

Katrine Aas Krog Øyehaug

---

## Effekt av trening på cellulær epigenetisk hukommelse

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2018



## Sammendrag

Hensikten med denne studien er å forsøke å finne svar på, i litteraturen, om trening eller økt fysisk aktivitet hos friske mennesker kan resultere i endret DNA-metylering og histon-modifikasjoner, som metylering og acetylering. Dette er av interesse siden det ikke finnes noen forskning som har funnet ut hvilke eksakte genomiske reguleringsmekanismer som er ansvarlige for endret grad av genekspressjon som følge av trening. Ved litteratursøk på PubMed og gjennomgang av litteraturlister fra publikasjonene ble det funnet 32 studier, innen datoen 25.10.2018, som inneholder inklusjonskriteriene «friske mennesker, en form for trening eller fysisk aktivitet og epigenetikk i form av DNA-metylering, histon-metylering eller histon-acetylering». Ingen studier ble funnet som har sett på endringer i histon-metylering. Litteraturen viser at akutt trening kan føre til spesifikke og globale endringer i DNA-metylering og endringer global histon-acetylering. En treningsperiode ser ut til å kunne føre til spesifikke og globale endringer i DNA-metylering, noe som kan vitne om langtidseffekter etter en treningsperiode siden DNA metyleirng ser ut til å holde seg stabil igjennom mitosen. Personer som er mer fysisk aktive igjennom livet ser ut til å ha høyere nivåer av LINE-1 (long interspersed nucleotide elements) metylering i genomet. Teorien om epigenetisk hukommelse, sammen med funn av endret DNA-metylering i gener som er relevante for metabolisme og inflammasjon, kan være med på å forklare befolkningen hvordan trening eller fysisk aktivitet kan føre til bedre helse eller økt prestasjonsevne.

# Innhold

Sammendrag.....	2
Forord.....	5
1. Innledning.....	6
1.1 Problemstilling.....	7
2. Teori.....	7
2.1 Trening og epigenetikk.....	8
2.2 Epigenetikk.....	9
2.3 DNA-metylering.....	11
2.3.1 Analyse av DNA-metylering.....	11
2.4 Metylering- og acetylering av histon proteiner.....	12
2.5 Gener relatert til metabolismen og inflammasjon.....	15
2.5.1 Treningsindusert inflammasjon.....	15
2.5.2 Metabolisme og trening.....	16
2.5.3 Promotorregionene til genene.....	18
3. Metode.....	19
4. Resultater.....	22
4.0.1 Ordforklaringer til tabell.....	33
4.1 Resultater med kommentarer.....	36
4.1.1 Akutt trening, DNA-metylering.....	36
4.1.2 Akutt trening, histon-acetylering.....	38
4.1.3 Akutt trening, trente -og utrente forsøkspersoner.....	40
4.1.4 Treningsintervensjon, DNA-metylering.....	42
4.1.5 Selvrapporing.....	49
5. Diskusjon.....	51
5.1 DNA-metylering.....	52
5.1.1 DNA-metylering i CpG områder.....	54
5.2 Histon-acetylering.....	54
5.3 Prestasjon og helse.....	55
5.3.1 Langtidseffekter etter trening og fysisk aktivitet.....	56
5.3.2 Epigenetisk treningseffekt på gener som er relevante for inflammasjon.....	57
5.3.3 Epigenetisk treningseffekt på gener som er relevante for metabolismen.....	61
5.3.4 Individuelle forskjeller.....	63
5.3.5 Arv.....	63
5.4 Videre forskning.....	64
6. Konklusjon.....	67

Referanser ..... 68

## Forord

Helt fra jeg var liten har jeg alltid hatt en stor forundring over naturen rundt meg og over hvordan kroppene våre kan fungere. Da jeg begynte som student ved Norges Idrettshøgskole, med bakgrunn i bachelor i molekylærbiologi, ble jeg overrasket over hvor lite teori som finnes om sammenhengen mellom trening og genetikk. Man kan lese store mengder bøker og studier som har sett på endringer som skjer i kroppen som følge av trening, «men alle endringer starter med endret transkripsjon av genene vi har til rådighet» tenkte jeg hele tiden. Dermed startet ideene rundt denne studien.

Min bakgrunn som aktiv langrennsløper har også fått meg til å undre over hvorfor noen personer responderer veldig godt, og utvikler sin prestasjonsevne, ved å trene mye hard intervalltrening, mens andre personer ser ut til å forbedre sin prestasjon ved å i større grad trene rolig «langkjøring». Kanskje noe av svaret ligger i at vi har forskjellig evne til å endre eller regulere våre epigenetiske mønstre i genomet? Det ser også ut til at enkelte sykdommer kan skyldes medfødte og ufordelaktige epigenetiske mønstre. Kan trening eller økt fysisk aktivitet være med på å endre og forbedre helsen vår via epigenetiske endringer?

Tusen takk til veilederne mine, Hege Thoresen og Arild Christian Rustan, som har vært tålmodige med meg og forståelsesfulle når et kronglete svangerskap har ført til at vegen til innlevering av masteroppgaven har blitt litt ekstra lang. Tusen takk til mamma og pappa som har stilt opp med ekstra barnepass og støttende ord i innspurten av skriveprosessen. Tusen takk til mannen min, Harald, som har støttet meg hele vegen, og som har måttet ta i et ekstra tak i hjemmet. Armkroken din er god å ha! Og viktigst av alt, tusen takk til guttene mine, Lavrans og Sigurd, som lyser opp alle dagene mine selv om mamma har vært mindre til stede i det siste. Nå gleder jeg meg til å være mye mer sammen med dere og til snart å møte minstemann i magen!

*Katrine Aas Krog Øyehaug*

Maura, desember 2018

# 1. Innledning

Epigenetikk er arvelige endringer i kromatinet, som ikke involverer endringer i selve DNA-sekvensen. Slike epigenetiske modifikasjoner kan forekomme direkte på DNAet eller på histoner som er en del av kromatinstrukturen. Det er svært interessant hvordan kroppen kan tilpasse seg endrede krav i form av trening og/eller til endret livsstil. Slik tilpasning starter med epigenetiske endringer, som kan føre til endret grad av transkripsjon av genene man har til rådighet og som igjen kan føre til bedre helse (Black et al., 2012; Barrès et al., 2012; Bannister & Kouzarides, 2011).

Aerob trening (utholdenhetstrening) og anaerob trening (styrketrening) fører til adaptasjoner i skjelettmuskulaturen som kan spille en viktig rolle innenfor både helse og prestasjon (Ehlert et al., 2013). Alle celler i kroppen har identisk genetisk kode, men cellene har forskjellige fenotyper på grunn av at de uttrykker genene i forskjellig grad eller mønster. Genuttrykket for en bestemt celle/vev kalles for cellens epigenetiske signatur, og cellenes epigenetiske mønstre kan endres ved ytre påvirkning, som trening. Derfor er epigenetiske mønstre spesifikke for hvert individ, og en persons epigenetiske mønster kan si noe om personens fysiske prestasjonsevne og helse (Barrès et al., 2012; Ehlert et al., 2013). Man kan altså si at en persons fysiske prestasjonsevne og helse er avhengig av både genotype og fenotype, og trening kan påvirke cellenes fenotype ved epigenetiske modifikasjoner (Ehlert et al., 2013; McGee et al., 2009).

Endringer i genuttrykk etter trening kan indirekte bevises ved økning i uttrykk av mRNA og proteiner for en mengde gener som er med på å regulere funksjonen i mitokondriene og energimetabolismen, og man har blant annet funnet økt uttrykk av PGC-1 $\alpha$  (peroxisome proliferator-aktivert reseptor gamma koaktivator 1 alfa), TFAM (transkripsjonsfaktor A i mitokondrier), PPAR $\delta$  (peroxisome proliferator-aktivert reseptor delta) og PDK4 (pyruvat dehydrogenase kinase isoenzym 4) etter trening (Barrès et al., 2012). Selv om det i forskningen er velkjent at trening induserer ekspresjon av en rekke gener i skjelettmuskulaturen er det foreløpig ikke sikkert om endringer i epigenetiske markører, som DNA-metylering, fosforylering-, acetylering- og mono-, di- og tri-metylering i histon 3 (H3) og/eller 4 (H4), spiller en rolle i denne responsen på trening (Ehlert et al., 2013; McGee et al., 2009). I denne litteraturstudien vil det derfor bli diskutert hvordan trening kan påvirke DNA-metylering og histon-

metylering og -acetylering, som er epigenetiske modifikasjoner som kan regulere genuttrykket. DNA-metylering og H3-metylering ser også ut til og holdes stabil igjennom mitosen. Det betyr at DNA-metylering og histon-metylering kan fungere som epigenetisk hukommelse i cellene (Barrès et al., 2012; McGee et al., 2009), noe som kan være med på å føre til langtidseffekter etter en treningsperiode.

Hensikten med denne litteraturstudien er å gi en oppdatert oversikt over hvordan trening kan resultere i endret DNA-metylering og histon-modifikasjoner, som metylering og acetylering, som er assosiert med remodelering av kromatin og aktivering- eller undertrykkelse av transkripsjon. Dette er av interesse siden det ikke finnes noen forskning som har funnet ut hvilke eksakte genomiske reguleringsmekanismer som er ansvarlige for endret grad av genekspressjon som følge av trening (McGee et al., 2009). Større forståelse for treningseffekt på epigenetisk hukommelse kan gi større forståelse av treningseffekt på prestasjonsevne og livsstilssykdommer som fedme, diabetes og hjerte-karsykdommer. Slik kunnskap er derfor av interesse for både idrettsutøvere- og trenere, som ønsker å utvikle et mest mulig optimalt treningsprogram for å øke prestasjonsevnen, og for helsevesenet, for å bedre kunne forstå mekanismene bak livsstilssykdommer. Dette har også betydning i det å kunne forklare befolkningen den langvarige effekten av fysisk aktivitet i hverdagen.

## **1.1 Problemstilling**

Hvilke epigenetiske endringer, som DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering kan forekomme etter trening eller økt fysisk aktivitet hos friske mennesker?

Hvordan kan resultater fra epigenetiske treningsintervensjon-studier gi større forståelse av treningseffekt på gener som er relevante for metabolisme og inflammasjon, som videre kan relateres til prestasjonsevne og bedre helse?

## **2. Teori**

Før 1859 rådet en tro på at verden og naturen var skapt av en overmakt, og man hadde derfor en idè om en «statisk natur». I 1859 publiserte Charles Darwin boka «Om artenes Opprinnelse», og han ble den første til å forklare hvordan evolusjon foregår (Voje, 2018). Rundt samme tid, i mellom 1856-64, oppdaget Gregor Mendel de grunnleggende lovene, «Mendels lover», for nedarving av enkelte egenskaper, og han grunnla dermed dagens tanker om genetikk og arv (Cold Spring Harbor Laboratory,



2011). Men det var August Weismann (1834-1914) som forstod at kjønnceller ikke blir påvirket av hvilke egenskaper som somatiske celler kan tilegne seg igjennom livet, noe som førte til hans tanker om at kjønnceller inneholder en arvelig substans. Dette danner grunntanken bak den senere teorien om kromosomer, DNA og gener (Voje, 2018).

I 1869 oppdaget Friedrich Miescher «nuclein», som vi i dag kaller deoksyribonukleinsyre (DNA), ved en tilfeldighet da han skulle isolere proteiner fra leukocytter (Dahm, 2005). Men det var først 50 år senere, i 1919, at Phoebus Levene kunne presentere en polynukleotide-modell med fosfat-, sukker- og base i hvert nukleotid (Cold Spring Harbor Laboratory, 2011). Det skulle gå enda 30 år (1950) før Erwin Chargaff kunne konkludere med at nesten all DNA, fra alle organismer eller vevstyper, inneholder basen adenin (A) i samme mengde som tymin (T), og basen guanin (G) i samme mengde som cytosin (C). I dag kjenner vi oppdagelsen hans som Chargaff's regel; den totale mengden av puriner (A og G) er nesten lik den totale mengden av pyrimidiner (C og T). Med disse nevnte oppdagelsene i bakhånd, sammen med Rosalind Franklin- og Maurice Wilkins x-ray krystallografi av DNA, klarte James Watson og Francis Crick, i 1953, å oppdage den tredimensjonale dobbelheliksstrukturen til DNA slik vi kjenner den i dag (Science History Institute, 2017).

Epigenetikk er arvelige endringer i kromatinet, som ikke involverer endringer i selve DNA-sekvensen. Epigenetiske endringer hos et individ kan føre til bedre eller dårligere helse og for eksempel økt prestasjonsevne. Man kan påvirke sin epigenetikk igjennom hvordan man lever livet, og studier tyder på at noen epigenetiske endringer kan arves mellom generasjoner (Barrès et al., 2012; Black et al., 2012; Kouzarides, 2007).

## **2.1 Trening og epigenetikk**

Fysisk aktivitet og regelmessig trening påvirker de fleste organer og vev i kroppen (Helsedirektoratet, 2008). Treningseffekten på både helse og prestasjon er avhengig av øvelsene man velger og intensiteten som treningen utføres med. Høyere intensitet fører til større effekt på mekanismer relatert til energiforbruk og oksygenforbruk, laktat, hjertets minuttvolum, gjennomblødning i hjerte og muskler og hormonnivåer (Helsedirektoratet, 2008). Både hva slags trening, intensitet, frekvens og varighet man velger er altså med på å bestemme treningseffekten.

I dag ser man økte helseproblemer over hele verden som er relatert til stillesittende livsstil og dårlig ernæring. Redusert fysisk aktivitet skaper helseproblemer som følge av redusert energiforbruk sammen økt energiinntak, noe som fører til vektøppgang og økt risiko for kardiometabolske sykdommer (Ng & Popkin, 2012). Trening er viktig for blant annet fysisk helse, stabil kroppsvekt, triglyserider, kolesterol, blodtrykk, vedlikehold av telomer-lengde, for å motvirke utvikling av kardiovaskulære sykdommer, type 2 diabetes og for å unngå muskel atrofi hos eldre (Masuki et al., 2017; Dimauro et al., 2016; Rönn et al., 2013). Dette viser at trening kan aktivere komplekse endringer i transkripsjonen av gener i forskjellige vev.

I følge en oversiktsartikkel av Ehlert et al. (2013) kan 50 % av en persons kapasitet til å respondere på trening, som økning i oksygenopptaket ( $VO_{2maks}$ ) og styrketilvekst, skyldes arvelige genetiske faktorer, noe som kan bety at de resterende 50 % kan påvirkes ved måten vi lever på. Forskning viser at trening kan føre til endring i genekspresjon, ved endring i graden av transkripsjon og/eller translasjon, som videre kan føre til strukturelle- og metabolske endringer og adaptasjoner i skjelettmuskulaturen (Barrès et al., 2012; Ehlert et al., 2013). Etter trening kan man finne endring i mengde og type mRNA og proteiner som er involvert i energimetabolismen og i mitokondriefunksjon, og disse endringene i mRNA og proteiner skyldes endring i genekspresjon (Barrès et al., 2012).

## **2.2 Epigenetikk**

Epigenetikk er arvelige endringer i kromatinet, som ikke involverer endringer i selve DNA-sekvensen. Slike epigenetiske modifikasjoner kan forekomme direkte på DNAet eller på histoner som er en del av kromatinstrukturen. Kromatin består av DNA pakket rundt proteinkomplekser, nukleosomer, som er de fundamentale enhetene i kromatin, og rundt hver nukleosom er det pakket 147 basepar med DNA. Nukleosomene er bygget opp av histonproteinene H2A, H2B, H3 og H4, og hver nukleosom forekommer med to kopier av hver av de fire histonproteinene. Nukleosomene er hovedsakelig globulære, men den N-terminale halen til histonene er ustrukturert. Disse histonhalene kan modifiseres og dermed være med på å påvirke biologiske prosesser som transkripsjon, replikasjon og vedlikeholdelse av kromosomet (Black et al., 2012; Strahl & Allis, 2000; Kouzarides, 2007). Modifikasjoner av nukleosomer kan fungere på to måter, enten ved

at bindinger mellom nukleosomer, som er med på å pakke kromatin, blir brutt eller ved rekrutteringen av andre proteiner enn histonproteiner til kromatinet. Slike proteiner kan påvirke histonene og være med på å diktere kromatinstrukturen og/eller rekruttere enzymkomplekser som kan manipulere DNAet (Bannister & Kouzarides, 2011; Kouzarides, 2007). Hvor tett DNA er assosiert med histonene bestemmer transkripsjonsstatusen til genene i samme området. Hvis DNAet er tett assosiert med histonene vil ikke et transkripsjons initierende kompleks kunne binde seg til DNA og transkripsjon av gener vil derfor ikke kunne forekomme i slike regioner av DNAet. Derimot, hvis assosiasjonen mellom DNA og histonene er løs nok vil et transkripsjon initierende kompleks kunne binde seg til promotorregionen slik at transkripsjonen av genet kan starte. Assosiasjonen mellom DNA og histonene er i stor grad styrt av modifikasjoner av histon proteinene, spesielt av modifikasjoner i H3 og H4 (Strahl & Allis, 2000). Disse histon modifikasjonene inkluderer fosforylering, acetylering og mono-, di- og tri-metylering av lysiner, metylering av agininer, ubiquitinering, sumoylering, ADP ribosylering, deiminering og prolin-isomerisering, som er relevante i reguleringen av DNA prosesser som transkripsjon, reparasjon, replikasjon og rekombinasjon (se figur 1) (Bannister & Kouzarides, 2011; McGee et al., 2009; Kouzarides, 2011; Strahl & Allis, 2000).

Modifikasjoner av kromatin kan ha en lokal effekt, som ved transkripsjon av et gen, mindre grupper av gener eller ved reparasjon av DNA. Epigenetiske modifikasjoner av kromatin kan også påvirke store deler av genomet, som ved DNA replikasjon og kromosom kondensering (Kouzarides, 2007). Analyser av kromatin i *Drosophila* og *C. elegans* har i følge en gjennomgangsartikkel av Black et al. (2012) vist at aktive gener i heterokromatin (DNAet er ikke tilgjengelig for transkripsjon), pericentromerisk kromatin og eukromatin (DNAet er tilgjengelig for transkripsjon) har forskjellig metyleringsmønster. Forskjellige regioner av genomet, som promotorer, exoner, introner og repeterende regioner, har sitt eget metyleringsmønster som er med på å regulere genekspresjon og/eller vedlikeholde stabilt genom. Epigenetiske endringer kan være genom imprinting, inaktivering av X kromosomet, aldring, reprogrammering og dannelsen av «stille» gener. Endringer i livsstil, som trening, kan også føre til epigenetiske endringer som kan arves fra generasjon til generasjon (Black et al., 2012).

## 2.3 DNA-metylering

I denne litteraturstudien vil treningsindusert endring av DNA-metylering og metylering og acetylering av histon proteiner i nukleosomene bli undersøkt. DNA-metylering er en av de viktige epigenetiske reguleringsmekanismene i cellene ved at DNA-metylering undertrykker genekspressjonen ved å hindre transkripsjonsfaktorer i å binde seg til kromatinet (Barrès et al., 2012). Det er metyltransferaser som kan overføre en metylgruppe fra S-adenosyl-metionin til cytosin i CpG (5`-Cytosin-fosfat-Guanin-3`) dinucleotider, og gener med 5-metylcytosin i promotorregionen er vanligvis hindret fra å bli transkribert (Yang et al., 2004). Metyleringen er en kovalent modifisering som kan undertrykke transkripsjonen i seg selv eller ved å rekruttere proteiner som binder seg til metylgruppen og som dermed er med på å kontrollere og regulere kromatinstrukturen og genekspressjonen (Barrès et al., 2012). DNA-metylering kan også undertrykke ekspresjonen av gener ved å blokkere for binding av transkripsjonsfaktorer til «enhancere». Flere transkripsjonsfaktorer kan binde seg til en sekvens med umetylert DNA, men de kan ikke binde seg til området hvis en av cytosinene er metylert (Robson-Ansley et al., 2014). DNA-metylering er vitalt under utviklingen av forskjellige cellyper, og både hypermetylering og hypometylering er assosiert med aldring, kreft og andre sykdommer (Yang et al., 2004). I følge Barrès et al. (2012) har Barrès et al. (2009) og Klose & Bird (2006) funnet tegn til at DNA-metylering kan være en faktor som er med på å øke risikoen for å utvikle metabolske sykdommer ved å modifisere ekspresjonen av gener som er med på å kontrollere kroppens energimetabolisme og glukose homeostase.

### 2.3.1 Analyse av DNA-metylering

Mange av analysemetodene for DNA-metylering bygger på at natriumbisulfitt vil bidra til at cytosin deamineres til uracil. Dette gjør at den primære sekvensen i DNA blir endret slik at man kan skille cytosin fra 5-metylcytosin. Man kan dermed skille mellom metylert og umetylert cytosin i DNA med analysemetoder som direkte sekvensering, restriksjon «digestion» (COBRA), «nukleotide extension assays», primer spesifikk PCR eller pyrosekvensering. Disse metodene krever små mengder DNA, men de kan bare studere enkelte områder i eller utenfor utvalgte gener (Yang et al., 2004).

For å studere den globale mengden DNA-metylering i genomet må man bruke metoder som kan bestemme den totale mengden 5-metylcytosin i genomet. DNA kan bli kuttet til enkle nukleotider eller kuttet etter restriksjoner. Man kan også gjøre analyser til

«nærmeste nabo». Disse metodene kan gi et inntrykk av endring i global DNA-metylering, men de har den ulempen at de kan være lite sensitive og de kan kreve store mengder DNA siden metodene ikke baserer seg på PCR (Yang et al., 2004).

For å få et innblikk i den totale globale DNA-metyleringen i genomet kan man også studere Alu repeterende elementer og LINE-1 (long interspersed nucleotide elements), som normalt har en høy grad av metylering. Etter bisulfitt behandling kan man bruke PCR primere laget fra Alu- eller LINE repeterende elementer, som fører til amplifisering av flere tusen repeterende elementer. Forskjellige sekvenser i de amplifiserte elementene kan analyseres for å få et bilde av den globale DNA-metyleringen (Yang et al., 2004).

## **2.4 Metylering- og acetylering av histon proteiner**

Histon-metylering kan forekomme hovedsakelig på sidekjeder av lysin og arginin (Bannister & Kouzarides, 2011; Black et al., 2012). Metylering av lysin i histoner har de senere årene vist seg å spille en viktig regulerende rolle i genekspressjonen, cellesyklusen, genomstabiliteten og i arkitekturen i nukleus. Spesifikke lysin sidekjeder, deres posisjon i genomet og deres grad av metylering har derfor sannsynligvis spesifikke roller og spesifikke konsekvenser. I H3 kan lysin i den N-terminale halen modifiseres ved metylering, og lysin sidekjedene kan forekomme i tre modifiserte stadier; mono-, di- og tri-metylert. Slik H3 lysin metylering reguleres igjen av lysin metyltransferaser (KMT) og lysin de-metylaser (KDM), og i dag kjenner man til 33 KMTER og 21 KDMER (Black et al., 2012). Det er identifisert to klasser KMTER hvor den ene og største klassen inneholder et SET katalytisk domene (mens den andre klassen ikke inneholder SET som katalytisk domene), og begge klassene bruker S-adenosyl-L-methionine (SAM) som donor for metylgruppen til  $\epsilon$ -amino gruppen i lysin (Bannister & Kouzarides, 2011; Black et al., 2012). KMTER ser ut til å ha høy enzymatisk spesifisitet for lysin og for graden av metylering; for eksempel KMT1A/B kan trimetylere H3K9 fra H3K9me1 og KMT2A kan trimetylere H3K4. Både KMTER og KDMER ser ut til å ha høy spesifisitet for en spesifikk lysin sidekjede og for grad av henholdsvis metylering og de-metylering. KMTER og KDMER blir igjen regulert av ubiquitinerings som fører til nedbrytning i proteasomer, av fosforylering, miRNAer og kofaktorer. Disse kofaktorene inkluderer oksygen, FAD,  $\alpha$ -ketoglutarat og S-adenosyl-

methionin (SAM), noe som betyr at KMTer og KDMer kan påvirkes og reguleres av metabolske forhold og prosesser i cellen (Black et al., 2012). Derfor er det interessant å se på epigenetiske endringer i H3 lysin metylering for å kunne danne et bilde av mulige reguleringsmekanismer som kan påvirkes av trening og som derfor kan gi en helseeffekt.

Vanligvis er acetylering av lysin sidekjeder i histonproteiner assosiert med aktivering av transkripsjon. Acetylering av lysin nøytraliserer den positivt ladede sidekjeden og bryter den elektrostatiske interaksjonen med det negativt ladede fosfat-bakbenet i DNA. Dette fører til en mer åpen konformasjon mellom nukleosomet og DNA, noe som fører til at transkripsjonsfaktorer kan få tilgang til cis-regulerende elementer og en kaskade som fører til initiasjon av transkripsjon (McGee & Hargreaves, 2011). Histon-acetylering reguleres ved aktiviteten til histon acetyl transferaser (HAT), som bruker acetyl CoA som kofaktor for å katalysere overføringen av en acetylgruppe til  $\epsilon$ -amino gruppen på lysin sidekjeder, og histon deacetylaser (HDAC) (Bannister & Kouzarides, 2011). Klasse IIa HDACer, HDAC-4, -5, -7 og -9, spiller en viktig rolle i skjelettmuskulatur når det gjelder muskel dannelse- og adaptasjoner, og de fungerer i assosiasjon med transkripsjonsfaktorene MEF2 (myocyte enhancer factor 2). I den forbindelse kan for eksempel trening føre til endret energistatus (økt AMP:ATP ratio) og økt intracellulær konsentrasjon av kalsium (endrede  $Ca^{2+}$  nivåer i sarkoplasma), noe som fører til aktivering av kinasene AMPK og CaMKII. Aktive AMPK og CaMKII kan fosforylere klasse IIa HDACer (HDAC-4 og -5), som dermed blir eksportert ut av nukleus. Dette fører til økt histon-acetylering rundt MEF2-avhengige gener, som GLUT4, og aktivering av MEF2 avhengig transkripsjon (Czubryt, McAnally, Fishman & Olson, 2003; McGee & Hargreaves, 2011). Det kan se ut til at klasse IIa HDACer kan regulere genene PGC-1 $\alpha$ , CPT-1, MCAD (medium chain acyl-CoA dehydrogenase), HKII (hexokinase II), glykogen fosforylase og ATP syntase  $\beta$ , og dette kan bety at klasse IIa HDACer kan spille en rolle i treningsinduserte adaptasjoner i skjelettmuskulatur (Czubryt et al., 2003).

Stille heterokromatin (kromatin som ikke kan transkriberes) er assosiert med lave nivåer av acetylering og høye nivåer av enkelte metyleringsmønstre, som H3K9, H3K27 og H4K20. Eukromatin som er under aktiv transkripsjon inneholder høye nivåer av acetylering og trimetylert H3K4, -H3K36 og -H3K79 (Kouzarides, 2007). Metylering av H3K4 er tilsynelatende alltid assosiert med aktivering av transkripsjon, mens

metylering av H3K36 kan også assosieres med undertrykkelse av transkripsjon (McGee & Hargreaves, 2011). Det kan se ut til at sannheten er at enhver modifikasjon har potensiale til å aktivere eller undertrykke transkripsjonen under forskjellige forhold. Metylering av H3K36 i den kodede regionen ser ut til å ha en positiv effekt, men i promotorregionen ser det ut til at H3K36 metylering har en negativ effekt på transkripsjonen. Metylering av H3K9 kan muligens ha samme virkning, positiv effekt i den kodede regionen og negativ effekt i promotorregionen (Kouzarides, 2007). H3K4me3 finnes ved transkripsjonens start-sted (TSS) i både aktive og inaktive promotorer, noe som betyr at H3K4me3 sannsynligvis kan markere at et gen blir transkribert eller at genet muligens kan bli aktivt (Black et al., 2012). H3K27 finnes i store mengder sammen med H3K9 og H4K20 i heterokromatin, og H3K27me3 ser ut til å undertrykke transkripsjonen ved å inhibere forlengelsen av transkriptet. Slik inhibering av H3K27me3 kan fjernes ved demetylering ved hjelp av KDM6B slik at transkripsjonen av genet kan gjennomføres (Black et al., 2012; Kouzarides, 2007). Inaktive promotorer er ofte markert med H3K9me3 og H3K27me3, og bivarente gener er ofte markert med både H3K4me3 og H3K27me3 i promotorregionen (Black et al., 2012). Forskjellige modifikasjoner kan sannsynligvis også være avhengige av hverandre, slik som fosforylering av H3 serin 10 som kan føre til acetylering av H3K9 (McGee & Hargreaves, 2011). Acetylering ser ut til å forekomme på mange lysiner i histonhalene, som H3K9, H3K14, H3K18, H4K5, H4K8 og H4K12 (Bannister & Kouzarides, 2011).

Det er uklart om overfor nevnte distribusjon av modifiseringer må forekomme på samme nukleosom eller om de kan forekomme på forskjellige nukleosomer i samme promotor for å kunne uttrykke sin funksjon, men det kan se ut til at det kan forekomme kommunikasjon mellom forskjellige H3 haler i samme nukleosom (Black et al., 2012). Strukturen til histon amino N-terminale haler indikerer at de kan stikke ut fra nukleosomene og at de derfor sannsynligvis kan danne kontakt/interaksjoner med andre nærliggende nukleosomer (Bannister & Kouzarides, 2011; Kouzarides, 2007). Et eksempel på kommunikasjon mellom modifikasjoner på forskjellige histonhaler er metyleringen H3K4me3 som krever ubiquitinerings av H2B. Binding av et protein kan også bli hindret av en nærliggende modifikasjon (Kouzarides, 2007).

Ved å analysere endringer i histon-metylering og acetylering før og etter trening kan man sannsynligvis få større forståelse for treningsinduserte endringer i ekspresjonen av

gener. Man kan undersøke global H4 -og/eller H3-metylering og/eller acetylering, mål av mengde global metylering eller acetylering ved spesifikke lysin sidekjeder, eller man kan undersøke metylering eller acetylering ved spesifikke lysin sidekjeder i spesifikke gener av interesse.

## **2.5 Gener relatert til metabolismen og inflammasjon**

Denne studien ønsker å se nærmere på treningsindusert DNA-metylering og histon-metylering -og acetylering i gener relatert til metabolisme og inflammasjon. Dette er av interesse siden treningseffekt på metabolisme kan relateres til både prestasjon og til livsstilssykdommer som diabetes (Bajpeyi et al., 2017), og treningseffekt på inflammasjon kan relateres til både prestasjonsfremmende nedbrytning og oppbygging av muskelvev og til sykdomsfremkallende kronisk inflammasjon (Clarkson & Hubal, 2002; Lin & Karin, 2007).

### **2.5.1 Treningsindusert inflammasjon**

Alle som trener er kjent med at følelsen av stølhøhet etter trening er størst etter mellom 24-48 timer. Dette, sammen med at man kan observere svelling i muskulaturen flere dager etter treningen, indikerer at skaden etter treningen kan forverres i dagene etter treningen (Clarkson & Hubal, 2002). Det ser ut til at skadeomfanget på myofibrillene er størst etter en til fire dager etter treningen, noe som skyldes inflammasjon i muskelcellen og dermed økt degradering av intracellulære proteiner i dagene etter treningen (Paulsen et al., 2012, Clarkson & Hubal, 2002). Hovedfunksjonen til immunreaksjonen/inflammasjonsreaksjonen er å sørge for at celler, som kan utføre fagocytose, og ulike substanser i plasma bringes til det skadede området. Videre fører inflammasjonsreaksjonen til at skadet vev og cellerester blir fjernet, og dermed legges forholdene til rette for at vevet eller cellen kan repareres (Sand et al., 2002). Inflammasjonsprosessen er altså nødvendig for at det skadede området skal kunne repareres (Clarkson & Hubal, 2002).

Genproduktene (etter transkripsjon og translasjon) IL1 $\beta$  og TNF $\alpha$  er cytokiner som er involvert i inflammasjonsprosesser i skjelettmuskulatur etter trening. IL1 $\beta$  kan stimulere til økt inflammatorisk respons ved å aktivere B-celler til å lage antistoffer, og TNF $\alpha$  kan aktivere makrofager og stimulere til antiinflammatorisk respons i skadet vev. Den antiinflammatoriske responsen i skjelettmuskulaturen etter trening er sannsynligvis



større enn den promoterende responsen, og slik antiinflammatorisk respons er med på å stabilisere den inflammatoriske responsen slik at skadet vev etter hvert kan repareres. Generelt kan antiinflammatoriske cytokiner inhibere signalveier hos promoterende cytokiner, inhibere gen ekspresjonen- og produksjonen av promoterende cytokiner i inflammatoriske celler eller nøytralisere promoterende cytokiner ved å binde seg til dem (Clarkson & Hubal, 2002, Peake et al., 2005 og Alberts et al., 2002).

Tilstrekkelige verdier av cytokiner kreves for at immunsystemet skal fungere normalt, men økning i konsentrasjonen av  $TNF\alpha$ ,  $IL1\beta$  og/eller  $IL-6$  er for eksempel observert hos personer med type 2 diabetes. Utvikling og progresjon av flere aldersrelaterte sykdommer er assosiert med kronisk inflammasjon, og konsentrasjonen av  $TNF\alpha$ ,  $IL-6$  og  $IL-1$  ser ut til å øke med økende alder (Lin & Karin, 2007; Nakajima et al., 2010). Treningseffekt på inflammasjon kan altså relateres til både nedbrytning og oppbygging av muskelvev (Clarkson & Hubal, 2002), men vedvarende inflammasjon er også assosiert med mange kroniske sykdommer (Lin & Karin, 2007). En periode med trening har vist seg å kunne redusere ekspresjonen av proinflammatoriske cytokiner som  $TNF\alpha$ ,  $IL1\beta$  og  $IL-6$  (Nakajima et al., 2010). Dermed er det interessant å se nærmere på epigenetiske endringer som følge av trening i gener som er relevante for inflammasjon for å bedre kunne forstå treningseffekt på prestasjon og helse.

### **2.5.2 Metabolisme og trening**

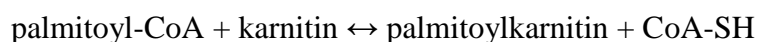
Trening kan øke funksjonen i- og antall mitokondrier og forbedre insulin sensitiviteten, og dette kan redusere helseskadene av overvekt og type 2 diabetes. En akutt treningsøkt kan signifikant redusere konsentrasjonen av insulin i serum, noe som kan bety at trening kan føre til akutt økt sensitivitet til insulin (Bajpeyi et al., 2017). Studier viser at trening kan øke ekspresjonen av mRNA og proteinnivåer for genene  $PGC1\alpha$ ,  $PPAR\delta$  og  $PDK4$ , som kan regulere funksjonen i mitokondriene (Barrès et al., 2012; Lane et al., 2015). Fysisk aktivitet kan også øke oksidasjonen av fettsyrer i skjelettmuskulatur, som kan relateres til graden av CTP (karnitin palmitoyltransferase) transkripsjon (Bonnefont et al., 2004). Dermed er det interessant å se nærmere på om trening kan inducere epigenetiske endringer i disse genene.

Pyruvat dehydrogenase kinase 4 ( $PDK4$ ) er et enzym som er involvert i kontrollen av glukosemetabolismen i mitokondrienes matriks ved å fosforylere pyruvat dehydrogenase ( $PDH$ ) til sin inaktive form. På denne måten kan aktiv  $PDK4$  føre til at

energimetabolismen går over fra å forbrenne karbohydrater til i større grad å forbrenne fett. PDK4 kan også bli koaktivert av PGC-1 $\alpha$  i muskelceller, og begge disse proteinene har vist seg å øke i mengde etter trening (Wang & Sahlin, 2012).

PGC1 $\alpha$  er en transkripsjons koaktivator som kan koordinere gen ekspresjonen i nukleus og i genomet til mitokondriene. Det er kjent at trening kan øke ekspresjonen av PGC1 $\alpha$ , noe som videre gir økt antall- og funksjon i mitokondriene i musklene. Dette fører videre til økt insulinsensitivitet og reduksjon av intramyocellulære lipider (Bajpeyi et al., 2017; Barrès et al., 2012). Derfor er det interessant å se nærmere på om trening kan føre til epigenetisk regulering av PGC1 $\alpha$  i skjelettmuskulatur.

CTP-gener transkriberes og reguleres i forhold til ernæring og hormonbalansen i vev med høyt fettforbruk, som hjertet, muskler og lever. Mitokondrienes kapasitet til å oksidere fettsyrer er regulert igjennom graden av CTP1 transkripsjon i respons på stimuli som faste, høyt fettinnhold i maten eller induksjon av diabetes, og alle disse faktorene øker CTP1 transkripsjon og translasjon. Fettsyreoksidasjonen i mitokondriene er essensiell for energimetabolismen i situasjoner som krever at cellene sparer på glukose som ved trening og faste. For at lange fettsyrer skal kunne bli brutt ned ved  $\beta$ -oksidasjon i mitokondriene må de bli transportert inn i mitokondrie matriks ved hjelp av CTP systemet, en karnitin membrantransportør (vedlikeholder intracellulær konsentrasjonen av karnitin) og acylkarnitin translokase (frakter lange fettsyrer over den indre membranen i mitokondriene). CTP systemet er et enzym kompleks, som består av proteinene CTP1 og CTP2, og systemet katalyserer denne reaksjonen:



CTP1 fungerer i mitokondrienes ytre membran og katalyserer dannelsen av acylkarnitin fra karnitin og acyl-CoA, og CTP2 fungerer i mitokondrienes indre membran og katalyserer dannelsen av acyl-CoA fra acylkarnitin og CoA. Reguleringen av fettsyreoksidasjonen i mitokondriene involverer derfor hovedsakelig CTP1. CTP2 har samme struktur i hele kroppen, men CTP1 finnes i tre isoformer i muskel, lever og i hjernen. CTP1-A uttrykkes hovedsakelig i leverceller, lymfocytter og fibroblaster hos mennesker, og i muskelceller er det CTP1-B som dominerer (Bonfont et al., 2004).

Peroksisom-proliferator-aktiverede reseptorer (PPAR) er en gruppe ligand-regulerte kjernereseptorer/transkripsjonsfaktorer, som består av isoformene PPAR $\gamma$ , PPAR $\alpha$  og

PPAR $\delta$ . Disse transkripsjonsfaktorene kan reguleres av mange forskjellige mettede- og umettede fettsyrer, prostaglandiner og leukotriener, og de kan kontrollere genekspresjonen ved å binde seg til spesifikke peroksisom-proliferator respons elementer (PPRE) i promotorregioner (Berger & Moller, 2002; Feige et al., 2006). PPARer kan på denne måten, sammen med kofaktorer, være med på å øke graden av transkripsjonens initiering. Siden PPARer kan aktiveres av mange forskjellige ligander kan det tenkes at disse reseptorene kan spille en viktig rolle i å oppdage ernæringstilstanden i kroppen og deretter regulere metabolismen (glukose- og fettmetabolismen) (Berger & Moller, 2002). PPARer kan også ha en rolle i reguleringen av celleproliferasjon-, overlevelse-, og differensiering, og i cellekommunikasjon i inflammasjonssystemet, glukosemetabolismen, fettmetabolismen, kolesterol metabolismen, gallesyre metabolismen, insulin signalering, regulering av adipokiner og endokrin signalering (Berger & Moller, 2002; Feige et al., 2006). Det vil være interessant å undersøke epigenetiske modifikasjoner i promotoren til PPAR $\delta$  (også kalt PPAR- $\beta/\delta$ ), som ser ut til å finnes i alle kroppens vevstyper. Derfor kan PPAR $\delta$  ha en rekke funksjoner, og dens viktigste funksjoner er sannsynligvis i skjelettmuskler, fettvev, hud og hjerne. I skjelettmuskulatur kan PPAR $\delta$  være med på å regulere fettsyreoksidasjonen og insulinsensitiviteten (Feige et al., 2006).

### 2.5.3 Promotorregionene til genene

Genene PDK4, PGC1 $\alpha$ , CPT1 $\alpha$  og PPAR $\delta$  har PPRE i promotorregionen, som er en region hvor PPAR $\delta$  kan binde seg og være med på å aktivere transkripsjonen (se mer info om PPAR $\delta$  overfor). På den måten kan PPAR $\delta$  være med på å regulere sin egen transkripsjon og regulere transkripsjonen av genene PDK4, PGC1 $\alpha$  og CPT1 $\alpha$ .

PPAR $\delta$  danner en dimer med en retinoid X reseptor (RXR), som sammen kan gjenkjenne PPRE. Når PPAR $\delta$  ikke har bundet ligand er PPAR $\delta$ /RXR assosiert med korepressorer, histon deacetylasen, kjerne korepressor utbytte-faktorer og chaperoner. Noen komplekser kan også forekomme bundet til koaktivatorer, og kompleksene kan derfor forekomme i forskjellige sammensetninger i kjernen. DR1 og DR5 (direct repeat 1- og 5) er elementer i promotorregionen PPRE som kan rekruttere PPAR $\delta$ /RXR, og DR1 og DR5 er på den måten regulatorer for PPAR $\delta$ /RXR (Feige et al., 2006; Han et al., 2007; Schuler et al., 2006). Når et PPAR $\delta$ /RXR kompleks blir rekruttert til PPRE blir komplekset midlertidig stabilisert, hvor repressive komponenter vedlikeholder en inaktiv promotorregion ved å deacetylere histonhaler. Aktiverende komponenter i

komplekset kan være med på å indusere transkripsjon. Hvis PPAR $\delta$  binder en ligand blir korepressorene frigjort fra komplekset og koaktivatorer blir rekruttert. Ved PPREer vil et slik aktivert kompleks promotere histon-acetylering og ATP avhengig remodelering av kromatin, for deretter å kunne rekruttere transkripsjonsmaskineriet for transkripsjon (Feige et al., 2006).

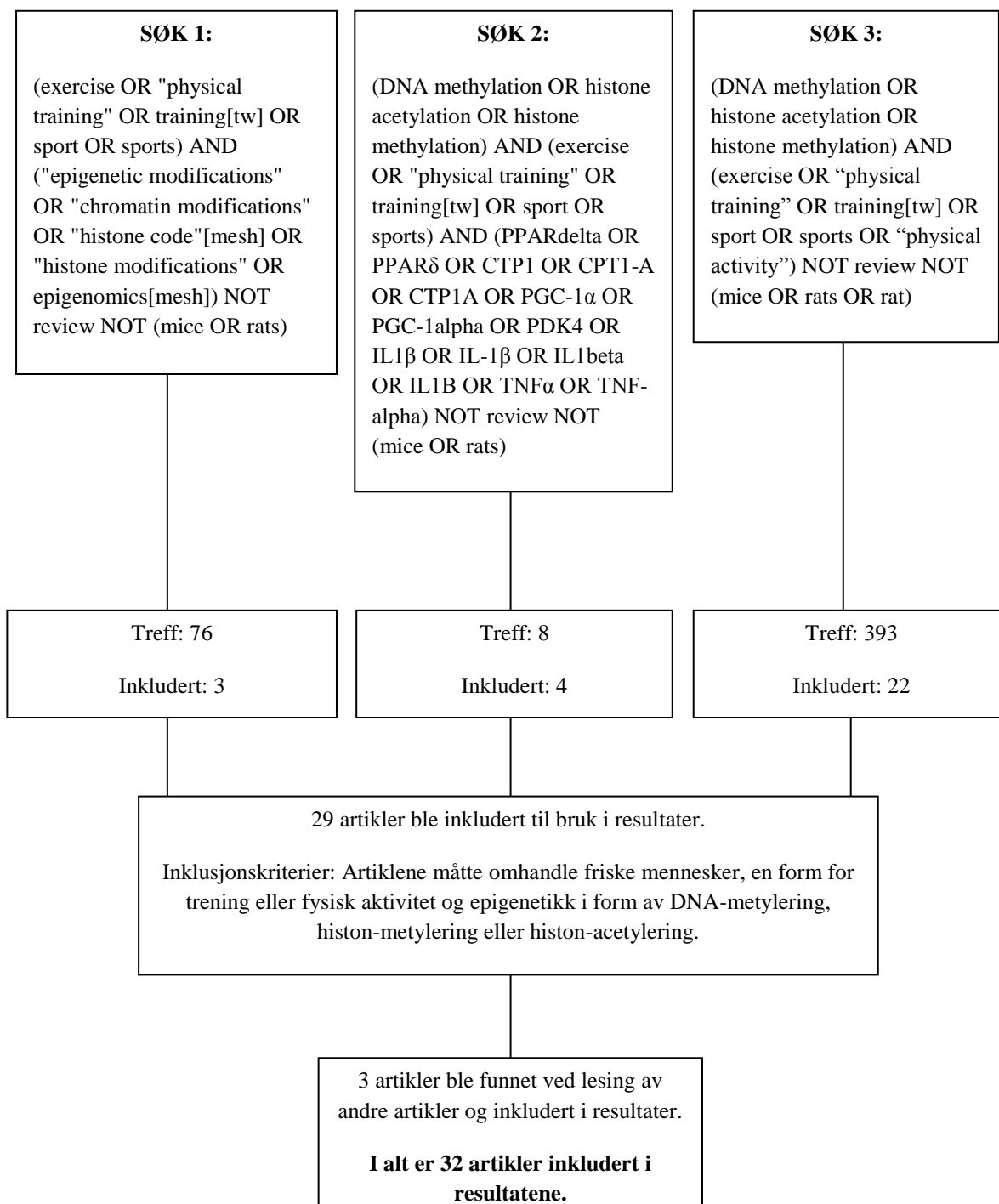
Genene TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6 og IL-8 har NF $\kappa$ B-RE (nukleus faktor kappa B responsivt element) i promotorregionen hvor transkripsjonsfaktorer, NF $\kappa$ B familien, kan binde seg og være med på å aktivere transkripsjonen. NF $\kappa$ B spiller derfor en viktig rolle i den immunologiske/inflammatoriske responsen ved å transkribere genprodukter involvert i aktivering av de initielle immuncellene, inflammasjon, vekst av dendritiske celler og aktivering av lymfocytter. Det ser ut til at NF $\kappa$ B kan reguleres ved interaksjon med inhibitorproteinene I $\kappa$ B (I kappa B) familien i cytoplasma. Aktivering av NF $\kappa$ B og transport inn i nukleus krever fosforylering av I $\kappa$ B induert av I $\kappa$ B kinaser (IKK-1 og IKK-2), noe som trigger ubiquitinerings- og deretter degradering av I $\kappa$ B i proteasomer (Baldwin, 1996; Sun & Ley, 2008). Aktiveringen kan initieres, ved aktivering av Toll-like reseptorer (TLR) og cytokin reseptorer, av cytokiner som TNF og IL1 eller lipopolysakkarider fra mikrober. TLRe og cytokin reseptorene kan videre stimulere IKK komplekset IKK1-IKK2-NEMO (NEMO: NF $\kappa$ B essensiell modulator) til å fosforylere I $\kappa$ B og dermed promotere I $\kappa$ B degradering (Sun & Ley, 2008). I kjernen kan NF $\kappa$ B dimerer binde seg til NF $\kappa$ B-RE i promotorregioner og være med på å aktivere transkripsjonen (Baldwin, 1996; Sun & Ley, 2008).

### 3. Metode

Denne litteraturstudien er basert på litteratursøk i databasen PubMed og gjennomgang av litteraturlister fra relevante artikler. Søk ble gjennomført som vist i figur 1. Den opprinnelige problemstillingen var å se på hvordan trening kan påvirke epigenetikk, i form av DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering, i gener som er relevante for metabolisme og inflammasjon hos friske mennesker. Etter å ha gjennomført søk 1 og 2 (se figur 1) ble det besluttet at søket måtte utvides siden det ble funnet svært få studier som har undersøkt epigenetikk i gener som er relevante for metabolismen og inflammasjon hos friske mennesker. Derfor ble søket utvidet til å

kunne svare på problemstillingen «Hvilke epigenetiske endringer, som DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering kan forekomme etter trening eller økt fysisk aktivitet? Hvordan kan resultater fra epigenetiske treningsintervensjon-studier gi større forståelse av treningseffekt på gener som er relevante for metabolismen og inflammasjon, som videre kan relateres til prestasjonsevne og bedre helse?». For å få med alle relevante studier ble også «physical activity» lagt til i søket (se figur 1, søk 3) for å få med alle studier som har sett på en form for trening eller fysisk aktivitet, DNA-metylering, histon-metylering og/eller histon-acetylering. Dette inklusjonskriteriet måtte etter hvert avgrensnes til å gjelde «friske mennesker» siden mange studier er basert på fysisk aktivitet, epigenetikk og sykdom. Dermed ble de endelige inklusjonskriteriene at artiklene skulle inneholde friske mennesker, en form for trening eller fysisk aktivitet og epigenetikk i form av DNA-metylering, histon-metylering eller histon-acetylering. Studier som inneholdt en blanding av friske og syke mennesker ble også inkludert i denne litteraturstudien hvis artiklene inneholdt resultater fra de friske forsøkspersonene.

Artiklenes relevans ble først vurdert ut i fra tittel og sammendrag, men mange artikler måtte vurderes ved å lese store deler av artikkelen for å finne ut om studien inneholdt de rette inklusjonskriteriene. Under lesing av relevante artikler ble litteraturlistene til artiklene også vurdert for å være sikker på at denne studien inneholder all relevant litteratur. Litteratursøket på PubMed ble utført våren 2018 og til sist oppdatert i perioden 23.10.2018-25.10.2018. I alt ble 29 artikler inkludert fra søk på databasen PubMed og 3 studier ble inkludert fra litteraturlister til relevante artikler. Til sammen er 32 artikler inkludert i resultater, tabell 1.



**Figur 1:** Oppsummering av litteratursøkene med antall treff på hvert søk og antall artikler inkludert fra hvert søk. De fleste artiklene ble ekskludert fordi de ikke inneholdt en form for trening eller fysisk aktivitet eller fordi de omhandlet kun syke forsøkspersoner.

I resultatdelen, resultater med kommentarer, har denne studien valgt å skrive litt om hver enkelt studie, med vurderinger eller kommentarer, siden det ikke forekommer noen studier som har undersøkt nøyaktig det samme. Alle studiene inneholder forskjeller i type forsøkspersoner (kjønn, alder, trent, utrent, stillesittende), forskjellig type trening eller fysisk aktivitet (utholdenhetstrening, styrketrening, varighet, intensitet), DNA fra forskjellig type vev og celler, studiene har brukt forskjellige analysemetoder i laboratoriearbeidet og de har vurdert forskjellige epigenetiske endringer. Derfor er hver enkelt studie vurdert hver for seg for å finne svar på problemstillingen «Hvilke epigenetiske endringer, som DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering kan forekomme etter trening eller økt fysisk aktivitet hos friske mennesker?». I diskusjonsdelen i denne studien vil resultatene bli brukt til å finne mere generelle svar på hvordan trening eller fysisk aktivitet kan være med på å endre friske menneskers DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering, og til å svare på problemstilling del to; «Hvordan kan resultater fra epigenetiske treningsintervensjonstudier gi større forståelse av treningseffekt på gener som er relevante for metabolismen og inflammasjon, som videre kan relateres til prestasjonsevne og bedre helse?»

## 4. Resultater

Til sammen ble det funnet 32 artikler med inklusjonskriteriene «friske mennesker, en form for trening eller fysisk aktivitet og epigenetikk i form av DNA-metylering, histon-metylering eller histon-acetylering». I tabell 1 er artiklene sortert i gruppene «akutt trening, DNA-metylering», «akutt trening, histon-acetylering», «treningsintervensjon, DNA-metylering» og «selvrapportering». Tabellen gir informasjon om studienes valg av populasjon, type aktivitet, målemetoder og resultater. For flere detaljer, vurderinger eller kommentarer til studiene se i avsnittet «resultater med kommentarer».

**Tabell 1:** Resultater; 32 studier. Alle studiene inneholder epigenetiske analyser, DNA-metylering eller histon-acetylering, av friske personer og fysisk aktivitet eller trening. Alle verdier for BMI er i  $\text{kg/m}^2$  og alle verdier for  $\text{VO}_{2\text{maks}}$  er i  $\text{ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ . Promotor metylering; PM, global metylering; GM. Pilene  $\uparrow$ ,  $\downarrow$ ,  $\updownarrow$  og  $\rightarrow$  betyr henholdsvis økt, redusert, endret og uendret.

Studie	Populasjon	Aktivitet	Måling	Resultater
<b>Akutt trening, DNA-metylering</b>				
Bajpeyi et al. (2017)	11 friske menn, $24 \pm 1$ år, BMI $23,2 \pm 0,5$ .	Ergometersykkel, 50 % av $\text{VO}_{2\text{maks}}$ , forbrukt 650 kcal.	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline og like etter treningen. Nukleosomposisjon; PCR. DNA-metylering ved -260 nt i PGC1 $\alpha$ ; pyrosekvensering.	$\downarrow$ <b>PM for PGC1<math>\alpha</math> ved -260 nt. -1N faseforflytter seg lengre oppstrøms fra TSS i PGC1<math>\alpha</math> etter trening.</b>
Barrès et al. (2012)	14 utrente og fiske menn/kvinner, $25 \pm 1$ år.	Ergometersykkel. 14 FP gjennomførte $\text{VO}_{2\text{maks}}$ test. 8 menn; to økter på med 1 uke hvile i mellom; økt1 40% og økt2 80% av $\text{VO}_{2\text{maks}}$ til forbrukt 1674kJ.	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline, 20 min etter $\text{VO}_{2\text{maks}}$ test, like etter og 3t etter økt1 og økt2. Global metylering; LUMA. Promotor metylering av utvalgte gener; MeDIP og qPCR.	$\downarrow$ <b>GM og <math>\downarrow</math>PM i genene PGC1-<math>\alpha</math>, TFAM, CS, PDK4 og PPAR<math>\delta</math> etter <math>\text{VO}_{2\text{maks}}</math> test.</b> $\rightarrow$ <b>PM for MEF2A, GAPDH og MYOD1 etter <math>\text{VO}_{2\text{maks}}</math> test.</b> $\downarrow$ <b>PM etter økt2 for genene PGC1-<math>\alpha</math>, TFAM, MEF2A og PDK4 like etter økta og for PPAR<math>\delta</math> 3t etter økta.</b>
Lane et al. (2015)	7 menn, trente syklist, $29 \pm 5$ år, $76,9 \pm 9,1$ kg, $\text{VO}_{2\text{maks}}$ $67 \pm 4$ , peak power output $422 \pm 39$ W.	Ergometersykkel. Alle 7 FP utførte to økter to ganger; en høyintensiv (8 X 5min intervaller) økt1 på kvelden og 120min (60% av $\text{VO}_{2\text{maks}}$ ) økt2 morgenen etter. To forskjellige dietter; mat etter økt1 og ikke mat etter økt1 (fastende).	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline, 2t etter økt1, like etter økt2, 4t etter økt2. DNA-metylering; bisulfitt sekvenseringsmetode, Qiagen Q24 Advanced Pyromark System, PCR for genene COX4I1, FABP3, PPAR $\delta$ .	$\uparrow$ <b>PM for genene COX4I1 og FABP3, mest ved 4t.</b> $\uparrow$ <b>PM for PPAR<math>\delta</math> kun etter fastende trening.</b>



Robson-Ansley et al. (2014)	8 friske menn, utholdenhets-trente, $25 \pm 4$ år, $VO_{2maks} 53 \pm 6$ .	Løp på tredemølle, 120 min ved 60% av $VO_{2maks}$ med 30s sprinter ved 90% av $VO_{2maks}$ hvert 10. min, påfølgende 5km løp så fort de kunne.	Blodprøver, mononukleære celler; baseline, like etter og 24t etter treningsøkta. Global DNA-metylering; Illumina 27k methylation beadchip platform, 27578 CpG dinukleotider; områder i promotorer, 5' og 3' regioner, CpG islands og shores, CpG områder utenfor CpG islands og områder assosiert med sykdom.	→GM i CpG områder hverken like etter eller 24t etter treningsøkta. <b>Sammenheng mellom treningsindusert økt IL-6 konsentrasjon og endret DNA-metylering i 11 gener; demetylering av IRAK3 og MGP.</b>
<b>Akutt trening, histon-acetylering</b>				
da Silveira et al. (2017)	18 friske menn, amatør konkurranseløpere; $38,61 \pm 6,36$ år, BMI $23,95 \pm 2,88$ . 8 friske, stillesittende menn.	18 konkurranseløpere: Løpskonkurranse, tidsbruk $48:23 \pm 5:13$ min.	Blodprøver, mononukleære celler; basal, før og like etter løpet. Global H4-acetylering; Global Histone H4 Acetylation Assay Kit.	→ global H4-acetylering etter løpet. → global H4-acetylering i basale prøver mellom gruppene.
Dorneles et al. (2017)	20 friske og fysisk aktive menn, 20-40 år. 10 slanke (BMI $22,28 \pm 1,91$ og $VO_{2maks} 42,15 \pm 5,49$ ) og 10 overvektige.	Skritte/steppe opp og ned, 60 ganger i minuttet (opp og ned på 1s), 30s hvile når rytmen ikke kan holdes. Holdt på helt til FP ikke klarer å steppe mer.	Blodprøver, mononukleære celler; før og like etter treningen. Global H4-acetylering; Global Histone H4 Acetylation Assay Kit.	→global H4-acetylering hos gruppa med slanke menn. ↑global H4-acetylering hos friske-overvektige menn etter treningen.
McGee et al. (2009)	9 friske menn, $23 \pm 1$ år, $75 \pm 6$ kg, $VO_{2maks} 41 \pm 3$ .	Ergometersykkel, 60 min, $76 \pm 2$ % av $VO_{2maks}$ . 12t faste før trening.	<i>Vastus lateralis</i> ; før og like etter trening. Mål av mengde global H3(K9/14/36) acetylering; Immunoblotting.	↑ global H3K36 acetylering (64 %). → global H3K9/14 acetylering.

Zimmer et al. (2014)	10 friske menn (n=7) og kvinner (n=3), 56,6 år i gj.sn. (26 kreftpasienter, men disse er sett bort fra.)	Ergometersykkel, 30 min, moderat intensitet (RPE skala: 13-14). 5 friske FP trente, 5 friske FP var kontroller.	Blodprøver, NK-celler og CD8 <sup>+</sup> T-lymfocytter; baseline og 30min etter trening. Global histon-acetylering i H3K9 og H4K5; paraformaldehydfiksering og immunocytokjemi.	<b>Tendens til ↑global H3K9 acetylering i DNA fra CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter etter treningen (P=0,075).</b> → global H4K5 acetylering.
Zimmer et al. (2015)	14 friske kvinner og menn (k=11, m=3), 50,86 ± 2,2 år, BMI 22,76 ± 0,59, VO <sub>2maks</sub> 43,76 ± 1,2. (14 kreftpasienter, men disse er sett bort fra.)	Halvmaraton løp. Løpstid: 1,92 ± 0,07 timer.	Blodprøver, NK-celler; før, 15 min etter og 24t etter løpet. Histon-acetylering i H4K5 og global DNA-metylering; immunocytokjemi.	<b>↑H4K5 acetylering; økte fra før løpet til 15 min etter løpet, og videre fra 15 min etter til 24t etter løpet.</b> →GM
<b>Treningsintervensjon, DNA-metylering</b>				
Boyne et al. (2018)	320 friske, inaktive kvinner etter overgangsalder. Treningsgruppe: n=122, 61,5 år i gj.sn., BMI 28,8 i gj.sn., VO <sub>2maks</sub> 26,8 i gj.sn. Kontrollgruppe: n=134.	1 år, aerobic trening. Intervensjonen startet med 15-20min ved 50-60% av VO <sub>2maks</sub> tre dager i uka, og økte progressivt til 45min ved 70-80% av VO <sub>2maks</sub> fem dager i uka. Sistnevnte forble treningen de siste 9 mnd. (Tre økter i uka ble overvåket.)	Blodprøver, leukocytter; baseline og etter 12 mnd. DNA-metylering; grad av LINE-1 og Alu metylering ved pyrosekvensering; HotStarTaq DNA Polymerase kit og PyroMark Q24. Metylering i promotorregionen til genene APC, BRCA1, RASSF1 og hTERT; Genome Quebec's SequenomR EpiTYPER platform og standard EpiPanel.	→GM og →PM mellom treningsgruppa og kontrollgruppa.
Denham et al. (2015a)	19 friske menn, 21,1 ± 2,7 år, BMI 23,9 ± 2,3, VO <sub>2maks</sub> 49,5 ± 4,7. 12 FP til DNA-metylering	4 uker, sprint intervalltrening, 3 dager i uka: Oppvarming med rolig løp og 20m hurtighetsdrag.	Blodprøver, leukocytter; før og etter treningsperioden. Genome-wide DNA-metylering;	↓GM ved mange CpG islands og promotorregioner. ↓GM for EGF og UNG.

Denham et al. (2015b)	<p>analyse.</p> <p>24 friske menn. Treningsgruppe (n=13, 24 ± 5,19 år, BMI 25,53 ± 3,34, VO<sub>2maks</sub> 47,43 ± 5,64). Kontrollgruppe (n=11).</p>	<p>3-8 (progressivt hver uke) sprinter med maks innsats i 30s, 4 min pause.</p> <p>3 måneder, 2 dager i uka, sprint intervalltrening: Oppvarming med rolig løp 5 min og 4x20m hurtighetsdrag. 3-6 (progressivt hver uke) sprinter med maks innsats i 30s, 4 min pause.</p>	<p>Infinium HumanMethylation450K BeadChip (Illumina, Australia). PCR for genene EGF og UNG.</p> <p>Sperm; før og etter treningsperioden. Global DNA-metylering ble analysert i sperm fra alle FP; ELISA Kit og standardkurver. Genome-wide DNA-metylering, CpG områder, ble analysert i sperm fra 12 FP før og etter treningsperioden; Infinium HumanMethylation 450K BeadChip.</p>	<p>↓GM i MIR21 og MIR210.</p> <p>↓Global DNA-metylering i treningsgruppa vs. kontrollgruppa etter treningsperioden.</p> <p>↑Genome-wide DNA-metylering i relasjon til nærmeste gen og CpG islands (7509 CpG områder relatert til 4602 gener).</p>
Denham et al. (2016)	<p>8 friske menn, moderat aktive, 21,1 ± 2,2 år, BMI 22,5 ± 2.</p>	<p>8 uker, styrketrening, 3 dager i uka, tre sett av 8-10 rep., 80% av 1RM, (knebøy, benkpress, benk trekk, markløft).</p>	<p>Blodprøver, leukocytter; før og etter treningsperioden. Genome-wide DNA-metylering; Infinium HumanMethylation450 BeadChip.</p>	<p>↑GM i områder med gener og CpG islands, i 57384 CpG områder. Av disse områdene hadde 28397 ↑GM og 28987 ↓GM. ↓GM i CpG områder for vekstfaktorgenene GHRH og FGF1. ↓ GM for IGF1R.</p>
Dimauro et al. (2016)	<p>10 friske menn og 10 friske kvinner, 72 ± 1 år. Gruppe som trente (5 menn, 5 kvinner), BMI 23 ± 2. Kontrollgruppe (5 menn, 5 kvinner), BMI 25 ± 1.</p>	<p>12 uker, 2 dager i uka. Lav frekvens – moderat intensitet – eksplosiv styrketrening, 70 % av 1RM, 3-4 sett, 10-12 repetisjoner.</p>	<p>Blodprøver; før og etter treningsperioden. Global DNA-metylering; Imprint Methylated DNA Quantification Kit MDQ1, basert på ELISAs prinsipp.</p>	<p>↓GM etter treningsperioden.</p>

Fabre et al. (2018)	15 friske og stillesittende menn, 22,9 ± 0,5 år, BMI 22,8 ± 0,6, VO <sub>2maks</sub> 46,88 ± 1,22.	To akutte treningsøkter, før og etter en treningsperiode på 6 uker. Akutte treningsøkter; VO <sub>2maks</sub> test på ergometersykkel og påfølgende 15 min ved 80% av VO <sub>2maks</sub> . 6 uker trening; 5 dager i uka, 45 min sykkel ved 75-85% av VO <sub>2maks</sub> .	Periumbilikal subkutant hvitt fettvev; basal, 20min, 1t og 4t etter akutte treningsøkter. Genome-wide DNA-metylering fra 9 FP: RRBS; bisulfitt sekvensering, ca 10 mill CpG områder.	↓GM i CpG områder for 580 gener etter akutt trening <sup>1</sup> og for 770 gener etter akutt trening <sup>2</sup> .
Ingerslev et al. (2018)	12 friske og stillesittende menn, 18-35 år, BMI gj.sn. 22,8, VO <sub>2maks</sub> gj.sn. 44,1.	6 uker, 5 dager i uka, 1t spinning ved 70% av makspuls (pulsmåler). Deretter 3 mnd uten trening.	Motile sædceller; baseline, etter 6 uker trening og etter 3 mnd uten trening. DNA-metylering; RRBS (1,4 mill. individuelle CpGer) og PCR.	↓GM i 330 CpG regioner etter treningen. ↓GM i 303 CpG regioner etter 3 mnd uten trening.
Lindholm et al. (2014)	23 (17 FP til DNA-metylering), stillesittende menn og kvinner, 27,0 ± 0,79 år, BMI 24,0 ± 0,8, VO <sub>2maks</sub> 39,0 ± 0,8.	Ett bens kneekstensjon, 3 måneder; 4 økter i uka, 45min. (Det andre benet ble brukt som intraindividuell kontroll.)	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline og 24t etter siste trening. Total mengde DNA-metylering (ved CCGG områder); LUMA. Genome-wide DNA-metylering; Infinium HumanMethylation450 BeadChip, bisulfitt behandlet DNA, bisulfitt pyrosekvensering.	↓GM ved 4919 CpG områder etter treningen. →Global cytosin metylering.
Lund et al. (2017)	18 friske og stillesittende menn, 40-62 år. To grupper; normal vekt (n=7, BMI <25) og overvektige (n=11, BMI ≥25).	12 uker, 4 dager i uka, ca. 60min; kombinert intervalltrening på spinningssykkel (2 dager) og fullkroppss styrketrening med 3	<i>Vastus lateralis</i> , myotuber; 2t etter VO <sub>2maks</sub> test både før og etter treningsperioden. Bisulfite behandlet DNA, PCR.	→PM i CpGer for genene PPARGC1A, PDK4, PPARD. ↓PM i 1 av 8 CpGer for TFAM. ↑EksonM i 1 av 3 CpGer for IRS1.

Masuki et al. (2017)	37 friske og fysisk aktive kvinner (trent gående intervaller i 6 mnd før studiestart), 66 ± 5 år.	sett i 8 øvelser (2 dager).  Gående intervalltrening (IWT), 5 måneder, 4 dager i uka, ≥ 5 sett av 3 min ≈ 40% av VO <sub>2maks</sub> + 3 min ≥ 70% av VO <sub>2maks</sub> , totalt > 15 min. Kalorimeter. Tre dietter: kun IWT, lav dose melkprod. inntak, høyere dose melkprod. inntak.	Primere for genene PDK4, PPARGC1A, PPARD, TFAM og IRS1; CpGer i promotorer og eksoner. Pyrosekvensering. (n=6 fra begge donorgrupper).  Blodprøver; før og etter treningsperioden. DNA-metylering i NFKB1 og NFKB2; pyrosekvensering, PCR. Genome-wide DNA-metylering: Infinium HumanMethylation450 BeadChip.	→ <b>PM for NFKB1 og NFKB2 hos de som kun trente.</b> ↑ <b>PM for NFKB1 og NFKB2 ved inntak av melkprod. etter treing.</b> ↓ <b>GM i CpG områder; større endring hos de som inntok melkprod.</b>
McEwen et al. (2018)	20 friske kvinner, etter overgangsalder. Intervensjon; n=12, 64,8 år i gj.sn., BMI 26,9 i gj.sn. Kontroll; n=8.	6 måneder, trening ved eget ansvar etter opplæring. Aktivitets monitor med skritteller.	Blodprøve, mononukleære celler; baseline og 6 mnd. DNA-metylering: Infinium HumanMethylation450 BeadChip, >485000 CpG områder.	↓ <b>GM i 39268 CpGer med ≥5% endring. Men de fant ingen signifikant assosiasjon mellom endret DNA-metylering og fysisk aktivitet.</b>
Nakajima et al. (2010)	Ung kontrollgruppe (19,4 ± 0,9 år, n=34), eldre kontrollgruppe (64,9 ± 7,4 år, n=153), eldre treningsgruppe (65,7 ± 7,4 år, n=230). I alt 142 friske menn og 294 friske kvinner.	6 måneder, 2 dager i uka, 26 min/dag; gående intervaller, 3 min ved 40%- og 3 min >70% av VO <sub>2maks</sub> . Akselerometer.	Blodprøver; etter 6 mnd. DNA-metylering av CpG islands; Bisulfitt genom sekvenserings metode. PCR og pyrosekvensering for genene ASC og p15.	↑ <b>GM i CpG islands for genet ASC hos eldre treningsgruppe vs eldre kontrollgruppe.</b> → <b>GM i CpG islands for genet p15.</b>

Nitert et al. (2012)	28 friske menn (15 med familie historie (FH <sup>+</sup> ) og 13 uten FH <sup>+</sup> med T2D), utrente. FH <sup>+</sup> : 37,5 ± 4 år, BMI 28,4 ± 2,8, VO <sub>2maks</sub> 32,0 ± 3,5. FH <sup>-</sup> : 37,5 ± 5,2 år, BMI 27,3 ± 3, VO <sub>2maks</sub> 33,0 ± 5,3.	6 måneder, 3 økter i uka, gruppetreninger; 1 økt med 1 t spinning og 2 økter med 1 t aerobic. Deltagelse: 44,3 ± 3,5 økter i gj.sn.	<i>Vastus lateralis</i> ; før og etter treningsperioden. DNA-metylering: MeDIP-Chip analyse, Single nucleotide polymorphism.	↓GM i CpG islands for 134 individuelle gener. ↓GM for genene RUNX1, MEF2A, THADA, NDUFC2. ↑GM for genene ADIPOR1, ADIPOR2, BDKRB2. ↓GM for IL-7.
Robinson et al. (2017)	45 unge(18-30 år) og 27 eldre (65-80 år), friske, menn og kvinner.	12 uker. FP ble delt i tre treningsgrupper: Høyintensiv aerob intervalltrening, styrketrening eller kombinert aerob intervalltrening og styrketrening.	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline og etter treningsperioden. CpG områder i promotorregioner; Infinium 450K array.	Små endringer, ↓GM <10%, i CpG områder i promotorregioner.
Rönn et al. (2013)	23 friske menn, utrente, 37,3 ± 4,4 år, BMI 28,2 ± 2,9, VO <sub>2maks</sub> 33,1 ± 4,6.	6 måneder, 3 økter i uka: 1t spinning og 2 x 1t aerobic med instruktør. Deltagelse på 1,8 økter/uke i gj.sn.	Subkutant fettvev fra lår; før og etter treningsperioden. Genome-wide DNA-metylering; Infinium HumanMethylation450 BeadChip. DNA-metylering: Pyrosequencing, PCR.	↓ GM i CpG områder for 7633 gener.
Seaborne et al. (2018)	8 friske menn, utrente, 27,6 ± 2,4 år.	Styrketrening. En akutt styrketreningsøkt på underkropp, påfølgende 7 uker styrketrening, trening1, (3 dager i uka, 60 min; 2 økter på underkropp og 1 økt på overkropp). Deretter 7 uker uten	<i>Vastus lateralis</i> ; baseline, etter akutt treningsøkt, etter 7 uker trening1, etter 7 uker uten trening og etter 7 uker trening2. Genome-wide DNA-metylering; Infinium MethylationEPIC	↑GM ved 17365 CpG områder etter trening1; ↓GM ved 9153, ↑GM ved 8212. Økt frekvens av ↑GM (27155) og ↓GM (18816) ved CpG områder etter trening2 enn etter trening1.

Zhang et al. (2015)	13 personer, 7 personer i gruppa som trente og som ble brukt i analyse av genome-wide metylering. 20 andre personer trente og ble brukt i analyse av DNA-metylering i NFκB2.	6 måneder, i alt over 40 dager: Gående intervaller; flere sett av 3 min ved 40%- og påfølgende 3 min >70% av VO <sub>2maks</sub> . Akselerometer.	trening. Påfølgende 7 uker styrketrening (trening2, som overfor).  BeadChip Illumina, 850000 CpG områder.  Blodprøver, leukocytter; før og etter treningen. Genome-wide DNA-metylering; Agilent Human CpG Island Array 244K (237000 oligonucleotide prober). DNA-metylering i promotoren til NFκB2; Pyrosekvensering, bisulfitt konvertert DNA, PCR.	↓GM i genene AXIN1, GRIK2, CAMK4, og TRAF1, som også holdt seg gjeldende igjennom perioden uten trening. Større ↓GM i genene UBR5, RPL35a, HEG1, PLA2G16 og SETD3 etter trening2 enn etter treing1. ↓GM ved 10284 CpG områder og ↑GM ved 7600 CpG områder etter akutt treningsøkt. ↓GM i genene GRIK2, TRAF1, BICC1 og STAG1 etter akutt treningsøkt.  ↑GM i over 40 gener. ↑PM ved CpG områder for NFκB2.
---------------------	--	---	--	--

<i>Selvrapportering</i>				
Bryan et al. (2013)	Baseline: 100 friske kvinner og menn (84% kvinner), 29,08 år i gj.sn., fysisk aktivitet gj.sn. 105,31 min/uka, gj.sn. VO <sub>2maks</sub> 33,13. Intervensjon: 64 friske kvinner og menn (82,8 % kvinner), 29,38 år i gj.sn.	Fysisk aktivitet og VO <sub>2maks</sub> ved baseline og etter 12 måneder. Spørreskjema: 7-Day Physical Activity Recall, PAR.	Celler fra spytt (buccal celler); baseline og etter 12 mnd. Kvantitativ DNA-metylering; Illumina Infinium Human Methylation27 BeadChip, (ca. 27578 CpG områder, i promotorregionen til 14475 kodende sekvenser). Bisulfitt konvertert DNA. Analysene ble utført på et utvalg av 45 CpG områder, i gener relatert til brystkreft.	↓ <b>GM hos personer som var bedre fysisk trent og hos personer som trente flere minutter i uka ved baseline.</b> ↓ <b>GM for personer som økte sin fysiske aktivitet i ant. min. over 12 mnd.</b>
Daniele et al. (2018)	32 utholdenhets-trente idrettsutøvere (20 menn, 12 kvinner), 41,4 ± 13,7 år, BMI 23,6 ± 1,6. 52 friske og stillesittende menn (20) og kvinner (32), 45,9 ± 14,3 år, BMI 24,2 ± 1,4.	Atletene ble hentet fra klinikken Sports Medicine Unit of the Department of Clinical and Experimental Medicine of the University of Pisa.	Blodprøver, DNA fra hele blodet; 1 gang. Metylering i CpG områder for genet SNCA, intron1; qRT-PCR.	↑ <b>SNCA metylering mellom atleter og stillesittende personer.</b>
Marques-Rocha et al. (2016)	156 friske og sunne kvinner og menn (91 k og 65 m), 23,1 ± 3,5 år, BMI 22,0 ± 2,9.	Mål av treningsvolum (MET), Compendium of Physical Activities.	Blodprøve, leukocytter; 1 gang. Methylation-sensitive high resolution melting analyse og RT-PCR for LINE-1 og gene IL-6 og TNF-α.	↑ <b>LINE-1 metylering (P &lt; 0,05) hos FP som deltok i sprotsaktiviteter.</b> ↑ <b>LINE-1 metylering assosierer med ↑ IL-6 - og ↑ TNF-α metylering.</b>



Luttrupp et al. (2013)	1016 friske kvinner og menn, 70 år. (509 deltagere til analyse.)	Selvrapportering om timer fysisk aktivitet i uka; lett eller svetteinduserende aktivitet.	Blodprøve, leukocytter; 1 gang. Genome-wide DNA CpG metylering; LUMA.	<b>Lavere fysisk aktivitet var assosiert med ↑GM.</b>
White et al. (2013)	647 hvite kvinner, 35-74 år (median 55 år), friske (men familiehistorie med brystkreft), mange var overvektige, høy utdannelse.	Telefonintervjuer. Fysisk aktivitet i timer per uke i tre tidsperioder: 5-12 år, 13-19 år og de siste 12 månedene.	Blodprøve, lymfocytter; 1 gang. Global DNA-metylering i LINE-1; bisulfitt konvertert DNA, PCR, pyrosekvensering.	<b>Kvinner med fysisk aktivitetsnivå ved- eller over medianen ved alle tre tidsperiodene hadde ↑GM i LINE-1.</b>
Zhang et al. (2011)	131 kvinner og menn, 45-75 år.	Mål av aktivitet i hverdagen med akselerometer (5 dager).	Blodprøve, leukocytter; 1 gang. Global DNA-metylering i LINE-1: Bisulfite konvertert DNA og RT-PCR (MethyLight).	<b>Fysisk aktivitet i 26-30 min/dag kan gi ↑GM i LINE-1 sammenlignet med fysisk aktivitet ≤10 min/dag (ikke signifikant etter justering for variabler).</b>

#### 4.0.1 Ordforklaringer til tabell

ADIPOR	adiponectin reseptor
APC	adenomatous polyposis coli
ASC	apoptose-assosiert speck-like protein som inneholder CARD
AXIN1	axin-1
BDKRB2	bradykinin reseptor B2
BICC1	bicC familie RNA bindende protein 1
BMI	kroppsmasseindeks
BRCA1	bryst kreft gen 1
CAMK4	kalsium/calmodulin-avhengig protein kinase type IV
CARD	caspase-rekruterende domene
COX4I1	cytokrom c oksidase enhet 4 isoform1
CS	citrate syntase
EGF	epidermal vekstfaktor
FABP3	fettsyre bindende protein 3
FGF1	fibroblast vekst faktor 1
FP	forsøksperson
GAPDH	glyceraldehyd-3-fosfat dehydrogenase
GHRH	vekst hormon–releasing hormone
GM	global metylering
GRIK2	glutamat ionotropisk reseptor kainate type subunit 2
HEG1	hjerte utvikling protein med EGF liknende domene 1
hTERT	menneskelig telomerase revers transkriptase

IGF1R	insulin-liknende vekst faktor 1 reseptor
IRAK3	interleukin 1 reseptor assosiert kinase 3
IRS1	insulin reseptor substrat 1
LUMA	luminometric metylerings-metode; metode for å finne global metylering i cytosinene i alle CCGG i genomet
MeDIP	metylert DNA immunopresipitering
MEF2A	myocyte enhancer faktor 2A
MGP	matriks gla protein
MIR21	mikroRNA-21
MIR210	mikroRNA-210
NDUFC2	NADH: ubiquinone oxidoreductase subunit C2
NK-celler	naturlig drepe celler
nt	nukleotid
PCR	polymerase kjede-reaksjon
PLA2G16	fosfolipase A2 gruppe XVI
PM	promotormetylering
PPARGC1A	peroksisom proliferator-aktivert reseptor gamma koaktivator 1- $\alpha$
qPCR	kvantitativ PCR
qRT-PCR	kvantitativ real time PCR
RASSF1	ras assosiasjon domen familie medlem 1
RPE skala	“rated perceived exertion” skala
RPL35a	ribosomal protein L35a
RRBS	reduisert representasjon bisulfitt sekvensering

RT-PCR	real time PCR
RUNX1	runt-relatert transkripsjons faktor 1
SETD3	SET domain containing 3
SNCA	synuklein alfa
STAG1	stromal antigen 1
THADA	tyroid adenoma-assosiert protein
TFAM	transkripsjonsfaktor A, mitokondrier
TRAF1	TNF reseptor assosiert faktor 1
TSS	transkripsjons start sted
UBR5	ubiquitin protein ligase E3 komponent N-recognin 5
UNG	uracil DNA glykosylase
VO <sub>2maks</sub>	maksimalt oksygenopptak
-1N	det første nukleosomet lokalisert oppstrøms for TSS

## **4.1 Resultater med kommentarer**

I tabell 1 kommer det klart frem at både akutt trening, en treningsperiode eller økt fysisk aktivitet i hverdagen kan påvirke DNA-metylering. Akutt trening ser også ut til å kunne påvirke histon-acetylering. Så godt som denne studien kan undersøke dagens litteratur finnes det ingen studier, innen 25.10.2018, som har undersøkt effekten av hverken akutt trening eller en lengre treningsperiode på histon-metylering hos friske forsøkspersoner. Men det forekommer fem studier som har undersøkt effekten av akutt trening på global histon-acetylering.

Det er stor variasjon i funnene; noen studier finner små endringer, noen studier finner større endringer og noen studier finner ingen endringer. Dette skyldes sannsynligvis variasjonen mellom studiene i valg av forsøkspersoner (trente, utrente eller stillesittende), forsøkspersonenes alder, treningsmetoder (valg av aktivitet, varighet og intensitet), analyse av DNA fra forskjellige vev og celletyper og forskjellige valg av analysemetoder i laboratoriearbeidet. Noen studier har undersøkt epigenetiske endringer i spesifikke gener eller promotorer til gener, mens andre studier har undersøkt globale epigenetiske endringer, som igjen kan gi mer eller mindre spesifikke svar ut i fra metodevalg. De fleste studiene har funnet epigenetiske endringer som følge av trening selv om de har brukt forskjellige metoder. Dette kan bety at trening eller fysisk aktivitet har evnen til å stille nye krav til kroppen, og at man kan finne resultater av denne tilpasningen i form av endret DNA-metylering og/eller histon-acetylering hos forsøkspersonene. Mangel på funn kan skyldes at det har forekommet andre epigenetiske endringer enn de som er blitt undersøkt i studiene, eller det kan tenkes at studiene har lett etter epigenetiske endringer på «feil sted».

### **4.1.1 Akutt trening, DNA-metylering**

Kun fire studier undersøker akutt trening og DNA-metylering hos friske mennesker. Det kommer tydelig fram fra tre av studiene at akutt trening kan føre til endret global metylering og/eller promotormetylering i gener som er relevante for metabolismen (Bajpeyi et al., 2017; Barrès et al., 2012; Lane et al., 2015).

Bajpeyi et al. (2017) kjørte PCR med primere for -800 nt (nucleotide) til -100 nt oppstrøms for TSS for genet PGC1 $\alpha$  med mål om å treffe -260 nt. Bakgrunnen for dette var en teori om at det første nukleosomet lokalisert oppstrøms for TSS, -1N, kan faseforflytte seg i respons til en akutt treningsøkt. -1N spiller en viktig rolle i å regulere genespresjonen, og -1N kan være regulert epigenetisk. De fant at en akutt treningsøkt

på ergometersykkel kan faseforflytte -1N lenger oppstrøms fra TSS, fra mellom -350- til -190 nt før trening til mellom -500- til -300 nt etter trening. Men denne faseforflyttingen fant kun sted hos individer som de kaller for «high responders» for trening. «High responders» viste signifikant økning i PGC1 $\alpha$  genekspressjon og signifikant nedgang i metylering ved -260 nt i PGC1 $\alpha$  i forhold til «low responders». Studien viste også signifikant positiv korrelasjon mellom PGC1 $\alpha$  genekspressjon og -1N posisjonering lengre oppstrøms, bort fra -260 nt. Dette kan bety at treningsindusert reposisjonering av -1N bort fra -260 nt og nedgang i metylering ved -260 nt kan føre til økt PGC1 $\alpha$  ekspressjon (Bajpeyi et al., 2017).

Barrès et al. (2012) undersøkte om DNA-metylering kan spille en rolle i treningsindusert genekspressjon etter tre forskjellige akutte treningsøkter, og fant at metylering av hele genomet var redusert i muskelbiopsier fra friske og utrente menn og kvinner etter en akutt VO<sub>2maks</sub> test. Treningsøkta så ut til å gi en markant hypometylering i DNA fra gener relatert til energimetabolisme, og redusert metylering i promotoren til genene PGC1- $\alpha$ , TFAM, CS, PKD4 og PPAR $\delta$ . VO<sub>2maks</sub>-testen ga derimot ingen endring i promotormetylering for de muskelspesifikke transkripsjonsfaktorene MEF2A, MYOD1 og GAPDH. Høy-intensiv trening, 80 % av VO<sub>2maks</sub>, viste markant redusert metylering av promotorer for PGC1- $\alpha$ , TFAM, MEF2A, PKD4 og PPAR $\delta$ . Denne reduserte metyleringen kunne de finne igjen i korresponderende økning i mRNA ekspressjonen for disse genene. Treningsøkta som ble gjennomført med en intensitet tilsvarende 40 % av VO<sub>2maks</sub> ga ikke de samme epigenetiske endringene. Dette tyder på at hypometylering kan være en tidlig endring i genekspressjonen etter høyintensiv trening (Barrès et al., 2012).

Lane et al. (2015) ønsket å undersøke hvordan det å sove med redusert tilgang på karbohydrater (fastende) etter en høyintensiv økt kunne påvirke treningsresponsen etter en påfølgende to timer lang treningsøkt på ergometersykkel dagen etter hos trente syklister. De fant økt promotor metylering ved genet PPAR $\delta$  kun etter fastende trening, mens promotor metylering for genene COX4I1 (cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1) og FABP3 (fatty acid binding protein 3) økte etter treningen med begge diettene (ikke fastende og fastende). Sykkel øktene førte også til økt PGC1 $\alpha$  mRNA og PDK4 mRNA etter begge øktene, men PDK4 mRNA økte i større grad etter fastende trening. (Lane et al., 2015). Det kan se ut til at trening med redusert tilgang på

karbohydrater kan føre til et større krav til fettforbrenning i muskelvevet og dermed økt promotormetylering i PPAR $\delta$  og økt PDK4 mRNA nivå.

Robson-Ansley et al. (2014) undersøkte hvordan en høyintensiv treningsøkt på tredemølle kunne påvirke global DNA-metylering i mononukleære celler og IL-6 konsentrasjon hos utholdenhetstrete menn. De fant ingen endring i global DNA-metylering ved CpG områder (27578 CpG dinukleotider) hverken like etter- eller 24t etter treningsøkta. De fant derimot sammenheng mellom treningsindusert økt IL-6 konsentrasjon og endret DNA-metylering i 11 individuelle gener i blodprøver tatt like etter treningsøkta. Denne sammenhengen fant de mellom demetylering av IRAK3, demetylering av MGP og IL-6 konsentrasjonen. Disse endringene i DNA-metylering og økt IL-6 konsentrasjon returnerte til utgangsverdier etter 24t. Det kan altså se ut til at endringer i DNA-metylering kan ha en regulerende rolle i IL-6 konsentrasjon etter en akutt og intensiv treningsøkt. Men det er uklart om endringene i DNA-metylering er med på å regulere IL-6 produksjonen eller om det er endret IL-6 konsentrasjon som kan endre metylering i promotorer for enkelte gener (Robson-Ansley et al., 2014).

To av disse fire studiene har altså undersøkt endring i DNA-metylering hos trente menn (Lane et al., 2015; Robson-Ansley et al., 2014), og to av studiene har gjort undersøkelsene i DNA fra utrente forsøkspersoner (Bajpeyi et al., 2017; Barrès et al., 2012). Tre av studiene fant endringer i enten global metylering eller promotormetylering, men studien til Robson-Ansley et al. (2014) fant ingen signifikant endring i global DNA-metylering. Dette kan muligens skyldes at de undersøkte global DNA-metylering i DNA fra mononukleære celler hos trente personer, og at trente personer kan ha varige epigenetiske endringer i genomet som fører til at de ikke responderer på akutt trening i samme grad som utrente personer. Studien til Lane et al. (2015) undersøkte også trente menn, men de gjennomførte to akutte treningsøkter på kort tid og analyse av promotormetylering i DNA fra vastus lateralis. Dette kan muligens føre til større stress i muskelvevet, enn i mononukleære celler, og dermed akutt epigenetisk treningsrespons i promotoren til gener som er relevante for metabolismen.

#### **4.1.2 Akutt trening, histon-acetylering**

Fem studier har undersøkt effekten av akutt trening på global histon-acetylering, men det forekommer ingen studier som har sett på histon-acetylering i spesifikke gener. Fire

av de fem studiene som har undersøkt global histon-acetylering har funnet at akutt trening kan føre til endringer, eller en tendens til endringer, mens et av studiene finner ingen endring. Forskjellige resultater fra disse studiene kan skyldes forskjellige valg av forsøkspersoner; trente, stillesittende eller friske -og overvektige forsøkspersoner, valg av intensitet og varighet i treningen, valg av celletype/vevstype og/eller valg av mer eller mindre spesifikke analysemetoder. Tre av studiene har undersøkt global acetylering ved spesifikke lysin sidekjeder, mens to av studiene har undersøkt mer generell global H4-acetylering (se tabell 1 og nedenfor).

da Silveira et al. (2017) undersøkte om en akutt løpskonkurranse kan påvirke global H4-acetylering i DNA fra mononukleære celler fra godt trente menn. De fant ingen endring i global H4-acetylering etter løpet. Dette tyder på at H4-acetylering kan være en epigenetisk markør som ikke endrer seg i respons på en akutt treningsøkt hos trente personer. I samme studien undersøkte de om det kan være forskjell i global H4-acetylering, i basale prøver, i mellom gruppa med godt trente menn og en gruppe med stillesittende menn, men de fant ingen forskjell mellom gruppene.

Dorneles et al. (2017) undersøkte hvordan en akutt treningsøkt kan påvirke global H4-acetylering i mononukleære celler, og fant ingen endring i global H4-acetylering hos friske, slanke og fysisk aktive menn. De fant derimot økt global H4-acetylering og reduksjon i HDAC2 aktivitet etter treningen i gruppa med friske -og overvektige menn (Dorneles et al., 2017). Det kan altså se ut til at overvekt kan påvirke global H4-acetylering i mononukleære celler.

McGee et al. (2009) fant at akutt trening kan føre til globale histon modifiseringer i kromatinet i skjelettmuskulaturen, som er assosiert med aktivering av transkripsjon i de involverte genene. De viste en 64 % økning i global H3 acetylering ved lysin 36 etter en 60 minutter lang treningsøkt på sykkel, og slik acetylering er assosiert med forlengelse av transkripsjonen. De fant derimot ingen endring i global H3 acetylering ved lysin 9 og 14, som er assosiert med initiering av transkripsjon.

Zimmer et al. (2014) undersøkte om akutt moderat trening i 30 min kan påvirke global histon-acetylering i H3K9 og H4K5 i DNA fra NK-celler (natural killer cells) og CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter. Acetylering i H3K9 og H4K5 er assosiert med aktivering av transkripsjon. De fant en tendens til økt global acetylering i H3K9 i DNA fra CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter etter treningen, men ingen endring i global H4K5 acetylering.



Zimmer et al. (2015) undersøkte effekten av et halvmaraton løp på histon-acetylering i H4K5 og global DNA-metylering i DNA fra NK-celler. De fant at H4K5 acetylering økte fra før løpet til 15 min etter løpet og videre fra 15 min etter løpet til 24t etter løpet. Dette tyder på at histon-acetylering i NK-celler kan påvirkes direkte av ett konkurranse langdistanseløp, og at NK-celler kan aktiveres ved epigenetiske modifikasjoner. Dette stemmer også overens med at den økte acetyleringen i H4K5 i DNA fra NK-celler var assosiert med økt ekspresjon av NKG2D 24 timer etter løpet. NKG2D er en reseptor på NK-celler som kan oppdage fremmede celler, som kreftceller. De fant derimot ingen endring i global DNA-metylering etter løpet (Zimmer et al., 2015).

Det kan se ut til at valg av analysemetode kan påvirke resultatene fra studiene, og at studier som har undersøkt histon-acetylering ved spesifikke lysin sidekjer, som H3K36 og H4K5, kan finne økt acetylering etter en akutt treningsøkt (McGee et al., 2009; Zimmer et al., 2015). Men til tross for lik analysemetode er resultatene mellom studiene varierende, hvor Zimmer et al. (2014) ikke finner endring i H4K5 acetylering, mens Zimmer et al. (2015) finner økt H4K5 acetylering etter akutt trening. Dermed kan også andre variabler i valg av metoder spille en rolle i hvilke resultater studiene finner, som intensiteten på treningen. Zimmer et al. (2014) har undersøkt H4K5 acetylering etter en treningsøkt med moderat intensitet, mens Zimmer et al. (2015) har undersøkt H4K5 acetylering etter at forsøkspersonene har løpt halvmaraton. Det kan altså se ut til at høyere intensitet kan føre til større krav til epigenetiske endringer, som H4K5 acetylering. Det er også påfallende at det kan se ut til at studier som har sett på effekt av akutt trening hos stillesittende eller friske-overvektige forsøkspersoner finner større endringer i histon-acetylering (Dorneles et al., 2017; McGee et al., 2009; Zimmer et al., 2015) enn de studiene som har undersøkt effekt av akutt trening på histon-acetylering hos slanke, fysisk aktive og/eller trente forsøkspersoner (da Silveira et al., 2017; Dorneles et al., 2017). Det kan altså tenkes at trente personer har vedvarende epigenetiske mønstre i genomet og at de derfor ikke responderer på en akutt treningsøkt i samme grad som utrente personer.

#### **4.1.3 Akutt trening, trente -og utrente forsøkspersoner**

Tendensen til at trente personer muligens har vedvarende epigenetiske endringer i genomet, og som derfor ikke blir påvirket av en akutt treningsøkt i samme grad som utrente personer, er vist i tabell 2 og tabell 3. Disse tabellene illustrerer også at valg av

intensitet og varighet på treningen og/eller valg av type celler/vev kan påvirke resultatene.

**Tabell 2:** Akutt trening, trente personer, intensitet, vev/celletype og epigenetiske endringer.

Studie	Intensitet	Vev/celletype	Resultater
Lane et al. (2015)	Høy og middels, 120 min	Vastus lateralis	↑PM
Robson-Ansley et al. (2014)	Høy og middels, 120 min	Mononukleære celler	→GM
da Silveira et al. (2017)	Høy, ca. 50 min	Mononukleære celler	→ global H4-acetylering
Dorneles et al. (2017)	Høy, kort	Mononukleære celler	→global H4-acetylering

**Tabell 3:** Akutt trening, utrente personer, intensitet, vev/celletype og epigenetiske endringer.

Studie	Intensitet	Vev/celletype	Resultater
Bajpeyi et al. (2017)	Lav	Vastus lateralis	↓PM
Barrès et al. (2012)	Høy	Vastus lateralis	↓GM, ↓PM, →PM
	Lav		→ PM
Dorneles et al. (2017)	Høy, kort	Mononukleære celler	↑ global H4-acetylering
Fabre et al. (2018)	Høy	Periumbilikalt subkutant hvitt fettvev	↓GM
McGee et al. (2009)	Middels/høy, 60 min	Vastus lateralis	↑H3K35, →H3K9/14 acetylering
Seaborne et al. (2018)	Lav/moderat, styrketrening	Vastus lateralis	↓GM
Zimmer et al. (2014)	Moderat, 30 min	NK-celler og CD8 <sup>+</sup> T-lymfocytter	Tendens til ↑H3K9, →H4K5 acetylering
Zimmer et al. (2015)	Høy, ca 115 min	NK-celler	↑H4K5 acetylering, →GM

I tabell 2, som oppsummerer alle studier som har sett på effekten av akutt trening på epigenetikk hos trente forsøkspersoner, er det kun studien til Lane et al. (2015) som finner endringer i form av økt promotormetylering i gener som er relevante for metabolismen. Studien til Lane et al. (2015) er også det eneste studiet som har sett på epigenetiske endringer i muskelvev, *musculus vastus lateralis*, hos trente personer etter akutt trening. Treningen var også av høy intensitet, og bestod av to økter innen et kort tidsrom, noe som kan ha ført til stort stress i muskelvevet som ble undersøkt. Det kan altså se ut til at man kan finne akutte epigenetiske endringer i muskelvev, i gener som er relevante for metabolismen, hos trente forsøkspersoner etter akutt -og høyintensiv

trening. Det kan videre tenkes at epigenetiske endringer er mer stabile eller vedvarende i mononukleære celler hos trente personer (se tabell 2).

Tabell 3 oppsummerer alle studier som har sett på effekten av akutt trening på epigenetiske endringer hos utrente forsøkspersoner. I denne tabellen er også deler av studiene til Fabre et al. (2018) og Seaborne et al. (2018), fra tabell 1, treningsintervensjon, tatt med siden disse studiene har sett på effekten av akutt trening i forkant av en lengre treningsperiode (se tabell 1, treningsintervensjon, DNA-metylering). Det kommer klart frem av tabell 3 at akutt trening kan føre til epigenetiske endringer hos utrente forsøkspersoner i DNA fra blodprøver, fettvev og muskelvev. Det er kun studien til Zimmer et al. (2014) som ikke finner signifikante endringer, men kun en tendens til økt global H3K9 acetylering. Dette kan skyldes at treningen i studien var av moderat intensitet i kun 30 minutter, noe som kan være for lite stimuli til at kroppen har behov for å tilpasse seg til endrede krav. Det samme finner man igjen i studien til Barrès et al. (2012), som fant ingen signifikante epigenetiske endringer etter en treningsøkt som ble utført med en intensitet på 40 % av  $VO_{2maks}$ . Men de fant derimot endringer i både global metylering og promotormetylering etter høyintensiv trening (Barrès et al., 2012). Derimot fant Bajpeyi et al. (2017) redusert promotormetylering for PGC1 $\alpha$  ved -260 nt etter en treningsøkt med lav intensitet, i DNA fra *vastus lateralis*, hos utrente menn. Men det kan tenkes at muskelvev trenger lite stimuli for å få behov for økt transkripsjon av PGC1 $\alpha$ , som er viktig i energimetabolismen i muskelvev (Bajpeyi et al., 2017). Det kan altså se ut til at man kan finne epigenetiske endringer i form av global metylering, promotormetylering og global histon-acetylering, i DNA fra blodprøver, fettvev og muskelvev, hos utrente forsøkspersoner etter en akutt treningsøkt med høy intensitet. Men man kan også finne epigenetiske endringer etter akutt trening med lav og moderat intensitet hos utrente forsøkspersoner (se tabell 3).

#### **4.1.4 Treningsintervensjon, DNA-metylering**

Av studiene som har sett på endringer i DNA-metylering etter en treningsperiode beskriver nesten alle studiene endringer, og det er kun to studier som ikke viser noen endring. I alt er det 15 studier som har funnet endringer i DNA-metylering, og i disse studiene er det undersøkt DNA-metylering i forskjellige celler og vev, det er utført forskjellige treningsintervensjoner og det er benyttet forskjellige analysemetoder i lab-arbeidet. Det kan dermed tenkes at en lengre treningsperiode eller en periode med økt fysisk aktivitet fører til endrede krav som man kan finne igjen som endret DNA-

metylering. De to studiene som ikke har funnet noen endring i DNA-metylering etter treningsperioden kan ha utført treningen med for lav intensitet (McEwen et al., 2018), eventuelt er DNA-metylering i promotorregionen til de undersøkte genene nøye regulert hos friske individer og påvirkes dermed ikke av en treningsperiode (Boyne et al., 2018). Det er også mulig at mangel på funn kan skyldes at det er andre epigenetiske endringer, som histon modifiseringer, eller andre reguleringsmekanismer for transkripsjon, som små noncoding RNA molekyler og/eller endret aktivitet til transkripsjonsfaktorer (Denham, O'Brien, Marques & Charhar, 2015a; Fabre et al., 2018).

Nedenfor er alle studiene vurdert med refleksjoner og/eller kommentarer for hvert enkelt studie. For en mer sammenfattet vurdering av funnene for trening og DNA-metylering se i diskusjonsdelen.

Boyne et al. (2018) undersøkte hvordan ett år med aerobic trening kan påvirke DNA-metylering, i DNA fra leukocytter, i LINE-1 og Alu, og DNA-metylering i promotorregionen til genene APC, BRCA1, RASSF1 og hTERT. De fant ingen signifikant forskjell i DNA-metylering mellom treningsgruppa og kontrollgruppa etter å ha justert for baseline metylering. Gjennomsnittlig forskjell i prosent metylering i mellom gruppene var mindre enn 0,5 % for alle utfall. Funnene av ingen endring i DNA-metylering i promotorregionen til genene kan bety at DNA-metylering i disse genene er nøye regulert hos friske individer og ikke påvirkes av kortere stimuli fra omgivelsene (Boyne et al., 2018).

Denham et al. (2015a) demonstrerte at sprint intervalltrening kan endre DNA-metylering i gener som koder for microRNA og i gener som er assosiert med kardiovaskulær fysiologi hos friske, unge menn (18-24 år). Fire uker med sprint intervalltrening, tre dager i uka, viste redusert genom metylering ved mange CpG islands og promotorregioner. Demetylering av promotorregionen til UNG resulterte i økt mRNA ekspresjon. Derimot førte redusert genom metylering i genet for vekstfaktoren EGF til redusert mRNA ekspresjon, noe som kan bety at andre reguleringsmekanismer for transkripsjon har funne sted, som histon modifiseringer, små ikke-kodende RNA molekyler og/eller aktiviteten til transkripsjonsfaktorer. De fant også endret DNA-metylering i gener som koder for mikroRNAene miR-21 og miR-210, som er involvert i kardiovaskulær funksjon. Generelt fant de endret DNA-metylering i hele genomet fra leukocytene i relasjon til promotorer, «gen bodies» og CpG islands.

Treningen induerte endringer i DNA-metylering fra 0,1- 62,8 % ved 205987 CpG områder. 81575 CpG områder fikk mer metylering, mens 124411 CpG områder ble demetylert (Denham et al., 2015a).

Denham, O'Brien, Harvey & Charchar (2015b) viste at sprint intervalltrening, 2 dager i uka i 3 måneder, kan endre både global- og genome-wide DNA-metylering i spermier. De fant at global metylering i DNA fra spermier ble signifikant demetylert etter treningsperioden hos treningsgruppa vs. kontrollgruppa. Genome-wide DNA-metylering før og etter treningsperioden hos treningsgruppa viste endret DNA-metylering ved 7509 CpG områder, som var relatert til 4602 gener. Blant disse genene med endret CpG metylering var gener som koder for prosesser relatert til utvikling, embryo morfologi og organutvikling, og for gener relatert til MAPK signalveger, PI3K-Akt signalveger, kreftsykdommer og ErbB signalveger. De fant også økt CpG metylering i gener relatert til sykdommer som schizofreni, parkinson's, autisme, kreftsykdommer og leukemi. Dette kan bety at trening kan induere økt DNA-metylering av sykdomsgener og dermed redusert transkripsjon av disse i DNA fra spermier. I tillegg fant de imprintede gener; IGF2, INS-IGF2, SGCE, GABRG3, og imprintede gener relatert til neurologiske- og kardiometabolske sykdommer, med differensiert metylering i CpG områder etter treningsperioden (Denham et al., 2015b).

Denham, Marques, Bruns, O'Brien & Charchar (2016) var de første til å vise hvordan en styrketreningsperiode kan føre til endret genome-wide DNA-metylering i leukocytter. De fant at 8 uker med styrketrening hos unge menn ( $21,1 \pm 2,2$  år) kan endre DNA-metylering i områder med gener og CpG islands, og de kunne finne endring i DNA-metylering i gener som er relatert til utvikling av axoner, diabetes og immunsystemet. I alt fant de 57384 områder med endret genom metylering som var relatert til gener og CpG islands. Blant disse områdene viste 28397 områder økt genom metylering og 28987 områder viste redusert genom metylering. De fant også redusert genom metylering i CpG områder for vekstfaktorene GHRH og FGF1 og samsvarende differensiert mRNA ekspresjon for disse genene. Vekstfaktoren IGF1R viste endret genom metylering etter styrketreningsperioden (Denham et al., 2016).

Dimauro et al. (2016) fant at 12 uker med styrketrening hos eldre kvinner og menn ( $72 \pm 1$  år) kan føre til redusert global DNA-metylering. Det er kjent at en stillesittende hverdag og høyere alder er relatert til epigenetiske endringer, som DNA-metylering,

som igjen kan føre til aldringsrelaterte sykdommer (Dimauro et al., 2016). En reduksjon i global DNA-metylering hos eldre mennesker som følge av trening kan sannsynligvis føre til bedre helse ved økt transkripsjon av de involverte genene.

Fabre et al. (2018) undersøkte hvordan DNA-metylering i subkutant hvitt fettvev responderer på to akutte treningsøkter før og etter en treningsperiode på 6 uker (se også tabell 3). De fant differensiert DNA metylering i CpG områder for 580 gener etter den første akutte treningsøkta og for 770 gener etter akutt treningsøkt utført etter treningsperioden. Derimot fant de at ekspresjonen av gener etter de to akutte treningsøktene viste større endringer etter den første akutte treningsøkta; 3882 gener mot kun 349 gener etter akutt treningsøkt nummer to. Dette kan bety at remodelering av DNA-metylering er mer involvert i langtidsendringer etter en treningsperiode, og at akutt endret ekspresjonen av gener etter en akutt treningsøkt ikke er relatert til DNA-metylering i fettvev (Fabre et al., 2018). Det kan tenkes at andre reguleringsmekanismer for transkripsjon har funnet sted etter den første akutte treningsøkta, som epigenetiske endringer i histoner eller endringer i andre signalveger som påvirker aktiviteten til transkripsjonsfaktorer.

Ingerslev et al. (2018) undersøkte om DNA-metylering i bevegelige sædceller kan endre seg etter en treningsperiode på 6 uker og om disse endringene kan vedvare i 3 måneder etter treningsperioden. De fant 330 regioner med differensiert CpG metylering etter treningsperioden, og 303 regioner med differensiert CpG metylering etter tre måneder uten trening. Endringene i metylering var hovedsakelig i nærheten av TSS, noe som betyr at endringene kan påvirke initering av transkripsjon. Mange av genene med endret DNA-metylering viste seg å være relatert til neurologisk utvikling og funksjon. Dette betyr at kort tid med utholdenhetstrening kan indusere remodelering i epigenomet til sædceller, og at stress fra omgivelsene kan føre til epigenetiske endringer som kan være relatert til utviklingen av sentralnervesystemet (Ingerslev et al., 2018).

Lindholm et al. (2014) undersøkte hvordan 3 måneder med ett bens kneekstensjonstrening kan endre total mengde DNA-metylering (LUMA) og genome-wide DNA-metylering i DNA fra *vastus lateralis*. Utholdenhetstreningen induserte signifikant endret metylering ved 4919 CpG områder i genomet og differensiert ekspresjon av 4076 gener. Differensiert metylerte områder så ut til være lokalisert utenfor CpG islands/shelves/shores. De fant anrikelse av differensierte metylerte

områder i gene bodies og intergenic regioner, og færre endringer i promotorer. De fant signifikant differensiert metylering i enhancere. Over 600 CpG områder korrelerte med økt citrat syntese aktivitet, som er et objektivt mål på treningsresponsen. LUMA viste ingen endring i global cytosin metylering etter treningen, og dette stemte overens med at det var omtrent like mange områder som fikk økt og redusert metylering etter treningen. Områder med økt metylering var hovedsakelig assosiert med strukturell remodelering av muskel og glukose metabolisme, mens områder med redusert metylering var assosiert med inflammatoriske prosesser og regulering av transkripsjon. Dette kan bety at endringer i metylering etter en treningsperiode kan være en kontrollert prosess som fører til adaptasjoner i skjelettmuskulaturen (Lindholm et al., 2014).

Lund et al. (2017) undersøkte hvordan 12 uker med kombinert intervalltrening og styrketrening kan påvirke DNA-metylering i myotuber isolert og dyrket fra *vastus lateralis*. De testet 3 CpGer i promotorregionen til PDK4, 2 CpGer i promotoren til PPARGC1A, 4 CpGer i promotoren til PPARD, 8 CpGer i promotoren til TFAM og 3 CpGer i første exonet til IRS1. Generelt var det ingen forskjell i CpG metylering i regionene som ble testet for genene PPARGC1A, PDK4, TFAM og PPARD, men 1 av 8 CpGer i TFAM-promotoren var hypometylert etter treningen med en reduksjon på 34 %. Videre fant de økt DNA-metylering i 1 av 3 CpGer i første exonet for IRS1 med en økning på 23 %. Denne hypermetyleringen i IRS1 korresponderte med signifikant treningsindusert reduksjon av mRNA ekspresjon for IRS1, men de fant ingen endring i mengde protein. Det kan se ut til at treningsinduserte endringer i promotormetylering kan beholdes når satellittceller differensierer til myoblaster og videre til myotuber (Lund et al., 2017). Det at de ikke fant noen endringer i DNA-metylering i promotorregionene til PDK4, PPARGC1A og PPARD kan bety at man må lete etter andre epigenetiske endringer for disse genene, som er relevante for metabolismen, eller at eventuelle endringer forsvinner etter isolering og dyrking av cellene over flere passasjer (se diskusjon, videre forskning).

Masuki et al. (2017) undersøkte hvordan eldre kvinner ( $66 \pm 5$  år) som hadde trent gående intervaller (IWT) i 6 måneder før studiestart, ville respondere på ytterligere 5 måneder med IWT og i tillegg supplere treningen med inntak av melkeprodukter. Det er interessant å se at forsøkspersonene som kun trente i ytterligere 5 måneder ikke fikk noen endring i promotor metylering, ved CpG områder, for NFkB1- og NFkB2, mens forsøkspersonene som inntok melkeprodukter etter trening fikk økt NFkB1- og NFkB2

metylering i promotorregionen (henholdsvis -443 til -101 og -1281 til -1018 oppstrøms for TSS). Økt promotor metylering er assosiert med redusert gen ekspresjon, og redusert ekspresjon av genene NF $\kappa$ B1 og NF $\kappa$ B2 kan føre til redusert inflammasjon og muskel atrofi hos eldre. Det var også forsøkspersonene som inntok melkeprodukter i tillegg til treningen som fikk styrketilvekst og størst endring i genom DNA-metylering i CpG områder. Masuki et al. (2017) fant 1448 flere områder som var mer hyper- eller hypometylert i gruppa som hadde høyt inntak av melkeprodukter etter trening i forhold til gruppa som kun hadde trent. 45 % av disse områdene var lokalisert i promotorer, mens 41 % var lokalisert i regionene 5'UTR, gene body og 3'UTR. 69 % av disse områdene hadde også høyt innhold av CpG (CpG islands). Blant disse 1448 områdene fant de at genene NF $\kappa$ B1, MAP3K7, JUN, TNFSF11, TNFRSF11A og MAFB var mer hypermetylert-, mens MYC var mer hypometylert hos forsøkspersonene som hadde inntatt melkeprodukter (Masuki et al., 2017). Med disse resultatene kan det se ut til at man kan oppnå en slags «steady state» etter en viss tid med lik trening, og at man må endre/øke treningsstimuli og/eller endre ernæring for å kunne forbedre enkelte helseeffekter ytterligere.

McEwen et al. (2018) undersøkte om 6 måneders livsstilintervensjon med selvtrening kan føre til endret DNA-metylering i mononukleære celler. De fant endret metylering ved 39268 CpG'er, men de fant ingen signifikant assosiasjon mellom endret DNA-metylering og mengde fysisk aktivitet eller antall skritt per dag. De fant heller ingen sammenheng mellom endret DNA-metylering og inflammasjon (CRP). Derimot fant de 12 CpG'er med assosiasjon mellom endret DNA-metylering og prosent vektendring (McEwen et al., 2018). Sannsynligvis var intensiteten på den fysiske aktiviteten for lav i denne studien til å kunne identifisere epigenetiske endringer som er relatert til fysisk aktivitet og inflammasjon.

Nakajima et al. (2010) undersøkte hvordan alder og trening kan påvirke DNA-metylering i CpG islands for genet ASC (apoptosis-associated speck-like protein), som er ansvarlig for sekresjon av IL-1 $\beta$  og IL-18, og metylering i «tumor suppressive» genet p15. De fant økt DNA-metylering, ved alle 7 undersøkte CpG islands, for ASC-genet i gruppa som trente gående høyintensiv intervalltrening i 6 måneder vs. kontrollgruppa (eldre treningsgruppe vs. eldre kontrollgruppe). De fant også at metylering av ASC-genet reduseres med økende alder (ung kontrollgruppe vs. eldre kontrollgruppe). Dette betyr at yngre og trente personer sannsynligvis har lavere ekspresjon av ASC-genet og



dermed også sannsynligvis lavere sekresjon av proinflammatoriske cytokiner som IL-1 $\beta$  og IL-18. Studien fant ingen endring i DNA-metylering for p15 med hensyn til hverken trening eller alder (Nikajima et al., 2010).

Nitert et al. (2012) undersøkte hvordan 6 måneder med gruppetreninger, ca 3 dager i uka, kunne påvirke genom metylering i CpG islands i muskelvev hos 28 friske menn med (15 menn) og uten (13 menn) familiehistorie med type 2-diabetes. De fant endret genom metylering i CpG islands for 134 individuelle gener etter treningen. Blant disse genene fant de redusert DNA-metylering for genene RUNX1 og MEF2A, THADA og NDUFC2, endret DNA-metylering for genene ADIPOR1, ADIPOR2 og BDKRB2 og redusert DNA-metylering for IL-7. For IL-7 fant studien korresponderende økt mRNA ekspresjon.

Robinson et al. (2017) fant at både 12 uker styrketrening og 12 uker høyintensiv intervalltrening økte proteiner involvert i translasjon, uavhengig av alder (18-30 år og 65-80 år). Men de fant bare små endringer, <10 %, i DNA-metylering for CpG områder i promotorregioner.

Rönn et al. (2013) undersøkte hvordan en seks måneders treningsintervensjon kan påvirke DNA-metylering i genomet til subkutant fettvev. I alt fant de 7663 gener med endret DNA-metylering, i områder med CpG, etter treningsperioden. Med et kriterium om minst 5 % gjennomsnittlig endring i DNA-metylering ved hvert CpG område kunne de rapportere 1009 CpG områder med signifikant endret DNA-metylering. 911 CpG områder fikk økt metylering etter treningsintervensjonen, mens 98 CpG områder fikk redusert DNA-metylering. Områdene i genene med endret DNA-metylering var anriket i «gen body» og «intergenic» regioner, mens promotorer, TSS200 og det første eksonet hadde liten endring i metylerte CpG områder. For 139 CpG områder med økt DNA-metylering kunne Rönn et al. (2013) finne korresponderende nedgang i mRNA ekspresjonen for genene. Gener som fikk økt DNA-metylering og redusert mRNA ekspresjon, som følge av treningsntervensjonen, var for eksempel genene RALBP1, HDAC4 og NCOR2. Kun 4 CpG områder med redusert DNA-metylering viste økt mRNA ekspresjon.

Seaborne et al. (2018) undersøkte epigenetisk hukommelse i muskelvev ved å analysere genome-wide DNA-metylering (850000 CpGer) etter en styrketreningsperiode på 7 uker (trening1), etterfulgt av 7 uker uten trening og deretter en ny styrketreningsperiode

på 7 uker (trening2). De undersøkte også DNA-metylering etter en akutt styrketreningsøkt (se tabell 3, akutt trening). Studien identifiserte økt frekvens av hypometylering i genomet etter trening2 enn etter trening1, og disse resultatene stemmer overens med større økning i muskelmasse etter trening2 enn etter trening1. Genene AXIN1, GRIK2, CAMK4 og TRAF1 viste økt hypometylering sammen med økt genekspresjon igjennom hele studien, noe som tyder på epigenetisk hukommelse om tidligere muskelvekst også igjennom perioden uten trening. Genene UBR5, RPL35a, HEG1, PLA2G16 og SETD3 viste større økning i både hypometylering og genekspresjon etter trening2 enn etter trening1, noe som indikerer epigenetisk hukommelse som kan føre til økt genekspresjon etter trening2. Etter en akutt treningsøkt fant de at genene GRIK2, TRAF1, BICC1 og STAG1 ble hypometylert, og denne hypometyleringen holdt seg gjeldende igjennom hele studien (Seaborne et al., 2018).

Zhang et al. (2015) undersøkte hvordan 6 måneder med gående intervalltrening kan påvirke genome-wide metylering i DNA fra leukocytter, og de fant over 40 gener med endret metylering etter treningen. Videre så de nærmere på graden av endret metylering i promotorer til gener som er involvert i energiforbruk under trening og fant signifikant høy korrelasjon mellom endret metylering og energiforbruk i 7 gener. Genene HELT, PRRC2A/BAT2 og NFκB2 ble hypermetylert, mens genene SLIT2, NKX2-5, TBX18 og ERG2 ble hypometylert. Ved kvantitativ pyrosekvensering fant de økt CpG metylering i flere regioner i promotoren til NFκB2. Økt metylering i promotoren til NFκB2 som følge av en treningsperiode kan indikere at trening kan redusere proinflammatoriske cytokiner (Zhang et al., 2015).

#### **4.1.5 Selvrapporing**

Det forekommer seks studier som har sett på sammenhengen mellom selvrappert fysisk aktivitet og DNA-metylering. Tre av disse studiene har sett på DNA-metylering i LINE-1 (Long Interspersed Nuclear Elements), og hypometylering i LINE-1-elementer er en kjent karakteristikk ved kreftsykdom (Weisenberger et al., 2005; Marques-Rocha et al., 2016). Studiene viser at en sunn livsstil med regelmessig fysisk aktivitet og/eller trening fører til høyere forekomst av global DNA-metylering i LINE-1 (Marques-Rocha et al., 2016; White et al., 2013; Zhang et al., 2011). Dette kan bety at man muligens kan redusere risikoen for å utvikle visse typer kreft ved å øke sin fysiske aktivitet eller trening i hverdagen. Resultatene til Bryan, Magnan, Hooper, Harlaar & Hutchison (2013) tyder også på at økt fysisk aktivitet kan redusere DNA-metylering i gener som er

relatert til brystkreft. Det kan også se ut til at lavere fysisk aktivitet hos eldre er assosiert med økt global metylering hos eldre (Luttrupp et al., 2013).

Bryan et al. (2013) undersøkte om det er en sammenheng mellom forsøkspersonenes selvrapporterte fysiske aktivitet- og  $VO_{2maks}$  ved baseline og metylering av CpG islands i gener som er relatert til brystkreft. De undersøkte også om graden av metylering kan endre seg etter en intervensjonsperiode på 12 måneder hvor forsøkspersonene ble oppfordret til å øke sin daglige fysiske aktivitet. Personer som var bedre fysisk trent og som var mer fysisk aktive ved baseline hadde gjennomsnittlig mindre metylering i gener relatert til brystkreft. Etter intervensjonen fant de signifikant assosiasjon mellom økt fysisk aktivitet i minutter og redusert metylering, men ingen assosiasjon mellom endret  $VO_{2maks}$  og metylering.

Daniele et al. (2018) undersøkte relasjonen mellom fysisk aktivitet og metylering i genet SNCA i intron1, som tidligere er assosiert med lave nivåer av metylering i CpG islands hos pasienter med sykdommen parkinson. De fant signifikant forskjell i metylering i genet SNCA mellom en gruppe med atleter og en gruppe med stillesittende personer.

Marques-Rocha et al., (2016) har undersøkt sammenhenger mellom graden av DNA-metylering i LINE-1, TNF- $\alpha$  og IL-6, i hvite blodceller, og forsøkspersonenes livsstil. De fant at personer som deltar i sportsaktiviteter i det daglige har mer LINE-1 metylering. Videre hadde individer med mer LINE-1 metylering også større prosent IL-6 metylering, og individer med større andel TNF- $\alpha$  metylering hadde større andel IL-6 – og LINE-1 metylering. Dette kan bety at større grad av LINE-1 metylering kan assosieres med en sunnere livsstil (Marques-Rocha et al., 2016).

Luttrupp, Nordfors, Ekström & Lind (2013) undersøkte om det kan være assosiasjon mellom mengde fysisk aktivitet og genome-wide DNA-metylering hos friske og 70 år gamle individer. Deltagerne ga informasjon om hvor mange timer i uka som de deltok i lett fysisk aktivitet eller i svetteinduserende aktivitet. De fant signifikant assosiasjon mellom selvrapportert aktivitet og grad av metylering, og denne sammenhengen var fortsatt signifikant etter at de justerte for kardiovaskulære risikofaktorer. Da de sammenlignet en gruppe med lavere fysisk aktivitet med en gruppe med høyere fysisk aktivitet fant de at lavere fysisk aktivitet var assosiert med økt global metylering. Men det kan tenkes at redusert fysisk aktivitet er korrelert til generelt dårligere helsetilstand

og at dårligere helse er reflektert i epigenomet sammen med lav fysisk aktivitet (Luttropp et al., 2013).

White et al. (2013) viste at høyere nivåer av fysisk aktivitet igjennom livet (tre tidsperioder: 5-12 år, 13-19 år og de siste 12 månedene) er assosiert med økt global DNA-metylering i LINE-1. Medianen for fysisk aktivitet i timer per uke de siste 12 månedene var 12,5t, 13-19 år var 5,9t og 5-12 år var 9,8t. LINE-1 metylering så ut til å øke med økende kvartiler for fysisk aktivitet ved alle aldre, men ingen individuell kvartil hadde en assosiasjon som var statistisk signifikant. For eksempel hvis de sammenlignet damene med høyest kvartil av fysisk aktivitet med de med lavest kvartil de siste 12 månedene var forskjellen i prosent LINE-1 metylering kun 0,26 %. Kvinner som rapporterte fysisk aktivitet ved eller over medianen ved alle 3 tidsperioder hadde signifikant økt LINE-1 metylering sammenlignet med kvinnene med fysisk aktivitet under medianen ved alle tidsperiodene. Men siden disse damene hadde familiehistorie med brystkreft så er det ikke sikkert at resultatene fra studien er generaliserbare til hele populasjonen generelt (White et al., 2013).

Zhang et al. (2011) sammenlignet aktivitet i hverdagen med global DNA-metylering i LINE-1 fra leukocytter. De fant at personer som var mer fysisk aktive, 26-30 min per dag, hadde høyere grad av global DNA-metylering i LINE-1 fra leukocytter enn personer som var fysisk aktive i  $\leq 10$  min per dag. Denne sammenhengen ble derimot ikke signifikant da de justerte for variablene alder, kjønn, etnisitet, og livsstil. En svakhet ved studien var at de brukte MethyLight-metoden som krever at alle CpG områder i promotorer og probe-regioner må være metylert for å fange opp et signal. I kontrast gir LINE-1 pyrosekvensering gjennomsnittlig grad av metylering for hvert CpG område i promotorregionen til LINE-1. Resultatene kan også være annerledes enn resultater fra studier som har målt den totale mengden 5-metylcytosin (Zhang et al., 2011).

## 5. Diskusjon

Ut i fra funnene beskrevet i resultatdelen kommer det klart fram at både akutt trening, en treningsperiode eller økt fysisk aktivitet i hverdagen kan påvirke et menneskes epigenetikk i form av DNA-metylering og/eller histon-acetylering. Sannsynligvis vil

man også kunne finne endringer i histon-metylering etter trening, men innen den 25.10.2018 fantes det ingen studier som har sett på effekten av trening på histon-metylering hos friske mennesker. De fleste studiene har funnet epigenetiske endringer som følge av trening selv om de har brukt forskjellige metoder. Dette kan bety at trening eller fysisk aktivitet har evnen til å stille nye krav til kroppen, og at man kan finne resultater av denne tilpasningen i form av endret DNA-metylering og/eller histon-acetylering hos forsøkspersonene.

Selv om det er 32 studier som har sett på effekten av trening eller fysisk aktivitet på DNA-metylering eller histon-acetylering så er det ingen studier som har gjennomført studiet med samme «populasjon, aktivitet og målinger», og dermed forekommer det mange forskjellige funn i «resultater» (se tabell 1). For å finne svar på problemstillingen «Hvilke epigenetiske endringer, som DNA-metylering, histon-metylering og histon-acetylering kan forekomme etter trening eller økt fysisk aktivitet hos friske mennesker?» har denne studien derfor valgt å kommentere resultater fra alle studier i resultatdelen, sammen med noen generelle hovedfunn. Her, i diskusjonsdelen, vil denne studien forsøke å finne mer generelle svar på den samme problemstillingen. Videre i diskusjonsdelen vil denne studien også forsøke å finne svar på «Hvordan kan resultater fra epigenetiske treningsintervensjon-studier gi større forståelse av treningseffekt på gener som er relevante for metabolismen og inflammasjon, som videre kan relateres til prestasjonsevne og bedre helse?».

## **5.1 DNA-metylering**

Det er fire studier som har sett på effekten av akutt trening på DNA-metylering, sytten studier som har undersøkt endringer i DNA-metylering etter en treningsperiode og seks studier som har undersøkt effekten av selvrappportert fysisk aktivitet på DNA-metylering. Selv om disse studiene har undersøkt DNA-metylering i forskjellige celler og vev, har utført forskjellige treningsintervensjoner og har benyttet seg av forskjellige analysemetoder, så er det kun tre studier som ikke finner signifikante endringer i DNA-metylering etter trening. Derfor kan man si med stor sikkerhet at både akutt trening, en lengre treningsperiode og en periode med økt fysisk aktivitet fører til endrede krav til kroppen som man kan finne igjen som endret DNA-metylering hos friske mennesker.

Blant de 17 studiene som har sett på effekten av en treningsperiode på DNA-metylering (se tabell 1: Treningsintervensjon, DNA-metylering) er det to studier som ikke har funnet noen endring i DNA-metylering. Dette kan skyldes at treningen er blitt utført med for lav intensitet (McEwen et al., 2018), eller at DNA-metylering i promotorregionen til de undersøkte genene er nøye regulert hos friske individer og dermed ikke påvirkes av en treningsperiode (Boyne et al., 2018). Men det er også studier som tyder på at det er andre reguleringsmekanismer enn kun DNA-metylering som er med på å øke eller redusere transkripsjonen av et gen. Denham et al. (2015a) fant for eksempel at redusert genom metylering i genet for vekstfaktoren EGF førte til redusert mRNA ekspresjon, noe som kan bety at andre reguleringsmekanismer for transkripsjon har funnet sted. Eksempler på slike reguleringsmekanismer kan være histon modifiseringer, små ikke-kodende RNA molekyler og/eller endret aktivitet til transkripsjonsfaktorer (Denham et al., 2015a). Den samme tendensen fant Fabre et al. (2018), hvor ekspresjonen av antall gener etter treningen ikke korresponderte med antall gener med endring i DNA-metylering. Studien til Lund et al. (2017) fant ingen endringer DNA-metylering i CpG områder i promotorregionen til genene PDK4, PPARGC1A og PPAR. Dette er gener som er relevante for metabolisme, og man burde forvente epigenetiske endringer for disse genene etter en 12 uker lang treningsperiode. Man kan derfor tenke seg at det er andre epigenetiske endringer som er ansvarlig for økt transkripsjon av disse genene etter trening. Men funnene til Lund et al. (2017) stemmer ikke overens med funnene til Barrès et al. (2012) som fant redusert promotormetylering i PDK4 og PPAR $\delta$  etter akutt trening i muskelvev. Studien til Lund et al. (2017) har derimot sett på endringer i DNA fra myotuber i kultur, noe som kan gi andre resultater enn analyser i muskelvev. For å finne treningsinduserte endringer i promotormetylering i dyrkede myotuber er man avhengig av at endringene i metylering beholdes når satelittcellene differensierer til myoblaster og viderer til myotuber. Lund et al. (2017) fant hypometylering i promotoren til genet TFAM og hypermetylering i det første exonet for IRS1, noe som tyder på at visse epigenetiske endringer kan bevares når satelittceller differensierer til myotuber (Lund et al., 2017). Dette kan være et tegn på epigenetisk hukommelse i cellene etter en treningsperiode.

De fleste studiene har altså funnet endret DNA-metylering etter akutt trening, en treningsperiode og/eller etter fysisk aktivitet. Flere av studiene har undersøkt DNA-metylering i relasjon til spesifikke gener, og man kan få endret DNA-metylering i

relasjon til gener som er involvert i metabolismen, inflammasjon, vekstfaktorer og «sykdomsgener» (se tabell 1). Studier som har brukt mindre spesifikke metoder for å undersøke DNA-metylering (se teori) har funnet endringer i global DNA-metylering, og noen av disse studiene har undersøkt hvilke CpG områder som har fått endret DNA-metylering.

### **5.1.1 DNA-metylering i CpG områder**

DNA-metylering skjer ved at metyltransferaser overfører en metylgruppe fra S-adenosyl-metionin til cytosin i CpG dinukleotider. Studier har studert DNA-metylering i eller utenfor utvalgte gener, global DNA-metylering og DNA-metylering i LINE-1 (Yang et al., 2004) (se teori). Generelt ser det ut til at man kan finne endret DNA-metylering etter trening i relasjon til promotorer, «gen bodies», CpG islands, CpG islands i nærheten av TSS, utenfor CpG islands/shelves/shores, intergenic regioner, 5'UTR og 3'UTR (Denham et al., 2015a; Denham et al., 2016; Ingerslev et al., 2018; Lindholm et al., 2014; Masuki et al., 2017; Rönn et al., 2013). Studier som har sett på LINE-1 metylering finner generelt høyere global metylering i LINE-1 hos personer som er mer fysisk aktive (Marques-Rocha et al., 2016; White et al., 2013; Zhang et al., 2011).

## **5.2 Histon-acetylering**

Det er fem studier som har undersøkt global histon-acetylering etter akutt trening, og tre av disse studiene finner økt histon-acetylering etter treningen. Funn av økt global H3K36 acetylering i DNA muskelvev (McGee et al., 2009), tendens til økt global H3K9 acetylering i DNA fra CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter (Zimmer et al., 2014) og økt H4K5 acetylering i DNA fra NK-celler (Zimmer et al., 2015) vitner om at økt histon-acetylering kan være en sensitiv og hurtig tilpasning som kan føre til økt transkripsjon av visse gener etter akutt trening (McGee & Hargreaves, 2011).

Etter treningen fant McGee et al. (2009) også at enzymer som (sammen med HDAC3) undertrykker histon-acetylering, HDAC4 og HDAC5 (klasse IIa histon deacetylasen), ble eksportert ut av nukleus slik at disse enzymene ikke kunne undertrykke transkripsjonen. HDAC5 ble også i større grad (30 % økning) merket med ubiquitin for degradering i proteasomer. De fant også korresponderende aktivering av to kinaser, AMPK (AMP-aktivert protein kinase) og CaMKII (kalsium-kalmodulin-avhengig

protein kinase II), som kan indusere fosforyleringsavhengig transport av HDAC-enzymet ut av nukleus (McGee et al., 2009) (se teori for mer detaljert beskrivelse). Alle disse funnene overfor viser tegn til endringer i signalveier og modifikasjoner i kromatinet som kan føre til adaptasjoner i skjelettmuskulaturen etter trening.

### **5.3 Prestasjon og helse**

Genuttrykket for en bestemt celle/vev er cellens epigenetiske signatur, og cellenes epigenetiske mønstre kan, som vist i resultatdelen, endres ved ytre påvirkning, som trening. Derfor er epigenetiske mønstre spesifikke for hvert individ, og en persons epigenetiske mønster kan si noe om personens fysiske prestasjonsevne og helse (Barrès et al., 2012; Ehlert et al., 2013). Man kan si at en persons fysiske prestasjonsevne og helse er avhengig av både genotype og fenotype, og trening eller fysisk aktivitet igjennom livet kan påvirke cellenes fenotype ved epigenetiske modifikasjoner (Ehlert et al., 2013; McGee et al., 2009) som DNA-metylering og global histon-acetylering (se tabell 1).

Aerob trening (utholdenhetstrening) og anaerob trening (styrketrening) fører til adaptasjoner i skjelettmuskulaturen, som kan spille en viktig rolle innenfor både helse og prestasjon (Ehlert et al., 2013). Det forekommer ingen studier som har sett direkte på sammenhengen mellom økt prestasjonsevne og endret epigenetikk. De fleste studiene har hatt til hensikt å finne svar på hvilke epigenetiske endringer som kan forekomme etter akutt trening, en treningsperiode eller økt fysisk aktivitet, og mange av studiene relaterer funnene sine til helse. Denne litteraturstudien finner at både DNA-metylering og histon-acetylering kan bli endret i celler/vev fra både skjelettmuskulatur -og blodprøver som følge av akutt trening, en treningsperiode eller økt fysisk aktivitet (se tabell 1). I dag er det dessverre alt for få studier og funn til å kunne danne seg et fullstendig bilde av hvilke epigenetiske endringer som kan forekomme etter trening eller fysisk aktivitet. Så godt som denne studien kan undersøke dagens litteratur så er det for eksempel ingen studier som har undersøkt effekt av trening på histon-metylering. Det hadde vært interessant å undersøke H3-metylering, som ser ut til å holdes stabil igjennom mitosen, og som derfor kan fungere som epigenetisk hukommelse i cellene (McGee et al., 2009) (se «videre forskning»).



### 5.3.1 Langtidseffekter etter trening og fysisk aktivitet

I forbindelse med epigenetisk hukommelse og langtidseffekter etter en treningsperiode finner denne studien to studier som har undersøkt DNA-metylering etter en treningsperiode og deretter etter en periode uten trening. Ingerslev et al. (2018) undersøkte om DNA-metylering i mobile sædceller kan endre seg etter en treningsperiode på 6 uker og om disse endringene kan vedvare i 3 måneder uten trening. De fant 330 regioner med differensiert CpG metylering etter treningsperioden og 303 regioner med differensiert CpG metylering etter tre måneder uten trening. Dette betyr at kort tid med utholdenhetstrening kan indusere remodelering av epigenomet til sædceller (Ingerslev et al., 2018) som kan vedvare en tid etter treningen. Den samme tendensen fant også Seaborne et al. (2018) som undersøkte epigenetisk hukommelse i muskelvev ved å analysere genome-wide DNA-metylering etter en styrketreningsperiode på 7 uker (trening1), etterfulgt av 7 uker uten trening og deretter en ny styrketreningsperiode på 7 uker (trening2). Studien fant økt frekvens av hypometylering i genomet etter trening2 enn etter trening1, og disse resultatene stemte overens med økt genekspressjon og større økning i muskelmasse etter trening2 enn etter trening1. Dette tyder på epigenetisk hukommelse om tidlig muskelvekst også igjennom perioden uten trening, og epigenetisk hukommelse som kan føre til økt genekspressjon etter trening 2 (Seaborne et al., 2018).

Det kan se ut til at trente personer ikke responderer på akutt trening i samme grad som utrente personer (se tabell 2 og 3). Dette kan indikere at trente personer har vedvarende epigenetiske endringer i genomet og at en akutt treningsøkt dermed ikke kan påvirke deres epigenetikk i samme grad som hos utrente personer. Denne tendensen fant også Masuki et al. (2017), som undersøkte hvordan eldre kvinner, som hadde trent gående intervaller i 6 måneder før studiestart, ville respondere på ytterligere 5 måneder med samme intervalltreningen. De fant at forsøkspersonene som kun trente i ytterligere 5 måneder ikke fikk noen endring i promotormetylering for NFKB1 og NFKB2, mens forsøkspersonene som inntok melkeprodukter etter treningen fikk økt promotormetylering i genene (Masuki et al., 2017). Disse funnene kan indikere at man etter en viss tid med lik fysisk aktivitet eller trening ikke vil kunne endre sin epigenetikk ytterligere, og at man må endre kravene til kroppen i form av endret/økt treningsstimuli eller endret ernæring for å forbedre enkelte helseeffekter og treningseffekter ytterligere. Man må altså stille nye krav til kroppen for at cellene skal få behov for å endre sin

fenotype. Denne tendensen ser man i resultatene til studiene (se tabell 1) hvor det ser ut til at all slags trening eller fysisk aktivitet kan føre til endret DNA-metylering eller histon-acetylering hos forsøkspersonene bare intensiteten eller «stresset» for kroppen er stort nok. Trente forsøkspersoner kan også oppnå endret DNA-metylering etter en akutt treningsøkt bare intensiteten og varigheten av treningen er stor nok (Lane et al., 2015).

En treningsperiode kan altså føre til endret DNA-metylering og sannsynligvis langtidseffekter etter treningen. Høyere andel fysisk aktivitet igjennom livet kan føre til fordelaktig større andel LINE-1 metylering i DNAet (Marques-Rocha et al., 2016; White et al., 2013; Zhang et al., 2011). En periode med styrketrening fører også til endret DNA-metylering (Denham et al., 2016; Dimauro et al., 2016; Seaborne et al., 2018). Det er logisk at studiene vil finne epigenetiske endringer når man stiller nye krav til kroppen i form av trening eller økt fysisk aktivitet. Man vet at man må øke treningsmengden for å øke sin  $VO_{2maks}$  og toleranse for laktat. Mennesker vet generelt at det er mange helseeffekter knyttet til fysisk aktivitet. Positive helseeffekter eller økt prestasjonsevne betyr at det har skjedd endringer i kroppen. Funnene i tabell 1 tyder på at epigenetiske endringer som DNA-metylering og/eller histon-acetylering kan spille en viktig rolle når kroppen skal tilpasse seg til endret stimuli som trening. Siden DNA-metylering ser ut til å holdes stabil igjennom mitosen (Barrès et al., 2012) kan man tenke seg at endringer i DNA-metylering som følge av trening kan være med på å føre til langtidseffekter etter en treningsperiode.

### **5.3.2 Epigenetisk treningseffekt på gener som er relevante for inflammasjon**

Hovedfunksjonen til immunreaksjonen/inflammasjonsreaksjonen etter trening er å sørge for at celler, som kan utføre fagocytose, og ulike substanser i plasma bringes til det skadede området. Videre fører inflammasjonsreaksjonen til at skadet vev og cellerester blir fjernet, og dermed legges forholdne til rette for at vevet eller cellen kan repareres (Sand et al., 2002). Inflammasjonsprosessen er altså nødvendig for at det skadede området skal kunne repareres (Clarkson & Hubal, 2002), og for at det dermed skal kunne forekomme prestasjonsfremmende endringer i muskelvevet.

Treningseffekt på inflammasjon kan altså relateres til både nedbrytning og oppbygging av muskelvev (Clarkson & Hubal, 2002), men vedvarende inflammasjon er også assosiert med mange kroniske sykdommer. Kronisk inflammasjon som følge av for høye verdier av proinflammatoriske cytokiner som  $TNF-\alpha$ ,  $IL-1\beta$  og  $IL-6$  spiller en rolle

i utvikling og progresjon av flere sykdommer relatert til økende alder og/eller inaktivitet (Nakajima et al., 2010). Utvikling av insulin resistens og type 2-diabetes er for eksempel korrelert med infiltrering av immunceller og inflammasjon i hvitt fettvev. Kronisk inflammasjon kan føre til skader på vev og organer. Initasjon, forfremmelse og progresjon av svulster kan også stimuleres av systemisk økt konsentrasjon av proinflammatoriske cytokiner (Handschin & Spiegelman, 2008; Lin & Karin, 2007; Zhang et al., 2015). Epigenetiske modifikasjoner, som DNA-metylering, kan muligens endre varigheten og graden av kronisk inflammasjon (Zhang et al., 2015). Nitert et al. (2012) fant for eksempel differensiert genom metylering i 65 individuelle gener i skjelettmuskulatur fra forsøkspersoner med familiehistorie med type 2-diabetes sammenlignet med forsøkspersonene uten familiehistorie med type 2-diabetes ved baseline. Etter en treningsperiode på 6 måneder fant de at denne forskjellen hadde litt endret fra 65 til 38 gener med signifikant differensiert DNA-metylering hos personer med familiehistorie kontra de uten familiehistorie (Nitert et al., (2012). Dette viser at epigenomet er dynamisk og kan endre seg som følge av ytre påvirkning, som trening.

Genproduktene (etter transkripsjon og translasjon) IL-1 $\beta$  og TNF $\alpha$  er cytokiner som er involvert i inflammasjonsprosesser i skjelettmuskulatur etter trening. IL1 $\beta$  kan stimulere til økt inflammatorisk respons ved å aktivere B-celler til å lage antistoffer, og TNF $\alpha$  kan aktivere makrofager og stimulere til antiinflammatorisk respons i skadet vev (mer info om IL1 $\beta$  og TNF $\alpha$ , se teori) (Clarkson & Hubal, 2002, Peake et al., 2005 og Alberts et al., 2002). Nikajima et al. (2010) fant at fysisk aktivitet kan motvirke aldersavhengig demetylering av ASC-genet, som er ansvarlig for sekresjon av de proinflammatoriske cytokinene IL-1 $\beta$  og IL-18. Dette kan bety at yngre og/eller trente personer sannsynligvis har lavere ekspresjon av ASC-genet og dermed også sannsynligvis lavere sekresjon av proinflammatoriske cytokiner som IL-1 $\beta$  og IL-18 (Nikajima et al., 2010).

Dorneles et al. (2017) fant at en akutt treningsøkt kan føre til økt global H4-acetylering og redusert HDAC2 aktivitet sammen med økt produksjon av IL-8, TNF $\alpha$  og proinflammatoriske CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> monocyttter hos «friske-overvektige» menn. De fant derimot ingen endring i global H4-acetylering hos slanke menn etter treningen. Dette kan bety at trening kan føre til økt proinflammatorisk respons ved økt global H4-acetylering etter en akutt treningsøkt blant «frike-overvektige» menn (Dorneles et al., 2017). Disse funnene kan også indikere at global H4-acetylering kan spille en rolle i den generelle reguleringen av inflammasjonsreaksjoner etter trening.

Robson-Ansley et al. (2014) fant at en høyintensiv treningsøkt på tredemølle kan føre til korresponderende økt IL-6 konsentrasjon og endret DNA-metylering i 11 individuelle gener i blodprøver tatt like etter treningsøkta. Disse endringene i DNA-metylering og økt IL-6 konsentrasjon returnerte til utgangsverdier etter 24t. Det kan altså se ut til at endringer i DNA-metylering kan ha en regulerende rolle i IL-6 konsentrasjon etter en akutt og intensiv treningsøkt. Men det er uklart om endringene i DNA-metylering er med på å regulere IL-6 produksjonen eller om det er endret IL-6 konsentrasjon som kan endre metylering i promotorer for enkelte gener (Robson-Ansley et al., 2014). Nitert et al. (2012) fant redusert genom metylering for IL-7 med korresponderende økt mRNA ekspresjon i muskelvev etter en treningsperiode på 6 måneder.

Det menneskelige genomet består omtrent av 45 % repeterende sekvenser, og omtrent 20 % av genomet består av LINE. Hypometylering i LINE-1- elementer er en kjent karakteristikk ved kreftsykdom, og LINE-1 har, sammen med inflammatoriske gener, vist seg å kunne endre metyleringsmengde i forbindelse med endret livsstil eller ernæring (Weisenberger et al., 2005; Marques-Rocha et al., 2016). I forbindelse med dette har Marques-Rocha et al., (2016) undersøkt sammenhenger mellom graden av DNA-metylering i LINE-1, TNF- $\alpha$  og IL-6, i hvite blodceller, og forsøkspersonenes livsstil. De fant at personer som deltar i sportsaktiviteter i det daglige har mer LINE-1 metylering. Videre hadde individer med mer LINE-1 metylering også større prosent IL-6 metylering, og individer med større andel TNF- $\alpha$  metylering hadde større andel IL-6 – og LINE-1 metylering (Marques-Rocha et al., 2016). White et al. (2013) viste at høyere nivåer av fysisk aktivitet igjennom livet (tre tidsperioder: 5-12 år, 13-19 år, de siste 12 månedene) er assosiert med økt global DNA-metylering i LINE-1 hos friske kvinner (med familiehistorie med brystkreft). Kvinner som rapporterte fysisk aktivitet ved eller over medianen ved alle 3 tidsperioder hadde signifikant økt LINE-1 metylering sammenlignet med kvinnene med fysisk aktivitet under medianen ved alle tidsperiodene (White et al., 2013). Zhang et al. (2011) fant at personer som var mer fysisk aktive, 26-30 min per dag, hadde høyere grad av global DNA-metylering i LINE-1 fra leukocyter enn personer som var fysisk aktive i  $\leq 10$  min per dag, men denne sammenhengen ble derimot ikke signifikant da de justerte for variablene alder, kjønn, etnisitet, og livsstil. Disse overfor nevnte funnene kan bety at større grad av metylering i LINE-1 kan assosieres med høyere grad av metylering for TNF $\alpha$  og IL-6. Økt metylering i LINE-1, og dermed redusert risiko for å utvikle kreft, kan sannsynligvis assosieres med en

sunnere livsstil (Marques-Rocha et al., 2016; White et al., 2013; Zhang et al., 2011). Derimot fant Boyne et al. (2018) ingen signifikant forskjell i LINE-1 metylering mellom en treningsgruppe som hadde trent aerobic trening i 1 år og kontrollgruppa. Dette kan bety at DNA-metylering i LINE-1 er nøye regulert hos friske individer og ikke påvirkes av kortere stimuli, som en treningsperiode (Boyne et al., 2018). Det kan altså se ut til at DNA-metylering i LINE-1 kan påvirkes av vår fysiske aktivitet og livsstil igjennom livet (Marques-Rocha et al., 2016; White et al., 2013; Zhang et al., 2011), men at en kortere treningsperiode ikke kan endre LINE-1 metylering (Boyne et al., 2018).

Genene TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL-6 og IL-8 har NF $\kappa$ B-RE (nukleus faktor kappa B responsiv element) i promotorregionen hvor transkripsjonsfaktorer, NF $\kappa$ B familien, kan binde seg og være med på å aktivere transkripsjonen. NF $\kappa$ B kan derfor spille en viktig rolle i inflammasjonsreaksjoner ved å indusere transkripsjonen av pro-inflammatoriske cytokiner, som TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$ , IL6 og IL8. Dermed spiller NF $\kappa$ B også en viktig rolle i den immunologiske/inflammatoriske responsen ved å transkribere genprodukter involvert i aktivering av de initielle immuncellene, inflammasjon, vekst av dendritiske celler og aktivering av lymfocytter. Aktiv NF $\kappa$ B ser ut til å kunne regulere transkripsjonen av over 400 gener som er involvert i inflammasjon, og som er assosiert med aldersrelaterte sykdommer (for mer info om aktivering av NF $\kappa$ B, se teori) (Masuki et al., 2017; Baldwin, 1996; Sun & Ley, 2008; Zhang et al., 2015). NF $\kappa$ B1 og NF $\kappa$ B2 er i NF $\kappa$ B-familien og inngår i signalvegene til NF $\kappa$ B. Hypermetylering i promotorregionen til NF $\kappa$ B1 og NF $\kappa$ B2 kan resultere i redusert transkripsjon og translasjon av disse genene, noe som resulterer i redusert NF $\kappa$ B-aktivitet, som videre fører til redusert transkripsjon og aktivitet av proinflammatoriske cytokiner (Masuki et al., 2017; Baldwin, 1996; Sun & Ley, 2008; Zhang et al., 2015). Gående intervalltrening i 6 måneder kan føre til økt CpG metylering i flere regioner i promotoren til NF $\kappa$ B2 (Zhang et al., 2015). Økt inntak av melkeprodukter etter gående intervalltrening i 5 måneder hos eldre kvinner kan også øke promotormetylering hos NF $\kappa$ B1 og NF $\kappa$ B2 (Masuki et al., 2017). Økt promotor metylering er assosiert med redusert gen ekspresjon, og redusert ekspresjon av genene NF $\kappa$ B1 og NF $\kappa$ B2 kan derfor føre til redusert inflammasjon og muskel atrofi hos eldre (Masuki et al., 2017). Siden lokal eller systemisk økning i konsentrasjonen av inflammatoriske cytokiner kan stimulere inittasjon og progresjon av svulster, kan redusert aktivitet i signalveger til NF $\kappa$ B, og påfølgende redusert konsentrasjonen til

inflammatoriske cytokiner, sannsynligvis redusere risikoen for å utvikle kreft (Masuki et al., 2017; Lin & Karin, 2007).

De fordelaktige effektene av trening, i tillegg til endringer i konsentrasjoner av cytokiner, er basert på distribusjon og aktivering av immunceller, som NK-celler og CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter. Det kan se ut til at en akutt treningsøkt med moderat intensitet kan øke global H3K9 acetylering i DNA fra CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter (Zimmer et al., 2014). Zimmer et al. (2015) fant at acetylering av H4K5 i DNA fra NK-celler økte etter et langdistanseløp, og dette kan bety at NK-celler og CD8<sup>+</sup> T-lymfocytter kan aktiveres ved epigenetiske modifikasjoner som histon-acetylering (Zimmer et al. 2014; 2015). Økt acetylering av H4K5 etter løpet stemte også overens med økt ekspresjon av NKG2D, som er en reseptor på NK-celler som kan oppdage fremmede celler, som kreftceller. Det kan også tenkes at høyere andel aktive NK-celler i sirkulasjonssystemet kan øke immunsystemet sitt potensial til å reagere på stimuli som virusinfeksjoner (Zimmer et al., 2015). Funnene til Zimmer et al. (2015) kan altså indikere treningsindusert aktivering av NK-celler ved global histon-acetylering, noe som kan bety at trening kan redusere risikoen for å utvikle kreft.

### **5.3.3 Epigenetisk treningseffekt på gener som er relevante for metabolismen**

Utholdenhetstrening viser seg å kunne forbedre oksidering av lipider og øke antallet mitokondrier i skjelettmuskulatur, og begge disse metabolske endringene er avhengig av økt ekspresjon av PGC1 $\alpha$  (se teori). Akutt trening ser ut til å kunne øke ekspresjonen av PGC1 $\alpha$  ved hypometylering i promotoren (Bajpeyi et al., 2017; Barrès et al., 2012). En akutt treningsøkt kan også faseforflytte -1N lengre oppstrøms i promotoren til PGC1 $\alpha$ , bort fra -260 nt, som kan reguleres ved metylering (Bajpeyi et al., 2017).

Genene PDK4, PGC1 $\alpha$ , CPT1 $\alpha$  og PPAR $\delta$  har PPRE i promotorregionen, som er en region hvor PPAR $\delta$  kan binde seg og være med på å aktivere transkripsjonen. På den måten kan PPAR $\delta$  være med på å regulere sin egen transkripsjon og regulere transkripsjonen av genene PDK4, PGC1 $\alpha$  og CPT1 $\alpha$  (se teori) (Feige et al., 2006; Han et al., 2007; Schuler et al., 2006). Individuer som fikk oppregulering av PGC1 $\alpha$  etter akutt trening fikk også oppregulering av PPAR $\alpha$  og PDK4, noe som stemmer overens med at PGC1 $\alpha$  fungerer som en koaktivator som kan oppregulere ekspresjonen av

PPAR $\alpha$  og PDK4 (Bajpeyi et al., 2017). Det kan dermed tenkes at hypometylering i PGC1 $\alpha$ , PDK4 og PPAR $\alpha$  kan forekomme samtidig i respons på trening i skjelettmuskulatur. Dette stemmer overens med funnene til Barrès et al. (2012), som fant redusert metylering i promotorene til PGC1 $\alpha$ , PDK4 og PPAR $\delta$  etter høyintensiv akutt trening. Lane et al. (2015) fant økt promotormetylering for PPAR $\delta$  kun etter «fastende» akutt trening (se tabell 1). Derimot fant Lund et al. (2017) ingen endring i promotormetylering for hverken PDK4, PARGC1A eller PPARD etter 12 uker med trening. Dette kan skyldes at de undersøkte promotormetylering for disse genene i DNA fra myotuber, noe som krever at eventuell promotormetylering må beholdes når satellitcellene differensierer til myoblaster og videre til myotuber (Lund et al., 2017).

Flere studier viser altså at akutt trening kan øke ekspresjonen av genene PGC1 $\alpha$ , PDK4 og PPAR- $\delta$  ved redusert DNA-metylering i promotorregionen (Bajpeyi et al., 2017; Barrès et al., 2012; Lane et al., 2015). Dette kan være av interesse for de som ønsker å redusere risikoen for å utvikle diabetes type 2, siden det kan se ut til at promotoren til PGC1 $\alpha$  i muskelvev er hypermetylet hos indivier med type 2-diabetes (Barrès et al., 2012). Økt ekspresjon av PPAR $\delta$  i skjelettmuskulaturen er fordelaktig siden PPAR $\delta$  kan være med på å regulere fettsyreoksidasjonen og insulinsensitiviteten (Feige et al., 2006). Økt ekspresjon av PDK4 kan også føre til at energimetabolismen går over fra å forbrenne karbohydrater til i større grad å forbrenne fett (Wang & Sahlin, 2012).

Fettvev er et endokrint organ som blant annet kan påvirke glukose homeostase. I den forbindelse kan det se ut til at genene RALBP1, HDAC4 og NCOR2 kan få økt DNA-metylering og redusert mRNA ekspresjon etter 6 måneder med trening (Rønn et al., 2013). Dette er interessante metabolske funn siden RALBP1 kan spille en sentral rolle i sykdomsforløpet for metabolsk syndrom og er også involvert i den insulin-stimulerte funksjonen til Glut4. HDAC4 er en histon deacetylase (se teori), som reguleres ved fosforylering, og som dermed kan hindre transkripsjonen av GLUT4 i adipocytter. NCOR2 er en korepressor i nukleus som er involvert i reguleringen av gener involvert i adipogenese og lipid metabolisme. NCOR2 kan også rekruttere forskjellige histon deacetylaser, inkludert HDAC4 (Rønn et al., 2013). Det kan altså se ut til at trening kan indukere forbigående eller permanente epigenetiske endringer, som DNA-metylering, i gener som er involvert i metabolske prosesser og nettverk.

### 5.3.4 Individuelle forskjeller

Bajpeyi et al. (2017) fant individuelle forskjeller mellom forsøkspersonene i evnen til å respondere på trening. De delte forsøkspersonene inn i «high responders» og «low responders» ut i fra om forsøkspersonene viste faseforflytting av -1N bort fra -260nt i promotoren til PGC1 $\alpha$  eller ikke. «High responders» viste også økning i PGC1 $\alpha$  genekspresjon og nedgang i metylering ved -260 nt. Videre viste studien at individene som hadde oppregulering av PGC1 $\alpha$  etter en akutt treningsøkt hadde også oppregulering av PPAR $\alpha$  og PDK4. Dette stemmer overens med at PGC1 $\alpha$  kan fungere som en koaktivator og kan oppregulere ekspresjonen av PPAR $\alpha$  og PDK4. Men studien fant også oppregulering av PDK4 etter trening hos individer som ikke hadde endring i PGC1 $\alpha$ . Dette kan bety at oppregulering av PDK4 i skjelettmuskulatur kan forekomme ved signalveger som er både avhengige- og uavhengige av PGC1 $\alpha$ . Studien til Bajpeyi et al. (2017) fant videre at kun «high responders» viste signifikant nedgang i serum insulin og signifikant nedgang i intramyocellulære lipider i skjelettmuskulaturen i respons på akutt trening, mens treningen økte FFA nivåer hos både «high- og low responders». Dette betyr at akutt trening kan gi større sensitivitet til insulin og økt forbrenning av fettsyrer i forhold til glukose, men at det er individuelle forskjeller. Det kan se ut som at individer, «high responders», som viser treningsindusert hypometylering av -260 nt og faseforflytting av -1N bort fra -260 nt i PGC1 $\alpha$  også får økt forbrenning av fettsyrer vs. glukose, redusert akkumulering av lipider i muskler og større sensitivitet til insulin i forhold til «low responders». Det er altså individuelle forskjeller mellom forsøkspersonene i evnen til å respondere på trening (Bajpeyi et al., 2017). Individuelle forskjeller i evnen til å respondere på trening betyr at treningen burde tilpasses til hvert enkelt individ, både når treningen skal brukes forebyggende, behandlende eller for å øke prestasjon.

### 5.3.5 Arv

Det kan se ut til at enkelte epigenetiske trekk kan arves mellom generasjoner, og det kan se ut til at en persons epigenetiske mønstre er dannet av en kombinasjon av genetik og miljø (Nilsson, Sadler-Riggelman & Skinner, 2018; Nitert et al., 2012). Nitert et al. (2012) fant mer differensiert genom metylering i 65 individuelle gener i skjelettmuskulatur fra forsøkspersonene med familiehistorie med type 2-diabetes sammenlignet med forsøkspersonene uten familiehistorie med type 2-diabetes ved baseline. Etter en treningsperiode på 6 måneder fant de at denne forskjellen hadde blitt endret fra 65 til 38 gener med signifikant differensiert DNA-metylering hos personer



med familiehistorie kontra de uten familiehistorie (Nitert et al., 2012). Dette betyr at man muligens kan arve epigenetiske mønstre fra sine foreldre og at man dermed i større grad kan være disponert for å kunne utvikle sykdom. Men slike epigenetiske mønstre, som kan relateres til sykdom, kan også muligens skyldes at personer fra samme familie vokser opp i samme miljø. Funnene til Nitert et al. (2012) er oppløftende i det at de finner at man kan endre sin DNA-metylering etter en treningsperiode, og at man dermed kan redusere risikoen for å utvikle type 2-diabetes ved å trene.

En mulig mekanisme for å arve mønstre av DNA-metylering er igjennom eggceller eller spermier (Denham et al., 2015b). I den forbindelse fant Denham et al. (2015b) endret DNA-metylering ved 7509 CpG områder i DNA fra spermier etter 3 måneder med trening (se flere endringer i resultater). Tilsvarende resultater fant Ingerslev et al. (2018) som fant 330 regioner med differensiert CpG metylering etter en treningsperiode på 6 uker i DNA fra mobile sædceller. Videre fant de 303 regioner med differensiert CpG metylering etter tre måneder uten trening. Dette betyr at kort tid med utholdenhetstrening kan indusere remodelering i epigenomet til spermier og at disse endringene kan vedvare en stund etter treningsperioden (Ingerslev et al., 2018). Man kan spekulere i om disse endringene i DNA-metylering kan påvirke fertilitet og/eller arves av neste generasjon (Denham et al., 2015b). Det vil kreve store menneskelige studier med analyser som går over flere generasjoner for å avdekke en slik teori.

## 5.4 Videre forskning

Ut i fra dagens litteratur (se tabell 1) er det en lang veg å gå før det går an å si at man har god oversikt over hvilke epigenetiske endringer som kan forekomme hos friske mennesker etter trening eller økt fysisk aktivitet. Det ser ut til at vi er i en startfase av forskning på epigenetiske endringer som følge av trening og fysisk aktivitet. Ingen studier har sett på treningseffekt på histon-metylering, og ingen studier har undersøkt hverken histon-metylering eller histon-acetylering i spesifikke lysin sidekjeder for enkeltgener. Det forekommer kun studier som har sett på global histon-acetylering.

Det man kan si med sikkerhet i dag er at det forekommer epigenetiske endringer i form av global DNA-metylering og DNA-metylering i enkeltgener etter akutt trening, en treningsperiode og/eller økt fysisk aktivitet. Etter akutt trening er det også gjort funn av

endringer i global histon-acetylering. Men alle disse funnenes reliabilitet må undersøkes og funnene må verifiseres og valideres.

Siden ingen studier har sett på endringer i histon-metylering i spesifikke lysin sidekjeder etter en treningsperiode ville det være svært interessant å se nærmere på slike endringer. Man kan for eksempel undersøke endringer i H3K4me3 og H3K27me3 i promotoren for genene IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , PDK4, PGC1 $\alpha$ , CPT1-B og PPAR $\delta$  for å kartlegge epigenetiske endringer som følge av en treningsperiode ytterligere (se teori og nedenfor). Det forekommer ingen studier som har sett på epigenetiske endringer som følge av trening i CPT1-B, og funn av endret histon-metylering for de overfor nevnte genene vil kunne øke forståelsen av epigenetiske endringer i disse genene ytterligere. H3-metylering ser ut til og holdes stabil igjennom mitosen, og det betyr at histon-metylering kan fungere som epigenetisk hukommelse i cellene (McGee et al., 2009). Dette kan videre være med på å føre til langtidseffekter etter en treningsperiode. Slik epigenetisk hukommelse gjør at det kan være interessant å undersøke H3-metylering i DNA fra myoblaster, siden Lund et al. (2017) fant at treningsinduserte endringer i promotormetylering kan opprettholdes når satellitceller differensierer til myoblaster og videre til myotuber. Bruken av myoblaster er nyttig siden de kan dyrkes fram i laboratoriet slik at man får nok DNA til å utføre PCR.

Treningsintervensjonen burde være av en viss varighet, et sted mellom 3 til 6 måneder, for å være sikker på å finne epigenetiske endringer (se tabell 1). Studier tyder på at intensiteten på treningen også er viktig, og det kan være lurt å innføre intervalltrening av høy intensitet for å kunne knytte epigenetiske endringer til økt prestasjonsevne i form av økt VO<sub>2maks</sub>. Resultatene fra slike epigenetiske analyser etter en treningsperiode kan gi større forståelse av treningseffekt på prestasjonsevne og livsstilsykdommer.

H3K4me3 finnes ved transkripsjonens start sted (TSS) i både aktive og inaktive promotorer, noe som betyr at H3K4me3 sannsynligvis kan markere at et gen blir transkribert eller at genet muligens kan bli aktivt. Dette er tilfellet for et gen som er stille i G0, men som er aktivt i G1 og i mitosen, hvor det ser ut til at gener som blir transkribert i G1 blir markert med H3K4me3 under G0. En økning av mengden H3K4me3 nær TSS kan muligens spille en rolle i initieringen av transkripsjon ved at TAF3 binder seg til H3K4me3 og deretter muligens rekrutterer RNA polymerase II (Black et al., 2012). H3K4me3 kan også bli oppdaget av- og bundet til PHD-fingeren,

som finnes i den karboksyl-terminale delen av ING (Inhibitor of Growth) proteiner, og den amino-terminale delen av ING kan igjen rekruttere histon acetylasen (HAT) og histon de-acetylasen (HDAC) (Champagne & Kutateladze, 2009). Rekruttering av HAT vil kunne føre til transkripsjon siden acetylering er assosiert med forlengelse av transkripsjonen (Bannister & Kouzarides, 2011). H3K27 finnes derimot i store mengder sammen med H3K9 og H4K20 i heterokromatin, og H3K27me<sub>3</sub> ser ut til å undertrykke transkripsjonen ved å inhibere forlengelsen av transkriptet. Slik inhibering av H3K27me<sub>3</sub> kan fjernes ved demetylering ved hjelp av KDM6B slik at transkripsjonen av genet kan gjennomføres (Black et al., 2012; Kouzarides, 2007). Inaktive promotorer er ofte markert med H3K9me<sub>3</sub> og H3K27me<sub>3</sub>, og bivarente gener er ofte markert med både H3K4me<sub>3</sub> og H3K27me<sub>3</sub> i promotorregionen (Black et al., 2012).

Analyse av metylering av H3K4 og H3K27 i promotorregionen til genene IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , PDK4, PGC1 $\alpha$ , CPT1-B og PPAR $\delta$  kan bli utført på DNA fra myoblaster, som er en type celler i et differensieringsstadium fra satellittceller. Satellittceller er en type stamcelle lokalisert mellom basalmembranen og sarcolemma i muskelceller, og de fungerer som stamceller både i forbindelse med regenerering og adaptasjon i skjelettmuskulatur (Paulsen et al., 2012 og Lieber 2010). Sannsynligvis kan akutt eksentrisk trening aktivere myogene satellittceller til å differensiere seg ved å påføre muskelfibrene og ekstracellulært matriks degenererende skader, noe som trigger regenererings-respons hos satellittcellene (Crameri et al., 2007). Akkumulering av myoblaster i det skadede, nekrotiske, området betyr at satellittceller er blitt aktivert til terminal differensiering (Paulsen et al., 2012 og Crameri et al., 2007). Normal trening ser ikke ut til å føre til nekrose i muskelceller, og remodelering av muskelcellen som følge av proliferering og differensiering av myoblaster er derfor ikke en vanlig adaptasjon etter trening. Men det ser ut til at skader på myofibriller etter trening kan føre til at mengden satellittceller øker, noe som øker muskelcellens potensiale for regenerering ved eventuelle skader i framtiden (Crameri et al., 2007 og Paulsen et al., 2012).

På grunnlag av overfor nevnte transkripsjonsfaktorer og deres RE (se teori) kan man bruke gendatabaser for å identifisere PPRE i promotorer for PPAR $\delta$  mål-genene (PKD4, PGC1 $\alpha$ , CPT1 $\beta$  og PPAR $\delta$ ) og for å identifisere NF $\kappa$ B-RE i promotere for NF $\kappa$ B mål-genene (TNF $\alpha$  og IL1 $\beta$ ) (se teori). Disse sekvensene kan deretter bli brukt for å designe

PCR primere for genene til områder hvor H3K4me3 og H3K27me3 ser ut til å binde seg. Man kan for eksempel lage 6 forskjellige PCR miksturer med primere for IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , PKD4, PGC1 $\alpha$ , CPT1 $\alpha$  og PPAR $\delta$ . Det kan også være lurt å finne primere til områdene -1kb -og +1kb for TSS, og til områder hvor også NF $\kappa$ B, RXRA eller ERalpha binder seg. Man kan kjøre RT-PCR med primere for genene for å kunne dokumentere resultater fra qPCR ytterligere.

## 6. Konklusjon

Litteraturen som er gjennomgått i denne studien viser at akutt trening, en treningsperiode og/eller fysisk aktivitet kan føre til spesifikke og globale endringer i DNA-metylering. Akutt trening kan også føre til endringer i global histon-acetylering, men det er ingen studier som har undersøkt endringer i histon-metylering. Det er en lang veg å gå før man med sikkerhet kan si hvilke epigenetiske endringer som kan forekomme etter trening eller fysisk aktivitet.

Studier som finner endringer i DNA-metylering og histon-acetylering etter akutt trening kan øke vår forståelse av kroppens evne til hurtig å kunne tilpasse seg endret stimuli utenfra. Funn av endret DNA-metylering etter en treningsperiode kan vitne om langtidseffekter etter en treningsperiode siden DNA-metylering ser ut til å kunne holde seg stabil igjennom mitosen. Slik epigenetisk hukommelse kan underbygges av studier som finner endret DNA-metylering etter en treningsperiode og deretter fortsatt endret DNA-metylering etter en periode uten trening. Dette, sammen med funn av endret DNA-metylering i gener som er relevante for metabolisme og inflammasjon, kan være med på å forklare befolkningen hvordan trening eller fysisk aktivitet kan føre til bedre helse. Slike funn kan også være med på å øke forståelsen av hvilke endringer som skjer i kroppen når trening fører til økt prestasjonsevne. DNA-metylering og/eller histon-acetylering ser ut til å være sensitive og nøyaktige markører i genomet som kan være med på å forbedre helsen eller prestasjonsevnen til friske mennesker.

## Referanser

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2002). *Molecular biology of the cell (Fourth edition)*. New York: Garland Science, Taylor & FrancisGroup.
- Allfrey, V. G., Faulkner, R. & Mirsky, A. E. (1964). Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 51, 786-794.
- Bajpeyi, S., Covington, J. D., Taylor, E. M., Stewart, L. K., Galgani, J. E. & Henagan T. M. (2017). Skeletal muscle PGC1 $\alpha$  - 1 nucleosome position and – 260 nt DNA methylation determine exercise response and prevent ectopic lipid accumulation in men. *Endocrinology*, 158, 2190-2199.
- Baldwin, A. S. Jr. (1996). The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights [Abstrakt]. *Annual Review of Immunology*, 14, 649-683.
- Bannister, A. J. & Kouzarides, T. (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. Review. *Cell Research*, 21, 381-395.
- Barrès, R., Yan, J., Egan, B., Treebak, J. T., Rasmussen, M., Fritz, T. ... Zierath, J. R. (2012). Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 15, 405-411.
- Berger, J., & Moller, D. E. (2002). The mechanisms of action of PPARs. *Annual Review of Medicine*, 53, 409-435.
- Black, J. C., Rechem, C. V. & Whetstine, J. R. (2012). Histone lysine methylation dynamics: establishment, regulation, and biological impact. *Molecular Cell*, 48, 491-507.
- Bonnefont, J.-P., Djouadi, F., Prip-Buus, C., Gobin, S., Munnich, A. & Bastin, J. (2004). Carnitine palmitoyltransferases 1 and 2: biochemical, molecular and medical aspects. Review. *Molecular Aspects of Medicine*, 25, 495-520.
- Boyne, D. J., King, W. D., Brenner, D. R., McIntyre, J. B., Courneya, K. S. & Friedenreich, C. M. (2018). Aerobic exercise and DNA methylation in postmenopausal

- women: An ancillary analysis of the Alberta Physical Activity and Breast Cancer Prevention (ALPHA) Trial. *PLoS One*, 13 (6), 1-13.
- Bryan, A. D., Magnan, R. E., Hooper, A. E. C., Harlaar, N. & Hutchison, K. E. (2013). Physical activity and differential methylation of breast cancer genes assayed from saliva: A preliminary investigation. *Annals of Behavioral Medicine*, 45, 89-98.
- Champagne, K. S. & Kutateladze, T. G. (2009). Structural insight into histone recognition by the ING PHD fingers. *Current Drug Targets*, 10, 432-441.
- Clarkson, P. M. & Hubal, M. J. (2002). Exercise-induced muscle damage in humans (Literature review). *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 81, 52-69.
- Cold Spring Harbor Laboratory. (2011, mars). *Johann Gregor Mendel (1822-1884)*. Hentet 11. Oktober fra <http://dnaftb.org/1/bio.html>
- Cold Spring Harbor Laboratory. (2011, mars). *Phoebus Levene (1869-1940)*. Hentet 11. oktober fra <http://dnaftb.org/15/bio-2.html>
- Cramer, R. M., Aagaard, P., Qvortrup, K., Langberg, H., Olesen, J. & Kjær, M. (2007). Myofibre damage in human skeletal muscle: Effects of electrical stimulation versus voluntary contraction. *The Journal of Physiology*, 583, 365-380.
- Czubryt, M. P., McAnally, J., Fishman, G. I. & Olson, E. N. (2003). Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha) and mitochondrial function by MEF2 and HDAC5. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100, 1711-1716.
- Dahm, R. (2005). Friedrich Miescher and the discovery of DNA. *Developmental Biology*, 278, 274-288.
- Daniele, S., Costa, B., Pietrobono, D., Giacomelli, C., Iofrida, C., Trincavelli, M. L. ... Martini, C. (2018). Epigenetic modifications of the  $\alpha$ -synuclein gene and relative protein content are affected by ageing and physical exercise in blood from healthy subjects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018 (3740345), 1-16.
- da Silveira, F. P., Basso, C., Raupp, W., Dalpiaz, M., Bertoldi, K., Siqueira, I. R. ... Elsner, V. R. (2017). BDNF levels are increased in peripheral blood of middle-aged

- amateur runners with no changes on histone H4 acetylation levels. *The Journal of Physiological Sciences*, 67, 681-687.
- Denham, J., O'Brien, B. J., Marques, F. Z. & Charchar, F. J. (2015a). Changes in the leukocyte methylome and its effect on cardiovascular-related genes after exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 118, 475-488.
- Denham, J., O'Brien, B. J., Harvey, J. T. & Charchar, F. J. (2015b). Genome-wide sperm DNA methylation changes after 3 months of exercise training in humans. *Epigenomics*, 7, 717-731.
- Denham, J., Marques, F. Z., Bruns, E. L., O'Brien, B. J. & Charchar, F. J. (2016). Epigenetic changes in leukocytes after 8 weeks of resistance exercise training. *European journal of applied physiology*, 116, 1245-1253.
- Dimauro, I., Scalabrin, M., Fantini, C., Grazioli, E., Valls, M.R. B., Mercatelli, N. ... Caporossi, D. (2016). Resistance training and redox homeostasis: Correlation with age-associated genomic changes. *Redox Biology*, 10, 34-44.
- Dorneles, G. P., Boeira, M. C. R., Schipper, L. L., Silva, I. R. V., Elsner, V. R., Lago, P. D. ... Romão, P. R. T. (2017). Acute strenuous exercise induces an imbalance on histone H4 acetylation/histone deacetylase 2 and increases the proinflammatory profile of PBMC of obese individuals. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017 (1530230), 1-12.
- Ehlert, T., Simon, P. & Moser, D. A. (2013). Epigenetics in Sports. Review article. *Sports Medicine*, 43, 93-110.
- Fabre, O., Ingerslev, L. R., Garde, C., Donkin, I., Simar, D. & Barrès, R. (2018). Exercise training alters the genomic response to acute exercise in human adipose tissue. *Epigenomics*, 10, 1033-1050.
- Feige, J. N., Gelman, L., Michalik, L., Desvergne, B. & Wahli, W. (2006). From molecular action to physiological outputs: Peroxisome proliferator-activated receptors are nuclear receptors at the crossroads of key cellular functions. Review. *Progress in Lipid Research*, 45, 120-159.

- Han, K., Song, H., Moon, I., Augustin, R., Moley, K., Rogers, M. & Lim, H. (2007). Utilization of DR1 as true RARE in regulating the Ssm, a novel retinoic acid-target gene in the mouse testis [Abstrakt]. *The Journal of endocrinology*, 192, 539-51.
- Handschin, C. & Spiegelman, B. M. (2008). The role of exercise and PGC1 $\alpha$  in inflammation and chronic disease. *Nature*, 454, 463-469.
- Helsedirektoratet (2008). *Aktivitetshåndboken, Fysisk aktivitet i forebygging og behandling*. Redaktør: Roald Bahr, prof. dr. med, Norges idrettshøgskole.
- Ingerslev, L. R., Donkin, I., Fabre, O., Versteyhe, S., Mechta, M., Pattamaprapanont, P. ... Barrès, R. (2018). Endurance training remodels sperm-borne small RNA expression and methylation at neurological gene hotspots. *Clinical Epigenetics*, 10 (12), 1-11.
- Kouzarides, T. (2007). Chromatin modifications and their function. Review. *Cell*, DOI 10.1016/j.cell.2007.02.005
- Lane, S. C., Camera, D. M., Lassiter, D. G., Areta, J. L., Bird, S. R., Yeo, W. K. ... Hawley, J. A. (2015). Effects of sleeping with reduced carbohydrate availability on acute training responses. *Journal of Applied Physiology*, 119, 643-655.
- Lieber, R. L. (2010). *Skeletal muscle structure, function, and plasticity. (The physiological basis of rehabilitation. Third edition.)* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
- Lin, W.-W. & Karin, M. (2007). A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 117, 1175-1183.
- Lindholm, M. E., Marabita, F., Gomez-Cabrero, D., Rundqvist, H., Ekström, T. J., Tegnér, J. & Sundberg, C. J. (2014). An integrative analysis reveals coordinated reprogramming of the epigenome and the transcriptome in human skeletal muscle after training. *Epigenetics*, 9, 1557-1569.
- Lund, J., Rustan, A. C., Løvsletten, N. G., Mudry, J. M., Langleite, T. M., Feng, Y. Z. ... Thoresen, G. H. (2017). Exercise in vivo marks human myotubes in vitro: Training-induced increase in lipid metabolism. *PloS One*, 12 (4), 1-24.



- Luttrupp, K., Nordfors, L., Ekström, T. J. & Lind, L. (2013). Physical activity is associated with decreased global DNA methylation in Swedish older individuals. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 73, 184-185.
- Macaluso, F. & Myburgh, K. H. (2012). Current evidence that exercise can increase the number of adult stem cells. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 33, 187-198.
- Marques-Rocha, J. L., Milagro, F. I., Mansego, M. L., Mourão, D. M., Martínez, J. A. & Bressan, J. (2016). LINE-1 methylation is positively associated with healthier lifestyle but inversely related to body fat mass in healthy young individuals. *Epigenetics*, 11 (1), 49-60.
- Masuki, S., Nishida, K., Hashimoto, S., Morikawa, M., Takasugi, S., Nagata, M. ... Nose, H. (2017). Effects of milk product intake on thigh muscle strength and NFKB gene methylation during home-based interval walking training in older women: A randomized, controlled pilot study. *PLoS One*, 12 (5), 1-26.
- McEwen, L. M., Gatev, E. G., Jones, M. J., MacIsaac, J. L., McAllister, M. M., Goulding, R. E. ... Ashe, M. C. (2018). DNA methylation signatures in peripheral blood mononuclear cells from a lifestyle intervention for women at midlife: a pilot randomized controlled trial. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 43, 233-239.
- McGee, S. L., Fairlie, E., Garnham, A. P. & Hargreaves, M. (2009). Exercise-induced histone modification in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 587, 5951-5958.
- McGee, S. L. & Hargreaves, M. (2011). Histone modifications and exercise adaptations. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 110, 258-263.
- Nakajima, K., Takeoka, M., Mori, M., Hashimoto, S., Sakurai, A., Nose, H. ... Taniguchi, S. (2010). Exercise effects on methylation of ASC gene. *International journal of sports medicine*, 31, 671- 675.
- Ng, S. W. & Popkin, B. (2012). Time use and physical activity: A shift away from movement across the globe. *Obesity Reviews*, 13, 659-680.

Nilsson, E. E., Sadler-Riggelman, I. & Skinner, M. K. (2018). Environmentally induced epigenetic transgenerational inheritance of disease. *Environmental Epigenetic*, 4 (2), 1-13.

Nitert, M. D., Dayeh, T., Volkov, P., Elgzyri, T., Hall, E., Nilsson, E. ... Ling, C. (2012). Impact of an exercise intervention on DNA methylation in skeletal muscle from first-degree relatives of patients with type 2 diabetes. *Diabetes*, 61, 3322-3332.

Paulsen, G., Mikkelsen, U. R., Raastad, T. & Peake, J. M. (2012). Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise? *Exercise Immunology Review*, 18, 42-97.

Peake, J., Nosaka, K. & Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. (Inflammation and eccentric exercise). *Exercise Immunology Review*, 11, 64-85.

Robinson, M. M., Dasari, S., Konopka, A. R., Johnson, M. L., Manjunatha, S., Esponda, R. R. ... Nair, K. S. (2017). Enhanced protein translation underlies improved metabolic and physical adaptations to different exercise training modes in young and old humans. *Cell Metabolism*, 25, 581-592.

Robson-Ansley, P. J., Saini, A., Toms, C., Ansley, L., Walshe, I. H., Nimmo, M. A. & Curtin, J. A. (2014). Dynamic changes in DNA methylation status in peripheral blood mononuclear cells following an acute bout of exercise: Potential impact of exercise-induced elevations in interleukin-6 concentration. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 28, 407-417.

Rönn, T., Volkov, P., Davegårdh, C., Dayeh, T., Hall, E., Olsson, A. H. ... Ling, C. (2013). A six months exercise intervention influences the genome-wide DNA methylation pattern in human adipose tissue. *PLoS Genetics*, 9 (6), 1-16.

Sand, O., Sjaastad, Ø. V. & Haug, E. (Med. Ill. Toverud, K. C.) (2002). *Menneskets fysiologi*. Oslo: Gyldendal Norsk Forlag AS.

Seaborne, R. A., Strauss, J., Cocks, M., Shepherd, S., O'Brien, T. D., van Someren, K. A. ... Sharples, A. P. (2018). Human skeletal muscle possesses an epigenetic memory of hypertrophy. *Scientific Reports*, 8 (1), 1-17.

- Schenk, A., Bloch, W. & Zimmer, P. (2016). Natural killer cells – An epigenetic perspective of development and regulation. *International Journal of Molecular Sciences*. 17, 326.
- Schuler, M., Ali, F., Chambon, C., Duteil, D., Bornert, J. M., Tardivel, A. ... Metzger, D. (2006). PGC1alpha expression is controlled in skeletal muscles by PPARbeta, whose ablation results in fiber-type switching, obesity, and type 2 diabetes. *Cell Metabolism*, 4, 407-414.
- Science History Institute. (2017, 4. desember). *James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins, and Rosalind Franklin*. Hentet 11. Oktober fra <https://www.sciencehistory.org/historical-profile/james-watson-francis-crick-maurice-wilkins-and-rosalind-franklin>
- Strahl, B. D. & Allis, C. D. (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature*, 403, 41-45.
- Sun, S.-C. & Ley, S. C. (2008). New insights into NF-κB regulation and function. *Trends in Immunology*, 29, 469-478.
- Voje, K. L. (2018). August Weismann. I: *Store Norske Leksikon*. Hentet 11. oktober 2018 fra [https://snl.no/Charles\\_Darwin](https://snl.no/Charles_Darwin)
- Voje, K. L. (2018). Charles Darwin. I: *Store Norske Leksikon*. Hentet 11. oktober 2018 fra [https://snl.no/Charles\\_Darwin](https://snl.no/Charles_Darwin)
- Wang, L. & Sahlin, K. (2012). The effect of continuous and interval exercise on PGC-1a and PDK4 mRNA in type I and type II fibres of human skeletal muscle. *Acta Physiologica*. 204, 525–532.
- Weisenberger, D. J., Campan, M., Long, T. I., Kim, M., Woods, C., Fiala, E. ... Laird, P. W. (2005). Analysis of repetitive element DNA methylation by MethyLight. *Nucleic Acids Research*, 33, 6823-6836.
- White, A. J., Sandler, D. P., Bolick, S. C. E., Xu, Z., Taylor, J. A. & DeRoo, L. A. (2013). Recreational and household physical activity at different time points and DNA global methylation. *European journal of cancer (Oxford, Engand : 1990)*, 49, 2199-2206.

- Yang, A. S., Estècio, M. R. H., Doshi, K., Kondo, Y., Tajara, E. H. & Issa, J.-P. J. (2004). A simple method for estimating global DNA methylation using bisulfite PCR of repetitive DNA elements. *Nucleic Acids Research*, 32 (3), 1-6.
- Zhang, F. F., Cardarelli, R., Carroll, J., Zhang, S., Fulda, K. G., Gonzalez, K. ... Santella, R. M. (2011). Physical activity and global genomic DNA methylation in a cancer-free population. *Epigenetics*, 6, 293-299.
- Zhang, Y., Hashimoto, S., Fuji, C., Hida, S., Ito, K., Matsumaura, T. ... Taniguchi, S. (2015). NFκB2 gene as a novel candidate that epigenetically responds to interval walking training. *International Journal of Sports Medicine*, 36, 769-775.
- Zimmer, P., Baumann, F. T., Bloch, W., Schenk, A., Koliymitra, C., Jensen, P. ... Elter, T. (2014). Impact of exercise on pro inflammatory cytokine levels and epigenetic modulations of tumor-competitive lymphocytes in Non-Hodgkin-Lymphoma patients-randomized controlled trial. *European Journal of Haematology*, 93, 527-532.
- Zimmer, P., Bloch, W., Schenk, A., Zopf, E. M., Hildebrandt, U., Streckmann, F. ... Baumann, F. (2015). Exercise-induced natural killer cell activation is driven by epigenetic modifications. *International Journal of Sports Medicine*, 36, 510- 515.