

Kenneth Skilnand

Muskelhukommelse: Effekten av trening,
detrening og retrening på muskelstyrke,
fiberareal og antall myokjerner i
skjelettmusklene til menn og kvinner

Masteroppgave i idrettsvitenskap
Seksjon for fysisk prestasjonsevne
Norges idrettshøgskole, 2019

Sammendrag

Introduksjon: Begrepet *muskelhukommelse* beskriver evnen til å raskt gjenoppbygge tapt muskelmasse og muskelstyrke. Dette fenomenet har så langt primært blitt tilskrevet motorisk læring i sentralnervesystemet når det gjelder muskelstyrken. Forskning på dyr foreslår en form for cellulær hukommelsesmekanisme som gir raskere muskelvekst, og at denne *hukommelsen* er relatert til antall av muskelcellekjerner. Formålet med denne studien var derfor å undersøke dette fenomenet hos mennesker.

Metode: 12 utrente forsøkspersoner (20-32 år) gjennomførte 10 uker med styrketrening av en arm (*albuefleksorene*), før de gjennomførte en detreningsperiode på 16 uker etterfulgt av en retreningsperiode av begge armene på 10 uker. Vi kunne derfor sammenligne effekten av ulik trenings erfaring i to muskler hos samme person. Det ble gjennomført styrketester (1 repetisjon maksimum (1RM)), ultralyd (muskeltykkelse) og biopsier (fiberareal og antall muskelcellekjerner) av *albuefleksorene* før og etter hver intervensjonsperiode.

Resultat: Muskelstyrken økte med $49\pm 27\%$ for armen som trente (TR) og $9\pm 8\%$ for kontrollarmen etter den første 10 ukersperioden med trening. I den samme perioden økte antall av myokjerner for type II-fibre ($34\pm 22\%$) i TR, men det var ikke signifikant økning i fiberareal for noen av fibertypene. Etter 16 uker med detrening ble muskelstyrken redusert med $7\pm 5\%$ for TR og det var ingen endring i antall myokjerner eller fiberareal. Etter den andre treningsperioden på 10 uker økte muskelstyrken med $38\pm 19\%$ for TR og $61\pm 30\%$ for kontrollarmen. I samme periode økte antall myokjerner for både type I-fibre ($8\pm 6\%$) og type II-fibre ($15\pm 8\%$) for TR, og for Kontrollarmen (Type I-fibre $13\pm 8\%$, og type II-fibre $31\pm 16\%$). I den andre treningsperioden var det en tendens til økning i arealet til type II-fibre, men ikke for type I-fibre.

Konklusjon: Denne studien er til vår kjennskap den første studien som har undersøkt cellulære hukommelsesmekanismen med økt antall myokjerner hos mennesker. Forutsetningen for muskelhukommelse var tilstede ved at antall myokjerner økte i første treningsperiode og at de ble vedvart under atrofi. Antall myokjerner fortsatte å øke igjen når musklene ble belastet tilstrekkelig igjen. Vi fant derimot ingen tilsynelatende *hukommelseeffekt* på hverken økningen i muskelfiberareal eller maksimal muskelstyrke i den andre treningsperioden.

Nøkkelord: *Atrofi, detrening, hypertrofi, inaktivitet, kjernedomenet, muskelfiberareal, muskelhukommelse, muskelstyrke, myofibre, myokjerner, retrening, skjelettmuskler, styrketrening.*

Innhold

Sammendrag	III
Innhold	V
Forkortelser og akronymer	VII
Forord.....	IX
1. Introduksjon.....	11
1.1 Problemstilling og hypoteser	13
2. Teori.....	15
2.1 Regulering av muskelstørrelse	15
2.1.1 De grunnleggende funksjonelle enhetene av skjelettmusklene	15
2.1.2 Stimuli for muskelvekst ved styrketrening	16
2.1.3 Satellittcellenes rolle ved addering av myokjerner ved hypertrofi	19
2.1.4 Muskelcellekjernes rolle ved hypertrofi	21
2.1.5 Mekanismer for muskelsvinn ved inaktivitet/reduert aktivitetsnivå	23
2.1.6 Muskelcellekjernes rolle ved atrofi	25
2.2 Kjernen bak den cellulære hukommelsesmekanismen	27
2.3 Fordelene av en tidligere storhetstid	31
2.4 Betydning av muskelhukommelse for fysisk prestasjon og helse	32
2.4.1 Dopingrelatert muskelvekst	33
2.4.2 Aldersrelatert muskelsvinn	33
2.4.3 Sykdomsrelatert muskelsvinn	34
2.4.4 Prehabilitering og rehabilitering	34
3. Metode	37
3.1 Utvalg	37
3.2 Studiedesign	39
3.3 Treningsprotokoll	40
3.4 Testing	45
3.4.1 Kostholdsregistrering	45
3.5 Testing av maksimal muskelstyrke	46
3.5.1 1 Repetisjons maksimum (1RM)	46
3.6 Målinger på muskelfibernivå	48
3.6.1 Muskelbiopsi-taking	48
3.6.2 Snitting av muskelbiopsier	49
3.6.3 Immunhistokjemi	49
3.6.4 Mikroskopi	50
3.6.5 Kvantifisering av myokjerner	51
3.6.6 Kvantifisering av muskelfibertype og muskelfiberareal	53
3.7 Statistikk	55

4. Resultater	57
4.1 <i>Endring i maksimal muskelstyrke.....</i>	57
4.2 <i>Endring i antall myokjerner.....</i>	58
4.3 <i>Endring i tvernsnittarealet til muskelfibrene.....</i>	59
4.4 <i>Endring i kjernedomenet.....</i>	60
5. Diskusjon	63
5.1 <i>Myokjernene taler for en cellulær hukommelsesmekanisme.....</i>	63
5.2 <i>Muskelstyrken viser ingen tilsynelatende hukommelseseffekt.....</i>	68
5.3 <i>Muskelfiberarealet viser ingen tilsynelatende hukommelseseffekt.....</i>	73
5.4 <i>Metodiske betraktninger.....</i>	78
6. Konklusjon.....	81
Referanser	83
Tabelloversikt.....	107
Figuroversikt	109
Vedlegg 1: Rekrutteringsplakat.....	111
Vedlegg 2: Informert samtykke	113
Vedlegg 3: Egenerklæringsskjema	119
Vedlegg 4: Svarbrev fra REK.....	121

Forkortelser og akronymer

ATP	Adenosintrifosfat
BSA	Bovine serum albumin
BMI	Kropps masseindeks
Ca ²⁺	Kalsium
DNA	Deoxyribonucleic acid
DAPI	4',6-Diamidino-2-Phenylindole, Dihydrochloride
DEXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
HGF	Hepatocyte growth factor
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
Kontrollarm	Armen som bare trente i andre treningsperiode
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MRF4	Myogenic factor 6
MHC	Myosin heavy chain
mTOR	Mammalian target of rapamycin
mRNA	Messenger ribonucleic acid
Myf5	Myogenic factor 5
MyoD	Myogenic Differentiation Antigen
Myokjerner	Cellekjerner i muskelfibre
NFAT	Nuclear factor of activated T-cells
NO	Nitric oxide
OCT	Optimal cutting temperature

Pax7	Paired-box transcription factor 7
PBS	Phosphate-buffered saline
PCM1	Pericentriolar Material 1
PC3	Prostate cancer cell line
Reps	Repetisjoner
RIR	Repetisjoner i reserve
RM	Repetisjon maksimum
RNA	Ribonucleic acid
Serier	Sett
TR	Armen som trente begge perioder

Forord

Denne masteroppgaven var en del av MM2-prosjektet (muskelhukommelse 2) til «muskelgruppa» ved seksjonen for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole (NIH), som ble gjennomført fra våren 2018 til vinteren 2018. I tradisjonenes tro har masteroppgaven vært tidkrevende med mange strevsomme, gledelige, frustrerende, og lærerike øyeblikk. Likevel har jeg fått god støtte og veiledning gjennom hele denne reisen.

Først og fremst vil jeg takke mine veiledere **Kristoffer T. Cumming** og **Truls Raastad**. Jeg er evig takknemlig for deres enorme kunnskap og interesse for faget, samt upåklagelige veiledning, åpne kontorer, og grundige tilbakemeldinger. Jeg vil spesielt takke **Kristoffer T. Cumming** for et tett samarbeid, med solid opplæring, kommunikasjon og tilgjengelighet. Takk for svar på mang en seine eposter, at du har vært tilgjengelig til alle døgnets tider, og at du stiller opp mer enn en veileder må. Du er helt rå!

Takk til **muskelgruppa** for et faglig og engasjerende forskermiljø. Takk til **Marit** for et godt samarbeid under datainnsamlingen. Takk til **alle forsøkspersonene**. Det har vært en glede å samarbeide med dere, og uten dere hadde ikke prosjektet vært mulig.

Stor takk til **Martin** for at du tok deg tid til å korrekturlese hele oppgaven, med gode tilbakemeldinger. Jeg vil spesielt få takke **venner** og **familie** for at dere har støttet meg, og stilt opp når jeg har trengt det som mest. Dere vet hvem dere er, og uten dere hadde jeg ikke vært der jeg er i dag!

Fem uforglemmelig år på NIH er nå over, takk til **alle involverte**.

Kenneth Skilnand

Oslo, mai 2019

1. Introduksjon

Musklens evne til å generere kraft er proporsjonal med antall kontraktile filamenter over fiberarealet til en muskel, og endringer i muskelens evne til å generere kraft vil i stor grad samsvare med endringer i muskelfibrenes tverrsnittsareal (Gundersen, 2016). For å opprettholde muskelmasse og -styrke er man avhengig av å belaste muskelskjelettsystemet jevnlig og tilstrekkelig. Imidlertid vil det kunne oppstå perioder hvor man ikke har anledning eller mulighet til å gjennomføre jevnlig fysisk anstrengende arbeid, som kan føre til tap av muskelmasse og -styrke. Slik som ved sykdom, skade, immobilisering, sengeleie, redusert påvirkning av gravitasjon eller som følge av en hektisk hverdag. En reduksjon i muskelstyrke og -masse er en relativt kjent konsekvens av aldring og/eller inaktivitet (Frontera, Hughes, Lutz, & Evans, 1991). Lav muskelstyrke og -masse kan bidra til økt forekomst av muskel- og skjelettlidelser, samt reduksjon i fysisk funksjon, livskvalitet, og selvstendighet hos både yngre og eldre. Derimot har både yngre og eldre vist å kunne oppnå markant økning i både muskelstyrke og -masse som følge av styrketrening (Cannon, Kay, Tarpinning, & Marino, 2007).

Begrepet *muskelhukommelse* har blitt brukt for å beskrive evnen til å gjenoppbygge muskelmasse og -styrke raskt ved retrening, ettersom tidligere styrketrening kan gjøre det lettere å gjenvinne muskelmasse og -styrke etter en lang periode med inaktivitet og tap av muskelmasse (Staron, Leonardi, Karapondo, Malicky, Falkel, Hagerman, & Hikida, 1991; Taaffe & Marcus, 1997). Dette fenomenet har så langt primært blitt tilskrevet *motorisk læring* i sentralnervesystemet (Rutherford & Jones, 1986). Tidlige tilpasninger til styrketrening er tenkt å hovedsakelig oppstå som følge av nevralt tilpasninger (Moritani, 1979). Tilpasninger i sentralnervesystemet alene er derimot ikke tilstrekkelig for å øke muskelstyrken over tid, og langvarig økning i muskelstyrke vil derfor hovedsakelig være avhengig av dannelse av muskelproteiner (Gundersen, 2016). Egner, Bruusgaard, Eftestøl, & Gundersen (2013) foreslår at det eksisterer en form for cellulær hukommelsesmekanisme i muskelcellene selv. Denne mekanismen kan være med på å forklare fenomenet ved at tidligere oppnådd muskelmasse er lettere å gjenvinne, og at de cellulære mekanismene for denne *hukommelsen* er relatert til antall av muskelcellekjerner (myokjerner). Det vil dermed

være villedende å benytte begrepet *muskelhukommelse* synonymt med begrepet *motorisk læring*, ettersom denne formen for *hukommelse* trolig er urelatert til muskelcellens egenskaper. I tillegg er *muskelhukommelse* også tenkt å forekomme på DNA-nivå, hvor en genetisk *modifisering* gjør at enkelte gener som er viktige for hypertrofi, lettere blir *slått på* ved senere retrening (Seaborne et al., 2018a; Seaborne et al., 2018b).

En muskelcelles størrelse kan bli regulert ved trening, i så måte at styrketrening fører til hypertrofi, og inaktivitet til atrofi (Gundersen, 2011). Under de fleste omstendigheter, rekrutteres nye myokjerner fra musklenes stamceller (satellitceller) under hypertrofi. Det er derfor tenkt at et stort antall cellekjerner omringet av et maskineri for proteinsyntese er påkrevd for å forsyne det store cytoplasmatiske volumet i muskelcellen med nye proteiner (Gundersen, 2016). Mens det ser ut til å være en viss enighet om endring av antall myokjerner under hypertrofi, virker myokjernerens respons til atrofi å være mer uklar (Brooks & Myburgh, 2014). Selv om det tilsynelatende kan se ut til at antall myokjerner forblir uendret ved atrofi (Bruusgaard, Egner, Larsen, Dupre-Aucouturier, Desplanches, & Gundersen, 2012; Bruusgaard & Gundersen, 2008; Bruusgaard, Johansen, Egner, Rana, & Gundersen, 2010; Lee et al., 2018; Schwartz, Brown, McLaughlin, Smith, & Bigelow, 2016; Wada, Takahashi, Katsuta, & Soya, 2002). Tross at studier på dyr gir indikasjon for en mulig muskulær hukommelsesmekanisme gjennom endring i myokjerner, er dette fenomenet mindre dokumentert hos mennesker. Til vår kjennskap er det ingen studier på mennesker som har hatt grunnlaget for å teste ut en mulig muskulær hukommelsesmekanisme relatert til antall av myokjerner, og formålet i dette forskningsprosjektet blir derfor å undersøke fenomenet videre hos mennesker.

I denne studien rekrutterte vi utrente deltakere til å trene styrketrening av én arm (*albuefleksorene*) i 10 uker, før de gjennomførte en detreningsperiode på 16 uker etterfulgt av en retreningsperiode der begge armene ble trent i 10 uker. Det ble gjennomført styrketester (1RM), måling av muskeltykkelse med ultralyd, og det ble tatt biopsier før og etter hver intervensjonsperiode for å avdekke en mulig muskulær hukommelsesmekanisme. Dette gjorde at vi kunne sammenligne effekten av ulik treningserfaring i to muskler hos samme person.

1.1 Problemstilling og hypoteser

Formålet med studien var å undersøke om forskjell i treningsrespons ved styrketrening kan tilskrives tidligere treningsstatus. Vi undersøkte om en tidligere trent arm (*albuefleksorene*), fikk raskere økning i muskelmasse og muskelstyrke enn den kontralaterale utrente armen (kontrollarmen) i løpet av en 10 uker lang treningsperiode. Siden det er få studier som har undersøkt *muskelhukommelse* hos mennesker og på bakgrunn av tidligere funn, kom vi frem til følgende problemstilling (#) og hypoteser (H0 og H1):

#: Vil tidligere styrketrening av *albuefleksorene* påvirke muskelvekst og styrkeøkning i en retreningsperiode etter 16 uker uten trening?

H0: Det er ingen forskjell i muskelvekst og styrkeøkning mellom den tidligere trente armen (TR) og den kontralaterale utrente armen (kontrollarmen) ved retrening.

H1: Den tidligere trente armen (TR) vil øke mer i både fiberareal og muskelstyrke enn den kontralaterale utrente armen (kontrollarmen) ved retrening.

Forutsetningen for disse hypotesene om cellulær muskelhukommelse er at antall myokjerner øker i den trente armen etter første treningsperiode.

2. Teori

Regulering av muskelstørrelse i forbindelse med en mulig cellulær hukommelsesmekanisme i skjelettmusklene involverer komplekse prosesser som responderer på ulike stimuli. Under dette kapittelet beskrives hvordan muskelstørrelsen reguleres gjennom styrketrening og inaktivitet/reduert aktivitetsnivå. Denne informasjonen leder videre til det som er *kjernen* bak den cellulære hukommelsesmekanismen, før fordelene av en tidligere *storhetstid*, og betydningen av en mulig hukommelsesmekanisme for fysisk prestasjon og helse blir beskrevet. For en oversikt over forkortelser og akronymer som blir benyttet i oppgaven, se egen liste tidligere i dokumentet.

2.1 Regulering av muskelstørrelse

For å forstå mekanismen, fordelene og betydning av en mulig cellulær hukommelsesmekanisme vil det først bli beskrevet hvordan skjelettmusklene tilpasser seg avhengig av de stimuli de utsettes for. Dette inkluderer en beskrivelse av hvordan styrketrening stimulerer til muskelvekst, satellittcellenes rolle ved addering av myokjerner ved hypertrofi, samt muskelcellekjernes rolle ved hypertrofi. Deretter følger en beskrivelse av hvordan inaktivitet/reduert aktivitetsnivå fører til muskelsvinn og muskelcellekjernes rolle ved atrofi, men først tar vi for oss de grunnleggende funksjonelle enhetene av skjelettmusklene.

2.1.1 De grunnleggende funksjonelle enhetene av skjelettmusklene.

Skjelettmusklene består av en mengde muskelceller kjent som myofibre. Muskelcellene er unike i så måte at de er store i størrelsen og innehar flere cellekjerne (Frontera & Ochala, 2015). Ved regulering av muskelstørrelse, endrer vi i hovedsak myofibrenes størrelse. Myofibrene inneholder en stor andel proteiner (ca. 80%), som er ansvarlig for cytoskjelettets struktur og integritet, regulering av homeostase og vevets kontraktile egenskaper (Hoppeler, Lüthi, Claassen, Weibel, & Howald, 1973). Myofibrene er omringet av en basalmembran, og er bygd opp av mindre enheter kalt myofibriller. Myofibrillene som i hovedsak er sammensatt av de kontraktile proteinene aktin og

myosin, repeteres i hver sarkomer. Det er de kontraktile proteinene aktin og myosin som er de grunnleggende funksjonelle enhetene av skjelettmusklene. De to komplementære teoriene kjent som «glidefilament-teorien» (Huxley, 1958) og «kryssbro-teorien» (Huxley, 1969) er tenkt å forklare hvordan muskelkontraksjon oppstår, ved at sarkomerene forkortes når aktin- og myosinfilamentene beveger seg ift. hverandre (Yin, Price, & Rudnicki, 2013).

Muskelfibre har også ulike fenotyper, og det er vanlig å gruppere dem inn i ulike fibertyper basert på deres ulike myosin heavy chain (MHC) ATPase aktivitet (Schiaffino & Reggiani, 2011). Hos mennesker er det vanlig å skille mellom tre ulike isoformer av MHC: type I (oksidativ/tregere kontraksjonshastighet/mer resistent mot tretthet), og type IIA og type IIX (glykolytisk/raskere kontraksjonshastighet/mindre resistent mot tretthet) (Bagley, McLeland, Arévalo, Brown, Coburn, & Galpin, 2017; Yin et al., 2013). Fibertypesammensetningen til en muskel kan muligens variere avhengig av bl.a. muskelens funksjon, treningsstatus og genetikk (Bagley et al., 2017; Schiaffino & Reggiani, 2011; Simoneau & Bouchard, 1989). Motornevronene og deres tilhørende muskelfibre er også tenkt å følge «Hennemans's rekrutteringshierarki» på bakgrunn av størrelse, hvor de minste motorenehetene rekrutteres først (Henneman, 1985; Henneman, Somjen, & Carpenter, 1965). Dette tillater presis kontroll over kraftutvikling i ulike bevegelser (Bawa, Jones, & Stein, 2014).

Skjelettmusklene er svært tilpasningsdyktige (Bagley et al., 2017), og er i kontinuerlig endring gjennom regulering av både proteinsyntese og proteinnedbrytning (*proteinbalansen*) (Mitchell, Churchward-Venne, Cameron-Smith, & Phillips, 2015). *Proteinbalansen* vil bli påvirket av en rekke ulike stimuli som fysisk aktivitet (bl.a. styrketrening), inaktivitet, sykdom, næringsstoffer, cytokiner, hormoner og vekstfaktorer. En positiv *proteinbalanse* vil over tid kunne lede til en økning (hypertrofi) av myofibrenes størrelse, mens en negativ proteinbalanse vil over tid kunne lede til en reduksjon (atrofi) av myofibrenes størrelse (Deutz & Wolfe, 2013).

2.1.2 Stimuli for muskelvekst ved styrketrening. Det er akkumulering av muskelproteiner som i hovedsak er tenkt å gjøre en muskel større og sterkere, og vil som følge av styrketrening hovedsakelig oppstå som følge av et stort mekanisk drag, metabolsk stress og/eller muskelskade (Schoenfeld, 2010). Muskelvekst oppstår i

hovedsak som følge av et økt tvernsnittsareal av de allerede eksisterende muskelfibrene (hypertrofi) (McGlory & Phillips, 2015). Selv om det ved noen tilfeller også er rapportert økt muskelstørrelse som følge av en økning i antall muskelfibre (hyperplasi) (Antonio & Gonyea, 1993), er det generelt akseptert at hypertrofi er ansvarlig for hoveddelen av muskelveksten vi ser ved styrketrening (Adams & Bamman, 2012). Ulike treningsvariabler som øvelsesutvalg og rekkefølge, samt belastning, volum, varighet, frekvens og pauselengde kan benyttes for å manipulere det mekaniske eller metabolske stimuliet (ACSM, 2009; Toigo & Boutellier, 2006).

Et stort mekanisk drag i muskulaturen som følge av strekk eller kraftutvikling ser ut til å være en av de viktigste stimuliene for de prosessene som leder til hypertrofi ved styrketrening (Goldspink, 2002; Hornberger & Chien, 2006; Vandenburg, 1987). Det er tenkt at det mekaniske draget forstyrer integriteten til skjelettmuskelen. Som fremmer videreføring av mekanokjemiske signalmolekyler og cellulære responser i myofibrillene og satellittcellene (Toigo & Boutellier, 2006). I hovedsak vil vi oppnå et stort mekanisk drag ved å benytte tyngre relativ treningsmotstand, men også tiden dette draget varer (hvor mange repetisjoner og sett vi gjør, samt hvor lenge hver repetisjon varer) påvirker størrelsen på signalet til muskelvekst (ACSM, 2009). Selv om mekanisk drag i musklene har en velkjent rolle og kan alene fremme hypertrofi, er mekanisk drag alene trolig ikke ansvarlig for muskelveksten man ser ved styrketrening (Jones & Rutherford, 1987).

Et høyt metabolsk stress er også tenkt å ha en anabol rolle ved styrketrening (Rooney, Herbert, & Balnave, 1994; Schott, McCully, & Rutherford, 1995; Smith & Rutherford, 1995), selv om det også er tenkt at det ikke er påkrevd med et høyt metabolsk stress for hypertrofi (Folland, Irish, Roberts, Tarr, & Jones, 2002). Likevel er et høyt metabolsk stress som ved redusert blodtilførsel til arbeidende muskelen vist å kunne kompensere for et suboptimalt mekanisk drag (Pearson & Hussain, 2015; Wernbom, Apro, Paulsen, Nilsen, Blomstrand, & Raastad, 2013). Metabolsk stress er opphopning av metabolitter slik som laktat, hydrogenioner, uorganisk fosfat og kreatin (Schoenfeld, 2013), og kan hovedsakelig oppnås med et høyere repetisjonsantall, og kortere pauser mellom seriene (ACSM, 2009).

For å optimalisere forholdene for muskelvekst bør man derfor sannsynligvis kombinere metodene, ettersom kombinasjonen av et høyt mekanisk drag og metabolsk

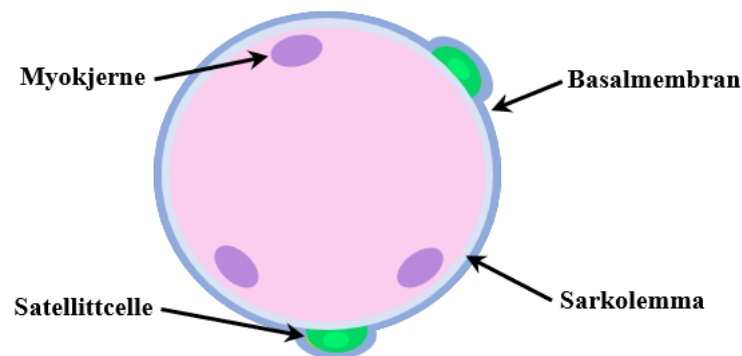
stress har vist å kunne øke potensialet for muskelskade (Clarkson, Nosaka, & Braun, 1992; Toigo & Boutellier, 2006). Muskelskade som følge av styrketrening er også tenkt å fremme hypertrofi (Evans, 2002; Hill & Goldspink, 2003), ved å muligens føre til akutte inflammatoriske responser med påfølgende frigjøringen av ulike vekstfaktorer som regulerer satellittcelle proliferasjon og differensiering (Toigo & Boutellier, 2006; Vierck, O'Reilly, Hossner, Antonio, Byrne, Bucci, & Dodson, 2000). Likevel virker det å være noe uklart hvor stor rolle det metabolske stresset og muskelskade har ved hypertrofi, hovedsakelig fordi de er vanskelig å undersøke uavhengig av det mekaniske drag (Schoenfeld, 2013).

Det er foreslått at det er to fundamentale tilpasninger som er nødvendig for å fremme hypertrofi; økt proteinsyntese og proliferasjon av satellittcellene (Seynnes, de Boer, & Narici, 2007). Proteiner i skjelettmuskulaturen vil fornyes gjennom proteinsyntese, og ved behov sørger prosessen for vekst i muskelcellene (Millward, Garlick, Stewart, Nnanyelugo, & Waterlow, 1975). Proteinsyntesen skjer i to trinn; først transkripsjon av DNA til mRNA og deretter translasjon av mRNA til protein. En rekke stimuli påvirker signaleringen som styrker transkripsjonen og translasjonen i muskelcellene, deriblant trening, næringsinntak og hormoner (Burgos, Dai, & Cant, 2010). Styrketrening stimulerer også proteinsyntesen (Schoenfeld, 2010), men responsen vil variere avhengig av treningsvolum og intensitet (Burd et al., 2010; Holm, van Hall, Rose, Miller, Doessing, Richter, & Kjaer, 2009). Styrketrening forårsaker hypertrofi gjennom en prosess som inkluderer aktivering, prolifisering og forflytning av satellittceller, samt fusjon med allerede eksisterende myofibre (Schultz & McCormick, 1994). I respons til cellulært stress vil ulike vekstfaktorer frigjøres, og bidra til reguleringen av andelen satellittceller under regenerasjonen (Hawke & Garry, 2001). Treningsindusert muskelhypertrofi fremmes av en rekke ulike signalveier, hvor effekten av en stimulus blir molekylært overført videre slik at muskelproteinbalansen favoriserer syntese over nedbrytning (Moore, Phillips, Babraj, Smith, & Rennie, 2005; Phillips, Tipton, Aarsland, Wolf, & Wolfe, 1997). De primære anabole signalveiene inkluderer men er ikke begrenset til IGF-1/Akt/mTOR signalveien, MAPK, og kalsium (Ca^{2+}) avhengige signalveier slik som calcineurin/NFAT (Chakravarthy, Abraha, Schwartz, Fiorotto, & Booth, 2000; Coolican, Samuel, Ewton, McWade, & Florini, 1997; Semsarian et al., 1999). Videre beskrivelse av de anabole signalveiene går ut over

hensikten med denne oppgaven, men satellittcellenes rolle ved addering av myokjerner ved hypertrofi og muskelcellekjernes rolle ved hypertrofi vil bli beskrevet videre.

2.1.3 Satellittcellenes rolle ved addering av myokjerner ved hypertrofi.

Musklene vil gjennom et livsløp generelt ikke skifte ut cellene i stor grad. For å unngå apoptose (selvmord av cellen), samt for å vedlikeholde muskelmasse og opprettholde friskt vev, trengs det derfor en effektiv metode for å reparere cellene. Dette oppnås som nevnt tidligere gjennom en dynamisk balanse mellom proteinsyntese og proteindegradering (Hill & Goldspink, 2003; Toigo & Boutellier, 2006). Muskelvekst oppstår når proteinsyntesen overgår proteinnedbrytningen over tid (Behm, 1995).



Figur 1. Illustrasjon av plasseringen av satellittcellene og myokjernene innad i muskelcellen. Satellittcellene (grønn) ligger mellom sarkolemma (grå) og basalmembranen (lilla), i motsetning til myokjernene (lilla) som ligger på innsiden av sarkolemma. Illustrasjonen er basert på den av Fujimaki, Machida, Hidaka, Asashima, Takemasa, & Kuwabara (2013).

Hypertrofi er tenkt å bli regulert av satellittcellenes aktivitet, disse befinner seg mellom basalmembranen og sarkolemma (figur 1) (Hawke & Garry, 2001; Rosenblatt, Yong, & Parry, 1994). Disse myogene stamcellene ligger normalt i *dvale*, og aktiveres når tilstrekkelig stimulus påføres skjelettmusklene (Vierck et al., 2000). Satellittcellene kan aktiveres av b.la. skade på muskelfibrene (Murach, Englund, Dupont-Versteegden, McCarthy, & Peterson, 2018), et mekanisk strekk (Tatsumi, 2010), og av ulike vekstfaktorer som frigjøring av NO og HGF (Tatsumi, 2010; Tatsumi et al., 2006). *Hvilende* satellittceller kan gjenkjennes ved uttrykk av Pax7 (McLoon & Wirtschafter, 2003). Når satellittcellene først er *vekket*, vil de dele seg og danne forgjengerceller

(myoblaster). Når dette steget er ferdig, mangedobles og til slutt *smelter* de sammen (fusjon) med allerede eksisterende celler eller med hverandre. Dette sikrer tilgjengelighet av nødvendige midler ved reparasjon og remodelering av muskelen (Toigo & Boutellier, 2006; Zammit, 2008). Dette kan inkludere uttrykk av flere ulike myogene regulatoriske faktorer, slik som Myf5, MyoD, myogenin, og MRF4 (Cornelison & Wold, 1997). Disse regulatoriske faktorene binder seg til sekvensspesifikke DNA-elementer i muskelgenpromotoren, hvor hver av de spiller ulike roller i vekstrelaterte prosesser (Sabourin & Rudnicki, 2000; Sinha-Hikim, Cornford, Gaytan, Lee, & Bhasin, 2006).

Det er tenkt at satellittcellenes viktigste hypertrofiske rolle er deres evne til å opprettholde musklens kapasitet for mitose (celledeling), ved å donere ekstra kjerner til eksisterende myofibre. På den måten vil dermed musklens kapasitet til å syntetisere nye kontraktile proteiner øke (Barton-Davis, Shoturma, & Sweeney, 1999; Moss & Leblond, 1971). Skjelettmusklene hos voksne pattedyr er som nevnt et stabilt postmitotisk vev, med et uregelmessig bytte av myokjerner (Schmalbruch & Lewis, 2000). Mindre skader fra dagligdagse arbeidsoppgaver kan repareres uten å føre til celledød, inflammatoriske prosesser, eller histologiske endringer. I kontrast kan stor muskelskade som følge av traume på muskelen (som ved krevende uvante fysisk aktiviteter med stor kraftutvikling) lede til nekrose (celledød) av myofibre, inflammatoriske responser, aktivering av satellittceller, prolifering og differensiering av myoblaster fra satellittceller (Yin et al., 2013).

Proessen som starter med nekrose av myofibre, og slutter med dannelse av nye myofibre, kalles muskelregenerering. Satellittcellen er tenkt å spille en viktig rolle under muskelregenereringen under fysiologiske forhold (som ved krevende trening) (Parise, McKinnell, & Rudnicki, 2008; Sambasivan et al., 2011). Satellittcellenes rolle ved atrofi virker derimot å være mindre kjent enn deres rolle i muskelvekst (Snijders, Nederveen, McKay, Joannis, Verdijk, van Loon, & Parise, 2015).

Skjelettmusklene har en særdeles god evne til regenerering, og muskelregenerasjon foregår primært over tre steg: 1) inflammatorisk respons; 2) aktivering, differensiering og fusjon av satellittceller; og 3) modning og remodelering av nydannede myofibre (Yin et al., 2013). Etter at satellittcellene har smeltet sammen med muskelfibrene, vil de som nevnt donere en cellekjerne til muskelfiberen. Denne

cellekjernen vil da fungere som en myokjerne, men det skal sies at ikke alle satellittceller differensierer til myokjerner. Etter proliferasjon vil enkelte satellittceller trekke seg ut av differensieringsprosessen (Zammit, Golding, Nagata, Hudon, Partridge, & Beauchamp, 2004), og det er tenkt at disse satellittcellene trekker seg tilbake til hvilende tilstand for å kunne vedlikeholde et lager av satellittceller klare for aktivering under reparasjon, regenerasjon og hypertrofi ved en senere anledning (Zammit et al., 2004).

Gitt at musklens kjerne til fiberstørrelse forhold forblir relativt konstant under hypertrofi, ser det ut til at adderingen av myokjerner fra satellittceller er essensielt for videre muskulære adaptasjoner over lengre tid (Timmons, 2011). Dette samsvarer med konseptet om et eksisterende cellekjernedomene innad i myofibrene (Petrella, Kim, Mayhew, Cross, & Bamman, 2008). Hypertrofi er tenkt å kunne oppstå som følge av enten en økning i domener (via en økning i antall myokjerner), eller en økning i de allerede eksisterende domenes størrelse. Begge er tenkt å oppstå under hypertrofi, med en betydelig bidrag fra satellittcellene (Toigo & Boutellier, 2006).

2.1.4 Muskelcellekjernes rolle ved hypertrofi. Myofibrene inneholder hundrevis av myokjerner, og er en av få celler som har flere cellekjerne (Frontera & Ochala, 2015). Myokjernene er lokalisert perifert i muskelfibrene, mellom myofibrillene og basalmembranen (figur 1). Navnet myokjerner er gitt for å skille de fra andre cellekjerne i musklene som satellittceller, endotelceller og fibroblaster (Winje, Bengtson, Eftestøl, Juvkam, Bruusgaard, & Gundersen, 2018). Hver av disse er tenkt å kontrollere genuttrykket og proteinsyntesen i muskelcellen, men bare over et tenkt cytoplasmatisk område (såkalt cellekjernedomene) (Cheek, 1985; Hall & Ralston, 1989). Mengden muskelcellekjerne er vist å kunne øke under mange ulike typer av hypertrofiske forhold, likevel er det usikkert i hvor stor grad økningen i muskelcellekjerne er obligatorisk for hypertrofi (McCarthy & Esser, 2007; O'Connor & Pavlath, 2007). Resultater fra flere studier tilsier at en økning i antall myokjerner kreves for at hypertrofi skal oppstå (Allen, Monke, Talmadge, Roy, & Edgerton, 1995; Kadi & Thornell, 2000b; Leenders, Verdijk, van der Hoeven, Van Kranenburg, Nilwik, & van Loon, 2012; Olsen et al., 2006; Petrella, Kim, Cross, Kosek, & Bamman, 2006). Imidlertid er det også vist at allerede eksisterende myokjerner er i stand til å øke

proteinsyntese for å fremme moderate nivåer av hypertrofi (Kadi, Schjerling, Andersen, Charifi, Madsen, Christensen, & Andersen, 2004; Mackey et al., 2007; Petrella et al., 2006; Snijders, Smeets, Van Kranenburg, Kies, van Loon, & Verdijk, 2016; Verdijk, Gleeson, Jonkers, Meijer, Savelberg, Dendale, & van Loon, 2009; Verney et al., 2008).

Om cellekjernedomenet forblir vedvart eller ikke under hypertrofi, virker som poengtert av Murach et al. (2018) i en oversiktsartikkel, å være omdiskutert. Det er vist at cellekjernedomenet forblir vedvart, hvor hypertrofi oppstår med en tilhørende økning i antall muskelcellekjerner (Egner, Bruusgaard, & Gundersen, 2016; McCall, Allen, Linderman, Grindeland, Roy, Mukku, & Edgerton, 1998; Petrella et al., 2008).

Imidlertid er det også tenkt at cellekjernedomenet ikke forblir uendret ved hypertrofi (Van der Meer, Jaspers, & Degens, 2011), men at den øker med tilhørende muskelvekst (ved at antall myokjerner ikke har en tilsvarende økning) (McCarthy et al., 2011). Det er derimot foreslått at det kan være en *takeffekt* for domenestørrelsen, eller et maksimalt plasmavolum som en enkelt myokjerne kan kontrollere. Ut ifra «takeffekt-hypotesen» kan hypertrofi oppstå uten rekruttering av nye muskelcellekjerner, inntil et visst nivå av hypertrofi er nådd (Kadi et al., 2005; Petrella et al., 2006; Van der Meer et al., 2011). Dette nivået er definert som hypertrofi over en viss prosent (10-36%) (Conceição et al., 2018; Kadi et al., 2005), eller som et absolutt domenevolum (2000-2250 $\mu\text{m}^2/\text{kjerne}$) (Ishido, Kami, & Masuhara, 2004; Kadi et al., 2004; O'Connor & Pavlath, 2007; Petrella et al., 2006; Petrella et al., 2008), som fremmer rekruttering av muskelcellekjerner når den blir overgått (Petrella et al., 2006; Petrella et al., 2008). Ifølge denne teorien vil de allerede eksisterende myokjernene være i stand til å håndtere det nåværende nivået av hypertrofi (Kadi et al., 2004). Videre hypertrofi vil derfor muligens bare oppstå med en økning i myokjerner over lengre tid (Van der Meer et al., 2011).

Det var tidligere foreslått en terskel, hvor det kreves ca. 26% hypertrofi før nye myokjerner adderes (Kadi et al., 2004; Mackey et al., 2007; Petrella et al., 2006; Snijders et al., 2016). I nyere tid har derimot Conceição et al. (2018) i en oversiktsartikkel konkludert med at mengden muskelcellekjerner ser ut til å kunne øke ved lavere muskelhypertrofi (10%), men at økningen i muskelcellekjerner er mer konsistent når muskelfiberhypertrofi overgår 22% av sin opprinnelige størrelse. Likevel er økning i antall muskelcellekjerner også vist å kunne overgå økningen i

muskelfibrenes tverrsnittsareal (Aloisi, Mussini, & Schiaffino, 1973; Bruusgaard et al., 2010; Hanssen et al., 2013). Muskelcellekjernedomenet er dermed også tenkt å bli midlertidig redusert under vekstfasen (Mackey et al., 2007; McKenzie, D'Lugos, Saunders, Gworek, & Luden, 2016).

Sammenhengen mellom antall cellekjerner og cellevolum som er observert under visse forhold, foreslår at det er et hastighetsbegrensende steg relatert til enhver cellekjernes kapasitet for proteinsyntese (Gundersen, 2016). En muskelcellekjerne alene kan trolig ikke tilføre all RNA som kreves for å støtte det store cytoplasmatiske volumet til muskelfibrene under hypertrofi (Gundersen, 2016). Imidlertid kan nåværende metodologiske begrensninger gjøre det vanskelig å nå en konklusjon på om en økning i muskelcellekjerner kreves for hypertrofi (Gundersen, 2016). Ettersom antall myokjerner som nevnt har vist å kunne øke både før og etter hypertrofi, er det i nyere tid også tenkt at kjernedomenene potensielt kan være mer fleksible enn tidligere antatt (Murach et al., 2018). De fleste studier som undersøker kjernedomenet, undersøker kjernedomenet på enten tverrsnitt av hele muskelbuker eller på biopsier. Dette skaper en potensiell metodisk variasjon i tykkelsen på prøvene, bildeanalyseteknikkene og den subjektive tellingen av myokjernene. Disse konfunderende faktorene kan muligens ha påvirket antall av myokjerner som har blitt registrert i ulike studier.

2.1.5 Mekanismer for muskelsvinn ved inaktivitet/ redusert aktivitetsnivå.

Skjelettmusklene er svært tilpasningsdyktige (Mitchell et al., 2015), og tilpasser seg avhengig av de stimuli de utsettes for (Brooks & Myburgh, 2014). Som nevnt tidligere kan økt mekanisk belastning og arbeidsmengde stimulere til hypertrofi, mens manglende eller redusert mekanisk belastning kan derimot lede til atrofi (Borina, Pellegrino, D'antona, & Bottinelli, 2010; Gallagher et al., 2005; Trappe, Creer, Slivka, Minchev, & Trappe, 2007). Skjelettmuskelatrofi kan oppstå som følge av inaktivitet/ redusert aktivitetsnivå (f.eks. sengeleie, immobilisering, denervering, romferdsel/ redusert påvirkning av gravitasjon, og avlastning), aldring, faste og en rekke sykdommer (f.eks. kreft) (Jackman & Kandarian, 2004). Atrofi oppstår når proteindegradering overgår proteinsyntese (Sandri, 2013), og vil uavhengig av årsak involvere en reduksjon i myofibrenes størrelse på grunn av et netto tap av proteiner, organeller og cytoplasma med påfølgende reduksjon i kraftproduksjon og resistens mot

trethet (Schiaffino, Dyar, Ciciliot, Blaauw, & Sandri, 2013). Derimot virker atrofi normalt ikke å føre til en reduksjon i antall myofibre (Nicks, Beneke, Key, & Timson, 1989), med unntak av tilfeller som ved aldersrelatert muskelsvinn (sarkopeni) (Lexell, Taylor, & Sjöström, 1988). Man kan stille seg spørsmål rundt hvorvidt atrofi av skjelettmusklene bare enkelt er en reversert prosess av hypertrofi. Til tross for dette stimuleres en hel rekke unike prosesser under atrofi som ikke nødvendigvis er en reversert prosess av de hypertrofiske signalveiene (Haddad, Roy, Zhong, Edgerton, & Baldwin, 2003; Jagoe, Lecker, Gomes, & Goldberg, 2002).

På den andre siden er kroppen fortsatt avhengig av et kontinuerlig utbytte av proteiner og organeller for å opprettholde god muskelfunksjon (Mitchell et al., 2015). Skjelettmuskulaturen har gjennom samtidig syntese og nedbrytning evnen til å fornye dysfunksjonelle proteiner. Det har blitt estimert at utskiftningen av muskelproteiner tilsvarer 1-2% per dag (Smith & Mittendorfer, 2015), og ettersom proteinene har en begrenset levetid vil cellene i kroppen bryte ned ca. 400g proteiner daglig, og det syntetiseres samtidig like mye (Schutz, 2011). For å stimulere til atrofi er derimot kroppen likevel avhengig av en oppregulering av uttrykket til proteiner som styrer proteinnedbrytningen (Jackman & Kandarian, 2004). Hvis proteinnedbrytningen blir stimulert i stor nok grad over lang nok tid, vil det føre til reduksjon i muskelmassen (Deutz & Wolfe, 2013).

Ulike stimuli for atrofi involverer ulike molekylære signalveier, og mekanismene bak atrofi som oppstår ved inaktivitet/reduert aktivitetsnivå og deres rolle i sammenheng med satellittcelle- og myokjernerresponsen ser ikke ut til å være helt avklart. Selv om det tilsynelatende kan se ut til at antall myokjerner forblir uendret ved atrofi (Bruusgaard et al., 2012; Bruusgaard & Gundersen, 2008; Bruusgaard et al., 2010; Lee et al., 2018; Schwartz et al., 2016; Wada et al., 2002). Enkelte signalveier virker å ha en sentrale rolle under atrofi ved inaktivitet/reduert aktivitetsnivå og de inkluderer men er ikke begrenset til Ubiquitin proteasom signalering og autofagi-lysosom systemet (Brooks & Myburgh, 2014; Milan et al., 2015). Videre beskrivelse av de katabole signalveiene går ut over hensikten med denne oppgaven, men muskelcellekjernes rolle ved atrofi vil bli beskrevet videre.

2.1.6 Muskelcellekjernes rolle ved atrofi. Mens det ser ut til å være en viss enighet om økning av antall myokjerner under hypertrofi, virker myokjernerresponsen under atrofi å være mer uklar (Brooks & Myburgh, 2014). For å vedlikeholde cellekjernedomenet, har det blitt foreslått at antall muskelcellekjerner følger endringene i muskelfibrenes størrelse (Teixeira & Duarte, 2011). Flere studier har vist tap av cellekjerner i skjelettmuskler både hos dyr og mennesker under flere atrofiske forhold. Som ved inaktivitet, avlastning av lemmer, og langtids denervering (Allen et al., 1996; Allen, Linderman, Roy, Bigbee, Grindeland, Mukku, & Edgerton, 1997; Alway, Degens, Krishnamurthy, & Chaudhrai, 2003; de Castro Rodrigues & Schmalbruch, 1995; Dungan et al., 2019; Ferreira, Neuparth, Ascensão, Magalhães, Vitorino, Duarte, & Amado, 2006; Hikida, van Nostran, Murray, Staron, Gordon, & Kraemer, 1997; Ohira, Hanada, Kawano, Ishihara, Nonaka, & Ohira, 2002; Pierce, Goodyear-Bruch, Hall, Reed, & Clancy, 2008; Siu & Alway, 2005a; Siu, Pistilli, & Alway, 2005b; Tang, Cheung, Ip, & Ip, 2000). I muskelvev er det imidlertid mange forskjellige celletyper, og derfor kan dette helt klart gjenspeile apoptose av ikke-muskelcellekjerner (Gundersen, 2016). En stor del av litteraturen er basert på histologiske analyser ved hjelp av konvensjonelle markeringsteknikker som gir utrykk for at cellekjerner går tapt som følge av apoptose under atrofi. Studier som er mindre selektive ved dystrofinmerking, rapporterer også typisk mer en 30% høyere antall definerte muskelcellekjerner enn den mer strengere definisjonen hvor kjernen med dens geometriske senter må være på innsiden av den indre randen av dystrofinringen (Gundersen, 2016). I tillegg til problemene med å identifisere muskelcellekjerner, er den ofte bruke markeringsmetoden for cellekerneapoptose (TUNEL), rapportert å være utsatt for falske positive resultater (Garrity, Burgart, Riehle, Hill, Sebo, & Witzig, 2003). Til tross for dette har studier som benytter seg av mer spesifikke metoder for å måle antall myokjerner senere vist at antall myokjerner blir vedvart under atrofi (Bruusgaard et al., 2012; Bruusgaard & Gundersen, 2008; Bruusgaard et al., 2010; Schwartz et al., 2016; Wada et al., 2002).

Antall myokjerner observert under *in vivo* avbildning over 28 dager etter denervering, viser å vedvares relativt konstant, med en tilhørende reduksjon i fibervolum på mer enn 50% (Bruusgaard & Gundersen, 2008). Det er også vist at muskelcellekjerner ikke går tapt under atrofi basert på fibre isolert *ex vivo* etter

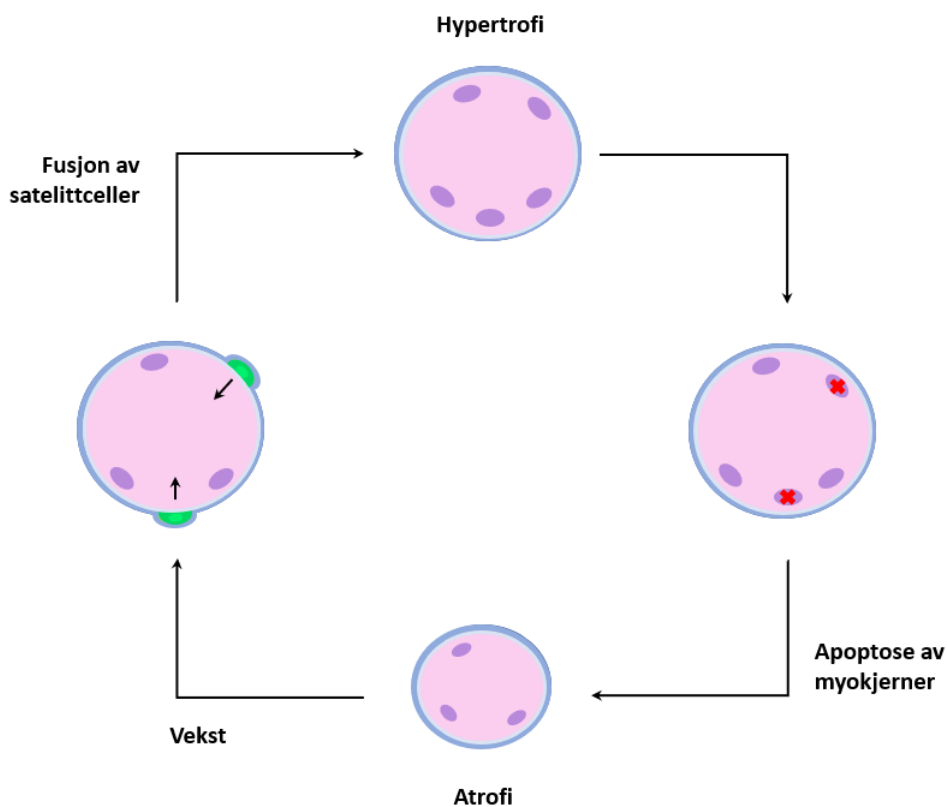
denervering, b.la. ved bruk av levende kultiverte fibre (Duddy, Cohen, Duguez, & Partridge, 2011), og isolerte fibre i en alkalisløsning (Wada et al., 2002). Fire måneder med sengeleie har også vist at kjernedomene hos mennesker kan bli redusert som følge av atrofi uten tilhørende reduksjon av myokjernene (Ohira et al., 1999). Schwartz et al. (2016) har også rapportert at myokjernene ikke går tapt under atrofi hos tobakksmøllen *Manduca sexta*. Derimot er det usikkert om dette er sammenlignbart hos mennesker, ettersom disse ikke er virveldyr. Imidlertid mangler musklene til tobakksmøllen satellittceller, og dermed unngår man usikkerheten med å mistolke satellittceller for myokjerner (Schwartz et al., 2016). På grunn av plasseringen til satellittceller, kan det være vanskelig å skille de fra myokjerner uten spesifikke markører mot myokjerner (slik som PCM1) (Winje et al., 2018). Slik at det kan oppstå feiltolking av antall myokjerner, med tilhørende falske positive resultater. I tillegg kan de ulike inaktivitetsmodellene for å fremme atrofi gi sprikende funn, og studier som benytter ufysiologiske manipulering ved denervering, immobilisering, vektløshet og kreftforårsaket kakeksi, er ikke nødvendigvis overførbart til hva som hender under normale fysiologiske forhold.

Det ser dermed for øyeblikket ikke ut til å være noen overbevisende grunn til å tro at apoptose av myokjernene forekommer i muskelfibre under atrofi. Cellekjernedomenet er derfor tenkt å ikke forbli vedvart ved atrofi, men at den heller blir redusert (Gundersen, 2016). Dette er *kjernen* av mekanismene for *muskelhukommelse*, og det tillater muligens hypertrofi uten rekruttering av muskelcellekjerner under retrening. Ikke fordi man ikke trenger flere cellekjerner i store fibre, men fordi cellekjernene allerede er der (Gundersen, 2016). Det kan tenkes at antall muskelcellekjerner ikke bare reflekterer den nåværende størrelsen på fibre, som foreslått gjennom «takeffekt-hypotesen», men også fibrenes historie. Nåværende data kan muligens passe for en «storhetstids-hypotese», hvor antall muskelcellekjerner funnet i fibre representerer den største størrelsen fibre tidligere har oppnådd, og dannelse av nye muskelcellekjerner oppstår bare om fibre vokser seg større enn den størrelsen (Gundersen, 2016).

2.2 *Kjernen bak den cellulære hukommelsesmekanismen*

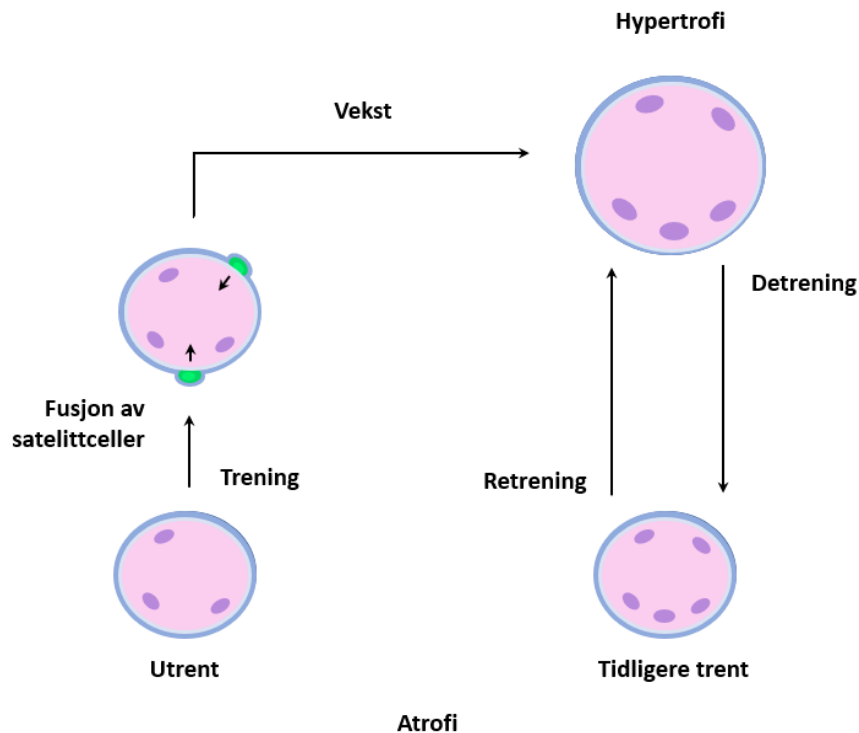
Det er foreslått flere ulike scenarier for endringer av muskelcellekjernerdomenets størrelse som følge av ulike muskulære tilpasninger. I sin strengeste form, foreslår *cellekjernerdomeneteorien* at en cellekjerne støtter et konstant cytoplasmatisk volum i muskelcellen. Til tross for denne teorien har det vært omdiskutert i hvor stor grad hypertrofi er avhengig av myokjerner, og myokjernes rolle og virkning under regulering av muskelfiberstørrelse har historisk vært svært kontroversielt (Yin et al., 2013). Hvis konseptet om et konstant cellekjerneområde er sant, så vil enhver endring i fiberstørrelse følges av en proporsjonal endring i antall myokjerner i den fiberen (Bazgir, Fathi, Valojerdi, Mozdziak, & Asgari, 2017). I in vivo-studier av mus, har man observert at denne cellekjerneområdeteorien i stor grad har blitt bekreftet i de trege/oksidative soleus-musklene. Etersom antall cellekjerner var relativt proporsjonalt til det cytoplasmatiske volumet. Derimot ser man i de raske/glykolytiske ekstensor digitorum longus musklene, at antall cellekjerner varierer proporsjonalt med fiberoverflaten. Dermed har større fibre et systematisk større cytoplasmatisk volum enn de mindre fibre (Bruusgaard, Liestøl, Ekmark, Kollstad, & Gundersen, 2003). I tillegg har ulike grader av sammenheng mellom fiberstørrelse og antall muskelcellekjerner blitt funnet i isolerte fibre fra unge dyr (Brack, Bildsoe, & Hughes, 2005; Mantilla, Sill, Aravamudan, Zhan, & Sieck, 2008; Wada, Katsuta, & Soya, 2003).

Endringer i muskelfiberstørrelse oppstår som nevnt som følge av endring i balansen mellom proteinsyntese og -degradering. Litteraturen som diskuterer de molekylære signaleringsmekanismene som regulerer disse prosessene har hovedsakelig fokusert på regulering av proteindegradering og -syntese per cellekjerne (Gundersen, 2016).



Figur 2. Illustrasjon av den nåværende lærebokmodellen for endring av cellekjerne ved hypertrofi og atrofi. Illustrasjonen er basert på den av Gundersen (2016).

En konsekvens av konstante muskelcellekjerner, er at antall kjerner bør endres proporsjonalt til størrelsen under atrofi og hypertrofi. Dette gjenspeiles i den nåværende lærebokmodellen for regulering av muskelmasse (figur 2). Denne modellen antyder at under hypertrofi vil muskelcellekjerner som nevnt rekrutteres fra muskelens stamceller (satelittceller) (Katz, 1961; Mauro, 1961). Modellen foreslår også at ved atrofi vil muskelcellekjerner bli eliminert ved apoptose. Som en selektiv cellekerneapoptose av noen av kjernene innen den intakte muskelfiberen. Ifølge denne modellen vil et fiber som gjennomgår hypertrofi (fra f.eks. styrketrening), og videre når den returnerer til den opprinnelige størrelsen, fremstå som identisk til fibre som aldri har gjennomgått vekst. Den ender opp der den startet, som et lite fiber med få cellekjerne, slik at det er ingen tilsynelatende *muskelhukommelse* (Gundersen, 2016).



Figur 3. Illustrasjon av den nye modellen for endring av cellekjerner ved hypertrofi og atrofi. Illustrasjonen er basert på den av Gundersen (2016).

Til tross for dette er antall myokjerner tenkt å øke ved hypertrofi, uten å forsvinne igjen ved senere atrofi (Egner et al., 2013). På den måten skiller et tidligere trent fiber seg fra et helt utrent fiber, ved at den har flere cellekjerner som et slags *minne fra fortiden*. Denne observasjonen ledet Bruusgaard et al. (2010) til å foreslå at tidligere utrente fibre er små med få cellekjerner, men når de blir utsatt for hypertrofi, tilføres nye cellekjerner gjennom en *førstegangs treningsrute* (figur 3).

Ved hjelp av suspensjonsmodellen, fremmet Bruusgaard et al. (2012) atrofi i de bakre lemmene til rotter. Ved å løfte opp de bakre lemmene via halen, slik at bakbeina ble avlastet. In vivo avbildning viste så ingen reduksjon i antall muskelcellekjerner under atrofi. Når musklene ble belastet igjen (ved å la bakbeina nå bakken igjen), viste fibre en økning i tvernsnittsarealet på 60%, uten en økning i antall muskelcellekjerner. Dette foreslår at hypertrofi kan oppstå uten nye muskelcellekjerner, så sant at antall muskelcellekjerner allerede er høyt (Gundersen, 2016). I tillegg ser slik vekst også ut til å ikke kreve økt tilstedeværelse av satelittceller (Jackson et al., 2012). Antall av myokjerner innad i et myofiber er tenkt å være av betydningen for regulering av

muskelfibrenes størrelse, ettersom total proteinsyntese er produktet av antall av myokjerner og syntese per kjerne (Teixeira & Duarte, 2011). Et fiber med et større antall av myokjerner har derfor økt kapasitet for proteinsyntese, og dermed også økt potensialet for vekst (Bruusgaard et al., 2010).

Egner et al. (2013) observerte at fiberstørrelsen gikk tilbake til utgangspunktet hos mus tre uker etter siste dose med to ukers testosteronbehandling, men at antall cellekjerne forble konstant og høyt ved målinger opptil tre måneder senere. Når musklene ble utsatt for overbelastning, vokste musklene hos mus behandlet med testosteron og et høyt antall cellekjerne betydelig mer enn musklene til mus som ikke var utsatt for testosteron. Etter dette vokste musklene hos begge gruppene like mye, men musklene med utgangspunktet høyt antall cellekjerne forble større under det to ukers lange overbelastningsforsøket. Egner et al. (2013) konkluderte med at *retreningsruten* (med et høyere antall muskelcellekjerne) fører til raskere vekst enn *førstegangstreningsruten*, noe som foreslår at mekanismen bak *muskelhukommelse* er antall myokjerner. Tilsvarende fant Lee et al. (2018) at antall myokjerner oppnådd etter 8 uker styrketrening hos rotter forble vedvart etter 20 uker detrening, og var forbundet med økt hypertrofi i den 8 uker lange retreningsperioden.

Videre er *muskelhukommelse* også tenkt å forekomme på DNA-nivå. Seaborne et al. (2018b) undersøkte metylering av over 850, 000 DNA-seter i forbindelse med trening (7 uker), detrening (7 uker) og senere retrening (7 uker) hos åtte tidligere utrente menn. De fant at en gruppe gener i muskelcellene blir hypometylerte ved muskelvekst, og at disse genene forblir hypometylerte ved påfølgende detrening og atrofi. Redusert DNA-metylering av gener er generelt vist å føre til økt genuttrykk (Bogdanović & Veenstra, 2009). Det kan derfor tenkes at genene lettere blir *slått på* i større grad ved senere retrening, med påfølgende raskere muskelvekst. Noe som foreslår at det også eksisterer en epigenetisk hukommelsesmekanisme for hypertrofi.

2.3 **Fordelene av en tidligere storhetstid**

Muskelhukommelsen er som nevnt tenkt til å bidra med en raskere gjenoppgåelse av muskelmasse og -styrke etter et opphold fra regelmessig stimulus (Gundersen, 2016). Likevel har det bare blitt gjort en håndfull av studier som undersøker effekten av en retreningsperiode hos mennesker.

Staron et al. (1991) undersøkte effekten av en retreningsperiode på yngre kvinner, hvor de observerte en økning i både muskelstyrke og -fiberareal etter 20 uker med styrketrening. Etter detrening på 32 uker observerte de en signifikant nedgang i muskelstyrke for de fleste øvelsene, selv om alle detreningsverdiene fortsatt var høyere enn pretreningsverdiene. De fant også minimale endringer i muskelfiberarealet ved detrening, hvor fiberarealet til alle fibertypene forble større enn deres respektive pretreningsverdier. Etter 6 uker med retrening, gjenoppgådde de muskelstyrken de hadde oppnådd i den første treningsperioden. Dette indikerer at muskelstyrken ser ut til å øke hurtig igjen ved retrening. Retrening forårsaket en økning i tvernsnittareal til type II-fibre sammenlignet med deres respektive detreningsverdier, mens type I-fiberarealet forble tilsvarende posttrening- og detreningsverdiene. De observerte også at den tidligere utrente kontrollgruppen viste tilsvarende fremgang i retreningsperioden, noe som ikke støtter «muskelhukommelses-hypotesen» (Staron et al., 1991).

Taaffe & Marcus (1997) undersøkte effekten av en retreningsperiode på eldre menn. Etter den første treningsperioden på 24 uker observerte de også en økning i både muskelstyrke og -fiberareal. Etter 12 uker med detrening ble muskelfiberstørrelsen redusert tilbake til pretreningsverdier for både type I og type II-fibre. Muskelstyrken forble større enn deres respektive pretreningsverdier, med minimal reduksjon i detreningsperioden. Allerede etter seks uker med retrening, oppnådde de muskelstyrken de hadde i slutten av første treningsperiode. Tross gjenoppgådd muskelstyrke observerte de derimot ingen økning i muskelfiberarealet for hverken type I eller type II-fibre etter 8 uker med retrening. De samme forfatterne publiserte enda en studie i 2009, hvor eldre menn og kvinner trente styrketrening i 24 uker før de gjennomførte 24 uker med detrening, etterfulgt av 12 uker retrening. Derimot fant de ingen tilsynelatende muskelvekst i noen av periodene (Taaffe, Henwood, Nalls, Walker, Lang, & Harris, 2009).

Correa, Cunha, Marques, Oliveira-Reischak, & Pinto (2016) observerte

muskelvekst etter 12 uker med styrketrening hos eldre kvinner. Etter et år med detrening, var muskelstørrelsen redusert tilbake til studiestart igjen. Videre registrerte de at 12 uker retrening førte til økt muskelvolum igjen, men ikke helt tilbake til det de hadde oppnådd i første treningsperiode. I den tidligere nevnte studien til Seaborne et al. (2018b), fant de større økning i muskelmassen (målt med DEXA) i underekstremiteten i retreningsperioden i forhold til treningsperioden. Måling av kroppskomposisjon med DEXA er en mye enklere måte å måle muskelmassen på sammenlignet med muskelfiberareal, men man har ikke mulighet til å undersøke antall myokjerner gjennom denne metoden. En annen studie som har prøvd å relatere den potensielle muskulære hukommelsesmekanismen hos mennesker til myokjerner, feilet på grunn av utilstrekkelig endringer i myokjerner og muskelfiberareal i den første treningsperioden. Psilander et al. (2019) undersøkte om tidligere styrketrening (10 uker) av et bein (*m. quadriceps femoris*) ville respondere bedre på styrketrening (5 uker) enn et tidligere utrent kontrollbein etter en detreningperiode på 20 uker. Ettersom de ikke fant en økning i hverken muskelfiberareal eller antall myokjerner etter første treningsperiode, så hadde de heller ikke et grunnlag for å teste ut antagelsen om en mulig muskulær hukommelsesmekanisme relatert til myokjerner hos mennesker.

Det fåtallet av studier som undersøker effekten av en retreningsperiode på mennesker, viser sprikende resultater. Dette understreker behovet for flere studier på *muskelhukommelse*. Betydelig forskjell i alder, kjønn, målemetoder, og varighet på trening-, detrening- og retreningsperiodene i studiene kan være med på å forklare de ulike funnene. I tillegg har de fleste studiene ikke undersøkt rollen myokjerner har ved en potensiell cellulær hukommelsesmekanisme i skjelettmusklene hos mennesker.

2.4 Betydning av muskelhukommelse for fysisk prestasjon og helse

Til tross for fremskritt innen molekylærbiologifeltet, er likevel de eksakte mekanismene som regulerer atrofi og hypertrofi fortsatt ikke helt avklart. *Muskelhukommelse* kan ha betydning for fysisk prestasjon og helse hos både yngre og eldre i en rekke ulike scenarier. Det er svært viktig at forskere kartlegger disse

mekanismene, spesielt for å bidra til utviklingen av forebyggende tiltak mot akutte eller kroniske katabole tilstander. En mulig muskulær hukommelsesmekanisme kan bl.a. være relevant innen dopingrelatert muskelvekst innen idrett, og muskelsvinn som kan oppstå som følge av aldring, sykdom, redusert påvirkning av gravitasjonskreftene, og inaktivitet/ redusert aktivitetsnivå.

2.4.1 Dopingrelatert muskelvekst. *Muskelhukommelse* har blitt fremkalt hos mus ved hjelp av testosteron. Det er vist at korttidseksponering for dette hormonet bidro ytterligere til hypertrofi fremmet av overbelastende arbeid lenge etter eksponeringen for medikamentet ble avsluttet (Egner et al., 2013). *Hukommelseeffekten* er vist å kunne vare over 10% (3 måneder) av livsløpet til mus (Egner et al., 2013). Hvis funn fra dyrestudier er overførbart til mennesker, kan det få konsekvenser for dopingreglementet og karantenetid innen idrett. Med tanke på den lange levetiden til muskelcellekjerner, vil muligens dagens karantenetid ikke være av tilstrekkelig lengde for å forsikre at tidligere bruk av steroider fortsatt ikke gir konkurransemessige fordeler når eksklusjonstiden er over.

2.4.2 Aldersrelatert muskelsvinn. Redusert muskelstyrke er et omfattende helseproblem i den aldrene vestlige populasjonen (Dutta & Hadley, 1995; Hughes & Schiaffino, 1999), og mer en 50% av individer over 80 års alderen kan kategoriseres som skrøpelige og uselvstendige (Matthews, Huang, Sun, & Zaidi, 2011). Tung styrketrening hos eldre, har derimot vist å være gunstig for å vedlikeholde eller øke muskelmasse og muskelstyrke selv etter flere år med inaktivitet (Smith, 1993). Hypertrofi som følge av overbelastning er vist å være sterkt redusert hos eldre dyr (Alway, Degens, Krishnamurthy, & Smith, 2002), og evnen til å danne nye muskelcellekjerner ser også ut til å være redusert ved høy alder (Schultz & Lipton, 1982; Verdijk, Snijders, Drost, Delhaas, Kadi, & Van Loon, 2014). Kunnskap om *muskelhukommelse* hos mennesker kan muligens bidra til at flere unge trener styrketrening for å danne nye muskelcellekjerner, som muligens kan bidra til å vedlikeholde muskelmasse gjennom livet.

2.4.3 Sykdomsrelatert muskelsvinn. Kreftforårsaket kakeksi er en alvorlig tilstand som fører til muskelsvinn i omtrentlig halvparten av alle kreftpasienter (Skipworth, Stewart, Dejong, Preston, & Fearon, 2007). Tapet av kroppsmasse og muskelstyrke påvirker ikke bare livskvaliteten, men også overlevelsessevnen til kreftpasientene. Denne tilstanden er tenkt å være ansvarlig for opptil 20% av alle kreftrelaterte dødsårsaker i forbindelse med immobilitet og kardio/respiratorisk svikt (Ambrus, Ambrus, Mink, & Pickren, 1975; Fearon, 2008; Warren, 1974). Selv om det virker å være uklart hvorvidt myokjerner blir vedvart under kreftrelatert atrofi, så har det ikke blitt vist noen tegn til muskeldegenerering i kreftforårsaket kakeksi 6 uker etter at mus hadde fått PC3 kreftcelleimplantater (Winje et al., 2019). De registrerte en reduksjon på 15% i kroppsmasse, og opp til 21% reduksjon i muskelfiberstørrelse uten tap av myokjerner og ingen reduksjon i antall muskelfibre. Flere studier av personer som har overlevd kreft har vist at styrketrening er et nyttig verktøy for å gjenoppnå muskelmassen (De Backer, Schep, Backx, Vreugdenhil, & Kuipers, 2009; Santos et al., 2017), og tidligere treningshistorikk kan derfor også tenkes å være med på å påvirke livskvaliteten og overlevelsessevnen til kreftpasientene.

2.4.4 Prehabilitering og rehabilitering. Den negative innvirkningen inaktivitet har på muskelmasse og størrelse er veldokumentert. Et betydelig tap av muskelmasse og -styrke er registrert ved immobilisering i forbindelse ved leddoperasjoner (MacDougall, Ward, Sale, & Sutton, 1977), avlastning (Berg, Dudley, Haggmark, Ohlsen, & Tesch, 1991), sengeleie (LeBlanc, Gogia, Schneider, Krebs, Schonfeld, & Evans, 1988), og romferdsel (Edgerton et al., 1995).

Det er foreslått at *prehabilitering* før en rekonstruksjonsoperasjon, kan ha en positiv innvirkning på *rehabiliteringsprosessen* (Ditmyer, Topp, & Pifer, 2002). Muskelstyrken er vist å være en predikater for fysisk funksjon etter en rekonstruksjonsoperasjon (Eitzen, Holm, & Risberg, 2009). Manglende muskelstyrke etter en operasjon kan tilskrives blant annet atrofi (Keays, Bullock-Saxton, Newcombe, & Keays, 2003), og kan vedvare i mange år etter et inngrep (de Jong, van Caspel, van Haeff, & Saris, 2007; Ingersoll, Grindstaff, Pietrosimone, & Hart, 2008; Keays et al., 2003; Mattacola, Perrin, Gansneder, Gieck, Saliba, & McCue III, 2002; Palmieri-Smith, Thomas, & Wojtys, 2008; Yasuda, Ohkoshi, Tanabe, & Kaneda, 1992). Likevel er

styrketrening vist å være svært effektivt i å gjenopprette tilnærmet normal funksjon igjen, kort tid i etterkant av en rekonstruksjonsoperasjon (Eitzen, Moksnes, Snyder-Mackler, & Risberg, 2010). Det kan tenkes at ved å etablere en muskulær *hukommelse* gjennom *prehabilitering*, vil det muligens kunne bidra ytterligere til å lettere gjenopprette normal fysisk funksjon i *rehabiliteringsprosessen* etter en operasjon.

Flere studier har dokumentert effekten av vektløshet som oppstår under romferdsel på skjelettmusklens funksjon (Adams, Caiozzo, & Baldwin, 2003; Edgerton et al., 1995; Edgerton & Roy, 1996; Lambertz, Pérot, Kaspranski, & Goubel, 2001). Reduserte aktivitet, og redusert påvirkning av gravitasjon som oppstår under romferdsel har vist å fremme atrofi (Thomason & Booth, 1990). Muskelstyrketapet er den mest tydelige konsekvensen av atrofi ved redusert påvirkning av vekt bærende aktiviteter (Lambertz et al., 2001), noe som påvirker romfarernes fysiske funksjonsnivå både under og etter oppholdet i vektløs tilstand (Adams et al., 2003). En mulig muskulær hukommelsesmekanisme vil derfor muligens kunne understreke viktigheten av *prehabilitering* for romfarere, slik at de lettere gjenoppretter normal fysisk funksjon når de skal tilpasse seg gravitasjonskreftene igjen.

3. Metode

I dette kapittelet vil vi beskrive utvalget og studiedesignet vårt, med den unilaterale treningsprotokollen for *albuefleksorene*, og de ulike testene som ble gjennomført for å undersøke en mulig cellulær hukommelsesmekanisme hos mennesker.

3.1 Utvalg

12 unge friske utrente normalvektige (20-32 år) menn ($n=4$) og kvinner ($n=8$) ble rekruttert til studien (tabell 1), men som diskutert i kapittel 5.4 *Metodiske betraktninger* gav tre av forsøkspersonene ikke fullverdige data. Deltagerne ble rekruttert via rekruteringsplakater (vedlegg 1) og korte presentasjoner i Oslo, samt via sosiale medier. Alle forsøkspersonene oppfylte inklusjon- og eksklusjonskriteriene for prosjektet (tabell 2), og ble gitt skriftlig og muntlig informasjon om studien og mulige risikoer forbundet med deltagelse. Alle forsøkspersonene gav et skriftlig informert samtykkeskjema (vedlegg 2), og undertegnet også et helseegenerklæringskjema (vedlegg 3) før testing og trening startet. Studien har fulgt retningslinjene i Helsinki deklarasjonen, og all data har blitt behandlet anonymt i henhold til regelverket. Prosjektet ble godkjent av Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (vedlegg 4, REK sør-øst; referanse: 2018/209) før oppstart, og all testing av forsøkspersonene ble utført ved Norges idrettshøgskole (NIH).

Tabell 1. Deskriptive data av forsøkspersonene.

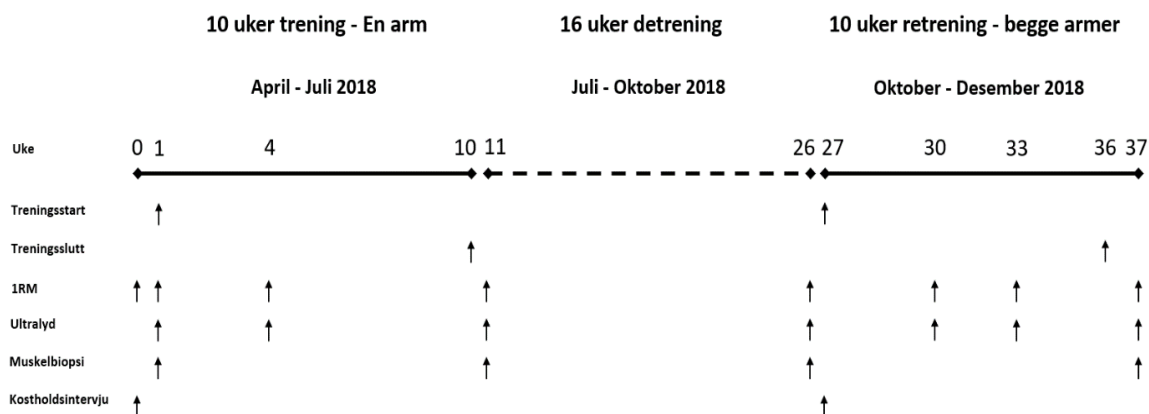
	Menn	Kvinner	Samlet
n	4	8	12
Alder (år)	26 ± 4	24 ± 4	25 ± 4
Vekt (kg)	80,8 ± 24,4	68,6 ± 7,7	72,0 ± 14,9
Høyde (cm)	179,9 ± 10,8	167,3 ± 4,8	171,2 ± 8,9
BMI (vekt/høyde ²)	24,6 ± 5,1	24,6 ± 3,0	24,6 ± 3,6

Tabell 2. Inklusjons- og eksklusjonskriteriene for prosjektet.

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
Friske menn og kvinner i alderen 18-35 år.	Sykdom eller skade som kan forhindre deg i styrketrening for overkroppen.
Mulighet til å være med og fullføre begge treningsperiodene med tester.	Bakgrunn med regelmessig aktivitet der albuefleksorene i stor grad er involvert.
Utrente med tanke på styrketrening for overkroppen generelt.	

I utgangspunktet ønsket vi totalt 30 forsøkspersoner bestående av 15 menn og 15 kvinner. Utvalgsstørrelsen var basert på resultatene fra studien til Bamman, Petrella, Kim, Mayhew, & Cross (2007). Hvor de rapporterte hypertrofi av muskelfibre etter styrketrening gruppert i ekstrem respondere, moderat respondere og ikke/lav-respondere. I vår studie forventet vi etter andre treningsperiode (retreningsperioden) en moderat respons i muskulaturen til den tidligere utrente kontrollarmen (økning i fiberareal på ca. 20%/+1000 μm^2), og at den tidligere trente armen (TR) hadde en respons tilsvarende «ekstrem respons» (+40%/+2000 μm^2 i fibersareal). På grunn av at forsøkspersonene i studien til Bamman et al. (2007) ble gruppert (ekstrem, moderat, ikke/lav-respondere) etter treningsperioden, hadde de et unaturlig lavt standardavvik (ca. $\pm 100 \mu\text{m}^2$). Derfor tok vi utgangspunkt i et standardavvik som var tre ganger høyere i vår styrkeberegning. Med dette utgangspunktet beregnet vi at 22 forsøkspersoner var nødvendig for å oppdage en tilsvarende forskjell mellom "utrent" og "trent" arm i andre treningsperiode (retreningsperioden). I tillegg påregnet vi at frafall kunne forekomme. Hovedvariabelen i studien vår var endring i muskelfiberareal, siden det var endring i denne som var best egnet til å eventuelt beskrive en *muskelhukommelseeffekt*.

3.2 Studiedesign



Figur 4. Tidslinjen for intervensjonsperiodene av prosjektet på totalt 38 uker. 1RM=1 repetisjons maksimum.

Intervensjonsdelene av prosjektet bestod av tre eksperimentelle perioder, strekt over 38 uker (figur 4). Første periode ble innledet med en tilvenningsuke, for deretter å bestå av 10 uker med styrketrening av en av armene. Etterfulgt av en 16 ukers lang detreningsperiode, hvor all trening av *albuefleksorene* opphørte. Trening av armbøyerne (*m. biceps brachii*) ble valgt på bakgrunn av at treningspotensialet til overkroppsmuskulaturen virker å være større enn for underkroppsmuskulaturen, trolig fordi overkroppsmuskulaturen for en normal person i utgangspunktet er mindre trent enn beinsmuskulaturen gjennom daglig aktivitet (Cureton, Collins, Hill, & McElhannon, 1988; Turner, Hoppeler, Claassen, Vock, Kayser, Schena, & Ferretti, 1997). Derfor finner man også generelt noe større økning i muskeltversnitt for overkroppsmuskulaturen enn for underkroppsmuskulaturen etter en treningsintervensjon (Abe, DeHoyos, Pollock, & Garzarella, 2000; Brown, McCartney, & Sale, 1990; Chilibeck, Calder, Sale, & Webber, 1997; Cureton et al., 1988; Wernbom, Augustsson, & Thomeé, 2007; Wilmore, 1974). En annen potensiell forklaring er at overkroppsmusklene er mer påvirket av testosteron, og har rapportert å ha flere androgene reseptorer (Kadi, Bonnerud, Eriksson, & Thornell, 2000a). Etersom testosteron har en kjent anabol effekt, kan dette potensielt øke vekstpotensialet til overkroppsmuskulaturen. Hvilken arm (dominant eller ikke dominant arm) som ble trent i første treningsperiode ble randomisert for å ta høyde for at armene kunne ha ulikt *potensiale* for treningsfremgang (Farthing, Chilibeck, & Binsted, 2005). Etter

detreningsperioden, gjennomførte deltagerne en retreningsperiode på 10 uker (andre treningsperiode) av begge armene. Varigheten på detreningsperioden (1,6 ganger så lang varighet som treningsperioden) ble valgt på bakgrunn av at det kan tenkes at en betydelig lengre detreningsperiode enn pretreningsperiode er gunstig for å fremme tap av muskelmasse og styrke. Treningsperiodene inkludert testing strakk seg over 12 uker.

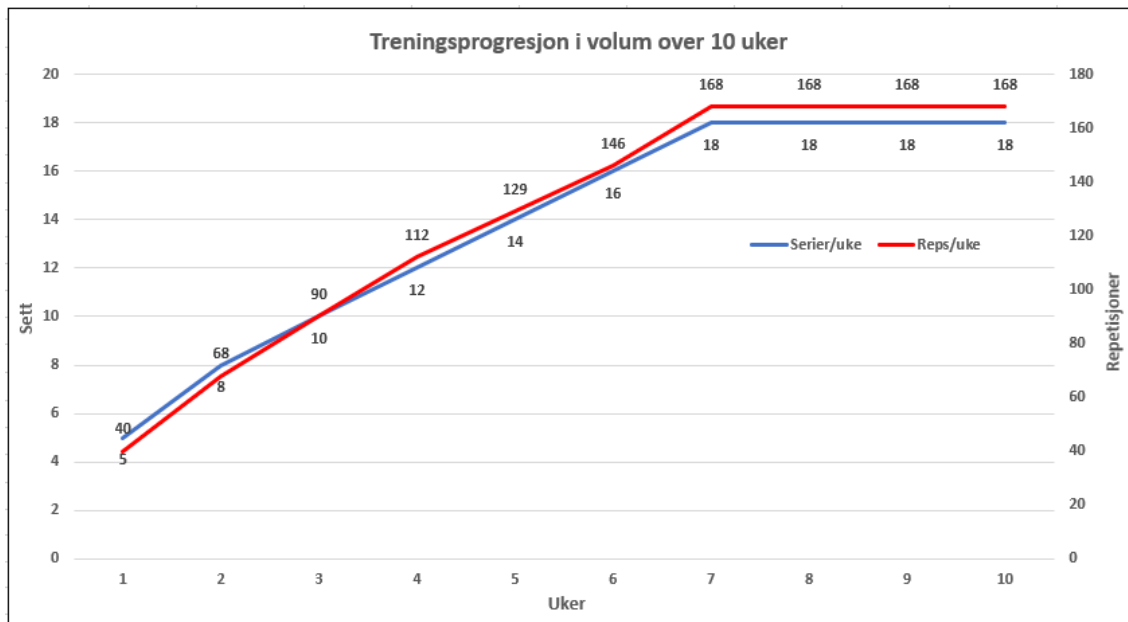
Med dette studiedesignet hadde vi mulighet til å undersøke effekten av tidligere trening på retrening. Ettersom kun en arm ble trent i første treningsperiode kunne vi undersøke og sammenligne to muskler med ulik treningserfaring fra samme person. Kunnskapen dette prosjektet gir vil muligens bidra til å øke forståelsen av effekten trening har på musklene etter en periode med inaktivitet eller redusert aktivitetsnivå. Denne kunnskapen kan som nevnt være nyttig i forbindelse punktene listet i kapittel 2.4 *Betydning av muskelhukommelse for fysisk prestasjon og helse.*

3.3 Treningsprotokoll

Styrketreningen av *albuefleksorene* ble utført to (uke 1-2) til tre (uke 3-10) ganger i uken, ettersom en høyere treningsfrekvens per muskelgruppe per uke er tenkt å være mer gunstig for hypertrofi enn en gang per uke (Schoenfeld, Ogborn, & Krieger, 2016). I tillegg vil man ved flere økter per uke være mindre sårbar for redusert treningsfremgang ved tilfeller hvor en forsøksperson går glipp av en treningsøkt, siden de fortsatt vil få et treningsstimuli flere ganger i uken uten å gå glipp av en stor del av ukens treningsvolum.

Hver treningsøkt bestod av en til to treningsøvelser, med to til tre sett per øvelse. Alle treningsøktene ble gjennomført og fulgt opp av prosjektets masterstudenter. Styrketreningen ble gjennomført med ulik intensitet, volum og øvelsesutvalg for hver treningsøkt gjennom treningsuken, da bølgeperiodisering har vist å kunne være gunstig for å øke muskelstyrke og muskelmasse hos utrente (Simão et al., 2012). Forsøkspersonenes anstrengelsesgrad ble bedømt som foreslått av Zourdos et al. (2016), ut ifra antall *repetisjoner i reserve* (RIR). RIR på 0 tilsier trening til utmattelse med ingen repetisjoner til gode, RIR på 1 tilsier at man har en repetisjon til gode osv. Likevel kan forsøkspersonene underestimere antall repetisjoner til utmattelse (Hackett, Johnson, Halaki, & Chow, 2012), noe som potensielt vil bedres etterhvert som

forsøkspersonene får mer erfaring med styrketrening gjennom prosjektet (Steele, Endres, Fisher, Gentil, & Giessing, 2017).



Figur 5. Treningsprogresjonen i totalvolumet over de 10 treningsukene. Blå viser serier/uke. Rød viser Repetisjoner/uke.

Treningsvolumet i form av serier (sett) og repetisjoner (reps) per uke startet relativt lavt, for så å øke gradvis over treningsperioden (figur 5). Dette var for at forsøkspersonene skulle bygge seg opp en toleranse for treningen, og for å redusere potensiell risiko for skade. I tillegg kan det tilsynelatende se ut til å være et *dose-responsforhold* mellom treningsvolum og hypertrofi opp til et visst punkt (Schoenfeld, Ogborn, & Krieger, 2017). Derfor fulgte treningsprogrammet en relativt lineær progresjon i treningsvolum, med en stabil topp på et relativt høyt volum (18 sett/uke) over flere uker (4 uker). Progresjonen i volum ble fulgt med en stabil økning i treningsvekt etter skjønn. Økningen av treningsbelastning i form av vekter løftet, ble tilpasset individuelt. Etersom økning i muskelstyrke er vist å kunne ha store individuelle variasjoner (Hubal et al., 2005), og at utrente ofte øker uregelmessig og mye i muskelstyrke over kort tid nærmest uavhengig av treningsmetode (ACSM, 2009; Kraemer et al., 2002; Sale, 1988). En kombinasjonen av et høyt mekanisk drag og et høyt metabolsk stress innen en treningsperiode er som beskrevet bedre en nevnt i

kapittel 2.1.2 *Stimuli for muskelvekst ved styrketrening* trolig gunstig for muskelvekst, derfor ble det benyttet ulike vekter med ulikt repetisjonsantall, pauselengde og utmattelsesgrad gjennom treningsuken (Clarkson et al., 1992; Toigo & Boutellier, 2006). Detaljer om progresjonsmodellen med treningsintensitet, frekvens, volum, og antall øvelser er illustrert i tabell 3.

Tabell 3. Progresjonsmodellen for treningsperioden over 10 uker. Grønn farge= ingen sett til utmattelse. Rød farge=siste sett per øvelse kjøres til utmattelse.

10 ukers progresjonsmodell for m. biceps brachii											
Uker	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Økter/uke	2					3					
Øvelser/økt	1	2-1					2				
Sett/øvelse	2-3										
Sett/økt	Økt 1	2	4	4	4	5	6	6	6	6	6
	Økt 2			2	4	4	4	6	6	6	6
	Økt 3	3	4	4	4	5	6	6	6	6	6
Sett/uke	5	8	10	12	14	16	18	18	18	18	
Sett fordelt på øvelser	Økt 1	Øvelse 1	2	2	2	2	3	3	3	3	3
		Øvelse 2.1		2	2	2	2	3	3	3	3
	Økt 2	Øvelse 1			2	2	2	2	3	3	3
		Øvelse 2.2				2	2	2	3	3	3
	Økt 3	Øvelse 1	3	2	2	2	3	3	3	3	3
		Øvelse 2.3		2	2	2	2	3	3	3	3
Repetisjoner	Økt 1	10-12 Lett	10-12 Tung (RIR 2-0)								
	Økt 2		10-12 lettere/middels (90% av vekten fra økt 1, RIR 3-1)								
	Økt 3	6-8 Lett	6-8 Tung (RIR 2-0)								
Reps/uke	22	68	90	112	129	146	168	168	168	168	

Programmets første treningsuke fungerte som en *introduksjonsuke*, og kom oppå pretestene i første treningsperiode (uke 1) og uken etter pretestene i andre treningsperiode (uke 27). Denne uken bestod derfor av et lavt treningsvolum (5 sett/uke), med ingen sett til utmattelse (RIR 3-1). Dette ga forsøkspersonene som da var utrente, en håndterbar treningsstart. Ukens første treningsøkt ble gjennomført med belastning tilsvarende 10-12 RM (RIR 2-0), og 1-2 min pause mellom hver sett. Under første treningsøkt ble også siste sett av hver øvelse kjørt til utmattelse (fra uke 2). Ukens andre treningsøkt (fra uke 3) ble gjennomført med 10-12 repetisjoner med en belastning tilsvarende 90% av ukens første treningsøkt, og 1-2 min pause mellom hver sett. Denne økten ble ingen serier utført til utmattelse (RIR 3-1). Treningsøkt 2 var med på å akkumulere volum, med et håndterbart totalt volum. Ukens tredje treningsøkt (telles

som treningsøkt 2 i uke 1 og 2) ble utført med belastning tilsvarende 6-8 RM (RIR 2-0), og 2-3 min pause mellom hver sett. Ukens tredje treningsøkt ble også siste sett av hver øvelse kjørt til utmattelse (fra uke 2).

For å forsikre oss om at utmattelse ble oppnådd på de aktuelle settene, ble siste repetisjon av settet gjennomført som en *tvunget repetisjon* (de gjennomførte repetisjoner til de selv ikke klarte å gjennomføre flere repetisjoner alene, for så å få litt hjelp i den konsentriske fasen av den siste repetisjonen). For å ytterligere øke utmattelsesgraden ble de også instruert til å *bremse* ekstra godt i den eksentriske fasen av den siste repetisjonen etter den *tvungede repetisjonen* på øvelse nr. 2.1 og 2.3 (se figur 6). Selv om det å stoppe noen repetisjoner før utmattelse nødvendigvis ikke reduserer muskelveksten i stor grad når treningsvolumet er tatt høyde for (Schoenfeld & Grgic, 2019), så er å gjennomføre noen serier til utmattelse et nyttig verktøy for å potensielt sikre rekruttering av alle de motoriske enhetene (Burd et al., 2011; Fisher, Steele, & Smith, 2013; Schoenfeld et al., 2017). Ettersom trening til utmattelse kan være svært belastende og kan gå utover det totale treningsvolumet (Schoenfeld & Grgic, 2019), ble bare serier til utmattelse utført ved siste sett av hver øvelse på to av ukens tre treningsøkter. Variasjon har vist å kunne være av betydning for muskelvekst (Fonseca et al., 2014), derfor bestod øvelsesutvalget av et variert utvalgt av øvelser for *albuefleksorene* med ulikt bevegelsesutslag og belastningsprofil for å optimalisere forholdene for hypertrofi.



Figur 6 viser øvelsesutvalget for prosjektet. A viser start- og sluttposisjon for hver øvelse, mens b viser topp- (2.1 og 2.3) eller bunnposisjon (1 og 2.2). Øvelse 1 (Sittende supinert unilateral preacher curl i kabelapparat) var første øvelse hver treningsøkt. Øvelse 2.1 (skråliggende supinert unilateral hantel curl med rygg på benk) var andre øvelse økt 1 fra og med uke 2. Øvelse 2.2 (sittende supinert unilateral preacher curl med hantel) var andre øvelse økt 2 fra og med uke 4. Øvelse 2.3 (stående supinert unilateral hantel curl) var andre øvelse økt 3 fra og med uke 2.

Øvelsesutvalget bestod av øvelser med både kabelapparat og frivekter (hantler), samt noen øvelser var mer *spesifikke* for 1RM-testøvelsen enn andre. Preacher biceps curl med kabel (1RM-testøvelsen) ble inkludert som første øvelse hver treningsøkt (spesifisitetsprinsippet), mens øktens andre øvelse varierte som vist i Figur 6. Progresjonsmodellen var lik for første og andre treningsperiode, med tilpasset styring av treningsbelastning i form av vekt løftet for periodene. I andre treningsperiode vekslet vi også systematisk på hvilken arm som startet treningen hver økt, for at begge armer skulle få like god *kvalitet* på trening over det lengre løp.

3.4 Testing

For å undersøke endringer i muskelens (*m. biceps brachii*) karakteristikk i forbindelse med en mulig muskulær hukommelsesmekanisme, gjennomførte forsøkspersonene flere tester. Begge de eksperimentelle treningsperiodene inkluderte målinger av ulike parametere relatert til muskelvekst og -styrke. Dette inkluderer taking og analyse av muskelbiopsier, måling av muskeltykkelse med ultralyd, og en muskelstyrketest (1RM). Måling av muskeltykkelse ved hjelp av ultralyd, samt analyse og resultat av ultralydmålingene vil ikke bli beskrevet videre i større grad her, ettersom disse målingene og analysene ble gjennomført og vil bli beskrevet videre av en annen masterstudent. Detaljer om de resterende testene er beskrevet under kapittel 3.5 *Testing av maksimal muskelstyrke* og 3.6 *Målinger på muskelfibernivå*.

3.4.1 Kostholdsregistrering. I forbindelse med prosjektet gjennomførte også alle forsøkspersonene et 24-timers kostholdsintervju for å kartlegge generell ernæringsstatus, samt energi- og proteininntak i både første og andre treningsperiode. Kostholdsintervjuet tok plass i løpet av tilvenningsuken (uke 0) i første treningsperiode, slik at de kunne få nødvendig ernæringsråd for å sikre *optimale* forhold for muskelvekst tidlig i første treningsperiode. Det andre kostholdsintervjuet tok plass tidlig i andre treningsperiode (uke 27) for å kunne gjøre en generell *sammenligning* av kostholdsvaner mellom periodene, samt for å sikre *optimale* forhold for muskelvekst i andre treningsperiode. For å kartlegge generell ernæringsstatus, og energi- og proteininntaket under periodene, ble grovarbeidet av kostholdsdataene fra intervjuene plottet inn i kostholdsregistreringsverktøyet til det Norske helsedirektoratet og mattilsynet¹. Kostholdsregistreringen ble kun benyttet for å forsikre oss om energistatusen til forsøkspersonene, og dataene vil ikke bli presentert i noen større grad i denne oppgaven.

¹ www.kostholdsplanleggeren.no

3.5 Testing av maksimal muskelstyrke

Testing av muskelstyrke ble inkludert som et mål på endringer av *muskel funksjon* i forbindelse med den muskulære hukommelsesmekanismen hos mennesker. Tilvenning til styrketesten forekom før trening- og testperioden (uke 0), og ble gjennomført som om det skulle vært en gjeldende test (maksimal innsats). Pretesten ble utført i uke 1 (periode 1) og uke 26 (periode 2). Posttesten ble lagt til uken etter siste treningsøkt for perioden, og ble utført i uke 11 (periode 1) og uke 37 (periode 2). Dette var for å få med seg treningseffekten fra hele siste treningsuke i perioden. I tillegg ble progresjonen fulgt opp underveis i treningsperiodene, med måling av muskelstyrke og muskeltykkelse etter 3 uker med trening i de ulike treningsperiodene (uke 4 for periode 1 og uke 30 for periode 2). I andre treningsperiode valgte vi også å teste muskelstyrke i uke 33 (etter 6 uker med trening), for å lettere kunne se når de *gjenopnådde* muskelstyrken fra første treningsperiode.

3.5.1 1 Repetisjons maksimum (1RM). For å undersøke endringer i muskelstyrke, gjennomførte forsøkspersonene en unilateral styrketest for *albuefleksorene* (1RM) på begge armene. Testen (sittende supinert unilateral biceps preacher curl), ble utført som en typisk dynamisk 1RM-test ved hjelp av et kabelapparat (TECHNOGYM® CABLE CROSSOVER) og en benk med et skråstilt armlene (ELEIKO CLASSIC SEATED PREACHER CURL). Test av maksimal muskelstyrke ved hjelp av en 1RM-test, er en metode som benyttes i flere vitenskapelige styrketreningsstudier (Kraemer & Ratamess, 2004). Kabeltrekkapparater med mulighet for å justere vekt, er enkle å standardisere og benytte til trening og testing (Amundsen, Takahashi, Carter, & Nielsen, 1980). Denne testøvelsen ble også benyttet som en av treningsøvelsene gjennom intervensjonen (øvelse 1 i figur 6), og ga derfor et spesifikt mål på endring i muskelstyrke. Vi kunne forvente god økning i styrke i den aktuelle testøvelsen, da økning i muskelstyrke er tenkt å være spesifikt knyttet til treningsøvelsen (Rasch & Morehouse, 1957; Thorstensson, Karlsson, Viitasalo, Luhtanen, & Komi, 1976). På bakgrunn av at det er vanlig å finne en framgang i 1RM i treningsøvelsene for utrente på ca. 1% per treningsøkt (Kraemer et al., 2002), forventet vi over en 10-ukers treningsperiode med totalt 28 treningsøkter en økning i 1RM på ca.

30%. Likevel var det også å forvente relativt store individuelle forskjeller i styrkeframgang mellom forsøkspersonene (Hubal et al., 2005).

Øvelsen startet fra en fullt flektert stilling. Et løft ble godkjent når et tilstrekkelig leddutsalg ble oppnådd (når kabelen var en direkte forlengelse av armen) i overgangen mellom eksentrisk og konsentrisk fase, og at de trakk vekten helt opp i konsentrisk fase (slik at underarmen stod i en vertikal stilling). I tillegg krevdes det at albuen på motsatt arm av armen som utfører testen, var i kontakt med fremsiden av det skrånede armlene (slik at de ikke kunne presse i fra og bidra med den andre armen), og at sete hadde kontakt med benken (for å unngå at de brukte kroppen til å skape et ekstra moment). Vektøkningen på apparatet støttet 2.5 kg inkremer, derfor benyttet vi 0.5 kg mikroplater (ELEIKO PRO DUMBELL ADD-ON) for å kunne øke vekten med så lite som 0.25 kg av gangen (på grunn av trinsesystemet til kabelapparatet, tok vi høyde for at vekten av de ekstra vektskivene i praksis ble halvert).

Vi målte høyden (Seca gmbh & co, kg. US design, model 217) og kroppsvekten (Seca gmbh & co, kg. Germany, model 877) til forsøkspersonene, før de gjennomførte en generell oppvarming på et roergometer (TECHNOGYM® SKILLROW™). Oppvarmingen bestod av tre minutter med moderat intensitet (selvvalgt frekvens på belastningstrinn 6). Deretter ble stolsetets høyde på Preacher curl benken individuelt tilpasset før de gjennomførte en spesifikk oppvarming mot testen. Oppvarmingen bestod av flere submaksimale sett med økende vekt og synkende repetisjonsantall (6, 4, 2 repetisjoner), før de begynte med single repetisjoner. Testen ble ansett som ferdig når forsøkspersonen ikke klarte et eller flere løft innenfor de fastsatte kriteriene, og/eller feilet en eller flere forsøk på grunn av utilfreds teknisk utførelse. Begge armer ble testet om hverandre, og hvert forsøk per arm ble adskilt med 3 minutters pause. Alle innstillinger ble notert og brukt ved alle testene. Under testingen ble det sørget for sterke verbale oppmuntringer. Ettersom høylytt verbal oppmuntring har vist å kunne ha en signifikant positiv innvirkning på fysisk prestasjon (Andreacci, Lemura, Cohen, Urbansky, Chelland, & Duvillard, 2002; McNair, Depledge, Brett Kelly, & Stanley, 1996), og spesielt for utrente personer (Moffatt, Chitwood, & Biggerstaff, 1994). Testing av 1RM har tidligere blitt gjennomført, og er en veletablert test for maksimal muskelstyrke ved Norges idrettshøgskole. Etter opplæring ble styrketesting

gjennomført av masterstudentene involvert i prosjektet. Endring i 1RM vil bli presentert som gjennomsnitt og standardavvik.

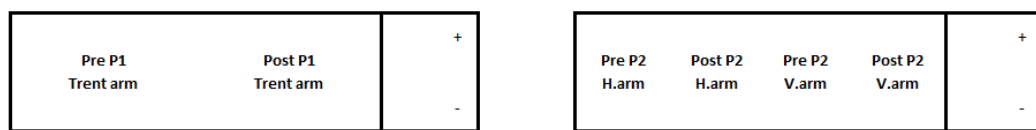
3.6 Målinger på muskelfibernivå

For å kunne undersøke en mulig cellulær hukommelsesmekanisme i skjelettmusklene hos mennesker var vi avhengig av å utføre målinger på muskelfibernivå. Analyse av vevsprøvene foregikk i flere steg. Først måtte biopsiene samles inn fra forsøkspersonene, før vi snittet muskelbiopsiene i et kryostat for å legge de klar til merking på et objektivglass. Deretter ble snittene merket med immunhistokjemiske metoder, før det ble tatt bilde av merkingene med et lysmikroskop tilkoblet en fluoriserende lyskilde. Bildene ble så bruk til kvantifisering av myokjerner, muskelfibertype og muskelfiberareal.

3.6.1 Muskelbiopsi-taking. Muskelbiopsi ble bare tatt fra armen som skulle trenes i første treningsperiode (uke 1-pre og uke 11-post), mens i andre treningsperiode ble det tatt muskelbiopsier fra begge armene (uke 26-pre og uke 37-post). Totalt seks biopsier ble tatt fra hver forsøksperson. Muskelbiopsiene i dette prosjektet ble brukt til å undersøke muskelfiber-spesifikke endringer i muskelfiberareal og fibertype, samt andelen myokjerner ved hjelp av immunhistokjemiske metoder. Disse analysene er veletablerte og rutinemessig utført i våre laboratorier, og er beskrevet videre under kapittel 3.6.3 *Immunhistokjemi*. Generelt sett er taking av muskelbiopsier en invasiv metode som krever kvalifisert personell. Derfor ble taking av muskelbiopsiene ikke gjennomført av masterstudentene selv. Laboratoriene ved Norges idrettshøgskole har over ti års erfaring med taking av muskelbiopsi, og generelt sett er inngrepet ansett som trygt, med minimale komplikasjoner for deltagerne (Ekblom, 2017).

Inngrepsområdet ble desinfisert før lokal anestesi (Xylocain-adrenalin, 10 mg/ml⁻¹ + 5 µg/ml⁻¹, AstraZeneca, Södertälje, Sverige) ble satt. Muskelbiopsien ble tatt fra den midtre delen av en av overarmens fleksormuskler (*m. biceps brachii*). For å kunne føre den sterile 6 mm tykke biopsinålen til muskelvevet, måtte vi først snitte 10-15 mm gjennom huden og muskelfascien med en skalpell. Vi benyttet en modifisert

Bergström nål med manuelt vakuüm fra en 50ml sprøyte, hvor det ble tatt en vevsprøve på 100-150 mg. Vevsprøven ble så bearbejdet, slik at overflødig bindevev og fett ble dissekert bort. Vevsprøvene ble deretter skåret vinkelrett med et barberblad og fordelt til ulike formål. Vevsbitene som hadde de mest parallelle og rette fibre ble selektert og lagt i en form og dekket med et OCT medium (Cellpath O.C.T embedding matrix, Newtown Powys, Storbritannia) før de ble fryst på forhåndsnedkjølt isopentan kjølt ned til smeltepunktet (~ -120°C) på flytende nitrogen (~ -190°C). Prøvene ble så lagret midlertidig på tørris før de ble lagret i ultrafryser ved -80°C frem til videre analyser.



Figur 7. Plasseringen av muskelbiopsisnittene på objektivglassene for hver forsøksperson i første periode (venstre) og andre periode (høyre). H.arm= høyre arm og V.arm = venstre arm.

3.6.2 Snitting av muskelbiopsier. Muskelbiopsiene ble tatt ut av ultrafryseren (~ -80°C) og lagt kjølig (~ -21°C) i kryostat (CM1860 UV, Leica Microsystems, Nussloch, Tyskland) i 20 minutter sammen med annet utstyr (pinsetter, pensler og skalpell) som ble benyttet under snittingen. Før snitting, ble vevsbiten skåret ut av formen og festet til en *kutteskru*e med OCT medium. *Kutteskruen* ble så montert og justert slik at fibre ble kuttet i riktig retning. Åtte µm tykke snitt ble så plassert på Superfrost Plus objektglass (J1800AMNZ, Thermo Scientific, MA, USA). Alle muskelbiopsiene for hver periode (pre og post) ble fordelt på ett objektivglass som vist i figur 7, slik at de skulle få lik behandling. Restene av vevsbitene ble lagt i ny beholder (avkjølt i kryostaten), og objektivglassene med snitt på ble videre pakket inn i linsepapir (Linsenpapier, Tyskland) og aluminiumsfolie for videre lagring i ultrafryser (~ -80°C), før videre analyse.

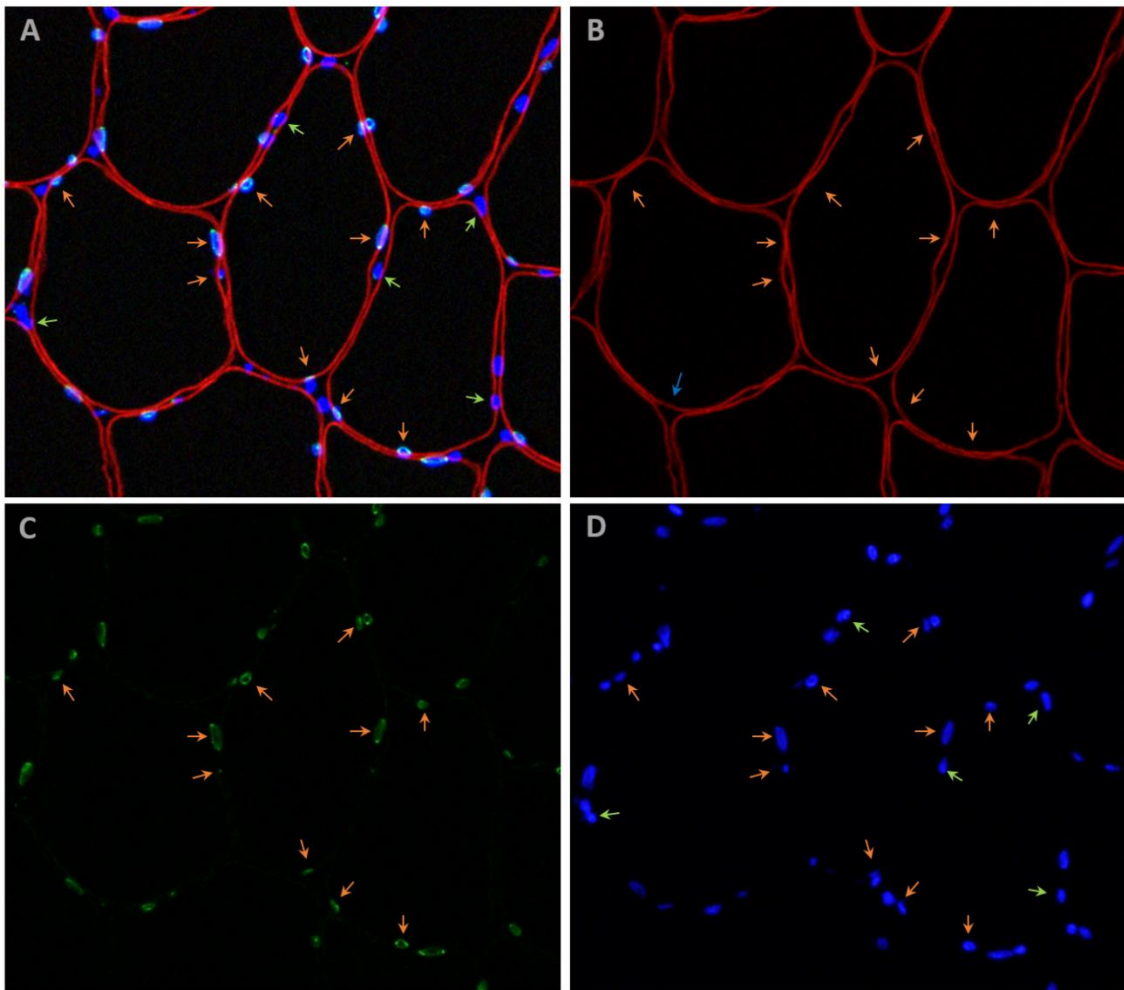
3.6.3 Immunhistokjemi. Vi benyttet ulike primære og sekundære antistoffer (listet opp i tabell 4) for å identifisere de ulike strukturene (proteinene). To ulike merkeprotokoller ble anvendt for å finne muskelfibertype (MHC1) og myokjerner

(DAPI og PCM1). Det ble også benyttet antistoffer for å kunne identifisere cellemembranen (antistoff mot dystrofin eller laminin). Protokoller og rutiner for bruk av disse antistoffene og analysemetodene er veletablerte, og rutinemessig utført i våre laboratorier.

Tabell 4. Primære og sekundære* antistoffer

Antistoff	Binder seg til	Produsent	Vert	Fortynning	Produktnummer
Anti-dystrofin	Dystrofin	Abcam	Kanin	1:200	AB15277
MANDYS8	Dystrofin	DSHB	Mus	1:20	AB2618170
DAPI	DNA i cellekjerner	Invitrogen		Finnes i monteringsmedium	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
CF594*	(Anti-)mus	Biotium	Geit	1:200	20110

3.6.4 Mikroskopi. Merkingen av de ulike antistoffene ble visualisert og fotografert ved hjelp av et lysmikroskop (BX61, Olympus, Tokyo, Japan) tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO X-Cite 120PC-Q, Ontario, Canada), og et påmontert digitalkamera (DP72, Olympus). Bilder ble tatt med ulike filtre (DAPI, FITC1 og Texas Red), for å fremheve de ulike merkingene. Enkelte bilder ble også satt sammen for å lettere kunne kvantifisere myokjernene. Kamera og mikroskopet virket gjennom programvaren Cell^F (Olympus, Japan) for Windows 7 (Microsoft[®], USA).



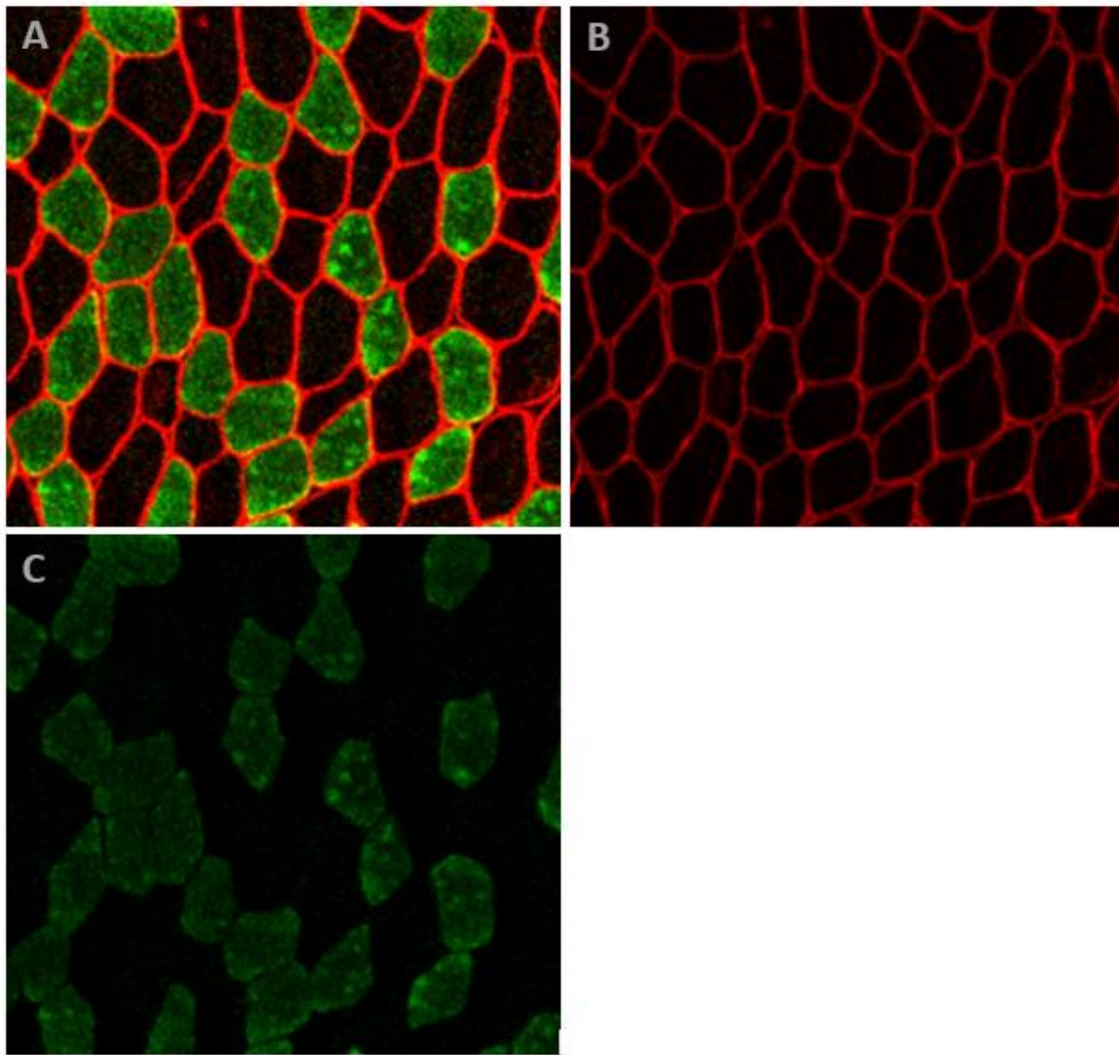
Figur 8. Identifisering av myokjerner. A: Sammensatt bilde av PCMI, DAPI og Lamina. De oransje pilene viser eksempler på identifiserte myokjerner, mens de grønne pilene peker mot cellekjerne som ikke regnes som myokjerner. B: Viser merking mot laminin (rødt), hvor de oransje pilene viser lokasjonen av de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. Blå pil peker på selve laminin merkingen. C: Viser merking mot PCMI (grønn), de oransje pilene viser et utvalg av de positive PCMI myokjernene. D: Viser merking mot DAPI (blå), de oransje pilene viser de identifiserte myokjernene som overlapper med PCMI merkingen fra bilde C. De grønne pilene viser eksempler på cellekjerne som ikke er myokjerner, ettersom de avviker i form, størrelse, eller plassering fra bilde C.

3.6.5 Kvantifisering av myokjerner. Merkeprotokollen for myokjerner (DAPI og PCMI) strakk seg over to dager. På dag en ble objektivglassene med snitt først tatt ut av ultrafryseren (~ -80°C) for så å romtempereres før behandling. Merkingen startet med å preinkubere snittene med 2% BSA i PBS i 30 minutter. Snittene ble så inkubert med primærantistoff mot PCMI (HPA023370, Sigma-Aldrich, USA) og dystrofin (MANDYS8, 8H11, DSHB, USA) i en løsning bestående av 5% BSA i PBS over natten i kjøleskap (4°C). På dag to ble snittene først vasket i 3x10 minutter i PBS, før snittene

ble inkubert i sekundært antistoff mot PCM1/kanin (Alexa 488 konjugert anti-kanin) og dystrofin/mus (20110, CF594 konjugert anti-kanin, Biotium) i en løsning bestående av 2% BSA i PBS i en time. Deretter ble snittene igjen vasket i 10x3 minutter i PBS, før et dekkglass (0107222, No. 1,5H, Marienfeld, Lauda-Könighofen, Tyskland) ble montert over snittene på objektivglasset ved hjelp av et monteringsmedia som inneholdt DAPI (Prolong Gold Antifase mountant w/DAPI, P36935, Invitrogen, Thermo Scientific, Rockford, IL, USA). Dekkglassene ble dekket til og oppbevart ved romtemperatur over natt for herding av monteringsmediet.

Det ble tatt tre bilder med ulike filtre (DAPI, FITC1 og Texas Red) mot merkingen av DAPI, PCM1 og dystrofin av hvert snitt med et 10x objektiv (UPlanFL N, 0,55 NA, Olympus) for å videre kunne undersøke snittene. Vi slo sammen bildene tatt med de ulike filtre, før bildene fra fibertypemerkingen ble brukt for å markere fibertypen manuelt i det sammenslåtte bilde med programvaren FIJI. Det ble markert 50 type I og 50 type II-fibre, til kvantifisering av myokjerner. Myokjerner ble telt manuelt i programvaren FIJI². Markøren DAPI merker alle cellekjerne, mens antistoff mot PCM1 er vist å være en spesifikk markør mot myokjerner (Winje et al., 2018). For at en cellekerne skulle kvantifiseres som en myokjerne måtte den derfor være merket med både DAPI (blå) og PCM1 (grønn), med samme form, størrelse og plassering (figur 8). Endring i antall myokjernene vil bli presentert individuelt med gjennomsnitt og standardavvik for antall myokjerner per type I og type II-fibre separat.

² www.fiji.sc

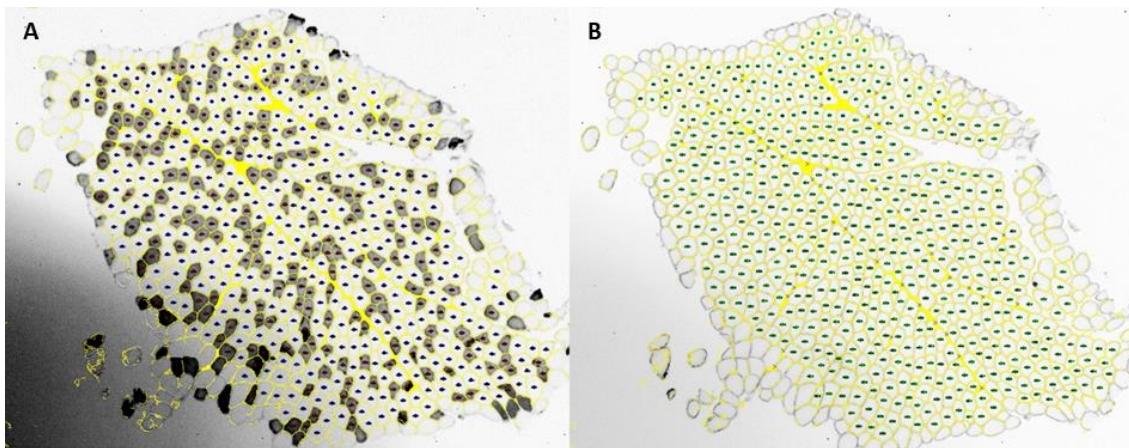


Figur 9. Identifisering av fibertype. A: Sammenslått bilde av dystrofin og MHC I merkingen. B: Viser merking mot dystrofin. C: Viser merking mot MHC I med grønn farge, mens MHC II forble umerket og sorte.

3.6.6 Kvantifisering av muskelfibertype og muskelfiberareal.

Merkeprotokollen for muskelfibertype og muskelfiberareal strakk seg over to dager. Merking for å finne fibertype (og fiberareal) ble gjort med et nabosnitt på eget objektglass. På dag en ble objektglassene med snitt først tatt ut av ultrafryseren (~ -80°C) for så å romtempereres før behandling. De ble videre blokkert i 1% BSA i PBS-t (0,05% tween-20) i 60 minutter ved romtemperatur. Snittene ble så inkubert med primært antistoff mot myosin heavy chain I (MHC1; BA-D5, DSHB, USA) og dystrofin (Ab15277, Abcam, UK) ved kjøleskap (4°C) over natten. BA-D5 identifiserer alle type I-fibre (grønn), mens type II-fibre forble umerket (sort) (Smerdu & Soukup, 2009), og lette å identifisere og skille fra hverandre. På dag to ble snittene først vasket i 3x10

minutter i PBS-t, før snittene ble inkubert i sekundært antistoff mot MHC1/mus (Alexa 488 konjugert anti-mus) og dystrofin/kanin (Alexa 594 konjugert anti-kanin). Deretter ble snittene igjen vasket i 10x3 minutter i PBS-t, før et dekkglass (0107222, No. 1,5H, Marienfeld, Lauda-Königshofen, Tyskland) ble montert over snittene på objektivglasset ved hjelp av et monteringsmedia som inneholdt DAPI (Prolong Gold Antifase mountant w/DAPI, P36935, Invitrogen, Thermo Scientific, Rockford, IL, USA). Dekkglassene ble dekket til og oppbevart ved romtemperatur over natten for herding av monteringsmediet.



Figur 10. Illustrasjon av beregning av muskelfibertype (A) og muskelfibre og dets tversnittsareal (B) i programvaren TEMA. Sort og hvit merking i A indikerer henholdsvis type I og II-muskelfibre. De små prikkene på fibreindikerer at fibre er telt.

Det ble tatt flere bilder av snittet med ulike filtere (Texas red og FITC) i programvaren Cell'F med et 4x objektiv (UPlanFL N, 0,13 NA, Olympus). Bildene av fibertype (figur 9) ble som nevnt brukt til å merke fibertypen manuelt ved analyse av myokjerner. Bildene til analyse av muskelfiberareal ble konvertert til sort-hvitt før de ble lastet inn i programvaren TEMA (Checkvision, Hadsund, Denmark) for å regne ut fiberspesifikt fiberareal og fibertypesammensetning (figur 10). I TEMA ble intensiteten på BA-D5 merkingen analysert for å bestemme fibertype, mens muskelfiberarealet ble estimert ved at programmet regnet ut arealet innenfor dystrofinmerkingen. Muskelfibre som var brettet, hadde brudd på membranen, lå i ytterkant av snittet, eller fibre med lang eller ujevn celledmembran (unormal form på fibre) ble ekskludert fra analysen. Muskelfiberareal vil bli presentert individuelt med gjennomsnitt og

standardavvik som μm^2 for I og type II-fibre separat. Muskelfibertype blir presentert som antall type I-fibre og antall type II-fibre som prosent (%) av det totale antall av muskelfibre som ble analysert. I gjennomsnitt ble 264 ± 138 fibre (min 99, maks 749) analysert for type I-fibre og 421 ± 167 fibre (min 125, maks 954) analysert for type II-fibre for hver vevsprøve.

3.7 Statistikk

For å undersøke endringer i treningsresponsen, og forskjeller mellom trent og utrent arm, ble en en-veis ANOVA med repeterte målinger, Geisser-Greenhouse korreksjon og Holm-Sidak post hoc test på utvalgte tidspunkt benyttet. Funn ble vurdert som signifikant på bakgrunn av $p < 0.05$, og tendens på bakgrunn av $p < 0.1$. Vi korrigerer P-verdien for hver analyse for å ta høyde for flere sammenligninger. De statistiske analysene ble gjort i Microsoft[®] Excel 2016 og GraphPad Prism 8[®] (San Diego, USA). Data blir presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik (\pm SD).

4. Resultater

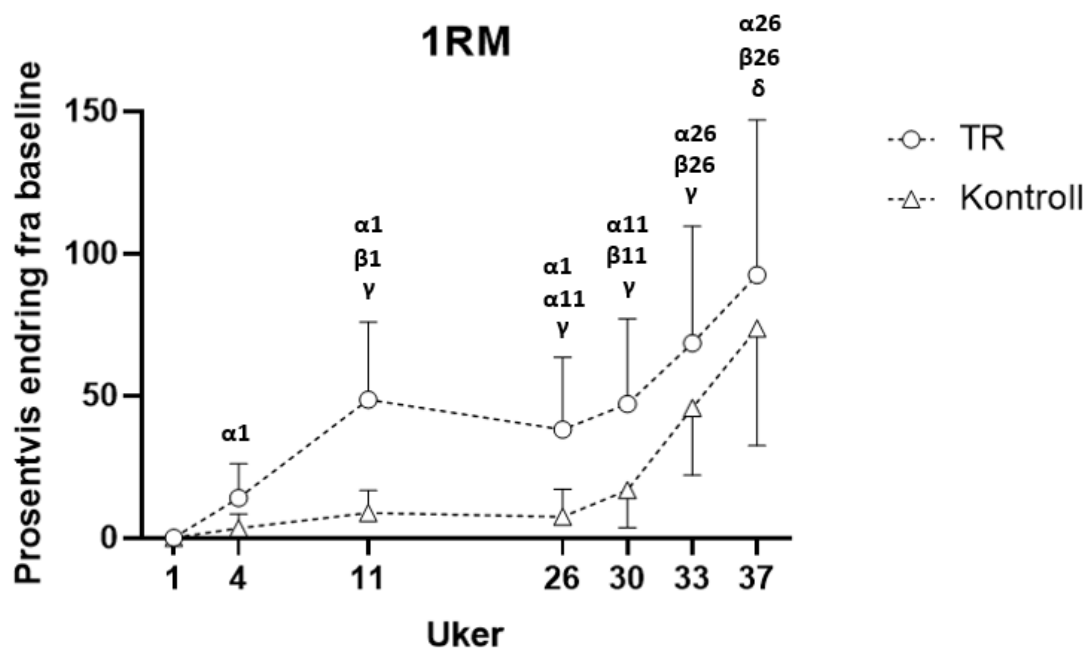
I dette kapittelet vil vi oppsummere endringene vi fant i maksimal muskelstyrke, antall myokjerner, muskelfiberarealet, og kjernedomenet under de ulike intervensjonsperiodene.

4.1 Endring i maksimal muskelstyrke. I første treningsperiode økte muskelstyrken i TR med $14\pm 12\%$ ($P=0.002$; figur 11) etter 3 uker med trening, og etter 10 uker med trening hadde TR økt muskelstyrken med $49\pm 27\%$ ($P=0.001$; figur 11). Tross ingen trening i første treningsperiode økte kontrollarmen muskelstyrken med $9\pm 8\%$ ($P=0.01$; figur 11) etter 10 uker med trening. I første treningsperiode var det ikke en forskjell i 1RM mellom armene før i uke 11 ($P=0.01$; figur 11), hvor TR var $28\pm 18\%$ sterkere enn kontrollarmen.

Etter 16 uker detrening av *albuefleksorene* ble styrken redusert i TR med $7\pm 5\%$ ($P=0.007$), men ikke for kontrollarmen ($-1\pm 5\%$, $P=0.8$; figur 11). 1RM-verdiene (pre periode 2; figur 11) etter 16 uker detrening var fortsatt høyere en pretreningsverdiene fra første treningsperiode for TR ($P=0.005$; figur 11), men ikke for kontrollarmen ($P=0.15$; figur 11).

I andre treningsperiode økte ikke muskelstyrken betydelig før etter 6 uker med trening for hverken TR ($22\pm 14\%$, $P=0.001$; figur 11), eller for den tidligere utrente kontrollarmen ($35\pm 16\%$, $P<0.001$; figur 11). Etter 10 uker med trening hadde TR økt muskelstyrken med $38\pm 19\%$ ($P<0.001$; figur 11) og kontrollarmen med $61\pm 30\%$ ($P<0.001$; figur 11). Gjennom andre treningsperiode, ble styrkeforskjellen mellom armene mindre og mindre for hver test. TR var fra starten av (pre periode 2) $20\pm 17\%$ ($P=0.03$; figur 11) sterkere enn kontrollarmen. Etter 3 og 6 uker med trening var TR respektive $18\pm 13\%$ ($P=0.017$; figur 11) og $8\pm 7\%$ ($P=0.043$; figur 11) sterkere enn kontrollarmen. Styrkeforskjellen var derimot borte etter 10 uker med trening ($P=0.19$; figur 11).

Etter tre uker med trening var muskelstyrken gjenopnådd for TR ($-1\pm 7\%$, $P>0.999$; figur 11). Det var også en forskjell i 1RM mellom posttesten for kontrollarmen i andre treningsperiode og posttesten for TR i første treningsperiode ($P<0.001$; figur 11).



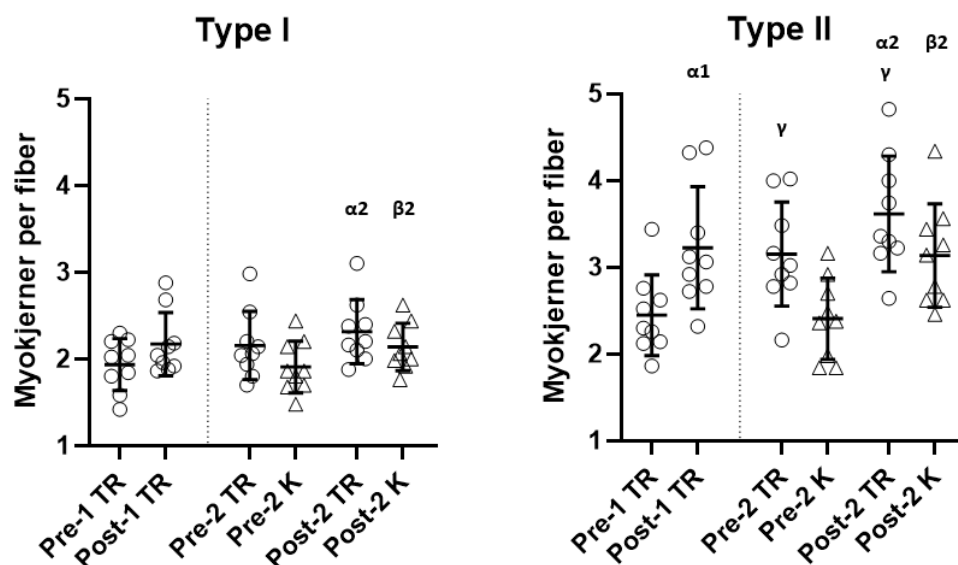
Figur 11 viser prosentvis endring i 1RM for hele intervensjonen. Greske bokstaver og tall indikerer signifikant endring eller forskjell. α = Endring for TR. β = endring for kontroll. Tall= endring fra den aktuelle uken. γ = forskjell mellom armene på det gitte tidspunktet. δ =forskjell mellom TR uke 11 og kontroll uke 37. Figuren viser gjennomsnitt og standardavvik.

4.2 Endring i antall myokjerner. Det var en $34 \pm 22\%$ økning i antall myokjerner for type II (fra 2.44 ± 0.5 til 3.25 ± 0.7 kjerner/fiber, $P=0.007$; figur 12), men ikke for type I-fibrene ($14 \pm 15\%$; fra 1.99 ± 0.32 til 2.25 ± 0.39 kjerner/fiber, $P=0.18$; figur 12) i første treningsperiode for TR.

Etter 16 uker med detrening var det ingen endring i antall myokjerner for hverken type I ($-1 \pm 6\%$, $P=0.75$; figur 12), eller type II-fibrene ($-2 \pm 5\%$, $P=0.28$; figur 12) for TR sammenlignet med antall myokjerner oppnådd i første treningsperiode.

I andre treningsperiode økte TR antall myokjerner for både type I-fibrene med $8 \pm 6\%$ (fra 2.16 ± 0.78 til 2.3 ± 0.81 kjerner/fiber, $P=0.0065$; figur 12), og type II-fibrene med $15 \pm 8\%$ (fra 3.15 ± 1.15 til 3.6 ± 1.31 kjerner/fiber, $P=0.0011$; figur 12). Den tidligere utrente kontrollarmen hadde i andre treningsperiode en økning i antall myokjerner for både Type I-fibrene med $13 \pm 8\%$ (fra 1.9 ± 0.67 til 2.1 ± 0.72 kjerner/fiber, $P=0.0008$; figur 12), og type II-fibrene med $31 \pm 16\%$ (fra 2.4 ± 0.88 til 3.1 ± 1.14 kjerner/fiber, $P=0.0008$; figur 12). Det var en forskjell i antall myokjerner for type II-fibrene mellom

armene både ved pre (P=0.004; figur 12) og post (P=0.007; figur 12) i andre treningsperiode, men ikke for type I-fibrene ved hverken pre (P=0.182; figur 12) eller post (P=0.182; figur 12).



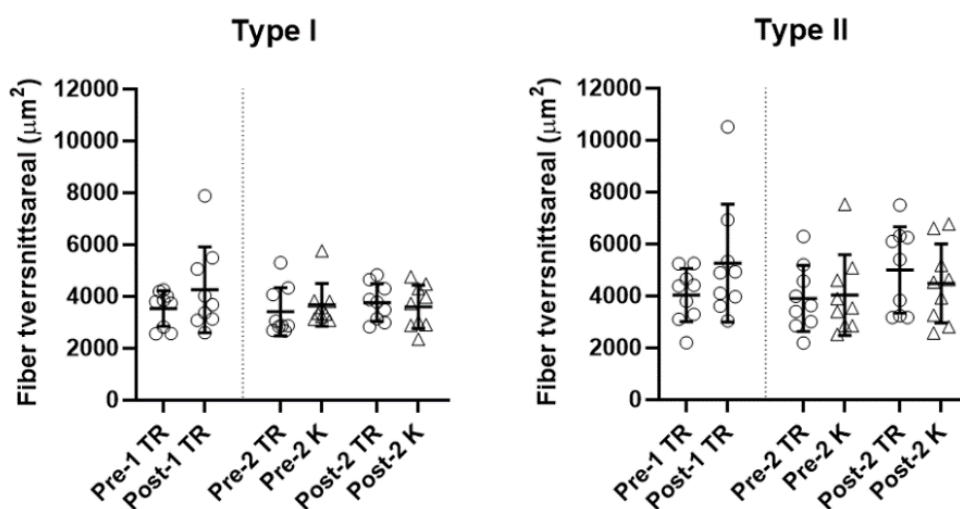
Figur 12 viser endring i antall myokjerner for type I-fibrene (venstre) og type II-fibrene (høyre). Greske bokstaver og tall indikerer signifikant endring eller forskjell. α = endring for TR, β = endring for kontroll, tall= endring mellom pre og post i den aktuelle treningsperioden (1= første treningsperiode, og 2= andre treningsperiode). γ = forskjell mellom armene på det aktuelle tidspunktet. Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik.

4.3 Endring i tvernsnittsarealet til muskelfibrene. Fibertypesammensetningen for type I-fibrene var $39 \pm 10\%$ for TR, og $39 \pm 8\%$ i kontrollarmen ved deres respektive treningsstart. Det var ingen forskjell mellom armene i fibertypesammensetning, eller endring over treningsperiodene ($P > 0.05$). I første treningsperiode så vi ingen signifikant økning i muskelfiberarealet til TR for hverken type I ($17 \pm 38\%$; fra 3632 ± 702 til $4167 \pm 1513 \mu\text{m}^2$, $P=0.602$; figur 13), eller type II-fibrene ($30 \pm 44\%$; fra 3895 ± 1076 til $4924 \pm 2175 \mu\text{m}^2$, $P=0.3$; figur 13).

Etter 16 uker med detrening var det en tendens til redusert muskelfiberarealet for både type I ($-17 \pm 12\%$, $P=0.07$; figur 13), og type II-fibrene ($-23 \pm 12\%$, $P=0.06$; figur 13). Slik at det ikke var noen forskjell mellom muskelfiberarealet ved oppstart sammenlignet med starten av andre treningsperiode til TR og det var ingen forskjell

mellom TR og kontrollarmen før oppstart av andre treningsperiode for både type I (P=0.602; figur 13), og type II-fibrene (P=0.693; figur 13).

I andre treningsperiode var det ingen betydelig økning i muskelfiberarealet til TR for type I-fibrene (14±24%; fra 3405±931 til 3811±701 μm^2 , P=0.602; figur 13), mens type II-fibrene viste en tendens til økning (30±29%; fra 3897±1275 til 4829±1649 μm^2 , P=0.074; figur 13). Det var heller ingen betydelig endring i muskelfiberarealet til den tidligere utrente kontrollarmen i denne perioden for hverken type I (-1±21%; fra 3670±828 til 3586±792 μm^2 , P=0.767; figur 13), eller type II-fibrene (14±25%; fra 4027±1557 til 4375±1467 μm^2 , P=0.315; figur 13). Det var ingen forskjell mellom armene ved ved posttest i andre treningsperiode for både type I (P=0.602; figur 13), og type II-fibrene (P=0.131; figur 13).

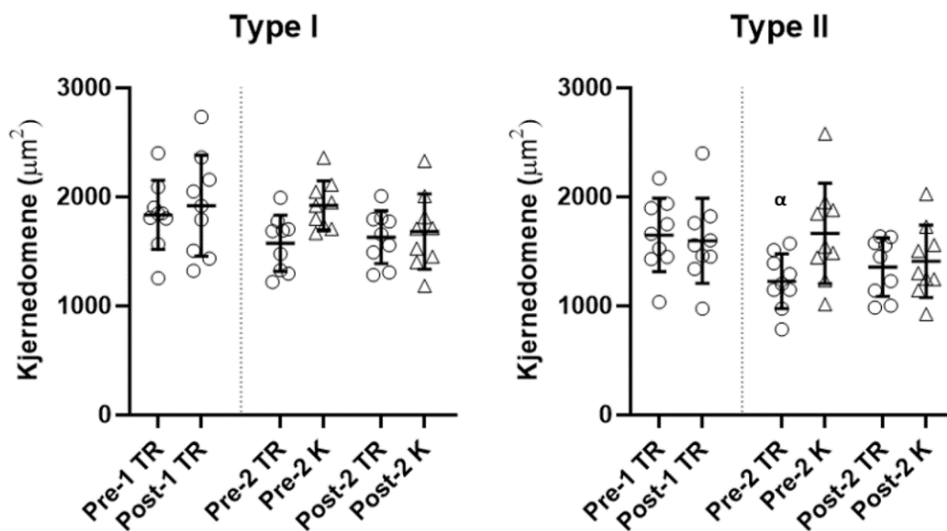


Figur 13 viser endring i muskelfiberareal for type I-fibrene (venstre) og type II-fibrene (høyre). Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik.

4.4 Endring i kjernedomenet. I første treningsperiode var det ingen endring i kjernedomenet til TR for hverken type I (2±26%; fra 1834±283 til 1844±479, P=0.92; figur 14) eller type II-fibrene (-4±26%; fra 1591±330 til 1492±417, P=0.83; figur 14).

Etter 16 uker med detrening ble kjernedomenet redusert i TR ift. posttesten fra første treningsperiode for type II-fibrene med 22±14% (P=0.018; figur 14), mens type I-fibrene bare viste en tendens til reduksjon (16±11%, P=0.053; figur 14).

I andre treningsperiode var det heller ingen endring i kjernedomene til TR for hverken type I ($5\pm 19\%$; fra 1574 ± 258 til 1630 ± 242 , $P=0.92$; figur 14), eller type II-fibrene ($13\pm 24\%$; fra 1224 ± 251 til 1355 ± 269 , $P=0.52$; figur 14). Det var heller ingen endring i kjernedomene til den tidligere utrente kontrollarmen for hverken type I ($-12\pm 19\%$; fra 1921 ± 224 til 1681 ± 344 , $P=0.29$; figur 14), eller type II-fibrene ($-12\pm 22\%$; fra 1664 ± 461 til 1408 ± 332 , $P=0.31$; figur 14). Kjernedomenet for type I-fibrene viste en tendens til forskjell mellom armene ved pre i andre treningsperiode ($P=0.077$; figur 14), men ikke for type II-fibrene ($P=0.11$; figur 14). Det var heller ingen forskjell i kjernedomenet mellom armene ved post i andre treningsperiode for hverken type I ($P=0.92$; figur 14), eller type II-fibrene ($P=0.83$; figur 14).



Figur 14 viser endring i kjernedomene for type I-fibrene (venstre) og type II-fibrene (høyre). Gresk bokstav indikerer signifikant endring. α = endring fra post periode 1 for den trente armen. Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik.

5. Diskusjon

Formålet med denne studien var å undersøke om en tidligere styrketrent arm ville respondere ulikt, sammenlignet med en tidligere utrent kontralateral arm, i en bilateral styrketreningsperiode. Vår hypotese var at den tidligere styrketrente armen ville respondere med økt hypertrofi, med tilhørende økning i antall myokjerner og muskelstyrke sammenlignet med den tidligere utrente kontrollarmen i en retreningsperiode. Vårt hovedfunn var at antall myokjerner økte før betydelig vekst i første treningsperiode og ble opprettholdt under atrofi i detreningsperioden. Grunnlaget for en mulig cellulær hukommelsemekanisme var derfor tilstede etter første treningsperiode. Antall myokjerner fortsatte å øke igjen når musklene ble belastet tilstrekkelig igjen i andre treningsperiode. Videre viste muskelstyrken ingen *hukommelseeffekt*, ettersom muskelstyrken i TR fortsatt var høyere enn pretreningsverdiene fra første treningsperiode etter detrening, den tidligere utrente kontrollarmen økte betydelig mer i muskelstyrken enn TR i andre treningsperiode, og at muskelstyrkeforskjellen i armene jevnet seg ut i andre treningsperiode. Muskelfiberarealet viste heller ingen tilsynelatende *hukommelseeffekt*, siden muskelfiberarealet ikke økte signifikant i noen av treningsperiodene.

5.1 Myokjernene taler for en cellulær hukommelsesmekanisme. Funnene i denne studien støttes av en rekke andre studier, som viser at antall myokjerner kan økes ved styrketrening og andre modeller for overbelastning av muskulaturen (Allen et al., 1995; Allen, Roy, & Edgerton, 1999; Bruusgaard et al., 2010; Cabric, Appell, & Resic, 1987; Cabric & James, 1983; Cheek, Holt, Hill, & Talbert, 1971; Kadi, Eriksson, Holmner, Butler-Browne, & Thornell, 1999; Lipton & Schultz, 1979; McCall et al., 1998; Moss, 1968; Moss & Leblond, 1970; Roy, Monke, Allen, & Edgerton, 1999; Schiaffino, Bormioli, & Aloisi, 1976; Seiden, 1976; Winchester & Gonyea, 1992).

Våre funn støtter konseptet om at addering av myokjerner kan oppstå selv ved *lave* og *moderate* mengder hypertrofi (Conceição et al., 2018), noe som videre indikerer som foreslått av Conceição et al. (2018) at det ikke er nødvendig å nå den foreslåtte *takeffekten* av domestørrelsen på 2000-2250 μm^2 /kjerne (Ishido et al., 2004; Kadi et al., 2004; O'Connor & Pavlath, 2007; Petrella et al., 2006; Petrella et al., 2008) for å øke

antall myokjerner. Faktisk er det foreslått av Murach et al. (2018) i en oversiktsartikkel, at man enda har til gode å identifisere en *takeffekt* på domenestørrelsen. Likevel skal man vise forsiktighet ved sammenligning av absolutte verdier på tvers av studier, ettersom tykkelsen på snittene benyttet under de immunhistokjemiske metodene vil påvirke utregningen av kjernedomenet. To tilsynelatende like snitt med ulik tykkelse vil ha forskjellig kjernedomenene, da antall myokjerner vil være ulikt (alle myokjernene i snittets dybde vil bli kvantifisert) tross at fiberarealet er likt. Tynnere snitt vil trolig resultere i et større kjernedomenene, mens tykkere snitt vil sannsynligvis resultere i et mindre kjernedomenene. Ettersom vi benyttet åtte μm^2 tykke snitt, kan dette muligens ha bidratt til at vi registrerte et mindre kjernedomenet enn studier som benyttet f.eks. seks μm^2 (Petrella et al., 2006; Petrella et al., 2008).

Ettersom vi fant en betydelig økning i myokjerner i begge treningsperiodene uten signifikant økning i muskelfiberareal, støtter studien vår antagelsen om at addering av myokjerner er nødvendig (Allen et al., 1995; Kadi & Thornell, 2000b; Leenders et al., 2012; Olsen et al., 2006; Petrella et al., 2006), og kan skje før betydelig økning i muskelfiberareal (Aloisi et al., 1973; Bruusgaard et al., 2010; Hanssen et al., 2013). Muskelproteinsyntesen er vist å øke og forbli forhøyet i 24-48 timer etter en styrketreningsøkt (Rennie, Wackerhage, Spangenburg, & Booth, 2004). Den økte proteinsyntesen foreslår at myokjernene i myofibrene har evnen til å hurtig respondere med økt translasjon i forbindelse med belastning. Vedvarende trening er derimot tenkt å utsette myokjernene for et stort stress ettersom fibrene vokser i størrelse. På grunn av myokjernerens begrensede kapasitet til å støtte opp om proteinsyntesen, vil det derfor kreves addering av nye myokjerner for å fremme og holde følge med videre hypertrofi (Kadi et al., 2004; Petrella et al., 2006).

I første treningsperiode var det bare type II-fibrene som økte antall myokjerner, noe som er i overensstemmelse med at type I og type II-fibrene har vist å kunne respondere ulikt ved hypertrofi som følge av styrketrening (Campos et al., 2002; Deschenes & Kraemer, 2002; Fry, 2004). Dette samsvarer med konseptet om et rekruteringshierarki (Henneman, 1985; Henneman et al., 1965), og at økning i antall myokjerner har blitt rapportert å kunne være avhengig av fibertype. Kvorning, Kadi, Schjerling, Andersen, Brixen, Suetta, & Madsen (2015) rapporterte at 8 uker med styrketrening resulterte i at unge aktive menn økte antall myokjerner for type II-fibrene,

men ikke for type I-fibrene. Snijders et al. (2016) rapporterte at antall myokjerner og fiberareal kun økte for type II-fibrene etter 8 uker med trening, og at det ikke var før etter 12 uker med styrketrening at antall myokjerner og fiberareal for begge fibertypene økte. Forsinket respons hos type I-fibrene samsvarer med at vi registrerte at begge fibertypene ikke økte i antall myokjerner før i andre treningsperiode. Selv om antall myokjerner økte i begge fibertypene for begge armene i andre treningsperiode, så var det bare en forskjell i antall myokjerner mellom TR og den tidligere utrente kontrollarmen ved pre og post for type II-fibrene i andre treningsperiode. Type II-fibrenes økte respons ved addering av myokjerner kan samsvare med at type II-fibrene typisk viser økt hypertrofi ved styrketrening med høy relativ motstand (Campos et al., 2002; Deschenes & Kraemer, 2002; Fry, 2004). Dette kan som diskutert videre under kapittel 5.3 *Muskelfiberarealet viser ingen tilsynelatende hukommelseffekt* forklare hvorfor vi iallfall så en tendens til økning i muskelfiberarealet til type II-fibrene i andre treningsperiode.

Adderingen vi registrerte av myokjerner før betydelig vekst forslår at myokjernene også kan ha hatt andre roller enn å bare fremme hypertrofi. Dette tydeliggjøres ved at antall myokjerner er vist å øke i forbindelse med utholdenhetstrening uten tilhørende muskelvekst (McKenzie et al., 2016). Imidlertid øker antall myokjerner betydelig mer ved styrketrening enn ved utholdenhetstrening (Conceição et al., 2018), trolig på grunn av den viktige rollen økt kapasitet for proteinsyntese har ved hypertrofi (Damas, Phillips, Vechin, & Ugrinowitsch, 2015; Damas et al., 2016; Phillips, 2009; Wilkinson, Phillips, Atherton, Patel, Yarasheski, Tarnopolsky, & Rennie, 2008). Selv om økt proteinsyntese i forbindelse med økt antall myokjerner ofte er forbundet med hypertrofi (Damas et al., 2016; Wilkinson et al., 2008), er hoveddelen av den økte proteinsyntesen ved utholdenhetstrening forbundet med økt mitokondriell biogenese (Wilkinson et al., 2008). Myokjerners andre potensielle roller understrekes ytterligere ved at økt antall myokjerner fra 8 uker med styrketrening ble vedvart etter detrening, og var forbundet med både økt hypertrofi, mitokondriell biogenese, og økt signalering mellom mitokondriene og myokjernene i retreningsperioden (Lee et al., 2018). I forbindelse med styrketrening er det også foreslått at addering av myokjerner før betydelig vekst har en viktig rolle i forbindelse med reparasjon og remodeling etter treningsindusert muskelskade (Goh et al., 2019). På

bakgrunn av at man typisk ser en betydelig økning i antall myokjerner etter mer ekstreme hypertrofi-modeller, slik som ved fjerning av synergistmuskler eller etter tung eksentrisk trening (Schiaffino et al., 2013). Likevel skal det nevnes at det er vanskelig å bedømme om den enorm muskelvekst i slike dyremodeller kan tilskrives den store muskelskaden eller den store belastning. Dette kan derfor tenkes at det økte antall myokjerner vi registrerte før betydelig økning i muskelfiberarealet ikke bare har en viktig rolle for å fremme og holde følge med videre hypertrofi, men også ved reparasjon og remodeling av myofibrene.

Den økte mengden myokjerner fra første treningsperiode i vår studie ga grunnlag for å teste om det eksisterer en mulig cellulær hukommelsesmekanisme hos mennesker. Etter 16 uker detrening var det ingen forskjell i muskelfiberareal til den trente armen fra muskelfiberarealet før første treningsperiode, og den økte mengden myokjerner som observert i første treningsperiode ble vedvart. Det vil med andre ord si at muskelfiberarealet ble redusert tilbake til utgangspunktet selv om antall myokjerner ble vedvart. Dette indikerer at myokjerner ikke går tapt under atrofi, noe som støtter nåværende litteratur (Bruusgaard et al., 2010; Egner et al., 2013; Lee et al., 2018; Schwartz et al., 2016; Wada et al., 2002). I motsetning til Psilander et al. (2019) benyttet vi oss av en spesifikk markør mot myokjerner (PCM1) (Winje et al., 2018), og dermed kunne vi lettere fange opp faktiske endringer i antall myokjerner og forhindre å inkludere andre cellekjerner. Likevel registrerer kun de immunhistokjemiske analysene myokjernenes virkning over to dimensjoner, slik at analysene ikke tar høyde for at myokjernene faktisk kontrollerer et tenkt område av cytoplasma i tre dimensjoner. I tillegg er det usikkert om myokjernene er likt distribuert over hele fiberlengden, slik at antall myokjerner som blir registrert med de immunhistokjemiske analysene alltid vil være forbundet med en viss grad av tilfeldighet (Conceição et al., 2018). Imidlertid ble trolig ikke våre resultater påvirket av dette i stor grad, med tanke på at vi fant en betydelig økning i antall myokjerner.

Når addering av myokjerner overgår hypertrofi er det å forvente en reduksjon i kjernedomenets størrelse (Bruusgaard et al., 2010). Til tross for dette observerte vi ingen endring i kjernedomenene etter første treningsperiode for noen av fibertypene, noe som støtter opp tanken om at kjernedomenene forblir vedvart under hypertrofi (Egner et al., 2016; McCall et al., 1998; Petrella et al., 2008). Imidlertid virker det å være

omdiskutert i hvor stor grad kjernedomenet forblir vedvart eller ikke (Murach et al., 2018). Etter 16 uker detrening ble kjernedomenet derimot redusert, hvor den mer tydelige reduksjonen i kjernedomene for type II-fibre trolig henger sammen med økning vi så antall myokjerner for type II-fibre. Om kjernedomene virkelig var rigid, kunne man forventet et tilhørende tap av myokjerner ved atrofi for å vedlikeholde myokjerne til protein forholdet (Cheek et al., 1971). Våre funn støtter derfor opp om at domenestørrelsen virker å være mer fleksibel enn først antatt (Murach et al., 2018), og at domenestørrelsen til type II-fibre er tenkt å være den mest fleksible av fibertypene (Damas et al., 2018; Fry, Noehren, Mula, Ubele, Westgate, Kern, & Peterson, 2014; Herman-Montemayor, Hikida, & Staron, 2015). Vi observerte heller ingen endring av kjernedomene for noen av fibertypene for noen av armene under andre treningsperiode. Det var heller ingen forskjell mellom armene i andre treningsperiode for noen av fibertypene. Dette samsvarer med den manglende og tilsvarende økningen i muskelfiberarealet mellom treningsperiodene. Endring i kjernedomenet i vår studie er i høyeste grad påvirket av endringene i muskelfiberarealet, noe som blir diskutert videre under kapittel 5.3 *Muskelfiberarealet viser ingen tilsynelatende hukommelseffekt*. Likevel er det foreslått av Goh et al. (2019) at kjernedomeneteorien er for enkelt til å forklare noe så komplekst som musklens tilpasningsevne, på bakgrunn av at denne teorien kun forbinder antall myokjerner med muskelvekst. Dermed antas at alle myokjerner (både gamle og nye) er like med tanke på størrelse og transkripsjonsevne. Derimot er myokjerner tenkt til å muligens ha evnen til å tilpasse transkripsjonen ved fravær av satellittceller, noe som foreslår at myokjernene muligens er mer dynamiske og ulike en først antatt (Kirby, Patel, McClintock, Dupont-Versteegden, Peterson, & McCarthy, 2016).

Det ser ut til at man ikke kan tilføre ubegrensede mengder myokjerner til en muskelfiber ved gjentatte hypertrofi- og atrofisykluser (Bruusgaard et al., 2012; Egner et al., 2013), og det er vist at antall myokjerner ikke øker ved retrening tilbake til normal fiberstørrelse (Bruusgaard et al., 2012; Jackson et al., 2012). Etersom vi registrerte at det ble tilført et mindre antall av myokjerner i den tidligere trente armen i retreningsperioden, kan antall av myokjerner se ut til å representere den største størrelsen muskelfibreren har oppnådd. Det kan derfor tenkes at videre hypertrofi kan oppstå ved videre trening etter retreningsperiode uten nevneverdig rekrutering av

myokjerner. Ikke fordi man ikke trenger flere cellekjerener i store fibre, men fordi cellekjernene allerede er der (Gundersen, 2016). Endringene vi ser i myokjerner ved trening, detrening og retrening i denne studien taler derfor for en mulig cellulær hukommelsesmekanisme relatert til antall myokjerner. Som foreslått av Seaborne et al. (2018b) er det også tenkt å være en epigenetisk mekanisme bak *muskelhukommelse*, hvor enkelte gener som er viktige for hypertrofi, lettere blir *slått på* ved retrening.

5.2 Muskelstyrken viser ingen tilsynelatende hukommelseeffekt. I første treningsperiode økte TR muskelstyrken med 49%, noe som var over det vi hadde forventet (ca. 30% økning) utfra beregnet styrkefremgang fra Kraemer et al. (2002). Tross ingen trening økte også muskelstyrken i kontrollarmen med 9%. Noe som foreslår en form for *motorisk læringseffekt* som påvirker begge armene. Det har tidligere blitt observert at en periode med unilateral trening kan gi økt muskelstyrke i et utrent lem, noe som er omtalt som en form for *krysslæring* (Munn, Herbert, & Gandevia, 2004). *Krysslæringseffekten* har blitt vist i en rekke ulike studier (Carroll, Herbert, Munn, Lee, & Gandevia, 2006; Farthing, Borowsky, Chilibeck, Binsted, & Sarty, 2007; Farthing et al., 2005; Lee & Carroll, 2007; Moritani, 1979). Denne effekten er ikke forårsaket av hypertrofi, men er koblet til tilpasninger i sentralnervesystemet (Farthing et al., 2007). Slike nevralt tilpasninger kan ha spilt en rolle i styrkeøkning vi så i den utrente kontrollarmen i første treningsperiode. Tross at vi tok høyde for at *krysslæringseffekten* er vist å fremtre tydeligere når den dominante armen er den som blir trent (Farthing et al., 2005), ved å randomisere treningen av armene i første treningsperiode.

Når det unilaterale styrketreningprogrammet ble utviklet, var det tenkt at effekten av *motorisk læring* ville bli redusert, siden begge armene ville lære testøvelsene under tilvenningsuken. Dermed ville kontrollarmen være kjent med testene og bevegelsene ved retrening (Lee & Carroll, 2007). Kontrollarmen ble ikke trent under første treningsperiode, slik at det var forventet at den skulle forbli relativt uendret. Det ble derfor ikke tatt vevsprøve av kontrollarmen i første treningsperiode, også med hensyn til etiske betraktninger. Dermed hadde vi ikke mulighet til å undersøke til hvilken grad det var en potensiell kontralateral effekt på muskelcellene i kontrollarmen. *Krysslæringseffekten* som først beskrevet av Scripture, Smith, & Brown (1894), er tenkt å oppstå uten morfologiske adaptasjoner. Vi kan likevel ikke utelukke endringer på

fibernivå i kontrollarmen, ettersom Brown et al. (1990) viste en økning i muskelfiberarealet til den utrente armen etter unilateral trening.

Det virker å være relativt kjent at nevrale tilpasninger bidrar til økt muskelstyrke hos utrente individer de første ukene/månedene innen styrketrening (Balshaw, Massey, Maden-Wilkinson, Morales-Artacho, McKeown, Appleby, & Folland, 2017; Hendy & Lamon, 2017; Sale, 1988). Dette inkluderer tilpasninger som økt rekruttering av antall motorenheter, høyere fyringsfrekvens, redusert aktivering av antagonister, bedre koordinering av antagonister, og økt hastighet på kraftutviklingen (Griffin & Cafarelli, 2005). Det var muligens en betydelig *motorisk læringseffekt* i andre treningsperiode for den tidligere utrente kontrollarmen (TR var omtrentlig 21% sterkere enn kontrollarmen ved starten av andre treningsperiode), noe som påvirket progresjonen i styrke under denne perioden. Ettersom kontrollarmen responderte betydelig bedre enn TR på treningen i andre treningsperiode (TR økte muskelstyrken med omtrentlig 38%, mens kontrollarmen økte med hele 61%), og det ikke var noen forskjell i styrke mellom armene lenger etter andre treningsperiode. Dette kan samsvare med at TR viste noe større økning i muskelfiberareal enn kontrollarmen i andre treningsperiode, slik at den store økningen i muskelstyrke for kontrollarmen i andre treningsperiode trolig ikke kan tilskrives hypertrofi alene. Bidraget fra den potensielle *motoriske læringseffekten* understrekes ytterligere ved at kontrollarmen også økte mer i muskelstyrke enn TR i deres respektive første treningsperiode (TR periode 1 sammenlignet med kontrollarm periode 2), hvor kontrollarmen økte mest i muskelstyrke.

For å kunne redusert det potensielle bidraget den *motoriske læringseffekten* hadde på muskelstyrke, kunne vi ha benyttet en lengre tilvenningsfase. Siden nevrale tilpasninger spiller en viktig rolle i tidlige treningsadaptasjoner hos utrente individer (Andersen, Andersen, Magnusson, & Aagaard, 2005a; Häkkinen, Alen, Kallinen, Newton, & Kraemer, 2000), og vi primært var ute etter å undersøke en mulig hukommelseeffekt på muskelstyrke i forbindelse med endringer i fiberstørrelsen. Selv om treningsvolum er tenkt å være viktig for å øke muskelstyrken (Krieger, 2009; Rhea, Alvar, Burkett, & Ball, 2003; Wolfe, Lemura, & Cole, 2004), har muskelstyrken i albuefleksorene vist å øke kontinuerlig hos trente (Dias et al., 2005; Tiggemann, Guedes, Bgeginsk, Pinto, & Krueel, 2011) og utrente (Soares-Caldeira, Ritti-Dias, Okuno, Cyrino, Gurjão, & Ploutz-Snyder, 2009; Tiggemann et al., 2011), bare som et

resultat av tilvenning til testprotokollen. Hos eldre er det t.o.m. vist at økt muskelstyrke i kneekstensjon ikke nådde et platå før etter 8 tester dager (Ploutz-Snyder & Giamis, 2001). I tillegg har det blitt vist ingen forskjell i økning av muskelstyrke etter 21 sammenhengende dager med tradisjonell styrketrening sammenlignet med 21 sammenhengende dager med *tilvenning* til styrketesten. Tross at det kun var den tradisjonelle styrketreningen som resulterte i muskelvekst (Dankel, Counts, Barnett, Buckner, Abe, & Loenneke, 2017). Dette foreslår at økning i muskelstyrke kan være relatert til andre mekanismer enn muskelvekst, og at man potensielt bør inkludere flere testdager under tilvenningsfasen. Likevel bør ikke tilvenningsfasen være for lang, med tanke på muligheten for at hypertrofi kan oppstå i den tidlige treningsfasen (Counts, Buckner, Mouser, Dankel, Jessee, Mattocks, & Loenneke, 2017), og selv bare 20 dager med trening er vist å kunne lede til hypertrofi (Seynnes et al., 2007).

Likevel kan økningen vi registrert i muskelstyrke også skyldes andre mekanismer enn nevralt tilpasninger, på bakgrunn av at det ser ut til at de fleste greier å aktivere *albuefleksorene* tilnærmet 100% i studier der man har målt maksimalt viljestyrt aktiveringsevne under maksimale isometriske aksjoner (Shield & Zhou, 2004). Styrketrening kan muligens føre til lengdeendringer i muskulaturen (Aagaard et al., 2001; Alegre, Jiménez, Gonzalo-Orden, Martín-Acero, & Aguado, 2006; Blazevich, Gill, Bronks, & Newton, 2003; Blazevich, Gill, Deans, & Zhou, 2007; Blazevich & Giorgi, 2001; Seynnes et al., 2007), ved å potensielt regulere antall sarkomerer den har i serie (Wickiewicz, Roy, Powell, & Edgerton, 1983). Misforholdet mellom økningen i muskelstyrke og muskelfiberareal vi registrert kan eventuelt forklares med endringer i muskelens fysiologiske lengde, ettersom det har blitt vist økt fasikkellengde før betydelig økning i tverrsnittsarealet til muskelen (Seynnes et al., 2007). Kraftlengdeforholdet til en muskel, er b.la. tenkt å være bestemt av graden av overlapp mellom aktin og myosin-filamentene i hver sarkomer (Gordon, Huxley, & Julian, 1966). Lengdeendringer som følge av styrketrening kan muligens føre til tilpasninger i graden av overlapp mellom de kontraktile proteinene ved en optimal muskellengde for økt kraftutvikling i forhold til arbeidet muskelen utsettes for (Brughelli & Cronin, 2007). Dette kan potensielt resulterer i stor styrkeøkning ved muskellengden treningen foregår i (Mansell, Phillips, & Rutherford, 1997; Sale & MacDougall, 1981). Imidlertid er det noe usikkert i hvor stor grad lengdeendringer i muskelen bidrar til økt kraftutvikling i

spoleformede muskler som *m. biceps brachii*, ettersom de fleste studiene som undersøker dette virker å være gjort på fjærformede muskler som *m. quadriceps femoris*.

Etter 16 uker med detrening, ble muskelstyrken redusert med 7% i TR, men muskelstyrken var fortsatt høyere enn pretreningsverdiene fra første treningsperiode. Dette er i overensstemmelse med de andre studiene som er beskrevet bedre enn nevnt i kapittel 2.3 *Fordelene av en tidligere storhetstid* som ser på effekten av retrening etter en periode med detrening (Staron et al., 1991; Taaffe & Marcus, 1997). En fersk økning i muskelstyrke har vist å kunne være relativt resistent mot fall ved detrening for både yngre og eldre (Lexell, Downham, Larsson, Bruhn, & Morsing, 1995; Rønnestad, Nymark, & Raastad, 2011; Tavares et al., 2017), og kan muligens være avhengig av det daglige aktivitetsnivået (Taaffe & Marcus, 1997). Derfor ble det heller ikke gjennomført jevnlig muskelstyrketesting i detreningsperioden. Ettersom det er vist at jevnlig testing i detreningsperioden potensielt kan gi et treningsstimuli, og være med på å dempe muskelstyrketapet (Taaffe & Marcus, 1997). Forsøkspersonene ble instruert til å ikke trene styrketrening eller bedrive andre aktiviteter hvor overkroppen (spesielt *armbøyerene*) var med i stor grad under alle faser av studien. Muskelstyrke har blitt vist å kunne vedlikeholdes hos yngre ved å trene så sjeldent som en gang i uken (Rønnestad et al., 2011; Tavares et al., 2017). Eldre har derimot vist å kunne vedlikeholde muskelstyrken ved å trene sjeldnere enn en gang i uka, og så sjeldent som hver andre til fjerde uke kan muligens være tilstrekkelig for å opprettholde en relativt fersk økning i muskelstyrke (Lexell et al., 1995). Imidlertid ble ikke forsøkspersonenes daglige aktivitetsnivå kontrollert, og treningsintervensjonen kan også ha motivert dem til å være mer aktive generelt under detreningsperioden. Vi kan derfor ikke utelukke at hverdagsaktivitet og andre fysisk anstrengende aktiviteter kan ha påvirket graden av muskelstyrketap i detreningsperioden. Til tross for dette taler reduksjonen i fiberareal tilbake til pretreningsverdier etter 16 uker med detrening for at forsøkspersonen klarte å redusere belastningen på *m. biceps brachii* under detreningperioden.

Varigheten på detreningsperioden kan også ha påvirket graden av muskelstyrketap, selv om det virker å være noe uklart hva som er tilstrekkelig lengde på en detreningperiode. Sforzo, McManis, Black, & Luniewski (1995) rapporterte at 5 uker med detrening av 9 eldre som tidligere hadde trent styrketrening i 16 uker ikke førte til

endring i muskelstyrken. Det var ikke før etter 10 uker med detrening at styrken var tilbake til pretreningsnivåer. Tilsvarende fant Houston, Froese, St P, Green, & Ranney (1983) ingen endring i styrken de første 4 ukene hos yngre menn, og styrken ble hovedsakelig redusert de siste 8 ukene. Terzis, Stratakos, Manta, & Georgiadis (2008) registrerte heller ikke at 4 uker med detrening resulterte i noen reduksjon i muskelstyrken som ble oppnådd etter 14 uker med styrketrening hos yngre. Det kan tenkes at en betydelig lengre detreningsperiode enn pretreningsperioden er gunstig for å fremme muskelstyrketap, siden Staron et al. (1991), i motsetning til Taaffe & Marcus (1997), iallfall delvis observerte en reduksjon i muskelstyrke i detreningsperioden. I denne studien var detreningperioden 1,6 ganger så lang som treningsperiodene (16 uker), men i praksis var forsøkspersonene helt treningsfri i bare 14 uker, ettersom vi testet muskelstyrke uken etter første treningsperiode og uken før andre treningsperiode. Imidlertid har en betydelig lengre detreningsperiode enn pretreningsperiode, også vist å resultere i bare litt større muskelstyrketap enn en kortere detreningsperiode (Lexell et al., 1995). Til tross for dette rapporterte Fiatarone, Marks, Ryan, Meredith, Lipsitz, & Evans (1990) en reduksjon i muskelstyrke på 32% etter bare 4 uker med detrening hos syv skjøre eldre sykehjemsbeboere, som hadde oppnådd stor økning i muskelstyrke etter bare 8 uker styrketrening. Men dette muskelstyrketapet kan trolig tilskrives mangel på hverdagslig aktivitet, økt immobilisering og sengeleie. I tillegg har det blitt vist at en kortere periode på 3 uker med detrening midt i en treningsintervensjon, sammenlignet med 15 uker med kontinuerlig styrketrening ikke resulterte i noen forskjell i 1RM og muskelfiberareal mellom gruppene etter intervensjonen (Ogasawara, Yasuda, Sakamaki, Ozaki, & Abe, 2011). Studier som undersøker effekten av detrening på retrening har typisk en detreningperiode av kortere varighet, det kan derfor tenkes at videre forskning på *muskelhukommelse* bør vurdere detreningperioder opptil et år (Correa et al., 2016).

Etter 3 uker med trening var muskelstyrken gjenoppnådd for TR. Dette samsvarer med andre studier som ser at muskelstyrken blir gjenoppnådd tidligere enn først oppnådd (Staron et al., 1991; Taaffe & Marcus, 1997). Derimot kan det tenkes at muskelstyrken ble gjenoppnådd så hurtig, fordi muskelstyrken ikke gikk helt tilbake til pretreningsverdiene fra første treningsperiode.

Dermed fant vi ingen tilsynelatende *hukommelseeffekt* på muskelstyrken i denne studien, ettersom muskelstyrken i TR fortsatt var høyere enn pretreningsverdiene

fra første treningsperiode etter detrening, den tidligere utrente kontrollarmen økte betydelig mer i muskelstyrken enn TR i andre treningsperiode, og at muskelstyrkeforskjellen i armene jevnet seg ut i andre treningsperiode. Dette samsvarer med den nevnte studien til Psilander et al. (2019), hvor de heller ikke fant en *hukommelseeffekt* i muskelstyrke i retreningsperioden på beina. Endring i maksimal muskelstyrke er derimot komplekst, og det kan tenkes at det er vanskelig å undersøke *muskelhukommelseeffekten* av muskelstyrke ved retrening med en unilateral treningsprotokoll uavhengig av de nevralt tilpasningene. I tillegg kan vi ikke utelukke at endringene vi så i muskelstyrke kan være påvirket av lengdeendringer i muskelen.

5.3 Muskelfiberarealet viser ingen tilsynelatende hukommelseeffekt.

Styrketrening resulterer normalt i en økning av både muskelstyrke og muskelmasse (Aagaard et al., 2001; Abe et al., 2000; Colliander & Tesch, 1990; Farthing & Chilibeck, 2003; Higbie, Cureton, Warren III, & Prior, 1996; Moritani, 1979; Seynnes et al., 2007; Staron et al., 1994). Våre funn støtter den tradisjonelle tanken om at økning i muskelstyrke overgår økningen i muskelvekst. På bakgrunn av at vi ikke registrerte en økning av muskelfiberareal gjennom første treningsperiode for noen av fibertypene, tross betydelig økning i muskelstyrke. Hoveddelen av økningen i muskelstyrke, kan derfor muligens tilskrives nevralt adaptasjoner (Moritani, 1979; Seynnes et al., 2007). Tidligere studier som har undersøkt tidsforløpet til nevralt adaptasjoner sammenlignet med hypertrofi, har foreslått at hypertrofi er fraværende i den tidlige treningsfasen og at økningen i muskelstyrke øker hurtig uten morfologiske adaptasjoner (Abe et al., 2000; Ikai & Fukunaga, 1970; Moritani, 1979; Narici, Roi, Landoni, Minetti, & Cerretelli, 1989). Selv om hypertrofi potensielt kan bidra til økt muskelstyrke tidlig i en treningsintervensjon (Seynnes et al., 2007), taler likevel bevisbyrden for at en rekke nevralt tilpasninger er ansvarlig for tidlig styrkefremgang. Økningen i styrke overgår nesten alltid endringer i muskelstørrelse (Akima et al., 1999; Carolan & Cafarelli, 1992; Enoka, 1997; Narici et al., 1989; Ploutz, Tesch, Biro, & Dudley, 1994; Rabita, Pérot, & Linsel-Corbeil, 2000; Reeves, Maganaris, & Narici, 2005; Rutherford, Purcell, & Newham, 2001; Sale, 1988), og involverer trolig de nevralt adaptasjonene beskrevet bedre enn nevnt i kapittel 5.2 *Muskelstyrken viser ingen tilsynelatende hukommelseeffekt*. Likevel er sammenhengen mellom økning i muskelstyrke og

muskelfiberareal også avhengig av hvordan man tester muskelstyrke.

Muskelstyrketester som generelt stiller mindre krav til teknikk og stabilisering (slik som testing av isometrisks muskelstyrke), er vist å kunne være nærmere relatert til endringer i muskelgruppens tverrsnittsareal, enn målte endringer i 1RM (Rønnestad, Egeland, Kvamme, & Refsnes, 2007). I tillegg kan økningen vi registrert i muskelstyrke som diskutert under kapittel 5.2 *Muskelstyrken viser ingen tilsynelatende hukommelseffekt* muligens også være relatert til lengdeendringer i muskelen.

Detrening på 16 uker resulterte som forventet i atrofi, ettersom inaktivitet og/eller redusert aktivitetsnivå er forbundet med tap av muskelmasse (Jackman & Kandarian, 2004). Lavere hypertrofi enn forventet i første treningsperiode kan trolig ha bidratt til at muskelfiberarealet ved starten av andre treningsperiode var redusert, og ikke var forskjellig fra studiestart. Selv om muskelfiberarealet ble redusert tilbake til utgangspunktet uten tilhørende reduksjon i antall av myokjerner, gjør fiberstørrelseresponsen i begge intervensjonsperiodene det vanskelig å virkelig testen antagelsen om en mulig muskulær hukommelsesmekanisme på muskelfiberarealet. En potensiell *hukommelseffekt* på muskelfiberarealet ville muligens resultert i økt hypertrofi i andre treningsperiode i forhold til første treningsperiode for TR, til tross for dette observerte vi ikke den hypertrofien vi forventet basert på Bamman et al. (2007). Ingen av fibertypene for kontrollarmen i andre treningsperiode nådde forventet respons i tverrsnittsarealet (moderat økning på ca. 20%, +1000 μm^2). Selv om TR økte fiberarealet noe mer enn kontrollarmen i andre treningsperiode, så nådde heller ikke TR forventet respons i tverrsnittsarealet i denne perioden (ekstrem økning på +40%, +2000 μm^2). Dette kan muligens tyde på at økningen vi registrerte i antall myokjerner ikke bidro til større hypertrofi i andre treningsperiode.

Ulike individer har vist å kunne respondere svært ulikt på styrketrening, og man skiller gjerne individer etter om de viser ingen, lav eller høy respons til styrketrening (Bamman et al., 2007; Bouchard, Rankinen, & Timmons, 2011; Hubal et al., 2005; Thalacker-Mercer, Stec, Cui, Cross, Windham, & Bamman, 2013; Vellers, Kleeberger, & Lightfoot, 2018). Det relativt store standardavviket vi ser ved endring av fiberstørrelse i denne studien, kan potensielt være med på å forklare våre funn. Hypertrofi er rapportert å kunne variere fra en 40% økning til en 5% reduksjon mellom individer (Hubal et al., 2005). Det er usikkert hva som er de underliggende årsakene for

den høye variasjonen, men det kan tenkes at individer med allerede store myofibre og/eller en stor andel type I-fibre responderte mindre på styrketreningen (Bamman et al., 2007; Snijders et al., 2016). Det har blitt foreslått at det er et genetisk komponent til individers fibertypesammensetning (Druzhevskaya, Ahmetov, Astratenkova, & Rogozkin, 2008; Ma, Yang, Li, Zhou, Gao, Li, & Gao, 2013; Moran et al., 2007; Niemi & Majamaa, 2005; Papadimitriou, Papadopoulos, Kouvatsi, & Triantaphyllidis, 2008; Roth, Walsh, Liu, Metter, Ferrucci, & Hurley, 2008; Yang, MacArthur, Gulbin, Hahn, Beggs, Easteal, & North, 2003). Det er bl.a. vist at om et individ har en større andel av type I-fibre i en muskel, så er dette også tilfelle for andre muskler (Vikne, Gundersen, Liestøl, Mælen, & Vøllestad, 2012). Våre data viser derimot en overflod av type II-fibre uten store individuelle variasjoner, og fibertypesammensetningen vi registrert støtter antagelsen om at *m. biceps brachii* generelt inneholder en større andel type II-fibre (Dahmane, Djordjević, Šimunič, & Valenčič, 2005; Jennekens, Tomlinson, & Walton, 1971; Johnson, Polgar, Weightman, & Appleton, 1973; MacDougall, Sale, Alway, & Sutton, 1984; Nygaard & Sanchez, 1982; Srinivasan, Lungren, Langenderfer, & Hughes, 2007). Likevel bør ikke resultatene våre være påvirket i stor grad av antall type I-fibre, ettersom vi skiller myofibrenes respons basert på fibertype. Selv om utrente viser hypertrofi av både type I og type II-fibre (Aagaard et al., 2001; Andersen et al., 2005b; Charette, McEvoy, Pyka, Snow-Harter, Guido, Wiswell, & Marcus, 1991; Churchward-Venne, Tieland, Verdijk, Leenders, Dirks, de Groot, & Van Loon, 2015; Coyle, Feiring, Rotkis, Cote 3rd, Roby, Lee, & Wilmore, 1981; Kosek, Kim, Petrella, Cross, & Bamman, 2006; Mitchell, Churchward-Venne, West, Burd, Breen, Baker, & Phillips, 2012), kan type II-fibrenes tendens til økning i tvernsnittareal i andre treningsperiode muligens forklares med at type II-fibre som nevnt viser økt hypertrofisk evne i respons til styrketrening (Campos et al., 2002; Deschenes & Kraemer, 2002; Fry, 2004). Hypertrofi av primært type II-fibre kan likevel potensielt være et resultat av typen styrketrening som gjennomføres i typiske studier som undersøker endring i fiberareal ved styrketrening (Ogborn & Schoenfeld, 2014). Det er derfor ikke utenkelig at hypertrofien vi registrert i type II-fibre til en viss grad kan være et resultat av at vi benyttet en høy relativ treningsmotstand (Fry, 2004), ettersom høy relativ motstand er tenkt til å sikre rekruttering av alle de motoriske enheten (Ogborn & Schoenfeld, 2014).

Det er også foreslått at forskjellen mellom de som responderer med *lite* eller *mye* hypertrofi ved styrketrening kan ligge i graden av addering av myokjerner (Petrella et al., 2006; Petrella et al., 2008). Likevel er dette usikkert ettersom det også er tenkt at addering av myokjerner ikke har en klar sammenheng med muskelfiber hypertrofi (Bruusgaard, Liestøl, & Gundersen, 2006; Mobley et al., 2018; Wada et al., 2003). Dette samsvarer med at vi så en betydelig økning i antall myokjerner tross ingen signifikant muskelvekst, og som diskutert i kapittel 5.1 *Myokjernene taler for en cellulær hukommelsesmekanisme* støtter våre funn antagelsen om at addering av myokjerner er nødvendig (Allen et al., 1995; Kadi & Thornell, 2000b; Leenders et al., 2012; Olsen et al., 2006; Petrella et al., 2006), og kan skje før betydelig økning i muskelfiberareal (Aloisi et al., 1973; Bruusgaard et al., 2010; Hanssen et al., 2013). Samt at hypertrofi kan oppstå ved retrening uten nevneverdig rekrutering av myokjerner, ettersom cellekjernene allerede er der (Gundersen, 2016).

Hubal et al. (2005) klassifiserte individer som økte mindre en 5% i muskelfibersareal etter 12 uker med styrketrening som *ikke-responsive* til styrketrening. Imidlertid er det omdiskutert om man kan klassifisere individer som *ikke-responsive* til styrketrening, på bakgrunn av at man ikke vet om de potensielt bare har en forsinket respons (Álvarez, Ramírez-Campillo, Ramírez-Vélez, & Izquierdo, 2017; Barbalho, Gentil, Izquierdo, Fisher, Steele, & de Azevedo Raiol, 2017; Churchward-Venne et al., 2015). Manglende respons er derfor tenkt å primært være et resultat av manglende individuell tilpasning og utilstrekkelig stimuli fra hvordan treningsprogrammet under intervensjonen var bygd opp (Pickering & Kiely, 2019). Churchward-Venne et al. (2015) rapporterte at jo lengre styrketreningsintervensjonen varte, jo færre ble kategorisert som *ikke-responsive* til treningen. Etter 24 uker hadde alle forsøkspersonene respondert positivt på enkelte av de målte parameterne. Det er derfor ikke utenkelig at studiens treningsintervensjoner var av for kort varighet til å registrere markant hypertrofi ved tradisjonell styrketrening, iallfall for enkelte individer. Imidlertid er det som nevnt under kapittel 2.3 *Fordelene av en tidligere storhetstid* tidligere vist manglende muskelvekst etter styrketrening med en betydelig lengre varighet på både trening- og detreningsperioden (Taaffe et al., 2009). Antall som kategoriseres som *ikke-responsive* ser også ut til å bli redusert ved økende treningsvolum (Montero & Lundby, 2017; Sisson, Katzmarzyk, Earnest, Bouchard,

Blair, & Church, 2009). Med tanke på at det tilsynelatende kan se ut til å være et *dose-responsforhold* mellom treningsvolum og hypertrofi (iallfall opp til et visst punkt) (Schoenfeld et al., 2017), kan det også tenkes at treningsvolumet i studien vår var for lavt til å fremme betydelig muskelvekst (Booth & Laye, 2010). Spesielt med tanke på det lave treningsvolumet i starten av hver treningsperiode i kombinasjon med ingen serier til utmattelse, siden Wernbom et al. (2007) registrerte i en metaanalyse at 4-6 serier per treningsøkt og trening 4 ganger i uken ser ut til å fremme mest muskelvekst per dag ved trening av *m. biceps brachii*. Dette foreslår at så lenge restitusjonen er tilstrekkelig nok til å unngå overtrening, ville flere serier per treningsøkt i starten av treningsperiodene og flere treningsøkter per uke gjennom hele treningsperioden kunne ha bidratt til å øke det totale ukentlige treningsvolumet og resultert i en høyere grad av hypertrofi.

Vevsprøvene har også den svakheten at de er tatt av en liten del av muskelen, og man vet derfor ikke om vevsprøven er representativt for hele muskelen. På grunn av den store variasjonen i muskelfiberareal innad i en muskel, er en enkelt biopsi tenk å bare gi et moderat estimat av muskelfiberarealet for hele muskelbuen hos mennesker (Lexell & Taylor, 1989). Vevsprøven kan derfor gi falske høye eller lave verdier. Innsamling av mer enn én biopsi fra samme muskel har vist å kunne representere hele muskelbuen i større grad enn å analysere et større antall fibre fra samme vevsprøve (Lexell, Taylor, & Sjøstrom, 1985). Vevsprøver fra en enkelt del og dybde i muskelen, kan også bestå av muskelfibre med en spesifikk fiberstørrelse og fibertypesammensetning (Lexell et al., 1985). Med tanke på det allerede store antall av vevsprøver og av etiske hensyn, ble det likevel bare tatt to vevsprøver (sammensatt til en prøve) fra samme *åpning* i muskelen ved hvert tidspunkt.

Det kan tenkes at manglende hypertrofi kan være et resultat av metodens *sensitivitet* for å registrere hypertrofi (Seynnes et al., 2007). På bakgrunn av at de molekylære og cellulære responsene til styrketrening har vist å kunne oppstå innen timer etter trening (Bickel, Slade, Mahoney, Haddad, Dudley, & Adams, 2005), og at hypertrofi som nevnt har blitt registrert å kunne oppstå svært tidlig i treningsintervensjonen (Seynnes et al., 2007; Woolstenhulme, Conlee, Drummond, Stites, & Parcell, 2006). Proteinsyntesen virker å være på sitt høyeste 24 timer etter trening, og syntesehastigheten er vist å kunne holde seg over normalverdier i to dager

etter trening (Phillips et al., 1997). Det skulle tilsi at mulighet for hypertrofi kan påvirkes allerede fra første treningsøkt, men at vi ikke klarer å måle endringer i fiberareal før vi får en akkumulert effekt av flere treningsøkter. I tillegg vil studiens lave antall av forsøkspersoner potensielt ha påvirket endringene vi så i muskelfiberarealet, ettersom vi beregnet at vi trengte å rekruttere 30 forsøkspersoner for å potensielt registrere markante endringer. En økning i fiberareal for type II-fibre på ca. 30% i begge treningsperioder er tross ikke signifikant i vår studie, fortsatt en relativt god økning i fiberareal sammenlignet med det Wernbom et al. (2007) registrerte for studier på trening av *m. biceps brachii* i sin metaanalyse. Det kan derfor tenkes at endringene vi registrerte i fiberareal ville vært av statistisk signifikans i en av eller begge treningsperiodene med et tilstrekkelig antall forsøkspersoner.

Oppsummert fant vi ingen tilsynelatende *hukommelseeffekt* på muskelfiberareal i denne studien, ettersom muskelfiberarealet ikke økte signifikant i noen av treningsperiodene. Dette samsvarer med den nevnte studien til Psilander et al. (2019), hvor de heller ikke fant en *hukommelseeffekt* i muskelfiberareal i retrainingsperioden på beina. Studiens lave antall av forsøkspersoner og den lave statistiske styrken gjorde det vanskelig å finne reelle effekter på fiberarealet i vår studie. Likevel taler våre funn for at myokjerner ikke går tapt under atrofi, da muskelfiberarealet ble redusert tilbake til utgangspunktet uten tilhørende reduksjon i antall av myokjerner.

5.4 Metodiske betraktninger. Vår studie benyttet en unilateral treningsmetode med internkonroll. Ettersom det er tenkt at mindre variasjon oppstår innad hos samme person enn mellom individer ved trening, er denne metoden videre tenkt til å føre til mindre variasjon i analysene på muskelfibernivå (Wilkinson, Tarnopolsky, Grant, Correia, & Phillips, 2006). Å sammenligne endringer mellom et trent og et utrent lem innad hos samme forsøksperson kan likevel fortsatt forårsake flere utfordringer, slik som den nevnte *krysslæringseffekt* (Munn et al., 2004). En utfordring er å ta høyde for at den utrente armen også muligens kan bli utsatt for de samme ulike systemiske påvirkningene som armen som trener, slik som ulike hormoner (Bonaldo & Sandri, 2013). Selv om det virker å være relativt usikkert i hvor stor grad systemiske hormoner påvirker kontralaterale adaptasjoner (Carroll et al., 2006). En annen begrensning i de

fleste unilaterale treningsstudier, er mangelen på kontroll over potensiell påvirkning av treningsmiljø på den kontralaterale styrken. Kontrollgrupper blir normalt ikke utsatt for andre forsøkspersoners trening, da de typisk ikke er delaktige under treningene.

Forsøkspersoner som er vitne til hvordan andre utfører en oppgave, kan potensielt bli påvirket av observasjonen (Hebert & Landin, 1994). Derimot kan man konstant bli påvirket av sin egen unilaterale prestasjon ved internkontroll (Munn, Herbert, Hancock, & Gandevia, 2005). Med dette designet kommer trolig den økte muskelstyrken i kontrollarmen av nevralt tilpasninger og tilvenning til testprosedyren, siden gjentatte testforsøk kan forbedre prestasjonen når forsøkspersonene blir vant til testene (Gleeson & Mercer, 1996). En annen måte å undersøke kontralateral påvirkning på styrke er å randomisere forsøkspersonene i to grupper (en som trener og en som ikke trener) (eksternkontroll), og sammenligne økningen i muskelstyrke mellom gruppene (Munn et al., 2004). Randomisering reduserer potensialet for bias, slik at man unngår systematiske forskjeller mellom gruppene (Altman, 1991). På grunn av potensialet for en kontralateral treningseffekt, vil derfor manglende kontrollgruppe være en potensiell svakhet ved denne studien.

Som nevnt nådde vi ikke ønsket antall forsøkspersoner utfra våre styrkeberegninger. Av utfordringer med å rekruttere deltagere, logistiske årsaker og tidsbegrensninger hadde vi dessverre ikke mulighet til å inkludere flere deltagere. Tre av forsøkspersonene gav av ulike årsaker utenfor vår kontroll (frykt for inngrepet og frafall) ikke fullverdige data, noe som ytterligere reduserer studiens statistiske styrke. Fra første treningsperiode var det bare en forsøksperson som ikke gav analyserbare biopsier, mens fra andre treningsperiode var det totalt tre forsøkspersoner som ikke gav analyserbare biopsier. Ettersom antall biopsier før og etter intervensjonene var lavt, øker sannsynligheten for type II-feil. I tillegg var det samme personellet med på å samle inn, analysere og kvantifisere dataene. Dette kan bevisst eller ubevisst ha påvirket dataene underveis. Å benytte en ekstra person eller to andre personer til å telle snittene ville økt den metodiske styrken. Imidlertid ble de ulike prosessene regelmessig kontrollert av prosjektets mer erfarne overordnede, for å øke den metodiske styrken.

Bare en håndfull av studier undersøker effekten av trening på detrening og retrening, og de fleste av de undersøker ikke endring i antall myokjerner. De fleste studiene som undersøker om den cellulære mekanismen bak en mulig muskulær

hukommelsesmekanisme er relatert til antall av myokjerner, er gjennomført på dyr. Motstandstrening er vist å forårsake mange av de samme muskulære adaptasjonene hos gnagere som hos mennesker (Philippe, Py, Favier, Sanchez, Bonnieu, Busso, & Candau, 2015), man kan likevel alltid stille seg spørsmål bak overføringsverdien dyrestudier har på mennesker. Å undersøke en mulig cellulær hukommelsesmekanisme hos mennesker virker likevel å være mer komplekst enn hos dyr. Siden det kan være vanskeligere å rekruttere tilfredsstillende og tilstrekkelig antall forsøkspersoner, samt kontrollere ulike variabler som kan påvirke resultatene hos studier på mennesker. Disse faktorene inkluderer kosthold, stress, hvile, søvn, genetikk, tidligere treningshistorikk, aktivitetsnivå under intervensjonene, anstrengelsesgraden under trening, antall av gjennomførte treningsøkter, og frafall fra studien.

All trening og testing ble gjennomført ved Norges idrettshøgskole, hvor vi benyttet det samme test- og treningsutstyret ved hver test og trening. Dette i tillegg til at det samme personellet stod for all testing og trening, økte reliabiliteten til studien. Dermed unngikk vi feiltolkninger av data, eller ulike prosedyrer ved testing og trening. Reliabiliteten i studien styrkes også ytterligere ved at de immunhistokjemiske metodene er veletablerte og standardiserte metoder i våre laboratorier og Norges idrettshøgskole har lang erfaring med biopsitagning. Vi hadde til hensikt å undersøke effekten av tidligere trening på retrening innad hos samme person. Trening av kun en arm i første treningsperiode, gjorde at vi kunne undersøke og sammenligne to muskler med ulike treningserfaring fra samme person ved senere retrening. Validiteten til studien styrkes ytterligere ved at vevsprøvene vi samlet gav oss muligheten til å undersøke hovedvariabelen i studien vår (muskelfiberareal), og dermed også undersøke potensialet for en cellulær hukommelsesmekanisme ved trening, detrening og retrening hos mennesker. Vi benyttet også antistoff mot PCMI, ettersom PCMI er vist å være en valid markør mot myokjerner (Winje et al., 2018).

6. Konklusjon

Vi demonstrerte at antall myokjerner kan øke før betydelig økning av fiberstørrelse i første treningsperiode, og at antall myokjerner ble vedvart under atrofi i detreningsperioden. Grunnlaget for å studere en cellulær hukommelsesmekanisme var derfor tilstede i forkant av den andre treningsperioden. I den andre treningsperioden fortsatte antall myokjerner å øke igjen når musklene ble belastet tilstrekkelig igjen. Muskelstyrken viste imidlertid ingen *hukommelseeffekt*, ettersom muskelstyrken i TR fortsatt var høyere enn pretreningsverdiene fra første treningsperiode etter detrening, den tidligere utrente kontrollarmen økte betydelig mer i muskelstyrken enn TR i andre treningsperiode, og at muskelstyrkeforskjellen i armene jevnet seg ut i andre treningsperiode. Muskelfiberarealet viste heller ingen tilsynelatende hukommelseeffekt, ettersom muskelfiberarealet ikke økte betydelig i noen av treningsperiodene. Dermed kunne vi ikke bekrefte «muskelhukommelses-hypotesen» om at den trente armen ville få en større økning i muskelstyrke og muskelfiberareal i retreningsperioden i denne studien. Ulike metodiske betraktninger som den unilaterale treningsprotokollen, varigheten og treningsbelastningen i trening-, detrening- og retreningsperioden, samt typiske utfordringer ved å forske på mennesker sammenlignet med dyr kan ha vært med på å forklare stor variasjon i resultatene for og manglende *hukommelseeffekt* på muskelfiberareal og muskelstyrke. Videre gjør studiens lave antall deltagere og studiens lave statistisk styrke at vi må være forsiktige med å konkludere basert på de foreløpige dataene fra dette prosjektet. Studien vår gir likevel nyttig informasjon til hjelp for videre og nødvendig forskning på *muskelhukommelse* hos mennesker. Våre funn kan bl.a. være relevant for dopingrelatert muskelvekst innen idrett, og muskelsvinn som kan oppstå som følge av aldring, sykdom, redusert påvirkning av gravitasjonskreftene, og inaktivitet/ redusert aktivitetsnivå.

Referanser

- Aagaard, P., Andersen, J. L., Dyhre-Poulsen, P., Leffers, A. M., Wagner, A., Magnusson, S. P., . . . Simonsen, E. B. (2001). A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *The Journal of physiology*, 534(2), 613-623.
- Abe, T., DeHoyos, D. V., Pollock, M. L., & Garzarella, L. (2000). Time course for strength and muscle thickness changes following upper and lower body resistance training in men and women. *European journal of applied physiology*, 81(3), 174-180.
- ACSM. (2009). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(3), 687.
- Adams, G. R., & Bamman, M. M. (2012). Characterization and Regulation of Mechanical Loading-Induced Compensatory Muscle Hypertrophy. *Comprehensive Physiology*, 2(4), 2829-2870.
- Adams, G. R., Caiozzo, V. J., & Baldwin, K. M. (2003). Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models. *Journal of applied physiology*, 95(6), 2185-2201.
- Akima, H., Takahashi, H., Kuno, S., Masuda, K., Masuda, T., Shimojo, H., . . . Katsuta, S. (1999). Early phase adaptations of muscle use and strength to isokinetic training. *Medicine and science in sports and exercise*, 31(4), 588-594.
- Alegre, L. M., Jiménez, F., Gonzalo-Orden, J. M., Martín-Acero, R., & Aguado, X. (2006). Effects of dynamic resistance training on fascicle length and isometric strength. *Journal of sports sciences*, 24(05), 501-508.
- Allen, Monke, Talmadge, Roy, & Edgerton. (1995). Plasticity of myonuclear number in hypertrophied and atrophied mammalian skeletal muscle fibers. *Journal of applied physiology*, 78(5), 1969-1976.
- Allen, Roy, & Edgerton. (1999). Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. *Muscle & nerve*, 22(10), 1350-1360.
- Allen, D., Yasui, W., Tanaka, T., Ohira, Y., Nagaoka, S., Sekiguchi, C., . . . Edgerton, V. (1996). Myonuclear number and myosin heavy chain expression in rat soleus single muscle fibers after spaceflight. *Journal of applied physiology*, 81(1), 145-151.
- Allen, D. L., Linderman, J. K., Roy, R. R., Bigbee, A. J., Grindeland, R. E., Mukku, V., & Edgerton, V. (1997). Apoptosis: a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hindlimb unweighting. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 273(2), C579-C587.
- Aloisi, M., Mussini, I., & Schiaffino, S. (1973). Activation of muscle nuclei in denervation and hypertrophy. In *Basic research in myology* (Vol. 292, pp. 338-345): Excerpta Medica Amsterdam.
- Altman, D. G. (1991). Randomisation. *BMJ: British Medical Journal*, 302(6791), 1481.
- Álvarez, C., Ramírez-Campillo, R., Ramírez-Vélez, R., & Izquierdo, M. (2017). Effects and prevalence of nonresponders after 12 weeks of high-intensity interval or resistance training in women with insulin resistance: a randomized trial. *Journal of applied physiology*, 122(4), 985-996.

- Alway, S. E., Degens, H., Krishnamurthy, G., & Chaudhrai, A. (2003). Denervation stimulates apoptosis but not Id2 expression in hindlimb muscles of aged rats. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 58(8), B687-B697.
- Alway, S. E., Degens, H., Krishnamurthy, G., & Smith, C. A. (2002). Potential role for Id myogenic repressors in apoptosis and attenuation of hypertrophy in muscles of aged rats. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 283(1), C66-C76.
- Ambrus, J., Ambrus, C., Mink, I., & Pickren, J. (1975). Causes of death in cancer patients. *Journal of medicine*, 6(1), 61-64.
- Amundsen, L. R., Takahashi, M., Carter, C. L., & Nielsen, D. H. (1980). Exercise response during wall-pulley versus bicycle ergometer work. *Physical therapy*, 60(2), 173-178.
- Andersen, L. L., Andersen, J. L., Magnusson, S. P., & Aagaard, P. (2005a). Neuromuscular adaptations to detraining following resistance training in previously untrained subjects. *European journal of applied physiology*, 93(5-6), 511-518.
- Andersen, L. L., Tufekovic, G., Zebis, M. K., Crameri, R. M., Verlaan, G., Kjær, M., . . . Aagaard, P. (2005b). The effect of resistance training combined with timed ingestion of protein on muscle fiber size and muscle strength. *Metabolism*, 54(2), 151-156.
- Andreacci, J. L., Lemura, L. M., Cohen, S. L., Urbansky, E. A., Chelland, S. A., & Duvillard, S. P. v. (2002). The effects of frequency of encouragement on performance during maximal exercise testing. *Journal of sports sciences*, 20(4), 345-352.
- Antonio, J., & Gonyea, W. J. (1993). Skeletal muscle fiber hyperplasia. *Medicine and science in sports and exercise*, 25(12), 1333-1345.
- Bagley, J. R., McLeland, K. A., Arévalo, J., Brown, L. E., Coburn, J. W., & Galpin, A. J. (2017). Skeletal Muscle Fatigability and Myosin Heavy Chain Fiber Type in Resistance Trained Men. *Journal of strength and conditioning research: the research journal of the NSCA*, 31(3), 602-607.
- Balshaw, T. G., Massey, G. J., Maden-Wilkinson, T. M., Morales-Artacho, A. J., McKeown, A., Appleby, C. L., & Folland, J. P. (2017). Changes in agonist neural drive, hypertrophy and pre-training strength all contribute to the individual strength gains after resistance training. *European journal of applied physiology*, 117(4), 631-640.
- Bamman, M. M., Petrella, J. K., Kim, J.-s., Mayhew, D. L., & Cross, J. M. (2007). Cluster analysis tests the importance of myogenic gene expression during myofiber hypertrophy in humans. *Journal of applied physiology*, 102(6), 2232-2239.
- Barbalho, M. d. S. M., Gentil, P., Izquierdo, M., Fisher, J., Steele, J., & de Azevedo Raiol, R. (2017). There are no no-responders to low or high resistance training volumes among older women. *Experimental gerontology*, 99, 18-26.
- Barton-Davis, E., Shoturma, D., & Sweeney, H. (1999). Contribution of satellite cells to IGF-I induced hypertrophy of skeletal muscle. *Acta Physiologica Scandinavica*, 167(4), 301-305.
- Bawa, P. N., Jones, K. E., & Stein, R. B. (2014). Assessment of size ordered recruitment. *Frontiers in human neuroscience*, 8, 532.
- Bazgir, B., Fathi, R., Valojerdi, M. R., Mozdziak, P., & Asgari, A. (2017). Satellite cells contribution to exercise mediated muscle hypertrophy and repair. *Cell Journal (Yakhteh)*, 18(4), 473.

- Behm, D. G. (1995). Neuromuscular implications and applications of resistance training. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 9, 264-274.
- Berg, H., Dudley, G., Haggmark, T., Ohlsen, H., & Tesch, P. (1991). Effects of lower limb unloading on skeletal muscle mass and function in humans. *Journal of applied physiology*, 70(4), 1882-1885.
- Bickel, C. S., Slade, J., Mahoney, E., Haddad, F., Dudley, G. A., & Adams, G. R. (2005). Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. *Journal of applied physiology*, 98(2), 482-488.
- Blazevich, A. J., Gill, N. D., Bronks, R., & Newton, R. U. (2003). Training-specific muscle architecture adaptation after 5-wk training in athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35(12), 2013-2022.
- Blazevich, A. J., Gill, N. D., Deans, N., & Zhou, S. (2007). Lack of human muscle architectural adaptation after short-term strength training. *Muscle & nerve*, 35(1), 78-86.
- Blazevich, A. J., & Giorgi, A. (2001). Effect of testosterone administration and weight training on muscle architecture. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33(10), 1688-1693.
- Bogdanović, O., & Veenstra, G. J. C. (2009). DNA methylation and methyl-CpG binding proteins: developmental requirements and function. *Chromosoma*, 118(5), 549-565.
- Bonaldo, P., & Sandri, M. (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease models & mechanisms*, 6(1), 25-39.
- Booth, F., & Laye, M. (2010). The future: genes, physical activity and health. *Acta physiologica*, 199(4), 549-556.
- Borina, E., Pellegrino, M., D'antona, G., & Bottinelli, R. (2010). Myosin and actin content of human skeletal muscle fibers following 35 days bed rest. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 20(1), 65-73.
- Bouchard, C., Rankinen, T., & Timmons, J. A. (2011). Genomics and genetics in the biology of adaptation to exercise. *Comprehensive Physiology*, 1(3), 1603-1648.
- Brack, A. S., Bildsoe, H., & Hughes, S. M. (2005). Evidence that satellite cell decrement contributes to preferential decline in nuclear number from large fibres during murine age-related muscle atrophy. *Journal of cell science*, 118(20), 4813-4821.
- Brooks, N. E., & Myburgh, K. H. (2014). Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: the response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. *Frontiers in physiology*, 5, 99.
- Brown, A. B., McCartney, N., & Sale, D. (1990). Positive adaptations to weight-lifting training in the elderly. *Journal of applied physiology*, 69(5), 1725-1733.
- Brughelli, M., & Cronin, J. (2007). Altering the length-tension relationship with eccentric exercise. *Sports Medicine*, 37(9), 807-826.
- Bruusgaard, 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, & Gundersen. (2008). In vivo time-lapse microscopy reveals no loss of murine myonuclei during weeks of muscle atrophy. *The Journal of clinical investigation*, 118(4), 1450-1457.

- Bruusgaard, 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.
- Bruusgaard, Liestøl, K., Ekmark, M., Kollstad, K., & Gundersen, K. (2003). Number and spatial distribution of nuclei in the muscle fibres of normal mice studied in vivo. *The Journal of physiology*, *551*(2), 467-478.
- Bruusgaard, Liestøl, K., & Gundersen, K. (2006). Distribution of myonuclei and microtubules in live muscle fibers of young, middle-aged, and old mice. *Journal of applied physiology*, *100*(6), 2024-2030.
- Burd, N. A., West, D. W., Moore, D. R., Atherton, P. J., Staples, A. W., Prior, T., . . . Phillips, S. M. (2011). Enhanced amino acid sensitivity of myofibrillar protein synthesis persists for up to 24 h after resistance exercise in young men. *The Journal of nutrition*, *141*(4), 568-573.
- Burd, N. A., West, D. W., Staples, A. W., Atherton, P. J., Baker, J. M., Moore, D. R., . . . Baker, S. K. (2010). Low-load high volume resistance exercise stimulates muscle protein synthesis more than high-load low volume resistance exercise in young men. *PloS one*, *5*(8), e12033.
- Burgos, S., Dai, M., & Cant, J. (2010). Nutrient availability and lactogenic hormones regulate mammary protein synthesis through the mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Journal of Dairy Science*, *93*(1), 153-161.
- Cabric, M., Appell, H.-J., & Resic, A. (1987). Effects of electrical stimulation of different frequencies on the myonuclei and fiber size in human muscle. *International journal of sports medicine*, *8*(05), 323-326.
- Cabric, M., & James, N. (1983). Morphometric analyses on the muscles of exercise trained and untrained dogs. *American Journal of Anatomy*, *166*(3), 359-368.
- Campos, G. E., Luecke, T. J., Wendeln, H. K., Toma, K., Hagerman, F. C., Murray, T. F., . . . Staron, R. S. (2002). Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *European journal of applied physiology*, *88*(1-2), 50-60.
- Cannon, J., Kay, D., Tarpenning, K. M., & Marino, F. E. (2007). Comparative effects of resistance training on peak isometric torque, muscle hypertrophy, voluntary activation and surface EMG between young and elderly women. *Clinical physiology and functional imaging*, *27*(2), 91-100. doi:10.1111/j.1475-097X.2007.00719.x
- Carolan, B., & Cafarelli, E. (1992). Adaptations in coactivation after isometric resistance training. *Journal of applied physiology*, *73*(3), 911-917.
- Carroll, T. J., Herbert, R. D., Munn, J., Lee, M., & Gandevia, S. C. (2006). Contralateral effects of unilateral strength training: evidence and possible mechanisms. *Journal of applied physiology*, *101*(5), 1514-1522.
- Chakravarthy, M. V., Abraha, T. W., Schwartz, R. J., Fiorotto, M. L., & Booth, F. W. (2000). Insulin-like Growth Factor-I Extends in Vitro Replicative Life Span of Skeletal Muscle Satellite Cells by Enhancing G1/S Cell Cycle Progression via the Activation of Phosphatidylinositol 3'-Kinase/Akt Signaling Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(46), 35942-35952.

- Charette, S., McEvoy, L., Pyka, G., Snow-Harter, C., Guido, D., Wiswell, R., & Marcus, R. (1991). Muscle hypertrophy response to resistance training in older women. *Journal of applied physiology*, 70(5), 1912-1916.
- Cheek, D. B. (1985). The control of cell mass and replication. The DNA unit-a personal 20-year study. *Early human development*, 12(3), 211-239.
- 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.
- Chilibeck, P. D., Calder, A. W., Sale, D. G., & Webber, C. E. (1997). A comparison of strength and muscle mass increases during resistance training in young women. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 77(1-2), 170-175.
- Churchward-Venne, T. A., Tieland, M., Verdijk, L. B., Leenders, M., Dirks, M. L., de Groot, L. C., & Van Loon, L. J. (2015). There are no nonresponders to resistance-type exercise training in older men and women. *Journal of the American Medical Directors Association*, 16(5), 400-411.
- Clarkson, P. M., Nosaka, K., & Braun, B. (1992). Muscle function after exercise-induced muscle damage and rapid adaptation. *Medicine and science in sports and exercise*, 24(5), 512-520.
- Colliander, E., & Tesch, P. (1990). Effects of eccentric and concentric muscle actions in resistance training. *Acta Physiologica Scandinavica*, 140(1), 31-39.
- Conceição, Vechin, F., Lixandrão, M., Damas, F., Libardi, C., Tricoli, V., . . . Ugrinowitsch, C. (2018). Muscle Fiber Hypertrophy and Myonuclei Addition: A Systematic Review and Meta-analysis. *Medicine and science in sports and exercise*.
- Coolican, S. A., Samuel, D. S., Ewton, D. Z., McWade, F. J., & Florini, J. R. (1997). The mitogenic and myogenic actions of insulin-like growth factors utilize distinct signaling pathways. *Journal of Biological Chemistry*, 272(10), 6653-6662.
- 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.
- Correa, C. S., Cunha, G., Marques, N., Oliveira-Reischak, Ã., & Pinto, R. (2016). Effects of strength training, detraining and retraining in muscle strength, hypertrophy and functional tasks in older female adults. *Clinical physiology and functional imaging*, 36(4), 306-310.
- Counts, B. R., Buckner, S. L., Mouser, J. G., Dankel, S. J., Jessee, M. B., Mattocks, K. T., & Loenneke, J. P. (2017). Muscle growth: To infinity and beyond? *Muscle & nerve*, 56(6), 1022-1030.
- Coyle, E. F., Feiring, D., Rotkis, T., Cote 3rd, R., Roby, F., Lee, W., & Wilmore, J. (1981). Specificity of power improvements through slow and fast isokinetic training. *Journal of applied physiology*, 51(6), 1437-1442.
- Cureton, K. J., Collins, M. A., Hill, D. W., & McElhannon, J. F. (1988). Muscle hypertrophy in men and women. *Medicine and science in sports and exercise*, 20(4), 338-344.
- Dahmane, R., Djordjevič, S., Šimunič, B., & Valenčič, V. (2005). Spatial fiber type distribution in normal human muscle: histochemical and tensiomyographical evaluation. *Journal of biomechanics*, 38(12), 2451-2459.

- 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.
- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C., & Ugrinowitsch, C. (2015). A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Medicine*, *45*(6), 801-807.
- Damas, F., Phillips, S. M., Libardi, C. A., Vechin, F. C., Lixandrão, M. E., Jannig, P. R., . . . Parise, G. (2016). Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. *The Journal of physiology*, *594*(18), 5209-5222.
- Dankel, S. J., Counts, B. R., Barnett, B. E., Buckner, S. L., Abe, T., & Loenneke, J. P. (2017). Muscle adaptations following 21 consecutive days of strength test familiarization compared with traditional training. *Muscle & nerve*, *56*(2), 307-314.
- De Backer, I., Schep, G., Backx, F., Vreugdenhil, G., & Kuipers, H. (2009). Resistance training in cancer survivors: a systematic review. *International journal of sports medicine*, *30*(10), 703-712.
- de Castro Rodrigues, A., & Schmalbruch, H. (1995). Satellite cells and myonuclei in long-term denervated rat muscles. *The Anatomical Record*, *243*(4), 430-437.
- de Jong, S. N., van Caspel, D. R., van Haeff, M. J., & Saris, D. B. (2007). Functional assessment and muscle strength before and after reconstruction of chronic anterior cruciate ligament lesions. *Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic & Related Surgery*, *23*(1), 21. e21-21. e11.
- Deschenes, M. R., & Kraemer, W. J. (2002). Performance and physiologic adaptations to resistance training. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, *81*(11), S3-S16.
- Deutz, N. E., & Wolfe, R. R. (2013). Is there a maximal anabolic response to protein intake with a meal? *Clinical nutrition*, *32*(2), 309-313.
- Dias, R. M. R., Cyrino, E. S., Salvador, E. P., Caldeira, L. F. S., Nakamura, F. Y., Papst, R. R., . . . Gurjão, A. L. D. (2005). Influence of familiarization process on muscular strength assessment in 1-RM tests. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, *11*(1), 34-38.
- Ditmyer, M., Topp, R., & Pifer, M. (2002). Prehabilitation in preparation for orthopaedic surgery. *Orthopedic nursing*, *21*(5), 43.
- Druzhevskaya, A. M., Ahmetov, I. I., Astratenkova, I. V., & Rogozkin, V. A. (2008). Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. *European journal of applied physiology*, *103*(6), 631-634.
- Duddy, W. J., Cohen, T., Duguez, S., & Partridge, T. A. (2011). The isolated muscle fibre as a model of disuse atrophy: characterization using PhAct, a method to quantify f-actin. *Experimental cell research*, *317*(14), 1979-1993.
- Dungan, C. M., Murach, K. A., Frick, K. K., Jones, S. R., Crow, S. E., Englund, D. A., . . . Satin, J. (2019). Elevated Myonuclear Density During Skeletal Muscle Hypertrophy In Response to Training Is Reversed During Detraining. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*.

- Dutta, C., & Hadley, E. C. (1995). The significance of sarcopenia in old age. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 50(Special_Issue), 1-4.
- Edgerton, V., Zhou, M., Ohira, Y., Klitgaard, H., Jiang, B., Bell, G., . . . Roy, R. (1995). Human fiber size and enzymatic properties after 5 and 11 days of spaceflight. *Journal of applied physiology*, 78(5), 1733-1739.
- Edgerton, V. R., & Roy, R. R. (1996). Neuromuscular adaptations to actual and simulated spaceflight. *Handbook of physiology. Environmental physiology*, 1(chapt. 32), 721.
- Egner, I. M., Bruusgaard, J. C., Eftestøl, E., & Gundersen, K. (2013). A cellular memory mechanism aids overload hypertrophy in muscle long after an episodic exposure to anabolic steroids. *The Journal of physiology*, 591(24), 6221-6230.
- Egner, I. M., Bruusgaard, J. C., & Gundersen, K. (2016). Satellite cell depletion prevents fiber hypertrophy in skeletal muscle. *Development*, 143(16), 2898-2906.
- Eitzen, I., Holm, I., & Risberg, M. A. (2009). Preoperative quadriceps strength is a significant predictor of knee function two years after anterior cruciate ligament reconstruction. *British journal of sports medicine*, 43(5), 371-376.
- Eitzen, I., Moksnes, H., Snyder-Mackler, L., & Risberg, M. A. (2010). A progressive 5-week exercise therapy program leads to significant improvement in knee function early after anterior cruciate ligament injury. *journal of orthopaedic & sports physical therapy*, 40(11), 705-721.
- Ekblom, B. (2017). The muscle biopsy technique. Historical and methodological considerations. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 27(5), 458-461.
- Enoka, R. M. (1997). Neural adaptations with chronic physical activity. *Journal of biomechanics*, 30(5), 447-455.
- Evans, W. J. (2002). Effects of exercise on senescent muscle. *Clinical Orthopaedics and Related Research*®, 403, S211-S220.
- Farthing, J. P., Borowsky, R., Chilibeck, P. D., Binsted, G., & Sarty, G. E. (2007). Neurophysiological adaptations associated with cross-education of strength. *Brain topography*, 20(2), 77-88.
- Farthing, J. P., & Chilibeck, P. D. (2003). The effects of eccentric and concentric training at different velocities on muscle hypertrophy. *European journal of applied physiology*, 89(6), 578-586.
- Farthing, J. P., Chilibeck, P. D., & Binsted, G. (2005). Cross-education of arm muscular strength is unidirectional in right-handed individuals. *Medicine and science in sports and exercise*, 37(9), 1594-1600.
- Fearon, K. (2008). Cancer cachexia: developing multimodal therapy for a multidimensional problem. *European journal of cancer*, 44(8), 1124-1132.
- Ferreira, R., Neuparth, M. J., Ascensão, A., Magalhães, J., Vitorino, R., Duarte, J. A., & Amado, F. (2006). Skeletal muscle atrophy increases cell proliferation in mice gastrocnemius during the first week of hindlimb suspension. *European journal of applied physiology*, 97(3), 340-346.

- Fiatarone, M., Marks, E., Ryan, N., Meredith, C., Lipsitz, L., & Evans, W. (1990). High-intensity strength training in nonagenarians. Effects on skeletal muscle. *JAMA*, *263*(22), 3029-3034.
- Fisher, J., Steele, J., & Smith, D. (2013). EVIDENCE-BASED RESISTANCE TRAINING RECOMMENDATIONS FOR MUSCULAR HYPERTROPHY. *Medicina Sportiva*, *17*(4).
- Folland, J. P., Irish, C., Roberts, J., Tarr, J., & Jones, D. A. (2002). Fatigue is not a necessary stimulus for strength gains during resistance training. *British journal of sports medicine*, *36*(5), 370-373.
- Fonseca, R. M., Roschel, H., Tricoli, V., de Souza, E. O., Wilson, J. M., Laurentino, G. C., . . . Ugrinowitsch, C. (2014). Changes in exercises are more effective than in loading schemes to improve muscle strength. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *28*(11), 3085-3092.
- Frontera, W. R., Hughes, V. A., Lutz, K. J., & Evans, W. J. (1991). A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45-to 78-yr-old men and women. *Journal of applied physiology*, *71*(2), 644-650.
- Frontera, W. R., & Ochala, J. (2015). Skeletal muscle: a brief review of structure and function. *Calcified tissue international*, *96*(3), 183-195.
- Fry, A. C. (2004). The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports Medicine*, *34*(10), 663-679.
- Fry, C. S., Noehren, B., Mula, J., Ubele, M. F., Westgate, P. M., Kern, P. A., & Peterson, C. A. (2014). Fibre type-specific satellite cell response to aerobic training in sedentary adults. *The Journal of physiology*, *592*(12), 2625-2635.
- Fujimaki, S., Machida, M., Hidaka, R., Asashima, M., Takemasa, T., & Kuwabara, T. (2013). Intrinsic ability of adult stem cell in skeletal muscle: an effective and replenishable resource to the establishment of pluripotent stem cells. *Stem cells international*, *2013*.
- Gallagher, P., Trappe, S., Harber, M., Creer, A., Mazzetti, S., Trappe, T., . . . Tesch, P. (2005). Effects of 84-days of bedrest and resistance training on single muscle fibre myosin heavy chain distribution in human vastus lateralis and soleus muscles. *Acta Physiologica Scandinavica*, *185*(1), 61-69.
- Garrity, M. M., Burgart, L. J., Riehle, D. L., Hill, E. M., Sebo, T. J., & Witzig, T. (2003). Identifying and quantifying apoptosis: navigating technical pitfalls. *Modern pathology*, *16*(4), 389.
- Gleeson, N., & Mercer, T. (1996). The utility of isokinetic dynamometry in the assessment of human muscle function. *Sports Medicine*, *21*(1), 18-34.
- Goh, Q., Song, T., Petrany, M. J., Cramer, A. A., Sun, C., Sadayappan, S., . . . Millay, D. P. (2019). Myonuclear accretion is a determinant of exercise-induced remodeling in skeletal muscle. *Elife*, *8*, e44876.
- Goldspink, G. (2002). Gene expression in skeletal muscle. *BIOCHEMICAL SOCIETY TRANSACTIONS*, *30*, 285-290.
- Gordon, A., Huxley, A. F., & Julian, F. (1966). The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibres. *The Journal of physiology*, *184*(1), 170-192.

- Griffin, L., & Cafarelli, E. (2005). Resistance training: cortical, spinal, and motor unit adaptations. *Canadian journal of applied physiology*, 30(3), 328-340.
- Gundersen. (2011). Excitation-transcription coupling in skeletal muscle: the molecular pathways of exercise. *Biological Reviews*, 86(3), 564-600.
- Gundersen. (2016). Muscle memory and a new cellular model for muscle atrophy and hypertrophy. *The Journal of experimental biology*, 219(Pt 2), 235.
- Hackett, D. A., Johnson, N. A., Halaki, M., & Chow, C.-M. (2012). A novel scale to assess resistance-exercise effort. *Journal of sports sciences*, 30(13), 1405-1413.
- Haddad, F., Roy, R. R., Zhong, H., Edgerton, V., & Baldwin, K. M. (2003). Atrophy responses to muscle inactivity. II. Molecular markers of protein deficits. *Journal of applied physiology*, 95(2), 791-802.
- Hall, Z. W., & Ralston, E. (1989). Nuclear domains in muscle cells. *Cell*, 59(5), 771-772.
- Hanssen, K., Kvamme, N., Nilsen, T., Rønnestad, B., Ambjørnsen, I., Norheim, F., . . . Raastad, T. (2013). The effect of strength training volume on satellite cells, myogenic regulatory factors, and growth factors. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 23(6), 728-739.
- Hawke, T. J., & Garry, D. J. (2001). Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of applied physiology*, 91(2), 534-551.
- Hebert, E. P., & Landin, D. (1994). Effects of a learning model and augmented feedback on tennis skill acquisition. *Research quarterly for exercise and sport*, 65(3), 250-257.
- Hendy, A. M., & Lamon, S. (2017). The cross-education phenomenon: brain and beyond. *Frontiers in physiology*, 8, 297.
- Henneman, E. (1985). The size-principle: a deterministic output emerges from a set of probabilistic connections. *Journal of experimental biology*, 115(1), 105-112.
- Henneman, E., Somjen, G., & Carpenter, D. O. (1965). Functional significance of cell size in spinal motoneurons. *Journal of neurophysiology*, 28(3), 560-580.
- Herman-Montemayor, J. R., Hikida, R. S., & Staron, R. S. (2015). Early-phase satellite cell and myonuclear domain adaptations to slow-speed vs. traditional resistance training programs. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 29(11), 3105-3114.
- Higbie, E. J., Cureton, K. J., Warren III, G. L., & Prior, B. M. (1996). Effects of concentric and eccentric training on muscle strength, cross-sectional area, and neural activation. *Journal of applied physiology*, 81(5), 2173-2181.
- Hikida, R. S., van Nostran, S., Murray, J. D., Staron, R. S., Gordon, S. E., & Kraemer, W. J. (1997). Myonuclear loss in atrophied soleus muscle fibers. *The Anatomical Record*, 247(3), 350-354.
- Hill, M., & Goldspink, G. (2003). Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. *The Journal of physiology*, 549(2), 409-418.
- Holm, L., van Hall, G., Rose, A. J., Miller, B. F., Doessing, S., Richter, E. A., & Kjaer, M. (2009). Contraction intensity and feeding affect collagen and myofibrillar protein synthesis rates differently in human skeletal muscle. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 298(2), E257-E269.

- Hoppeler, H., Lüthi, P., Claassen, H., Weibel, E., & Howald, H. (1973). Ultrastructure of normal human skeletal muscle; a morphometric analysis in controls and men trained in long-distance running. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie*, 354(3), 229.
- Hornberger, T. A., & Chien, S. (2006). Mechanical stimuli and nutrients regulate rapamycin-sensitive signaling through distinct mechanisms in skeletal muscle. *Journal of cellular biochemistry*, 97(6), 1207-1216.
- Houston, M., Froese, E., St P, V., Green, H., & Ranney, D. (1983). Muscle performance, morphology and metabolic capacity during strength training and detraining: a one leg model. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 51(1), 25-35.
- Hubal, M. J., Gordish-Dressman, H., Thompson, P. D., Price, T. B., Hoffman, E. P., Angelopoulos, T. J., . . . Visich, P. S. (2005). Variability in muscle size and strength gain after unilateral resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37(6), 964-972.
- Hughes, S., & Schiaffino, S. (1999). Control of muscle fibre size: a crucial factor in ageing. *Acta Physiologica Scandinavica*, 167(4), 307-312.
- Huxley, H. (1958). The contraction of muscle. *Scientific American*, 199(5), 66-86.
- Huxley, H. E. (1969). The mechanism of muscular contraction. *Science*, 164(3886), 1356-1366.
- Häkkinen, K., Alen, M., Kallinen, M., Newton, R., & Kraemer, W. (2000). Neuromuscular adaptation during prolonged strength training, detraining and re-strength-training in middle-aged and elderly people. *European journal of applied physiology*, 83(1), 51-62.
- Ikai, M., & Fukunaga, T. (1970). A study on training effect on strength per unit cross-sectional area of muscle by means of ultrasonic measurement. *Internationale Zeitschrift für Angewandte Physiologie Einschliesslich Arbeitsphysiologie*, 28(3), 173-180.
- Ingersoll, C. D., Grindstaff, T. L., Pietrosimone, B. G., & Hart, J. M. (2008). Neuromuscular consequences of anterior cruciate ligament injury. *Clinics in sports medicine*, 27(3), 383-404.
- Ishido, M., Kami, K., & Masuhara, M. (2004). Localization of MyoD, myogenin and cell cycle regulatory factors in hypertrophying rat skeletal muscles. *Acta Physiologica Scandinavica*, 180(3), 281-289.
- Jackman, R. W., & Kandarian, S. C. (2004). The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 287(4), C834-C843.
- Jackson, J. R., Mula, J., Kirby, T. J., Fry, C. S., Lee, J. D., Ubele, M. F., . . . Dupont-Versteegden, E. E. (2012). Satellite cell depletion does not inhibit adult skeletal muscle regrowth following unloading-induced atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 303(8), C854-C861.
- Jagoe, R. T., Lecker, S. H., Gomes, M., & Goldberg, A. L. (2002). Patterns of gene expression in atrophying skeletal muscles: response to food deprivation. *The FASEB Journal*, 16(13), 1697-1712.
- Jennekens, F., Tomlinson, B., & Walton, J. (1971). Data on the distribution of fibre types in five human limb muscles An autopsy study. *Journal of the neurological sciences*, 14(3), 245-257.

- Johnson, M. A., Polgar, J., Weightman, D., & Appleton, D. (1973). Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles: an autopsy study. *Journal of the neurological sciences*, 18(1), 111-129.
- Jones, D., & Rutherford, O. (1987). Human muscle strength training: the effects of three different regimens and the nature of the resultant changes. *The Journal of physiology*, 391(1), 1-11.
- Kadi, F., Bonnerud, P., Eriksson, A., & Thornell, L.-E. (2000a). The expression of androgen receptors in human neck and limb muscles: effects of training and self-administration of androgenic-anabolic steroids. *Histochemistry and cell biology*, 113(1), 25-29.
- 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., Eriksson, A., Holmner, S., Butler-Browne, G. S., & Thornell, L.-E. (1999). Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochemistry and cell biology*, 111(3), 189-195.
- Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, L. L., Charifi, N., Madsen, J. L., Christensen, L. R., & Andersen, J. L. (2004). 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. (2000b). Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. *Histochemistry and cell biology*, 113(2), 99-103.
- Katz, B. (1961). The termination of the afferent nerve fibre in the muscle spindle of the frog. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 243(703), 221-240.
- Keays, S., Bullock-Saxton, J., Newcombe, P., & Keays, A. (2003). The relationship between knee strength and functional stability before and after anterior cruciate ligament reconstruction. *Journal of Orthopaedic Research*, 21(2), 231-237.
- Kirby, T. J., Patel, R. M., McClintock, T. S., Dupont-Versteegden, E. E., Peterson, C. A., & McCarthy, J. J. (2016). Myonuclear transcription is responsive to mechanical load and DNA content but uncoupled from cell size during hypertrophy. *Molecular biology of the cell*, 27(5), 788-798.
- Kosek, D. J., Kim, J.-s., Petrella, J. K., Cross, J. M., & Bamman, M. M. (2006). Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. *Journal of applied physiology*, 101(2), 531-544.
- Kraemer, W. J., Adams, K., Cafarelli, E., Dudley, G. A., Dooly, C., Feigenbaum, M. S., . . . Hoffman, J. R. (2002). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine and science in sports and exercise*, 34(2), 364-380.
- Kraemer, W. J., & Ratamess, N. A. (2004). Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Medicine and science in sports and exercise*, 36(4), 674-688.
- Krieger, J. W. (2009). Single versus multiple sets of resistance exercise: a meta-regression. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 23(6), 1890-1901.
- Kvorning, T., Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, M., Brixen, K., Suetta, C., & Madsen, K. (2015). The activity of satellite cells and myonuclei following 8 weeks of strength

- training in young men with suppressed testosterone levels. *Acta physiologica*, 213(3), 676-687.
- Lambertz, D., Pérot, C., Kaspranski, R., & Goubel, F. (2001). Effects of long-term spaceflight on mechanical properties of muscles in humans. *Journal of applied physiology*, 90(1), 179-188.
- LeBlanc, A., Gogia, P., Schneider, V., Krebs, J., Schonfeld, E., & Evans, H. (1988). Calf muscle area and strength changes after five weeks of horizontal bed rest. *The American Journal of Sports Medicine*, 16(6), 624-629.
- Lee, H., Kim, K., Kim, B., Shin, J., Rajan, S., Wu, J., . . . Park, J. Y. (2018). A cellular mechanism of muscle memory facilitates mitochondrial remodelling following resistance training. *The Journal of physiology*, 596(18), 4413-4426.
- Lee, M., & Carroll, T. (2007). Cross education: possible mechanisms for the contralateral effects of unilateral resistance training. *Sports medicine (Auckland, NZ)*, 37(1), 1-14.
- Leenders, M., Verdijk, L. B., van der Hoeven, L., Van Kranenburg, J., Nilwik, R., & van Loon, L. J. (2012). Elderly men and women benefit equally from prolonged resistance-type exercise training. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 68(7), 769-779.
- Lexell, J., Downham, D., Larsson, Y., Bruhn, E., & Morsing, B. (1995). Heavy-resistance training in older Scandinavian men and women: short-and long-term effects on arm and leg muscles. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 5(6), 329-341.
- Lexell, J., & Taylor, C. (1989). Variability in muscle fibre areas in whole human quadriceps muscle: how to reduce sampling errors in biopsy techniques. *Clinical Physiology*, 9(4), 333-343.
- Lexell, J., Taylor, C., & Sjostrom, M. (1985). Analysis of sampling errors in biopsy techniques using data from whole muscle cross sections. *Journal of applied physiology*, 59(4), 1228-1235.
- Lexell, J., Taylor, C. C., & Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy?: Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15-to 83-year-old men. *Journal of the neurological sciences*, 84(2), 275-294. doi:10.1016/0022-510X(88)90132-3
- Lipton, B. H., & Schultz, E. (1979). Developmental fate of skeletal muscle satellite cells. *Science*, 205(4412), 1292-1294.
- Ma, F., Yang, Y., Li, X., Zhou, F., Gao, C., Li, M., & Gao, L. (2013). The association of sport performance with ACE and ACTN3 genetic polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 8(1), e54685.
- MacDougall, J., Sale, D., Alway, S., & Sutton, J. (1984). Muscle fiber number in biceps brachii in bodybuilders and control subjects. *Journal of applied physiology*, 57(5), 1399-1403.
- MacDougall, J., Ward, G., Sale, D., & Sutton, J. (1977). Biochemical adaptation of human skeletal muscle to heavy resistance training and immobilization. *Journal of applied physiology*, 43(4), 700-703.
- 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.

- Mansell, S., Phillips, S., & Rutherford, O. (1997). *Muscle length changes following strength training of the adductor pollicis muscle*. Paper presented at the JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LONDON.
- Mantilla, C. B., Sill, R. V., Aravamudan, B., Zhan, W.-Z., & Sieck, G. C. (2008). Developmental effects on myonuclear domain size of rat diaphragm fibers. *Journal of applied physiology*, *104*(3), 787-794.
- Mattacola, C. G., Perrin, D. H., Gansneder, B. M., Gieck, J. H., Saliba, E. N., & McCue III, F. C. (2002). Strength, functional outcome, and postural stability after anterior cruciate ligament reconstruction. *Journal of athletic training*, *37*(3), 262.
- Matthews, G. D., Huang, C. L. H., Sun, L., & Zaidi, M. (2011). Translational musculoskeletal science: is sarcopenia the next clinical target after osteoporosis? *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1237*(1), 95-105.
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, *9*(2), 493.
- McCall, G., Allen, D. L., Linderman, J., Grindeland, R. E., Roy, R. R., Mukku, V. R., & Edgerton, V. (1998). Maintenance of myonuclear domain size in rat soleus after overload and growth hormone/IGF-I treatment. *Journal of applied physiology*, *84*(4), 1407-1412.
- McCarthy, J. J., & Esser, K. A. (2007). Counterpoint: Satellite cell addition is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *Journal of applied physiology*, *103*(3), 1100-1102.
- McCarthy, J. J., Mula, J., Miyazaki, M., Erfani, R., Garrison, K., Farooqui, A. B., . . . Keller, C. (2011). Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. *Development*, *138*(17), 3657-3666.
- McGlory, C., & Phillips, S. M. (2015). Exercise and the regulation of skeletal muscle hypertrophy. In *Progress in molecular biology and translational science* (Vol. 135, pp. 153-173): Elsevier.
- McKenzie, A. I., D'Lugos, A. C., Saunders, M. J., Gworek, K. D., & Luden, N. D. (2016). Fiber type-specific satellite cell content in cyclists following heavy training with carbohydrate and carbohydrate-protein supplementation. *Frontiers in physiology*, *7*, 550.
- 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.
- McNair, P. J., Depledge, J., Brett Kelly, M., & Stanley, S. N. (1996). Verbal encouragement: effects on maximum effort voluntary muscle: action. *British journal of sports medicine*, *30*(3), 243-245.
- Milan, G., Romanello, V., Pescatore, F., Armani, A., Paik, J.-H., Frasson, L., . . . Goldberg, A. L. (2015). Regulation of autophagy and the ubiquitin–proteasome system by the FoxO transcriptional network during muscle atrophy. *Nature communications*, *6*, 6670.
- Millward, D. J., Garlick, P. J., Stewart, R. J., Nnanyelugo, D., & Waterlow, J. (1975). Skeletal-muscle growth and protein turnover. *Biochemical Journal*, *150*(2), 235-243.
- Mitchell, C. J., Churchward-Venne, T. A., Cameron-Smith, D., & Phillips, S. M. (2015). What is the relationship between the acute muscle protein synthesis response and changes in muscle mass? *Journal of applied physiology*, *118*(4), 495-497.

- Mitchell, C. J., Churchward-Venne, T. A., West, D. W., Burd, N. A., Breen, L., Baker, S. K., & Phillips, S. M. (2012). Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men. *Journal of applied physiology*, *113*(1), 71-77.
- Mobley, C. B., Haun, C. T., Roberson, P. A., Mumford, P. W., Kephart, W. C., Romero, M. A., . . . Beck, D. T. (2018). Biomarkers associated with low, moderate, and high vastus lateralis muscle hypertrophy following 12 weeks of resistance training. *PloS one*, *13*(4), e0195203.
- Moffatt, R., Chitwood, L., & Biggerstaff, K. (1994). The influence of verbal encouragement during assessment of maximal oxygen uptake. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, *34*(1), 45-49.
- Montero, D., & Lundby, C. (2017). Refuting the myth of non-response to exercise training: 'non-responders' do respond to higher dose of training. *The Journal of physiology*, *595*(11), 3377-3387.
- Moore, D. R., Phillips, S. M., Babraj, J. A., Smith, K., & Rennie, M. J. (2005). Myofibrillar and collagen protein synthesis in human skeletal muscle in young men after maximal shortening and lengthening contractions. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, *288*(6), E1153-E1159.
- Moran, C. N., Yang, N., Bailey, M. E., Tsiokanos, A., Jamurtas, A., MacArthur, D. G., . . . Wilson, R. H. (2007). Association analysis of the ACTN3 R577X polymorphism and complex quantitative body composition and performance phenotypes in adolescent Greeks. *European Journal of Human Genetics*, *15*(1), 88.
- Moritani, T. (1979). Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *American journal of physical medicine*, *58*(3), 115-130.
- Moss, F. (1968). The relationship between the dimensions of the fibres and the number of nuclei during normal growth of skeletal muscle in the domestic fowl. *American Journal of Anatomy*, *122*(3), 555-563.
- Moss, F., & Leblond, C. (1970). Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *The Journal of cell biology*, *44*(2), 459.
- Moss, F., & Leblond, C. (1971). Satellite cells as the source of nuclei in muscles of growing rats. *The Anatomical Record*, *170*(4), 421-435.
- Munn, J., Herbert, R. D., & Gandevia, S. C. (2004). Contralateral effects of unilateral resistance training: a meta-analysis. *Journal of applied physiology*, *96*(5), 1861-1866.
- Munn, J., Herbert, R. D., Hancock, M. J., & Gandevia, S. C. (2005). Training with unilateral resistance exercise increases contralateral strength. *Journal of applied physiology*, *99*(5), 1880-1884.
- Murach, K. A., Englund, D. A., Dupont-Versteegden, E. E., McCarthy, J. J., & Peterson, C. A. (2018). Myonuclear domain flexibility challenges rigid assumptions on satellite cell contribution to skeletal muscle fiber hypertrophy. *Frontiers in physiology*, *9*.
- Narici, M. V., Roi, G., Landoni, L., Minetti, A., & Cerretelli, P. (1989). Changes in force, cross-sectional area and neural activation during strength training and detraining of the human quadriceps. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, *59*(4), 310-319.
- Nicks, D. K., Beneke, W. M., Key, R. M., & Timson, B. F. (1989). Muscle fibre size and number following immobilisation atrophy. *Journal of anatomy*, *163*, 1.

- Niemi, A.-K., & Majamaa, K. (2005). Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes. *European Journal of Human Genetics*, 13(8), 965.
- Nygaard, E., & Sanchez, J. (1982). Intramuscular variation of fiber types in the brachial biceps and the lateral vastus muscles of elderly men: how representative is a small biopsy sample? *The Anatomical Record*, 203(4), 451-459.
- O'Connor, R. S., & Pavlath, G. K. (2007). Point: Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *Journal of applied physiology*, 103(3), 1099-1100.
- Ogasawara, R., Yasuda, T., Sakamaki, M., Ozaki, H., & Abe, T. (2011). Effects of periodic and continued resistance training on muscle CSA and strength in previously untrained men. *Clinical physiology and functional imaging*, 31(5), 399-404.
- Ogborn, D., & Schoenfeld, B. J. (2014). The role of fiber types in muscle hypertrophy: implications for loading strategies. *Strength & Conditioning Journal*, 36(2), 20-25.
- Ohira, M., Hanada, H., Kawano, F., Ishihara, A., Nonaka, I., & Ohira, Y. (2002). Regulation of the properties of rat hind limb muscles following gravitational unloading. *The Japanese journal of physiology*, 52(3), 235-245.
- Ohira, Y., Yoshinaga, T., Ohara, M., Nonaka, I., Yoshioka, T., Yamashita-Goto, K., . . . Edgerton, V. (1999). Myonuclear domain and myosin phenotype in human soleus after bed rest with or without loading. *Journal of applied physiology*, 87(5), 1776-1785.
- Olsen, S., Aagaard, P., Kadi, F., Tufekovic, G., Verney, J., Olesen, J. L., . . . Kjær, M. (2006). Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *The Journal of physiology*, 573(2), 525-534.
- Palmieri-Smith, R. M., Thomas, A. C., & Wojtys, E. M. (2008). Maximizing quadriceps strength after ACL reconstruction. *Clinics in sports medicine*, 27(3), 405-424.
- Papadimitriou, I., Papadopoulos, C., Kouvatsi, A., & Triantaphyllidis, C. (2008). The ACTN3 gene in elite Greek track and field athletes. *International journal of sports medicine*, 29(04), 352-355.
- Parise, G., McKinnell, I. W., & Rudnicki, M. A. (2008). Muscle satellite cell and atypical myogenic progenitor response following exercise. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 37(5), 611-619.
- Pearson, S. J., & Hussain, S. R. (2015). A review on the mechanisms of blood-flow restriction resistance training-induced muscle hypertrophy. *Sports Medicine*, 45(2), 187-200.
- 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, J. K., Kim, J.-s., Mayhew, D. L., Cross, J. M., & Bamman, M. M. (2008). Potent myofiber hypertrophy during resistance training in humans is associated with satellite cell-mediated myonuclear addition: a cluster analysis. *Journal of applied physiology*, 104(6), 1736-1742.
- Philippe, A. G., Py, G., Favier, F. B., Sanchez, A. M., Bonnieu, A., Busso, T., & Candau, R. (2015). Modeling the responses to resistance training in an animal experiment study. *BioMed research international*, 2015.

- Phillips, S. M. (2009). Physiologic and molecular bases of muscle hypertrophy and atrophy: impact of resistance exercise on human skeletal muscle (protein and exercise dose effects). *Applied physiology, nutrition, and metabolism*, 34(3), 403-410.
- Phillips, S. M., Tipton, K. D., Aarsland, A., Wolf, S. E., & Wolfe, R. R. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 273(1), E99-E107.
- Pickering, C., & Kiely, J. (2019). Do Non-Responders to Exercise Exist—and If So, What Should We Do About Them? *Sports Medicine*, 49(1), 1-7.
- Pierce, J. D., Goodyear-Bruch, C., Hall, S., Reed, G. A., & Clancy, R. L. (2008). Dopamine alleviation of diaphragm contractile dysfunction and reduction of deoxyribonucleic acid damage in rats. *Heart & Lung*, 37(2), 132-143.
- Ploutz-Snyder, L. L., & Giamis, E. (2001). Orientation and familiarization to 1RM strength testing in old and young women. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 15(4), 519-523.
- Ploutz, L. L., Tesch, P. A., Biro, R. L., & Dudley, G. A. (1994). Effect of resistance training on muscle use during exercise. *Journal of applied physiology*, 76(4), 1675-1681.
- Psilander, N., Eftestøl, E., Cumming, K. T., Juvkam, I., Ekblom, M. M., Sunding, K., . . . Bruusgaard, J. C. (2019). EFFECTS OF TRAINING, DETRAINING, AND RETRAINING ON STRENGTH, HYPERTROPHY, AND MYONUCLEAR NUMBER IN HUMAN SKELETAL MUSCLE. *Journal of applied physiology*.
- Rabita, G., Pérot, C., & Lensele-Corbeil, G. (2000). Differential effect of knee extension isometric training on the different muscles of the quadriceps femoris in humans. *European journal of applied physiology*, 83(6), 531-538.
- Rasch, P. J., & Morehouse, L. E. (1957). Effect of static and dynamic exercises on muscular strength and hypertrophy. *Journal of applied physiology*, 11(1), 29-34.
- Reeves, N. D., Maganaris, C. N., & Narici, M. V. (2005). Plasticity of dynamic muscle performance with strength training in elderly humans. *Muscle & nerve*, 31(3), 355-364.
- Rennie, M. J., Wackerhage, H., Spangenburg, E. E., & Booth, F. W. (2004). Control of the size of the human muscle mass. *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 799-828.
- Rhea, M. R., Alvar, B. A., Burkett, L. N., & Ball, S. D. (2003). A meta-analysis to determine the dose response for strength development. In
- Rooney, K. J., Herbert, R. D., & Balnave, R. J. (1994). Fatigue contributes to the strength training stimulus. *Medicine and science in sports and exercise*, 26(9), 1160-1164.
- Rosenblatt, J. D., Yong, D., & Parry, D. J. (1994). Satellite cell activity is required for hypertrophy of overloaded adult rat muscle. *Muscle & nerve*, 17(6), 608-613.
- Roth, S. M., Walsh, S., Liu, D., Metter, E. J., Ferrucci, L., & Hurley, B. F. (2008). The ACTN3 R577X nonsense allele is under-represented in elite-level strength athletes. *European Journal of Human Genetics*, 16(3), 391.
- Roy, R. R., Monke, S. R., Allen, D. L., & Edgerton, V. R. (1999). Modulation of myonuclear number in functionally overloaded and exercised rat plantaris fibers. *Journal of applied physiology*, 87(2), 634-642.
- Rutherford, O., & Jones, D. (1986). The role of learning and coordination in strength training. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 55(1), 100-105.

- Rutherford, O. M., Purcell, C., & Newham, D. J. (2001). The human force: velocity relationship; activity in the knee flexor and extensor muscles before and after eccentric practice. *European journal of applied physiology*, 84(1-2), 133-140.
- Rønnestad, B. R., Egeland, W., Kvamme, N. H., & Refsnes, P. E. (2007). Dissimilar effects of one-and three-set strength training on strength and muscle mass gains in upper and lower body in untrained subjects. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 21(1), 157.
- Rønnestad, B. R., Nymark, B. S., & Raastad, T. (2011). Effects of in-season strength maintenance training frequency in professional soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 25(10), 2653-2660.
- Sabourin, L. A., & Rudnicki, M. A. (2000). The molecular regulation of myogenesis. *Clinical genetics*, 57(1), 16-25.
- Sale, D., & MacDougall, D. (1981). Specificity in strength training: a review for the coach and athlete. *Canadian journal of applied sport sciences. Journal canadien des sciences appliquées au sport*, 6(2), 87-92.
- Sale, D. G. (1988). Neural adaptation to resistance training. *Medicine and science in sports and exercise*, 20(5 Suppl), S135-145.
- Sambasivan, R., Yao, R., Kissenpennig, A., Van Wittenberghe, L., Paldi, A., Gayraud-Morel, B., . . . Galy, A. (2011). Pax7-expressing satellite cells are indispensable for adult skeletal muscle regeneration. *Development*, 138(17), 3647-3656.
- Sandri, M. (2013). Protein breakdown in muscle wasting: role of autophagy-lysosome and ubiquitin-proteasome. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(10), 2121-2129.
- Santos, W. D. N. d., Gentil, P., de Moraes, R. F., Ferreira Júnior, J. B., Campos, M. H., de Lira, C. A. B., . . . Vieira, C. A. (2017). Chronic effects of resistance training in breast cancer survivors. *BioMed research international*, 2017.
- Schiaffino, S., Bormioli, S. P., & Aloisi, M. (1976). The fate of newly formed satellite cells during compensatory muscle hypertrophy. *Virchows Archiv B*, 21(1), 113-118.
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., & Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *The FEBS journal*, 280(17), 4294-4314.
- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (2011). Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiological reviews*, 91(4), 1447-1531.
- Schmalbruch, H., & Lewis, D. (2000). Dynamics of nuclei of muscle fibers and connective tissue cells in normal and denervated rat muscles. *Muscle & Nerve: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, 23(4), 617-626.
- Schoenfeld, B., & Grgic, J. (2019). Does Training to Failure Maximize Muscle Hypertrophy? *Strength & Conditioning Journal*.
- Schoenfeld, B. J. (2010). The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 24(10), 2857-2872.
- Schoenfeld, B. J. (2013). Potential mechanisms for a role of metabolic stress in hypertrophic adaptations to resistance training. *Sports Medicine*, 43(3), 179-194.

- Schoenfeld, B. J., Ogborn, D., & Krieger, J. W. (2016). Effects of resistance training frequency on measures of muscle hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 46(11), 1689-1697.
- Schoenfeld, B. J., Ogborn, D., & Krieger, J. W. (2017). Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. *Journal of sports sciences*, 35(11), 1073-1082.
- Schott, J., McCully, K., & Rutherford, O. (1995). The role of metabolites in strength training. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 71(4), 337-341.
- Schultz, E., & Lipton, B. H. (1982). Skeletal muscle satellite cells: changes in proliferation potential as a function of age. *Mechanisms of ageing and development*, 20(4), 377-383.
- Schultz, E., & McCormick, K. M. (1994). Skeletal muscle satellite cells. In *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 123* (pp. 213-257): Springer.
- Schutz, Y. (2011). Protein turnover, ureagenesis and gluconeogenesis. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 81(2), 101.
- Schwartz, L. M., Brown, C., McLaughlin, K., Smith, W., & Bigelow, C. (2016). The myonuclear domain is not maintained in skeletal muscle during either atrophy or programmed cell death. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*.
- Scripture, E., Smith, T. L., & Brown, E. M. (1894). On the education of muscular control and power. *Stud Yale Psychol Lab*, 2(5).
- Seaborne, R., Strauss, J., Cocks, M., Shepherd, S., O'Brien, T., Van Someren, K., . . . Stewart, C. (2018a). Methylome of human skeletal muscle after acute & chronic resistance exercise training, detraining & retraining. *Scientific data*, 5, 180213.
- Seaborne, R. A., Strauss, J., Cocks, M., Shepherd, S., O'Brien, T. D., van Someren, K. A., . . . Stewart, C. E. (2018b). Human skeletal muscle possesses an epigenetic memory of hypertrophy. *Scientific reports*, 8(1), 1898.
- Seiden, D. (1976). A quantitative analysis of muscle cell changes in compensatory hypertrophy and work-induced hypertrophy. *American Journal of Anatomy*, 145(4), 459-465.
- Semsarian, C., Wu, M.-J., Ju, Y.-K., Marciniak, T., Yeoh, T., Allen, D. G., . . . Graham, R. M. (1999). Skeletal muscle hypertrophy is mediated by a Ca²⁺-dependent calcineurin signalling pathway. *Nature*, 400(6744), 576.
- Seynnes, O. R., de Boer, M., & Narici, M. V. (2007). Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. *Journal of applied physiology*, 102(1), 368-373.
- Sforzo, G. A., McManis, B. G., Black, D., & Luniewski, D. (1995). Resilience to exercise detraining in healthy older adults. *Journal of the American Geriatrics Society*, 43(3), 209-215.
- Shield, A., & Zhou, S. (2004). Assessing voluntary muscle activation with the twitch interpolation technique. *Sports Medicine*, 34(4), 253-267. doi:10.2165/00007256-200434040-00005
- Simão, R., Spinetti, J., de Salles, B. F., Matta, T., Fernandes, L., Fleck, S. J., . . . Strom-Olsen, H. E. (2012). Comparison between nonlinear and linear periodized resistance training: hypertrophic and strength effects. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 26(5), 1389-1395.

- Simoneau, J.-A., & Bouchard, C. (1989). Human variation in skeletal muscle fiber-type proportion and enzyme activities. *American journal of physiology-endocrinology and metabolism*, 257(4), E567-E572.
- Sinha-Hikim, I., Cornford, M., Gaytan, H., Lee, M. L., & Bhasin, S. (2006). Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community-dwelling older men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(8), 3024-3033.
- Sisson, S. B., Katzmarzyk, P. T., Earnest, C. P., Bouchard, C., Blair, S. N., & Church, T. S. (2009). Volume of exercise and fitness non-response in sedentary, post-menopausal women. *Medicine and science in sports and exercise*, 41(3), 539.
- Siu, P. M., & Alway, S. E. (2005a). Mitochondria-associated apoptotic signalling in denervated rat skeletal muscle. *The Journal of physiology*, 565(1), 309-323.
- Siu, P. M., Pistilli, E. E., & Alway, S. E. (2005b). Apoptotic responses to hindlimb suspension in gastrocnemius muscles from young adult and aged rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(4), R1015-R1026.
- Skipworth, R. J., Stewart, G. D., Dejong, C. H., Preston, T., & Fearon, K. C. (2007). Pathophysiology of cancer cachexia: much more than host–tumour interaction? *Clinical nutrition*, 26(6), 667-676.
- Smerdu, V., & Soukup, T. (2009). Demonstration of myosin heavy chain isoforms in rat and humans: the specificity of seven available monoclonal antibodies used in immunohistochemical and immunoblotting methods. *European Journal of Histochemistry*, 52(3), 179-190.
- Smith, E. (1993). Body memories: and other pseudo-scientific notions of “Survivor Psychology”. *Issues Child Abuse Accusations*, 5, 30-36.
- Smith, G. I., & Mittendorfer, B. (2015). Sexual dimorphism in skeletal muscle protein turnover. *Journal of applied physiology*, 120(6), 674-682.
- Smith, R. C., & Rutherford, O. (1995). The role of metabolites in strength training. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 71(4), 332-336.
- Snijders, T., Nederveen, J. P., McKay, B. R., Joannis, S., Verdijk, L. B., van Loon, L. J., & Parise, G. (2015). Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Frontiers in physiology*, 6, 283.
- Snijders, T., Smeets, J. S., Van Kranenburg, J., Kies, A., van Loon, L., & Verdijk, L. B. (2016). Changes in myonuclear domain size do not precede muscle hypertrophy during prolonged resistance-type exercise training. *Acta physiologica*, 216(2), 231-239.
- Soares-Caldeira, L. F., Ritti-Dias, R. M., Okuno, N. M., Cyrino, E. S., Gurjão, A. L. D., & Ploutz-Snyder, L. L. (2009). Familiarization indexes in sessions of 1-RM tests in adult women. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 23(7), 2039-2045.
- Srinivasan, R., Lungren, M., Langenderfer, J., & Hughes, R. (2007). Fiber type composition and maximum shortening velocity of muscles crossing the human shoulder. *Clinical Anatomy: The Official Journal of the American Association of Clinical Anatomists and the British Association of Clinical Anatomists*, 20(2), 144-149.

- Staron, Leonardi, Karapondo, Malicky, Falkel, Hagerman, & Hikida. (1991). Strength and skeletal muscle adaptations in heavy-resistance-trained women after detraining and retraining. *J Appl Physiol* (1985), 70(2), 631-640.
- Staron, R., Karapondo, D., Kraemer, W., Fry, A., Gordon, S., Falkel, J. E., . . . Hikida, R. (1994). Skeletal muscle adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women. *Journal of applied physiology*, 76(3), 1247-1255.
- Steele, J., Endres, A., Fisher, J., Gentil, P., & Giessing, J. (2017). Ability to predict repetitions to momentary failure is not perfectly accurate, though improves with resistance training experience. *PeerJ*, 5, e4105.
- Taaffe, Henwood, T. R., Nalls, M. A., Walker, D. G., Lang, T. F., & Harris, T. B. (2009). Alterations in muscle attenuation following detraining and retraining in resistance-trained older adults. *Gerontology*, 55(2), 217-223.
- Taaffe, & Marcus. (1997). Dynamic muscle strength alterations to detraining and retraining in elderly men. *Clinical physiology (Oxford, England)*, 17(3), 311-324.
- Tang, H., Cheung, W. M., Ip, F. C., & Ip, N. Y. (2000). Identification and characterization of differentially expressed genes in denervated muscle. *Molecular and cellular neuroscience*, 16(2), 127-140.
- Tatsumi, R. (2010). Mechano-biology of skeletal muscle hypertrophy and regeneration: Possible mechanism of stretch-induced activation of resident myogenic stem cells. *Animal Science Journal*, 81(1), 11-20.
- Tatsumi, R., Liu, X., Pulido, A., Morales, M., Sakata, T., Dial, S., . . . Allen, R. E. (2006). Satellite cell activation in stretched skeletal muscle and the role of nitric oxide and hepatocyte growth factor. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 290(6), C1487-C1494.
- Tavares, L. D., de Souza, E. O., Ugrinowitsch, C., Laurentino, G. C., Roschel, H., Aihara, A. Y., . . . Tricoli, V. (2017). Effects of different strength training frequencies during reduced training period on strength and muscle cross-sectional area. *European journal of sport science*, 17(6), 665-672.
- Teixeira, C. E., & Duarte, J. A. (2011). Myonuclear domain in skeletal muscle fibers. A critical review. *Archives of Exercise in Health and Disease*, 2(2), 92-101.
- Terzis, G., Stratakos, G., Manta, P., & Georgiadis, G. (2008). Throwing performance after resistance training and detraining. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 22(4), 1198-1204.
- Thalacker-Mercer, A., Stec, M., Cui, X., Cross, J., Windham, S., & Bamman, M. (2013). Cluster analysis reveals differential transcript profiles associated with resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. *Physiological genomics*, 45(12), 499-507.
- Thomason, D. B., & Booth, F. W. (1990). Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. *Journal of applied physiology*, 68(1), 1-12.
- Thorstensson, A., Karlsson, J., Viitasalo, J., Luhtanen, P., & Komi, P. (1976). Effect of strength training on EMG of human skeletal muscle. *Acta physiologica*, 98(2), 232-236.
- Tiggemann, C. L., Guedes, M. G., Bgeginsk, R., Pinto, R. S., & Krueel, L. F. M. (2011). The reliability of the one maximum repetition in sedentary, active and strength-trained subjects. *Motriz: Revista de Educação Física*, 17(4), 700-707.

- Timmons, J. A. (2011). Variability in training-induced skeletal muscle. *J Appl Physiol*, *110*, 846-853.
- Toigo, M., & Boutellier, U. (2006). New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *European journal of applied physiology*, *97*(6), 643-663.
- Trappe, S. W., Creer, A., Slivka, D., Minchev, K., & Trappe, T. A. (2007). Single muscle fiber function with concurrent exercise or nutrition countermeasures during 60 days of bed rest in women. *Journal of applied physiology*.
- Turner, D. L., Hoppeler, H., Claassen, H., Vock, P., Kayser, B., Schena, F., & Ferretti, G. (1997). Effects of endurance training on oxidative capacity and structural composition of human arm and leg muscles. *Acta Physiologica Scandinavica*, *161*(4), 459-464.
- Van der Meer, S., Jaspers, R., & Degens, H. (2011). Is the myonuclear domain size fixed? *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, *11*.
- Vandenburgh, H. H. (1987). Motion into mass: how does tension stimulate muscle growth? *Medicine and science in sports and exercise*, *19*(5 Suppl), S142-149.
- Vellers, H. L., Kleeberger, S. R., & Lightfoot, J. T. (2018). Inter-individual variation in adaptations to endurance and resistance exercise training: genetic approaches towards understanding a complex phenotype. *Mammalian genome*, *29*(1-2), 48-62.
- 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., 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: Official Journal of the American Association of Electrodiagnostic Medicine*, *38*(3), 1147-1154.
- Vierck, J., O'Reilly, B., Hossner, K., Antonio, J., Byrne, K., Bucci, L., & Dodson, M. (2000). Satellite cell regulation following myotrauma caused by resistance exercise. *Cell biology international*, *24*(5), 263-272.
- Vikne, H., Gundersen, K., Liestøl, K., Mælen, J., & Vøllestad, N. (2012). Intermuscular relationship of human muscle fiber type proportions: slow leg muscles predict slow neck muscles. *Muscle & nerve*, *45*(4), 527-535.
- Wada, Katsuta, S., & Soya, H. (2003). Natural occurrence of myofiber cytoplasmic enlargement accompanied by decrease in myonuclear number. *The Japanese journal of physiology*, *53*(2), 145-150.
- Wada, Takahashi, H., Katsuta, S., & Soya, H. (2002). No decrease in myonuclear number after long-term denervation in mature mice. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, *283*(2), C484-C488.
- Warren, R. H. (1974). Microtubular organization in elongating myogenic cells. *The Journal of cell biology*, *63*(2), 550-566.

- Wernbom, M., Apro, W., Paulsen, G., Nilsen, T. S., Blomstrand, E., & Raastad, T. (2013). Acute low-load resistance exercise with and without blood flow restriction increased protein signalling and number of satellite cells in human skeletal muscle. *European journal of applied physiology*, 113(12), 2953-2965.
- Wernbom, M., Augustsson, J., & Thomeé, R. (2007). The Influence of Frequency, Intensity, Volume and Mode of Strength Training on Whole Muscle Cross-Sectional Area in Humans. *Sports Med*, 37(3), 225-264.
- Wickiewicz, T. L., Roy, R. R., Powell, P. L., & Edgerton, V. R. (1983). Muscle architecture of the human lower limb. *Clinical orthopaedics and related research*(179), 275-283.
- Wilkinson, S. B., Phillips, S. M., Atherton, P. J., Patel, R., Yarasheski, K. E., Tarnopolsky, M. A., & Rennie, M. J. (2008). Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. *The Journal of physiology*, 586(15), 3701-3717.
- Wilkinson, S. B., Tarnopolsky, M. A., Grant, E. J., Correia, C. E., & Phillips, S. M. (2006). Hypertrophy with unilateral resistance exercise occurs without increases in endogenous anabolic hormone concentration. *European journal of applied physiology*, 98(6), 546-555.
- Wilmore, J. H. (1974). Alterations in strength, body composition and anthropometric measurements consequent to a 10-week weight training program. *Medicine and Science in Sports*, 6(2), 133-138.
- Winchester, P., & Gonyea, W. (1992). A quantitative study of satellite cells and myonuclei in stretched avian slow tonic muscle. *The Anatomical Record*, 232(3), 369-377.
- Winje, 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*.
- Winje, Sheng, X., Hansson, K. A., Solbrå, A., Tennøe, S., Saatcioglu, F., . . . Gundersen, K. (2019). Cachexia does not induce loss of myonuclei or muscle fibres during xenografted prostate cancer in mice. *Acta physiologica*, 225(3), e13204.
- Wolfe, B. L., Lemura, L. M., & Cole, P. J. (2004). Quantitative analysis of single-vs. multiple-set programs in resistance training. In.
- Woolstenhulme, M. T., Conlee, R. K., Drummond, M. J., Stites, A. W., & Parcell, A. C. (2006). Temporal response of desmin and dystrophin proteins to progressive resistance exercise in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 100(6), 1876-1882.
- Yang, N., MacArthur, D. G., Gulbin, J. P., Hahn, A. G., Beggs, A. H., Easteal, S., & North, K. (2003). ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *The American Journal of Human Genetics*, 73(3), 627-631.
- Yasuda, K., Ohkoshi, Y., Tanabe, Y., & Kaneda, K. (1992). Quantitative evaluation of knee instability and muscle strength after anterior cruciate ligament reconstruction using patellar and quadriceps tendon. *The American journal of sports medicine*, 20(4), 471-475.
- Yin, H., Price, F., & Rudnicki, M. A. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological reviews*, 93(1), 23-67.
- Zammit, P. S. (2008). All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? *J Cell Sci*, 121(18), 2975-2982.

- Zammit, P. S., Golding, J. P., Nagata, Y., Hudon, V., Partridge, T. A., & Beauchamp, J. R. (2004). Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? *J Cell Biol*, *166*(3), 347-357.
- Zourdos, M. C., Klemp, A., Dolan, C., Quiles, J. M., Schau, K. A., Jo, E., . . . Merino, S. G. (2016). Novel resistance training-specific rating of perceived exertion scale measuring repetitions in reserve. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *30*(1), 267-275.

Tabelloversikt

Tabell 1. Deskriptive data av forsøkspersonene.	37
Tabell 2. Inklusjons- og eksklusjonskriteriene for prosjektet.	38
Tabell 3. Progresjonsmodellen for treningsperioden over 10 uker. Grønn farge= ingen sett til utmattelse. Rød farge=siste sett per øvelse kjøres til utmattelse.	42
Tabell 4. Primære og sekundære* antistoffer	50

Figuroversikt

- Figur 1.** Illustrasjon av plasseringen av satellittcellene og myokjernene innad i muskelcellen. Satellittcellene (grønn) ligger mellom sarkolemma (grå) og basalmembranen (lilla), i motsetning til myokjernene (lilla) som ligger på innsiden av sarkolemma. Illustrasjonen er basert på den av Fujimaki, Machida, Hidaka, Asashima, Takemasa, & Kuwabara (2013)..... 19
- Figur 2.** Illustrasjon av den nåværende lærebokmodellen for endring av cellekjerner ved hypertrofi og atrofi. Illustrasjonen er basert på den av Gundersen (2016)..... 28
- Figur 3.** Illustrasjon av den nye modellen for endring av cellekjerner ved hypertrofi og atrofi. Illustrasjonen er basert på den av Gundersen (2016)..... 29
- Figur 4.** Tidslinjen for intervensjonsperiodene av prosjektet på totalt 38 uker. 1RM=1 repetisjons maksimum..... 39
- Figur 5.** Treningsprogresjonen i totalvolumet over de 10 treningsukene. Blå viser serier/uke. Rød viser Repetisjoner/uke. 41
- Figur 6** viser øvelsesutvalget for prosjektet. A viser start- og sluttposisjon for hver øvelse, mens b viser topp- (2.1 og 2.3) eller bunnposisjon (1 og 2.2). Øvelse 1 (Sittende supinert unilateral preacher curl i kabelapparat) var første øvelse hver treningsøkt. Øvelse 2.1 (skråliggende supinert unilateral hantel curl med rygg på benk) var andre øvelse økt 1 fra og med uke 2. Øvelse 2.2 (sittende supinert unilateral preacher curl med hantel) var andre øvelse økt 2 fra og med uke 4. Øvelse 2.3 (stående supinert unilateral hantel curl) var andre øvelse økt 3 fra og med uke 2. 44
- Figur 7.** Plasseringen av muskelbiopsisnittene på objektivglassene for hver forsøksperson i første periode (venstre) og andre periode (høyre). H.arm= høyre arm og V.arm = venstre arm. 49
- Figur 8 .** Identifisering av myokjerner. A: Sammensatt bilde av PCM1, DAPI og Lamina. De oransje pilene viser eksempler på identifiserte myokjerner, mens de grønne pilene peker mot cellekjerner som ikke regnes som myokjerner. B: Viser merking mot laminin (rødt), hvor de organge pilene viser lokasjonen av de identifiserte myokjernene på innsiden av basal lamina. Blå pil peker på selve laminin merkingen. C: Viser merking mot PCM1 (grønn), de oransje pilene viser et utvalg av de positive PCM1 myokjernene. D: Viser merking mot DAPI (blå), de oransje pilene viser de identifiserte myokjernene som overlapper med PCM1 merkingen fra bilde C. De grønne pilene viser eksempler på cellekjerner som ikke er myokjerner, ettersom de avviker i form, størrelse, eller plassering fra bilde C. 51
- Figur 9.** Identifisering av fibertype. A: Sammenslått bilde av dystrofin og MHC I merkingen. B: Viser merking mot dystrofin. C: Viser merking mot MHC I med grønn farge, mens MHC II forble umerket og sorte..... 53

Figur 10. Illustrasjon av beregning av muskelfibertype (A) og muskelfibre og dets tvernsnittsareal (B) i programvaren TEMA. Sort og hvit merking i A indikerer henholdsvis type I og II-muskelfibre. De små prikkene på fibre indikerer at fibre er telt. 54

Figur 11 viser prosentvis endring i 1RM for hele intervensjonen. Greske bokstaver og tall indikerer signifikant endring eller forskjell. α = Endring for TR. β = endring for kontroll. Tall= endring fra den aktuelle uken. γ = forskjell mellom armene på det gitte tidspunktet. δ =forskjell mellom TR uke 11 og kontroll uke 37. Figuren viser gjennomsnitt og standardavvik. 58

Figur 12 viser endring i antall myokjerner for type I-fibre (venstre) og type II-fibre (høyre). Greske bokstaver og tall indikerer signifikant endring eller forskjell. α = endring for TR, β = endring for kontroll, tall= endring mellom pre og post i den aktuelle treningsperioden (1= første treningsperiode, og 2= andre treningsperiode). γ = forskjell mellom armene på det aktuelle tidspunktet. Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik. 59

Figur 13 viser endring i muskelfiberareal for type I-fibre (venstre) og type II-fibre (høyre). Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik. 60

Figur 14 viser endring i kjernedomene for type I-fibre (venstre) og type II-fibre (høyre). Gresk bokstav indikerer signifikant endring. α = endring fra post periode 1 for den trente armen. Figuren viser individuelle data, gjennomsnitt og standardavvik..... 61

Vedlegg 1: Rekrutteringsplakat

Vil du bli sterkere?

Forskningsprosjekt om muskelhukommelse

Vi søker forsøkspersoner for å undersøke mekanismer rundt hvordan musklene husker gammel trening.

Hva:

- Styrketrening av armbøyerene («biceps»)
- Varighet: Studien består av tre deler; to 10 ukers perioder med trening, separert med en hvileperiode på 16 uker. Treningen består av 2-3 treningsøkter i uken á ca. 20 min.



Bilde: T-nation.com

Hvem kan delta:

- Menn og kvinner mellom 18-35 år
- Ikke trent styrke på armbøyerene tidligere
- Ikke ha sykdommer etc. som forhindrer deg i styrketrening
- Du som har mulighet til å delta på begge treningsperioder med trening og testing

Hva skal testes:

- Maksimalt styrke av armbøyerene
- Muskeltykkelse målt med ultralyd
- Endringer i muskelceller (muskelbiopsi)

Fordeler:

- Veiledet trening gjennom begge treningsperioder
- Få gjennomført tester som i utgangspunktet er dyre
- Få unik informasjon om dine muskler som vanligvis ikke er tilgjengelig (f.eks. fibertypefordeling og størrelse)
- Innsikt i hvordan forskning gjennomføres

Tester og treningsøkter **gjennomføres på Norges idrettshøgskole**. Studien strekker seg fra **april til desember 2018**.

Dersom du er interessert, eller har spørsmål om prosjektet kontakter du **Kristoffer Toldnes Cumming** (k.t.cumming@nih.no), **Kenneth Skilnand** (kenneth_skilnand@hotmail.com) eller **Marit Hanslien** (marit.hanslien@gmail.com).

Vedlegg 2: Informert samtykke



NORGES IDRETTSHØGSKOLE

Forespørsel om deltakelse som forsøksperson i prosjektet

"Muskelhukommelse"

Kan en periode med trening påvirke evnen til retrening etter et treningsopphold?

Bakgrunn og hensikt

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt hvor vi ønsker å undersøke effekten av tidligere trening på muskelvekst og styrke ved en retreningsperiode.

Personer som tidligere har trent styrketrening viser en meget god evne til å raskt øke både muskelstyrke og muskelmassen sammenlignet med utrente. Dette har gitt opphav til begrepet *muskelhukommelse*. *Muskelhukommelse* er ideen om at musklene har en cellulær hukommelse som er til hjelp når musklene trenes igjen etter et avbrekk. Nyere forskning viser at denne cellulære hukommelsen kommer av en mer eller mindre permanent økning i antall cellekjerner fra tidligere muskelvekst. Siden en økning i antall cellekjerner er nødvendig for muskelvekst, kan personer som tidligere har økt muskelmassen gjennom styrketrening dra nytte av dette ved senere trening.

Mekanismen bak *muskelhukommelse* er ikke dokumentert i stor grad, og det mangler studier gjennomført på mennesker. Vi ønsker derfor å rekruttere unge kvinner og menn til en studie for å undersøke dette nærmere.

Norges idrettshøgskole er ansvarlig for gjennomføringen av prosjektet, og trening og testing vil gjennomføres der.

Hva innebærer studien

Som deltager innebærer denne studien at du deltar på testdager og treninger. Treningen vil skje i to perioder separert av en hvileperiode uten trening. Første treningsperiode vil bestå av 2-3 treninger i uken i 10 uker, andre treningsperiode vil være identisk og vare i nye 10 uker. Disse to treningsperiodene vil separeres av en hvileperiode på 16 uker. I denne tiden kreves det at armene ikke trenes.

Før treningen starter, må du gjennomføre tester for å kartlegge en rekke fysiske parametere i muskelen som påvirkes med trening. Disse testene gjennomføres før treningsperiodene, etter fire uker mer trening, etter seks uker med trening i andre treningsperiode og etter hver treningsperiode. Testene har til hensikt å undersøke muskelstørrelse og muskelstyrke. Før og etter hver treningsperiode ønsker vi å ta en muskelprøve for å måle cellulære endringer som har oppstått i musklene etter treningen. Treningene og testdagene vil gjennomføres ved Norges idrettshøgskole, og vil følges opp og gjennomføres av erfarne trenere og forskere.

Tester

Testene som gjennomføres vil kartlegge din maksimale styrke i armbøyerne gjennom to ulike tester, måling av muskeltykkelse med ultralyd og muskelbiopsi. I tillegg ønsker vi å gjøre et kostholdsintervju i forkant av begge treningsperiodene for å sikre tilstrekkelig inntak av næringsstoffer for gunstig muskelvekst og økning i styrke.

Mulige ulemper og risiko

Deltakelse i prosjektet vil kreve tid og oppmerksomhet, og det kreves at du som deltager er tilstede på treninger og testdager. Vi har lagt opp disse dagene slik at de er tidseffektive og vil derfor ikke ta mer tid enn nødvendig.

Treningene er harde og kan oppleves ubehagelige. Det er alltid en viss risiko for skader og overbelastning i forbindelse med styrketrening. For å forsikre oss om at treningen ikke fører til unødvendig skaderisiko, vil den gradvis økes i belastning og mengde. Du kan oppleve forbigående muskelstølhett i etterkant av treningen.

De fysiske testene som utføres vil kreve maksimal innsats, og vil oppleves

anstrengende. Dette kan oppleves som ubehagelig for noen, og det vil alltid være en viss risiko for skade under testen og følelse av stølheth i muskulaturen kan forekomme i etterkant.

I dette prosjektet vil det bli tatt en liten muskelprøve (muskelbiopsi) av armbøyeren (*m. biceps brachii*). Dette gjøres sterilt og med lokalbedøvelse. Det er derfor vanligvis ikke forbundet med smerte, men det kan oppleves ubehagelig. Du kan oppleve en lett til moderat ømhet i området hvor prøven er tatt, men dette vil kun vare 1-2 døgn og vil ikke hindre deg i å bevege eller bruke armen som før. I etterkant vil du få et lite sår i huden hvor biopsinålen er ført inn, og et lite arr kan være synlig. Dette såret vil gro i ukene etter at prøven er tatt. Det vil alltid være en risiko for infeksjoner. Det er derfor viktig med riktig stell for at såret skal gro og unngå infeksjoner. Detaljert informasjon om sårstell vil bli gitt både skriftlig og muntlig.

Om du skulle oppleve ubehag eller andre ting som du tror kan ha sammenheng med studien, kan du når som helst nå oss på telefon (telefonnummer finnes under).

Hva skjer med informasjonen og prøvene som blir tatt av deg?

Dataene og informasjonen som registres under testingen, skal brukes i henhold til formålet og hensikten med studien. Alle opplysningene vil bli behandlet uten direkte gjenkjenning opplysninger, som navn og fødselsnummer. Du vil ved forsøksstart få utdelt et forsøkspersonnummer (ID-nummer) som skal brukes under studien og det er bare dette nummeret som vil være tilknyttet til dine data. Det betyr at alle data vil bli behandlet anonymt og det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene. Underveis 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. Kodelisten lagres i 5 år etter prosjektslutt, og destrueres etter dette.

Muskelprøvene som tas av deg vil bli oppbevart i en forskningsbiobank uten kommersielle interesser. Hvis du sier ja til å delta i studien, gir du også samtykke til at det biologiske materialet og analyseresultater inngår i denne biobanken. Prøvene vil bli lagret i biobanken til år 2029. Ansvarlig for biobanken er Professor Truls Raastad ved

Seksjon for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole. 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 muskelprøver og anonymiserte opplysninger kan utleveres til våre samarbeidspartnere ved Gymnastik- og idrottshögskolan (Stockholm, Sverige) og Universitetet i Oslo (Norge).

Frivilling deltagelse

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:

Kristoffer Toldnes Cumming

E-post: k.t.cumming@nih.no

Truls Raastad

E-post: truls.raastad@nih.no

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 selvassurandør. 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 muskelprøver kan utleveres til samarbeidende institusjoner. Prøvematerialet vil fortsatt være anonymisert, og koden

som knytter deg til dine personidentifiserende opplysninger vil ikke bli utlevert.

Godkjenning

Prosjektet er godkjent av Regional komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK sør-øst; ref: 2018/209).

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,

Kristoffer Toldnes Cumming, Postdoktor

Truls Raastad, Professor

Kenneth Skilnand, Mastergradsstudent

Marit Hanslien, Mastergradsstudent

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 3: Egenerklærings skjema

Etternavn:	Fornavn:	Født:
Studentadresse:		
Hjemmeadresse:		
Tlf.:	E-mailadresse:	
Idrettsbakgrunn (angi idrettsgrener og omtrent hvor mange timer du trener pr. uke):		

EGENERKLÆRING FOR FORSØKSPERSONER

Takk for at du vurderer å delta som forsøksperson ved Norges idrettshøgskole! Før du kan delta, må vi imidlertid kartlegge om din deltakelse kan medføre noen form for helserisiko. Vær snill å lese gjennom alle spørsmålene nøye og svar ærlig ved å krysse av for JA eller NEI. Hvis du er i tvil, bør du be om å få snakke med legen som er ansvarlig for forsøket.

Hvis du krysser av for JA på ett eller flere av disse spørsmålene, må du gjennomgå en legeundersøkelse før forsøksstart. Ved enkelte typer forsøk vil du uansett bli innkalt til legeundersøkelse.

JA	NEI	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1. Kjenner du til at du har en hjertesykdom?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	2. Hender det du får brystmerter i hvile eller i forbindelse med fysisk aktivitet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	3. Kjenner du til at du har høyt blodtrykk?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	4. Bruker du for tiden medisiner for høyt blodtrykk eller hjertesykdom (f.eks. vanndrivende tabletter)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	5. Har noen av dine foreldre, søsken eller barn fått hjerteinfarkt eller dødd plutselig (før fylte 55 år for menn og 65 for kvinner)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	6. Røyker du?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	7. Kjenner du til om du har høyt kolesterolnivå i blodet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	8. Har du besvimt i løpet av de siste 6 måneder?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	9. Hender det du mister balansen på grunn av svimmelhet?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	10. Har du sukkersyke (diabetes)?
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	11. Kjenner du til <u>noen annen grunn</u> til at din deltakelse i prosjektet kan medføre helse- eller skaderisiko?

Gi beskjed straks dersom din helsesituasjon forandrer seg fra nå og til undersøkelsen er ferdig, f.eks. ved at du blir forkjølet, får feber, eller blir gravid.

Sted - dato

Underskrift

Vedlegg 4: Svarbrev fra REK



Region:	Saksbehandler:	Telefon:	Vår dato:	Vår referanse:
REK sør-øst	Claus Henning Thorsen	22845515	13.03.2018	2018/209 REK sør-øst C
			Deres dato:	Deres referanse:
			09.01.2018	

Vår referanse må oppgis ved alle henvendelser

Truls Raastad
Norges idrettshøgskole

2018/209 Muskelhukommelse – Effekten av tidligere trening på adaptasjonen ved re-trening

Forskningsansvarlig: Norges idrettshøgskole
Prosjektleder: Truls Raastad

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK sør-øst C) i møtet 15.02.2018. Vurderingen er gjort med hjemmel i helseforskningsloven (hfl.) § 10.

Prosjektleders prosjektbeskrivelse

Tidligere styrketrente personer øker både styrke og muskelmassen raskere enn utrente. Dette har gitt opphav til begrepet muskelhukommelse. Den cellulære hukommelsen kan komme av en permanent økning i antall cellekjermer fra tidligere muskelvekst fordi en økning i antall cellekjermer er nødvendig for muskelvekst. Mekanismen bak muskelhukommelse er imidlertid ikke dokumentert på mennesker. Vi ønsker derfor å rekruttere unge kvinner og menn til en studie hvor vi ønsker å undersøke dette nærmere. De skal trene én arm i 12 uker, deretter har de en periode uten trening på 16 uker. Etter de-treningsperioden skal forsøkspersonene trene begge armene igjen i 10 Tester vil gjennomføres før og etter hver treningsperiode og 4 uker ut i hver periode. Hypotesen er at muskulaturen i den tidligere trente armen vil vokse raskere enn i den utrente armen og at dette er relatert til at det er flere cellekjermer i muskelfibrene i den tidligere trente armen.

Vurdering

Dette er et masterprosjekt i idrettsvitenskap hvor man ønsker å studere/dokumentere mekanismen bak «muskelhukommelse» i mennesker. Relativ utrente friske frivillige vil først kun trene opp den ene armen og etter en stund trene begge armer og se om man får bedre effekt i armen som ble trent tidligere.

Dette dreier seg om forskning på normalfysiologi i forbindelse med trening, og tidligere praksis viser at slike prosjekter noen ganger vurderes innenfor og noen ganger utenfor helseforskningslovens virkeområde.

Fra søknadens punkt 4.1 Fordeler har komiteen merket seg følgende: «En positiv effekt av "muskelhukommelse" kan være et nyttig bidrag til forebygging av sarkopeni og ved rehabilitering ved trening av eldre og ulike pasientgrupper.» og «En bedre forståelse av hva som påvirker regulering av muskelmasse og hvordan trening påvirker disse mekanismene er viktig for å forebygge og behandle mange plager som følger av for stort tap av muskelmasse.»

Komiteen legger på bakgrunn av ovennevnte til grunn at det gjennom prosjektet kan fremkomme ny kunnskap om sykdom og helse, og at prosjektet således faller inn under helseforskningslovens virkeområde, jf. helseforskningsloven § 2, jf. § 4.

Besøksadresse:
Gullhaugveien 1-3, 0484 Oslo

Telefon: 22845511
E-post: post@helseforskning.etikkom.no
Web: <http://helseforskning.etikkom.no/>

All post og e-post som inngår i saksbehandlingen, bes adressert til REK sør-øst og ikke til enkelte personer

Kindly address all mail and e-mails to the Regional Ethics Committee, REK sør-øst, not to individual staff

Utvalget består av 30 friske unge menn og kvinner i alderen 18-40 som ikke har erfaring med styrketrening på overkropp. Deltakere rekrutteres gjennom oppslag på egen nettside, plakater hengt opp på NIH, UiO og Høgskolen i Oslo og Akershus og gjennom informasjonsmail til studenter ved NIH.

Deltakerne skal gjennomføre styrketester og det skal tas muskelbiopsier, som skal analyseres for mRNA og rRNA (ribosomal kapasitet).

Biobank

Det søkes om opprettelse av en spesifikk forskningsbiobank med navn *Muskelhukommelse* i prosjektet.

Ansvarshavende for forskningsbiobanken er Truls Raastad.

Forskningsansvarlig er Norges idrettshøgskole.

Forskningsbiobanken vil bestå av biopsimateriale.

Komiteen setter en tidsavgrensning for forskningsbiobanken tilsvarende oppbevaringstiden for opplysninger etter prosjektslutt, det vil si 20.02.2029. Deretter skal materialet behandles i henhold til helseforskningsloven § 30.

I medhold av helseforskningsloven § 29 godkjenner komiteen utførelse av biopsimateriale til Sverige.

Informasjonsskriv

Komiteen forutsetter at man i informasjonsskrivet tar med at deltakerne i henhold til helseforskningsloven § 50 er dekket av pasientskadeloven. Det er ikke nødvendig å sende inn skrevet på nytt.

Vedtak

Prosjektet godkjennes, jf. helseforskningslovens §§ 9 og 33.

Tillatelsen er gitt under forutsetning av at prosjektet gjennomføres slik det er beskrevet i søknaden og protokollen, og de bestemmelser som følger av helseforskningsloven med forskrifter.

Komiteen godkjenner opprettelse av forskningsbiobanken *Muskelhukommelse* i tråd med det som er angitt i prosjektsøknaden. Biobankregisteret vil bli underrettet ved kopi av dette brev.

Tillatelsen gjelder til 20.02.2024. Av dokumentasjons- og oppfølgingshensyn skal opplysningene likevel bevares inntil 20.02.2029. Opplysningene skal lagres aidentifisert, dvs. atskilt i en nøkkel- og en opplysningsfil. Opplysningene skal deretter slettes eller anonymiseres, senest innen et halvt år fra denne dato.

Komiteens avgjørelse var enstemmig.

Klageadgang

Komiteens vedtak kan påklages til Den nasjonale forskningsetiske komité for medisin og helsefag, jfr. helseforskningsloven § 10, tredje ledd og forvaltningsloven § 28. En eventuell klage sendes til REK sør-øst C. Klagefristen er tre uker fra mottak av dette brevet, jfr. forvaltningsloven § 29.

Sluttmelding og søknad om prosjektendring

Prosjektleder skal sende sluttmelding til REK sør-øst på eget skjema senest 20.08.2024, jf. hfl. § 12. Prosjektleder skal sende søknad om prosjektendring til REK sør-øst dersom det skal gjøres vesentlige endringer i forhold til de opplysninger som er gitt i søknaden, jf. hfl. § 11.

Med vennlig hilsen

Britt Ingjerd Nesheim
Prof.dr.med,
Leder REK sør-øst C

Claus Henning Thorsen
Rådgiver

Kopi til: kristian.sollesnes@nih.no

Norges idrettshøgskole ved øverste administrative ledelse: postmottak@nih.no

