P<0,05$ )..... 40

Figur 12: Tid på stoltest (s) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. (#), tendens til forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,10$ )..... 41

Figur 13: Selvvalgt ganghastighet (m/s) for ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. Figuren til høyre viser prosentvis endring fra baseline til post-test. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P<0,05$ ) #, signifikant forskjell i prosentvis endring mellom gruppene ( $P<0,05$ )..... 41

Figur 14: Fiberareal ( $\mu\text{m}^2$ ) i type I og type II-fibre i ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen ..... 42

Figur 15: Fiberareal av m. vastus lateralis er presentert som gjennomsnittlig fiberareal av type I og type II-fibre med hensyn til fibertypesammensetning for hver enkelt deltaker. **A:** Korrelasjon mellom tverrsnittsareal av m. quadriceps femoris og fiberareal i m. vastus lateralis ved baseline for ST+PRO og PRO. **B:** Korrelasjon mellom prosentvis endring i tverrsnittsareal av m. quadriceps femoris og fiberareal i m. vastus lateralis for ST+PRO og PRO. **C:** Korrelasjon mellom prosentvis endring fiberareal i m. vastus lateralis og tverrsnittsareal av m. quadriceps femoris for ST+PRO..... 43

Figur 16: Antall satellittceller (antall per 100 fiber) per fibertype I og II i styrketreningsgruppen ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen ..... 44

Figur 17: Antall myokjerner per type I og type II fiber i ST+PRO og PRO før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen ..... 45

## Forkortelser

BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine
BSA	Bovine serum albumin
CSA	Tverrsnittsareal
<i>C-met</i>	Tyrosine-protein kinase
CT	Computertomografi
DAPI	4',6-Diamidino-2-Phenylindole, Dihydrochloride
FP	Forsøkspersoner
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
HGF	Hepatocyte growth factor
IGF-1	Insulin-like growth factor
IHC	Immunohistokjemi
M-cad	M-cadherin (kalsium-avhengig celle adhesjon molekyl)
MHC	Myosin tungkjede
mRNA	Messenger ribonucleic acid
MRFene	Myogenic regulatory factors
Myokjerner	Cellekjerner i muskelfibrene
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NO	Nitrogenoksid
OCT	Optimal cutting temperature
Pax7	Paired-box transkripsjonsfaktor 7
PBS	Phosphate- <i>buffered</i> saline
PCM1	Pericentriolar Material 1
RM	Repetisjon maksimum
SC	Satellittcelle
SPPB	Short Physical Performance Battery
PRO	«Protein-gruppen»
STAS	Styrketrening av sykehjemsbeboere
ST+PRO	«Styrketrening + protein-gruppen»
SR	Sarkoplasmatisk retikulum



# Vedlegg 1: Informert samtykke

Styrketrening for eldre med lavt funksjonsnivå, 2. mai 2016, versjon 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 (kneestrek) 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/stølheth 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 gjenkjenningende 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: Fried Frailty, modifisert

<b>Kriterium 1:</b> Matlyst <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se eget skjema  Spørsmål 1) Alternativ: Spørsmål 2) Alternativ:  Personer som oppgir alternativ 3 på begge spørsmål, oppfyller kriteriet.				
<b>Kriterium 2:</b> 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
<b>Kriterium 3:</b> Utmattelse <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se eget skjema.  Påstand 1) Alternativ: Påstand 2) Alternativ:  Personer som oppgir alternativ 3 eller 4 på ett eller begge spørsmålene, oppfyller kriteriet "utmattelse".				
<b>Kriterium 4:</b> 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:				
<b>Kriterium 5:</b> Aktivitetsnivå <u>JA</u> <u>NEI</u>	Se eget skjema.  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 to av kriteriene 2, 4 og 5 er oppfylt.

Kan personen inkluderes som deltaker?      JA      NEI

FP:

Sted:

Høyde:

Vekt:

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: SPPB

Registreringsark

dd/mnd/år:

--	--	--	--	--	--	--	--

ID/navn:

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

## 1. Balansetest

<b>1.Samlede føtter 10 sekunder</b>
---



<b>2.Semi-tandem 10 sekunder</b>
--------------------------------------



<b>3.Tandem 10 sekunder</b>
---------------------------------



Gå til gangtest



1. 

--	--	--	--

 sek

2. 

--	--	--	--

 sek

3. 

--	--	--	--

 sek

## 2. Gangtest



Ganghjelpemidler ved test (kryss av):

- uten
- krykke/stokk (er)
- rollator
- Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_

Tid test 1: 

--	--	--	--

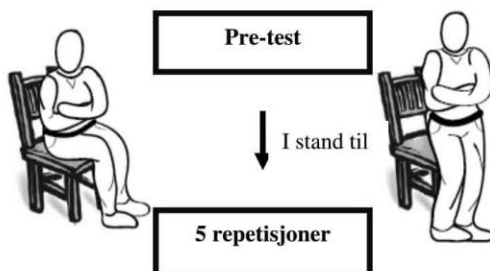
 sek

Tid test 2: 

--	--	--	--

 sek

## 3. Reise/ sette seg



Ikke i stand til → Avslutt

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:

1.  Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
2.  Deltageren kunne ikke holde stillingen uten hjelp(0p)
3.  Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
4.  Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
5.  Deltager tar ikke instruksjon(missing)
6.  Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_
7.  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:

1.  Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
2.  Deltageren kunne ikke gå uten assistanse(0p)
3.  Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
4.  Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
5.  Deltager tar ikke instruksjon(missing)
6.  Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_
7.  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:

1.  Forsøkte, men ikke i stand til(0p)
2.  Deltageren kunne ikke reise seg uten hjelp(0p)
3.  Ikke forsøkt, tester følte det utrygg(0p)
4.  Ikke forsøkt, deltager følte seg utrygg(0p)
5.  Deltager tar ikke instruksjon(missing)
6.  Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_
7.  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  Nei  Vet ikke

Evt. hvilken:

Har du pacemaker? Ja  Nei  Vet ikke

Kjenner du til at du har høyt blodtrykk? Ja  Nei  Vet ikke

Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesykdom? Ja  Nei  Vet ikke

Hvis ja på forrige spørsmål; hvilke medisiner?

Røyker du? Ja  Nei  Vet ikke

Kjenner du til om du har høyt kolesterolnivå i blodet? Ja  Nei  Vet ikke

Har du besvimt i løpet av de siste 6 måneder? Ja  Nei  Vet ikke

Har du sukkersyke/diabetes? Ja  Nei  Vet ikke

Er du allergisk mot melk/laktose? Ja  Nei  Vet ikke

Er du allergisk mot lokalbedøvelse (tilsvarende den man får hos tannlege)? Ja  Nei  Vet ikke

Har du artrose/leddgikt i knær? Ja  Nei  Vet ikke

Har du artrose/leddgikt i hofte? Ja  Nei  Vet ikke

Kjenner du til noen annen grunn til at din deltakelse i prosjektet kan medføre helse- eller skaderisiko? Ja  Nei  Vet ikke

Evt. hva:

