

Martin Nordseth

---

## Effekten av én styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak på anabol signalering hos eldre

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2017



## Sammendrag

**Innledning:** Eldre opplever en gradvis reduksjon i muskelmasse og dette vil potensielt få konsekvenser for deres helse og funksjon i hverdagen. Anabol resistens, definert som redusert akutt muskelrespons på trening og proteininntak, er foreslått som en viktig årsak til denne reduksjonen av muskelmasse. Innen 2050 forventes det en dobling av antall 60-åringer og en tredobling av antall 80-åringer. Styrketrening i kombinasjon med proteininntak har vist å være en effektiv strategi for å motvirke denne reduksjonen av muskelmassen hos friske 70-åringer. Hensikten med denne studien var derfor å studere om aktivering av ulike anabole signaler i muskel hos skrøpelige eldre er lavere enn hos friske eldre.

**Metode:** 13 skrøpelige eldre og 7 friske eldre gjennomførte en muskelbiopsi fra *m.vastus lateralis* 30 minutter før og 2,5 timer etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak (~17 gram protein). Anabol signalering ble undersøkt ved å måle fosforyleringsstatus for p70S6K, 4E-BP1 og eEF2 med western blot.

**Resultater:** Begge gruppene økte p70S6K-fosforyleringen signifikant fra baseline uten forskjell mellom gruppene. Skrøpelige eldre økte 4E-BP1-fosforylering signifikant fra baseline og de skrøpelige økte signifikant mer enn de friske. Det var ingen endring i eEF2-fosforylering fra baseline, men de skrøpelige eldre hadde signifikant lavere fosforylering (økt aktivering) ved baseline.

**Diskusjon:** Funnene i denne studien viser at anabol signalering som akutt respons på en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak, ikke var lavere hos skrøpelige eldre sammenlignet med friske eldre. Det kan spekuleres i om intensiteten og volumet på treningsøkten var stor nok til å overkomme en eventuell anabol resistens hos de skrøpelige. Noe overaskende var 4E-BP1-responsen høyere hos de skrøpelige enn hos de friske eldre, og det kan spekuleres i om styrketreningsøkten førte til noe større muskelødeleggelser hos de skrøpelige. I og med at vi ikke målte MPS i denne studien kan vi ikke slå fast om syntesehastighet økte like mye i de to gruppene.

**Konklusjon:** I motsetning til hypotesen i denne studien ser det ikke ut til å være lavere anabol respons i muskel for skrøpelige eldre sammenliknet med friske eldre etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak.



## Forord

Denne masteroppgaven ble skrevet på resultater dra STAS-prosjektet og TINE-prosjektet, dette er studier gjennomført på seksjonen for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole våren 2014 og våren 2016.

Bak denne oppgaven ligger mange dager med hardt og variert arbeid. Alt fra å være hjelpepleier og sjåfør, til treningsveileder og lab-arbeider. Takk til Stian, Ole, Daniel, Markus og Sigve for godt samarbeid og mye moro med en utfordrende gruppe deltakere.

Takk til Truls og Sigve for veiledning med oppgaven, og takk til Muttern og Tove for korrekturlesing. Dere har virkelig vært med å løfte oppgaven.

Arbeidet på lab har lært meg masse om tålmodighet og frustrasjon. Takk til Vilde, Hege og Ingrid for mye god hjelp på veien. Takk til Håvard for lån av muskelbiopsier fra TINE-prosjektet.

Takk til alle de skrøpelige eldre som stilte opp med godt mot stort sett hver gang, av og til uvitende om hva de hadde gjort og hva de skulle gjøre. Det må nevnes at dette er en meget utfordrerne gruppe å gjøre analyser på og derfor er mestringsfølelsen desto større til slutt.

Takk til den langvarige lyskestrekken jeg pådro meg i november. Du har holdt meg vekke fra fotballbanen slik at jeg har fått mer tid til å fokusere på denne oppgaven.

Takk til Mutter og Fatter for god støtte på veien, selv om dere til tider ikke skjønner hva jeg driver med eller hva jeg skal bli når jeg blir stor. Takk for lånet av slippers på labben Fattern. Du skal få de igjen nå.

Tusen takk til min kjære Lise, du er en kjæreste i verdensklasse!

Oslo, mai 2017

*Martin Nordseth*



# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Forord</b> .....	<b>4</b>
<b>Innhold</b> .....	<b>5</b>
<b>1. Innledning</b> .....	<b>7</b>
<b>2. Teori</b> .....	<b>10</b>
2.1 Aldring.....	10
2.2 Proteinbalanse i muskulaturen .....	10
2.2.1 Proteininntak og muskelproteinsyntese.....	12
2.2.2 Styrketrening og muskelproteinsyntese .....	13
2.2.3 Styrketrening og proteininntak.....	13
2.3 Redusert anabol respons med økende alder? .....	15
2.4 Anabol resistens-potensielle mekanismer.....	16
2.5 Hypertrofisignalering.....	19
2.5.1 mTORC1 .....	19
2.5.2 p70S6K.....	21
2.5.3 4E-BP1 .....	23
2.5.4 eEF2 .....	24
2.5.5 Oppsummering, intracellulær signalering .....	25
<b>3. Metode</b> .....	<b>27</b>
3.1 Rekruttering.....	27
3.2 Inklusjon-/eksklusjonskriterier .....	27
3.2.1 Skrøpelige eldre.....	27
3.2.2 Friske eldre.....	28
3.3 Forsøkspersoner .....	29
3.4 Tester .....	29
3.4.1 Stoltesten .....	29
3.4.2 MVC.....	30
3.4.3 Akuttdag og biopsiproedyre .....	30
3.5 Analyser.....	31
3.5.1 Homogenisering .....	31
3.5.2 Proteinmåling .....	32
3.5.3 Western blot .....	32
3.6 Statistikk.....	34

<b>4.</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>36</b>
4.1	Karakteristikk.....	36
4.1.1	Styrke og stoltesten .....	36
4.2	Intracellulær signalering.....	37
4.2.1	P70S6K.....	37
4.2.2	4E-BP1 .....	38
4.2.3	eEF2 .....	39
4.3	Korrelasjoner .....	40
<b>5.</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>41</b>
5.1	Fysiske tester .....	41
5.2	p70S6K.....	42
5.3	4E-BP1 .....	44
5.4	eEF2 .....	45
5.5	Skrøpelige eldre og friske eldre.....	47
5.6	Intracellulær signalering og MPS .....	48
5.7	Konklusjon .....	49
	<b>Referanser.....</b>	<b>51</b>
	<b>Tabelloversikt .....</b>	<b>64</b>
	<b>Figuroversikt.....</b>	<b>65</b>
	<b>Forkortelser .....</b>	<b>66</b>
	<b>Vedlegg 1: Informert samtykke .....</b>	<b>69</b>
	<b>Vedlegg 2: Fried Frailty, modified.....</b>	<b>78</b>
	<b>Vedlegg 4: SPPB .....</b>	<b>81</b>
	<b>Vedlegg 3: Westernblot prosedyre. ....</b>	<b>83</b>
	<b>Vedlegg 5: MMSE.....</b>	<b>88</b>



# 1. Innledning

Muskelmasse og muskelstyrke er avgjørende for alle typer bevegelse og er derfor viktig for funksjonen i hverdagen. Muskelmassen har også en viktig oppgave for å forhindre flere ulike livsstilsykdommer som hjerte- og karsykdom, fedme og diabetes 2 (Wolfe, 2006b). Eldre opplever en gradvis reduksjon i muskelmasse og muskelstyrke (W. K. Mitchell et al., 2012), og dette vil potensielt kunne få negative konsekvenser for deres helse og funksjon i hverdagen. Dersom tapet av muskelmasse, muskelstyrke og funksjonsevne er av betydelig karakter, omtales tilstanden som sarkopeni. The European Working Group on Sarcopenia (EWGSOP) har definert sarkopeni som tiltagende tap av muskelmasse og muskelstyrke med økende alder, og påfølgende økt risiko for nedsatt funksjonsevne, redusert livskvalitet og død (Cruz-Jentoft et al., 2010). Styrketrening kan være en effektiv strategi for å forhindre eller bremse tapet av muskelmasse og muskelfunksjon med økende alder (Silva, Oliveira, Fleck, Leon, & Farinatti, 2014), selv blant skrøpelige eldre som bor på sykehjem (Valenzuela, 2012). I tillegg til et lavt aktivitetsnivå, har mange eldre også et lavt inntak av protein, og vil derfor kunne ha fordel av å øke sitt proteininntak (Tieland, Borgonjen-Van den Berg, van Loon, & de Groot, 2012). Kombinasjonen av styrketrening og proteininntak står derfor frem som en effektiv strategi for å øke muskelmassen og bedre muskelstyrken blant eldre. Økt muskelmasse og bedret muskelstyrke kan igjen hjelpe de eldre til å klare flere aktiviteter i dagliglivet og være mindre avhengig av hjelp fra andre.

Flere studier har vist at eldre har en redusert muskulær respons til styrketrening og proteininntak (Cuthbertson et al., 2005; Katsanos, Kobayashi, Sheffield-Moore, Aarsland, & Wolfe, 2005; Kumar et al., 2009; Paddon-Jones et al., 2004), og dette omtales i litteraturen som anabol resistens (Cuthbertson et al., 2005). Reduksjonen i muskelmasse og muskelstyrke blant eldre kan være en konsekvens av anabol resistens, som videre fører til mindre fysisk aktivitet. Mindre fysisk aktivitet kan også ha ført til anabol resistens og tap av muskelmasse og muskelstyrke (Breen et al., 2013). Mye stillesitting blant eldre kan derfor være en av hovedårsakene til anabol resistens. Estimerer tyder på at antall 60-åringer dobles fra 900 millioner til cirka 2 milliarder innen 2050 og antall 80-åringer vil tredobles (Shad, Thompson, & Breen, 2016). Med en så kraftig økning i antall eldre i fremtiden vil det være viktig å finne effektive metoder for å redusere dette aldersrelaterte tapet i muskelstyrke og muskelmasse slik at

antallet pleietrengende eldre ikke øker i samme hastighet.

For å måle endringer i muskelmasse over tid brukes DEXA (dual-energy X-ray absorptiometry), MR (magnetresonanstomografi) og ultralyd. Muskelbiopsier kan brukes for å måle hva som skjer akutt inne i muskulaturen som en respons til styrketrening og proteininntak. Western blot og immunohistokjemi brukes for å analysere muskelbiopsiene og vil kunne si noe om lokalisering, aktiveringsgrad og forekomst av ulike proteiner. Infusjon av merkede aminosyrer sammen med muskelbiopsier gir informasjon om hastighet på muskelproteinsyntese (MPS) og nedbrytning. Hastigheten på MPS styres av fosforylering (aktivering) av ulike intracellulære anabole signalmolekyler, og ved å måle disse signalene kan man si noe om den akutte responsen til en styrketreningsøkt eller et proteininntak (West et al., 2011). Endringer i aktiviteten til Mammalian target of rapamycin (mTOR) er omtalt som hovedregulatoren for MPS, og en videre aktivering av nedstrøms translasjonsinitieringsfaktorer som 70 kDa S6 protein kinase (p70S6K) og eukaryot initieringsfaktor 4E-binding protein 1 (4E-BP1) og eukaryot elongeringsfaktor 2 (eEF2) vil potensielt kunne oppregulere hastigheten på MPS (Dreyer et al., 2008).

Noen studier finner redusert MPS respons og redusert anabol signalering hos eldre sammenliknet med yngre etter en styrketreningsøkt og/eller et proteininntak (Fry et al., 2011; Moore, Atherton, Rennie, Tarnopolsky, & Phillips, 2011; Shad et al., 2016). Andre studier finner imidlertid ikke anabol resistens blant eldre (65-72 år), og forskjeller i alder og fysisk form kan være en forklaring dette (Shad et al., 2016). Skrøpelige eldre (80-89 år) har vist å øke muskelstyrken og den fysiske funksjonen etter en periode med styrketrening og proteininntak (Valenzuela, 2012). Det er imidlertid ingen studier som så langt har målt MPS-respons eller anabol signalering hos skrøpelige eldre. Derfor var hensikten med denne studien å undersøke om den anabole responsen på styrketrening og proteininntak i muskel var forskjellig mellom friske og skrøpelige eldre. Anabol respons ble målt ved hjelp av muskelbiopsier og western blotanalyser der det ble målt fosforyleringsgrad av p70S6K, 4E-BP1 og eEF2. Det ble også gjennomført ulike fysiske tester for å sammenlikne gruppene.

Studien har følgende hypotese:

*Hypotese nr. 1:* Sammenlignet med friske eldre har skrøpelige eldre lavere anabol respons i muskel etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak.

Relatert til de spesifikke analysene gjennomført i denne oppgaven ble det derfor forventet en mindre endring i fosforyleringsgrad (aktivering) av p70S6K, 4E-BP1 og eEF2 hos skrøpelige eldre sammenliknet med friske eldre som respons til en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak.

## **2. Teori**

### **2.1 Aldring**

Med økende alder reduseres muskelstyrken og muskelmassen, og som følge av dette opplever eldre ulike utfordringer i dagliglivet (Goodpaster et al., 2006; Harbo, Brincks, & Andersen, 2012; Metter, Conwit, Tobin, & Fozard, 1997). Den aldersrelaterte reduksjonen i muskelmasse defineres som sarkopeni og for å kunne karakterisere en person med sarkopeni må personen oppnå to av tre følgende kriterier: Lav muskelmasse og lav muskelstyrke eller lavt funksjonsnivå (Cruz-Jentoft et al., 2010). Sarkopeni er en viktig årsak til den økte forekomsten av uførhet, sykelighet, fall og dødelighet (Bouillanne et al., 2013; Landi et al., 2012). I alderen 20 til 50 år mister man 5-10 % muskelmasse, men i alderen 50-80 år kan man forvente en reduksjon på 30-40 % (Hunter, McCarthy, & Bamman, 2004). Som følge av redusert muskelmasse reduseres også muskelstyrken. Reduksjonen i muskelmasse sees på som den viktigste faktoren for tap av muskelstyrke, men Goodpaster et al. (2006) fant en tre ganger så stor reduksjon i muskelstyrke sammenliknet med muskelmasse over en 3-årsperiode hos 70-åringene. Dette betyr at både muskelmasse og muskelkvalitet er viktig for opprettholde muskelstyrken (Goodpaster et al., 2006). Evnen til hurtig kraftutvikling hos eldre reduseres i enda større grad enn muskelstyrke og det ser ut til at denne reduksjonen starter tidligere (Kostka, 2005). Dette øker risikoen for fall og uførhet som er, og potensielt kan bli, et stort samfunnsproblem i fremtiden (Caserotti, Aagaard, Simonsen, & Puggaard, 2001). Proteinbalansen i muskulaturen er sentralt for å stoppe eller reversere denne utviklingen.

### **2.2 Proteinbalanse i muskulaturen**

Proteinbalansen i skjelettmuskulaturen varierer hele tiden. I tiden etter et måltid vil muskulaturen være i en positiv proteinbalanse, og etter noen timer vil den være i en negativ proteinbalanse (Burd et al., 2012). Ulike treningsstimuli vil også påvirke proteinbalansen (Phillips, 2009). Proteinbalansen bestemmes av hastigheten på muskelproteinsyntesen (MPS) og hastigheten på muskelproteinproteinnedbrytningen (MPN). ( $MPS - MPN = \text{netto proteinbalanse}$ ).

I fastende tilstand vil hastigheten på MPN være større enn MPS og motsatt i de første timene etter inntak av mat som inneholder tilstrekkelig med protein av høy kvalitet.

Etter en treningsøkt vil hastigheten på både MPS og MPN være økt, og MPS vil kun være høyere enn MPN når tilstrekkelig med aminosyrer er tilgjengelig (Moore, Tang, et al., 2009; Tipton, Ferrando, Phillips, Doyle, & Wolfe, 1999).

For å forstå hvordan styrketrening og proteininntak regulerer proteinbalansen må vi studere effekten på intracellulære signalkaskader som er med i reguleringen av både MPS og MPN. Hastigheten på MPS oppreguleres av både styrketrening (Burd et al., 2010; Phillips, Tipton, Aarsland, Wolf, & Wolfe, 1997) og proteininntak (Biolo, Tipton, Klein, & Wolfe, 1997; Moore, Tang, et al., 2009), og en kombinasjon av disse vil ha økt effekt på MPS-hastigheten og potensielt en positiv effekt på netto muskelproteinbalanse (Drummond, Dreyer, et al., 2008; Moore, Tang, et al., 2009). På hvilken måte styrketrening og proteininntak påvirker MPS vil bli videre diskutert senere. MPS har blitt målt i mange studier, og dette gjennomføres ved hjelp av stabile isotoper. Metodene for å måle MPN baserer seg også primært på bruk av stabile isotoper, men disse metodene baserer seg på mer kompliserte utregninger med større usikkerhet enn beregningene for MPS og er derfor mindre brukt (Attaix, Baracos, & Pichard, 2012). På grunn av disse utfordringene er det noe uenighet om i hvilken grad endringer i nedbrytningshastigheten bidrar til en endring i netto proteinbalanse.

Det er fire forskjellige prosesser involvert i MPN, ubiquitin-proteasom systemet (UPS), autofagi-lysosomal systemet, kalsium-aktiverte proteaser (calpainer) og caspaser (Fry et al., 2013). Innenfor UPS er det to E3 ubiquitin ligaser, MuRF1 (muscle specific RING Finger 1) og MAFbx (muscle atrophy F-box, også kjent som artogin-1), som er sentrale i muskel. Genekspresjonen av disse ligasene er regulert gjennom Forkhead box (FOX) transkripsjonsfaktorer (FOXO1, FOXO3a, FOXO4). Disse inhiberes av Akt gjennom fosforylering (Fry et al., 2013; Glynn et al., 2010). Inntak av karbohydrater sammen med proteiner har ikke vist noen ekstra effekt på MPS utover den stimuleringen aminosyrene har alene (Koopman et al., 2007), men på grunn av en økning i insulin har et inntak på over 100 gram karbohydrater vist en økning i netto proteinbalanse gjennom en reduksjon av MPN (Borsheim, Cree, et al., 2004). Det ser ikke ut til å være noe forskjell mellom eldre og yngre i nedbrytningshastigheten etter en styrketreningsøkt (Fry et al., 2013). Derfor kan det tenkes at reguleringen av MPS er den viktigste faktoren å påvirke for å øke eller opprettholde muskelmasse. MPN er nødvendig for

fjerne ikke-funksjonelle proteiner (Fry et al., 2013), og det er derfor viktig at man opprettholder en tilstrekkelig hastighet på MPN for å opprettholde muskelkvalitet.

### **2.2.1 Proteininntak og muskelproteinsyntese**

Økt tilgang på aminosyrer etter et måltid fører til en positiv netto proteinbalanse i hvile (Biolo et al., 1997; Smith, Reynolds, Downie, Patel, & Rennie, 1998). Det samme gjelder også etter en treningsøkt (Biolo et al., 1997; Phillips et al., 1997). Den anabole effekten av måltidet avhenger av mengden essensielle aminosyrer (Cuthbertson et al., 2005; Volpi, Kobayashi, Sheffield-Moore, Mittendorfer, & Wolfe, 2003), og økt inntak av karbohydrater etter trening øker som sagt ikke hastigheten på MPS, men reduserer kanskje MPN (Koopman et al., 2007). Cuthbertson et al. (2005) viste at essensielle aminosyrer stimulerer MPS uavhengig av insulin, og at en basal MPS hos eldre ikke er redusert sammenliknet med yngre. Det er imidlertid observert at eldre har en forsinket respons til inntak av essensielle aminosyrer (Drummond, Dreyer, et al., 2008; Paddon-Jones et al., 2004), og dette vil diskuteres nærmere senere i denne oppgaven.

Etter et proteininntak når MPS et tak etter cirka 2 timer, og på dette punktet vil ikke syntesen kunne stimuleres ytterligere til tross for videre påfyll av aminosyrer (Atherton et al., 2010; Bohe, Low, Wolfe, & Rennie, 2001). Denne metningen betegnes som "muscle full"-konseptet (heretter omtalt som proteinmetning) (Atherton et al., 2010). Viktigheten av totalt proteininntak sammenliknet med hvordan proteininntaket blir fordelt i løpet av dagen er nylig vist av to studier (Kim et al., 2015; W. K. Mitchell et al., 2015). Kim et al. (2015) fant en økning i MPS hos eldre når de doblet anbefalt daglig inntak av protein (fra 0,8 gram/kg til 1,5 gram/kg) men ingen effekt på hvordan proteininntaket var fordelt gjennom dagen (Kim et al., 2015). Videre kunne W. K. Mitchell et al. (2015) bekrefte samme MPS-respons og proteinmetningseffekt uavhengig av om proteinene ble inntatt i en bolus eller flere små porsjoner.

Effekten av inntak av essensielle aminosyrer hos yngre er doseavhengig fra 2,5 gram til cirka ~10 gram (~2,1 gram leucin) (Cuthbertson et al., 2005). Ved inntak av hele proteiner har man i flere studier sett at MPS er stimulert maksimalt ved cirka 20 gram proteiner (Symons, Sheffield-Moore, Wolfe, & Paddon-Jones, 2009; Witard et al., 2014). Et inntak opp mot 40 gram vil ikke stimulere MPS ytterligere men fører heller til en økt oksidering av aminosyrer og økt ureaproduksjon (Witard et al., 2014; Yang et al.,

2012). I motsetning til disse studiene, har en nyere studie sett økt MPS når de gikk fra 20 til 40 gram protein når dette ble inntatt etter en helkroppsstyrketreningsøkt (Macnaughton et al., 2016), men det er fortsatt et flertall av studier som antyder at maksimal stimulering av muskelproteinsyntese oppnås etter inntak av ca. 20 gram protein hos yngre. Det ser derimot ut som de eldre kan ha behov for et proteininntak opp mot 30 gram (~15 gram essensielle aminosyrer) for å stimulere MPS maksimalt (Pennings et al., 2012). Dette økte behovet for protein for å oppnå maksimal stimulering av MPS kan skyldes anabol resistens blant eldre og det blir tatt opp senere.

### **2.2.2 Styrketrening og muskelproteinsyntese**

Uavhengig av kontraksjonstype har styrketrening vist å øke i hastigheten på MPS 3, 24 og 48 timer etter økten for utrente kvinner og menn (Phillips et al., 1997). Hos trente derimot økte MPS bare i 24 timer (Tang, Perco, Moore, Wilkinson, & Phillips, 2008). Treningsindusert MPS er større i de kontraktile elementene sammenliknet med de cellulære sarkoplasmatiske proteinene. Samme studie viste også at det var utelukkende proteininntak som stimulerte syntesen av de cellulære sarkoplasmatiske proteinene (Moore, Tang, et al., 2009). Økt intensitet og volum på styrketreningen fører til en økning i hastigheten og varigheten på MPS (Burd et al., 2010; Kumar et al., 2009). Verken yngre eller eldre viste noen signifikant økning i hastigheten på MPS etter styrketrening med en belastning under 40 % av en 1 repetisjon maksimalt (RM), mens styrketrening på over 60 % av 1RM viste en økning i MPS på 2 til 3 ganger over basalnivå (Kumar et al., 2009). Dette betyr derimot ikke at trening med lav motstand ikke kan føre til økt MPS. En belastning på 30 % kan føre til samme økning i MPS som trening med 90 % av 1RM, hvis seriene gjennomføres til utmattelse slik at treningsvolum og metabolsk stress blir stort (Burd et al., 2010). MPS stimuleres av styrketrening gjennom en økt aminosyretransport inn i muskelcellen (Biolo, Maggi, Williams, Tipton, & Wolfe, 1995). Som sagt fører styrketrening til en økning i hastigheten på både MPS og MPN, netto proteinbalanse havner derfor i null med en trend mot minussiden (Biolo et al., 1995), og det er derfor anbefalt å innta et proteinholdig måltid etter treningen.

### **2.2.3 Styrketrening og proteininntak**

En styrketreningsøkt vil forbedre proteinbalansen ved å øke MPS, men uten inntak av protein og/eller karbohydrat vil netto proteinbalanse fortsatt være negativ (Biolo et al.,

1995; Borsheim, Aarsland, & Wolfe, 2004). Et næringsinntak uten stimuli fra styrketrening vil føre til en økning i netto proteinbalanse gjennom en økning i MPS og reduksjon i MPN (Atherton et al., 2010; Wolfe, 2006a). Dersom man gjennomfører en styrketreningsøkt etterfulgt av et proteininntak vil MPS stimuleres ytterligere (Burd et al., 2011), og denne kombinasjonen ser også ut til å redusere økningen i MPN noe (Louis et al., 2003; Tipton et al., 1999; Tipton et al., 2001). Dette vil si at en kombinasjon av styrketrening og proteininntak gir en ytterligere positiv effekt på netto proteinbalanse enn styrketrening eller proteininntak alene (Biolo et al., 1995; Biolo et al., 1997; Drummond, Bell, et al., 2008; Moore, Tang, et al., 2009).

Varigheten på den anabole responsen varierer fra ulike stimuli og variasjoner i treningsstatus. Et proteininntak uten kombinasjon med trening resulterer i en økning i MPS som ser ut til å avta i løpet av cirka 5 timer (Moore, Tang, et al., 2009). Dersom det gjennomføres en styrketreningsøkt i forkant av proteininntaket ser det ut til at økningen i MPS vedvarer i hele 48 timer etter økten (Miller et al., 2005; Phillips et al., 1997). Hos trente derimot ser det ut til at MPS avtar noe raskere. Tang et al. (2008) gjorde et forsøk der de trente ettbeins kneekstensjon i 8 uker og det kontralaterale utrente beinet var kontroll. Etter treningsperioden gjennomførte de en akutt økt som resulterte i høyere hastighet og en lengre varighet på MPS i det utrente beinet, og det utrente beinet viste også en større total MPS respons sammenliknet med det trente (Tang et al., 2008). Det er trolig derfor utrente har et større potensiale for til å øke i styrke og muskelmasse (Damas, Phillips, Vechin, & Ugrinowitsch, 2015). Siden det er første gang økten gjennomføres på det beinet kan imidlertid noe av den økte proteinsyntesen også skyldes muskelødeleggelser, og en større andel av økningen i MPS vil da gå med til å reparere ødelagte strukturer.

Tilstrekkelig inntak av protein og styrketrening ser ut til å ha en positiv effekt på proteinbalansen, men inntaket av protein må ikke nødvendigvis gjøres direkte i kombinasjon med økten (Schoenfeld, Aragon, & Krieger, 2013). Spiser man variert og regelmessige måltider kommer det et proteinrikt måltid i nærhet til økten uansett og tilstrekkelig inntak av protein totalt i løpet av dagen oppnås.



### **2.3 Redusert anabol respons med økende alder?**

Med økende alder opplever eldre en reduksjon i muskelmasse og anabol resistens omtales som en av årsakene til dette. Anabol resistens kan måles gjennom MPS-responsen til måltider og treningsøkter, og studier som sammenlikner yngre og eldre vil bli gjennomgått i dette kapittelet.

Biopsier tatt fastende uten stimuli fra verken trening og/eller proteininntak viser ingen forskjell i MPS mellom yngre og eldre. (Fry et al., 2013; Katsanos, Kobayashi, Sheffield-Moore, Aarsland, & Wolfe, 2006; Kumar et al., 2009; Pennings et al., 2011; Symons, Sheffield-Moore, Mamerow, Wolfe, & Paddon-Jones, 2011). Etter en styrketreningsøkt med eller uten proteininntak ser det imidlertid annerledes ut i noen studier.

I en systematisk review av Shad et al. (2016) viste bare 8 av 17 studier redusert anabol respons til trening uten proteininntak hos eldre sammenliknet med yngre. Studiene inneholdt både utholdenhetstrening og styrketrening av ulik intensitet. Studien til Kumar et al. (2012) viste lavere anabol respons hos eldre når 3 sett med 14 repetisjoner kneekstensjon på 40 % av 1RM ble gjennomført. Når forsøkspersonene doblet arbeidet (økte antall sett fra 3 til 6) var MPS-responsen lik mellom yngre og eldre. Shad et al. (2016) spekulerer derfor i om det er en aldersrelatert terskel hvor eldre er avhengig av et større muskelarbeid for å oppnå lik MPS-respons som yngre. Kumar et al. (2012) fant heller ingen forskjell i MPS-respons hos de eldre sammenliknet med yngre når de gjennomførte 3 sett av 8 repetisjoner på 75 % av 1RM, dette kan bety at ved tyngre vekter forsvinner de aldersrelaterte forskjellene i MPS. I en annen studie ble det gjennomført 6 sett kneekstensjon på 80 % av 1RM uten å finne noen forskjell i MPS-respons hos eldre og yngre (Sheffield-Moore et al., 2005). Dette underbygger Shad et al. (2016) sin teori om at eldre med økt arbeid og tyngre vekter i en styrketreningsøkt kan oppnå samme økning i MPS som yngre. Fry et al. (2011) målte anabol resistens hos eldre når 8 serier i kneekstensjon på 70 % av 1RM ble gjennomført. Akkurat hvorfor disse resultatene avviker fra Kumar et al. (2012) og Sheffield-Moore et al. (2005) er uvisst, men det kan komme av forskjeller i treningstilstand hos forsøkspersonene i studiene (Shad et al., 2016).

Når Shad et al. (2016) inkluderte studier som sammenliknet proteininntak alene og MPS hos eldre og yngre antydet 8 av 21 studier anabol resistens hos eldre. Selv om det var 13 studier som ikke antydet anabol resistens var MPS-responsen lik eller lavere i gruppen eldre i alle studiene (Shad et al., 2016). Mengden protein varierte fra 5 gram til hele 90 gram, hvor de fleste lå på 35-40 gram. Moore et al. (2015) fant sterke indikasjoner for at eldre er avhengig av en større dose protein for å stimulere MPS maksimalt. Yngre nådde maksimal MPS ved et inntak på cirka 0,24g/kg mens eldre nådde en maks ved cirka 0,40 gram/kg, dette tilsvarer 19,2 gram og 32 gram dersom forsøkspersonen veier 80 kg. En annen studie målte 16 % lavere MPS-respons hos eldre ved et inntak på 20 gram kasein (Wall et al., 2015). Studier som undersøkte proteininntak over 0,4 g/kg eller et inntak av EEA tilsvarende samme mengde protein, fant bare en av fem bevis for anabol resistens (Shad et al., 2016). Det ser derfor ut til at eldre av økt anabol resistens når proteininntaket er lavt.

En kombinasjon av styrketrening og proteininntak viste 2 av 10 studier indikasjon på anabol resistens hos eldre (Shad et al., 2016). I studien til Drummond, Dreyer, et al. (2008) hadde de yngre en høyere MPS 1-3 timer etter, mens fra 3-6 timer etter hadde de eldre høyest MPS og det var ingen forskjell i total MPS. Koopman et al. (2008) fant indikasjon på anabol resistens hos eldre i sin studie. Proteininntaket var høyt (60 gram), men Shad et al. (2016) spekulerer i om treningsintensiteten ikke var høy nok (40-75 % av 1RM) i denne studien.

Ved inntak av proteiner eller trening alene ser det ut til å være en anabol resistens blant eldre i alderen 70 år, i hvert fall ved lave doser protein og lav intensitet på treningsøkten. Når en styrketreningsøkt gjennomføres i kombinasjon med proteininntak ser det imidlertid ikke ut til å være noen klar forskjell mellom eldre og yngre. En kombinasjon av styrketrening og proteininntak ser derfor ut til å være en god strategi for å oppnå en lik MPS for eldre som for yngre.

## **2.4 Anabol resistens-potensielle mekanismer**

Den reduserte anabole responsen observert i noen studier blant eldre ved lave proteininntak kan skyldes flere faktorer. Inaktivitet, fordøyelse, opptak av aminosyrer til blod, transport av aminosyrer til muskelcellene, og muskelcellenes evne til å respondere på aminosyrettransporten er noen sentrale faktorer som er foreslått.

Inaktivitet er mest sannsynlig en av årsakene til økt anabol resistens. Breen et al. (2013) fant en signifikant reduksjon i MPS som en respons til et proteininntak etter 14 dager med redusert fysisk aktivitet hos 70-åringere. Studier gjort på immobilisering av yngre viste en kraftig reduksjon i MPS etter et proteininntak som følge av immobilisering i 14 dager (Glover et al., 2008; Wall et al., 2013). Dette viser økt anabol resistens som følge av inaktive muskler hos både yngre og eldre, og redusert fysisk aktivitet blant eldre kan derfor være en årsak til økt anabol resistens (Cholewa et al., 2017).

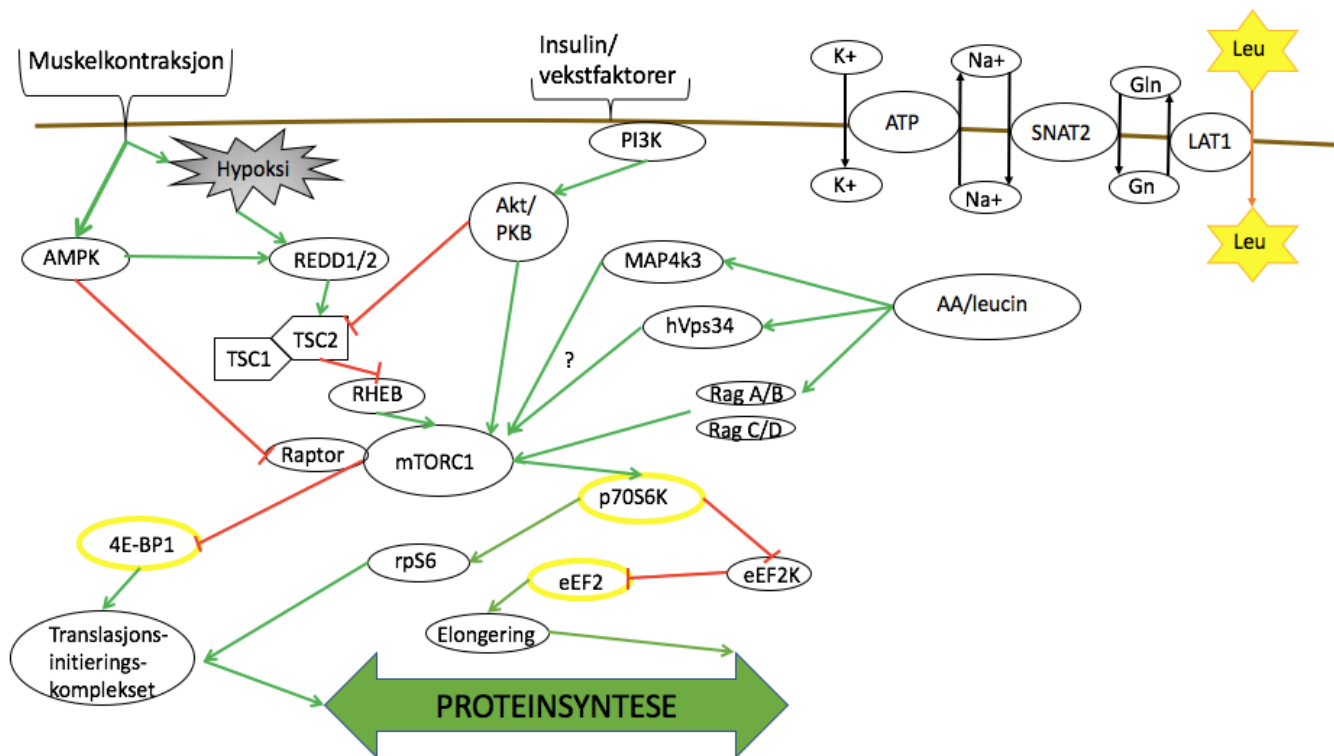
Den anabole resistensen blant eldre reguleres mest sannsynlig av flere mekanismer. En teori som støttes av flere forskere, er at en større andel av aminosyrene som inntas blir benyttet av indre organer som milt, lever, bukspyttkjertel og tarm (Boirie, Gachon, & Beaufre, 1997; Volpi, Mittendorfer, Wolf, & Wolfe, 1999). Dette kalles "splanchnic ekstraksjon", men en økning av dette blant eldre støttes ikke av alle (Koopman et al., 2009). Forsøkspersonene til Koopman et al. (2009) var noe yngre enn Volpi et al. (1999) sine, og forskjell i alder kan derfor ha vært påvirkende på resultatet (64 vs. 71 år). Videre viste Volpi et al. (1999) bare marginale forskjeller i aminosyrekonsentrasjon i blodet etter et høyt inntak av essensielle aminosyrer (40 gram). Han så heller ingen forskjeller i MPS og MPN. Dermed ser det ut til at splanchnic ekstraksjon kan være høyere hos eldre, men at det ikke påvirker den anabole responsen så lenge proteininntaket er høyt.

Det er registrert høyere aminosyrekonsentrasjoner i blodet hos eldre sammenliknet med yngre de første timene etter et proteininntak. De yngre har også en raskere reduksjon i leucin konsentrasjonene i blodet etter proteininntak. (Drummond, Dreyer, et al., 2008; Pennings et al., 2011). I og med at eldre har en lavere proteinsynteserespons kan dette tyde på at de eldre har problemer med transporten av aminosyrer ut til muskulaturen eller transporten fra blodet over til muskelcellene (Cuthbertson et al., 2005). I noen studier har de testet dette ved bruk av sodium nitroprusside for at blodårene skal utvide seg. Dette gir økt blodtilførsel til muskulaturen og i denne studien førte det til en økt MPS hos de eldre og støtter dermed teorien om at redusert blodstrøm kan være med på å bidra til anabol resistens blant de eldre (Dillon et al., 2011; Timmerman et al., 2010). Dillon et al. (2011) diskuterer om eldre har en redusert blodstrøm som følge av redusert produksjon av eller sensitivitet for NO (nitrogenmonoksid). En annen teori som kan

være bestemmende for redusert leveranse av aminosyrer til muskulaturen er redusert kapillærtetthet rundt muskulaturen (Groen et al., 2014).

Aminosyretransportører påvirker netto proteinbalanse gjennom å aktivere mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signalering (Dickinson et al., 2014; Drummond et al., 2011; Drummond et al., 2010). Spesielt system-A (SNAT2) og system-L (LAT1) har fått mye oppmerksomhet på grunn av deres egenskap til å føle endringer i tilgangen på essensielle aminosyrer (Dickinson et al., 2011; Drummond et al., 2011). Redusert transport av aminosyrer inn i muskelen kan føre til redusert intracellulær signalering (Dickinson et al., 2011).

En redusert respons til styrketrening og proteininntak har blitt relatert til redusert mTOR-aktivering hos eldre sammenliknet med yngre (Cuthbertson et al., 2005; Drummond, Dreyer, et al., 2008; Kumar et al., 2009). Nyere studier har derimot ikke sett noen aldersrelatert reduksjon i intracellulær signalering etter styrketrening og proteininntak (Farnfield, Breen, Carey, Garnham, & Cameron-Smith, 2012). Når det gjelder selve mRNA-ekspresjonen av LAT1 og SNAT2 er det registrert en akutt økning i forbindelse med styrketrening og proteininntak (Reidy et al., 2014), og yngre og eldre hadde tilsvarende økning i mRNA-ekspresjon (Dickinson, Drummond, Coben, Volpi, & Rasmussen, 2013). Det var imidlertid aldersspesifikke forskjeller i de ulike transportørene, de yngre viste høyest ekspresjon av SNAT2, mens de eldre hadde høyest ekspresjon av LAT1 (Baird et al., 2009). Det er samspillet mellom SNAT2 og LAT1 som fører til transporten av leucin og andre aminosyrer inn i cellen (Baird et al., 2009), og SNAT 2 ser ut til å inneha en spesielt viktig funksjon (Hyde, Cwiklinski, MacAulay, Taylor, & Hundal, 2007). En inhibering av SNAT2 førte til redusert aktivering (fosforylering) av mange proteiner nedstrøms for mTOR (Evans et al., 2007). Aldersspesifikke forskjeller i ekspresjonen av LAT1 og SNAT2 kan derfor være relatert til redusert anabol respons blant eldre gjennom redusert hypertrofisignalering og påfølgende redusert stimulering av MPS.



**Figur 1:** Forenklet oversikt over intracellulær signaler som fører til økt proteinsyntese. Grønne piler aktiverer mens røde piler inhiberer. Fosforyleringsstatus av proteiner uthevet i gult ble analysert i denne studien. Tegning er basert på (Apro et al., 2015; Dodd & Tee, 2012; Handegaard, 2016; Aas, 2014).

## 2.5 Hypertrofisignalering

For at styrketrening og proteininntak skal ha en anabol effekt må det registreres og overføres til et anabolt signal som videre øker MPS og potensielt fører til hypertrofi når stimuli repeteres over tid. En sentral regulator og koordinator for overføring av dette signalet er serine/threonine kinase, mammalian target of rapamycin (mTOR) (Fujita et al., 2007). mTOR alene har begrenset med kinaseaktivitet, men mTOR danner komplekser med andre proteiner og endrer lokalisering, og på denne måten aktiveres nedstrømssignaler (Hara et al., 2002). To hovedtyper av mTOR er kjent, enten rapamycin-sensitiv raptor (mTORC1) eller rapamycin-insensitiv rictor (mTORC2) (Loewith et al., 2002; Marcotte, West, & Baar, 2015)

### 2.5.1 mTORC1

mTORC1 (fra nå omtalt som mTOR) er kjent som en hovedregulator for anabole stimuli fra både styrketrening (Drummond et al., 2009; Hornberger, Sukhija, Wang, & Chien, 2007) og proteininntak (Atherton et al., 2010; Dickinson et al., 2011). Ved å inhibere mTOR med rapamycin ble det funnet en kraftig reduksjon i proteinsyntese og

hypertrofi, og på samme måte resulterte en genetisk aktivering av mTOR til en økning i hypertrofi (Bodine et al., 2001; Drummond et al., 2009). Oppstrøms for mTOR finner vi protein kinase B (Akt) som kan stimuleres og aktiveres av ulike vekstfaktorer og muskelkontraksjon (Schiaffino, Dyar, Ciciliot, Blaauw, & Sandri, 2013). Under akutt belastning av en muskel fosforyleres tuberous sclerosis 2 (TSC2) og translokeres vekk fra ras homolog enriched in brain (Rheb). Dette fører til at TSC2 ikke lengre blokkerer for mTOR binding til Rheb, og mTOR aktiveres under binding med Rheb (Marcotte et al., 2015). Forsøk gjort på mus viste at TSC2 beveget seg vekk fra Rheb etter en simulert styrketreningsøkt (Jacobs et al., 2013).

Insulin og aminosyrer stimulerer viktige signalveier som øker initieringen av translasjonsprosessen og proteinsyntese gjennom like og ulike signalveier (Burd, Tang, Moore, & Phillips, 2009; Dodd & Tee, 2012). Når insulin blir bundet til sin reseptor blir PI3-kinase aktivert, dette fører til en signalkaskade der Akt fosforyleres og aktiverer mTOR, som deretter aktiverer p70S6K og 4E-BP1, som tilslutt fører til økt translasjon og dermed en oppregulering av proteinsyntesen (Burd et al., 2009). Aminosyrer stimulerer mTOR via aminosyretransportørene LAT1 og SNAT2 og sannsynligvis gjennom hVps34 (Byfield, Murray, & Backer, 2005), MAP4K3 og Rag GTPaser (Dodd & Tee, 2012). Aktiverte Rag-komplekser kan bindes til mTOR og translokere mTOR til lysosommembranoverflaten hvor Rheb er lokalisert. Det er sprikende funn rundt akkurat hvordan hVps34 aktiverer mTOR og om hVps34 responderer på aminosyrer. Når det gjelder MAP4K3-aktivering av mTOR er ikke MAP4K3 nødvendig, men det ser ut til å bedre videreføringen av signalet fra mTOR (Dodd & Tee, 2012). mTOR-signaleren ved inntak av 10 gram essensielle aminosyrer viste seg å være lavere blant eldre sammenliknet med yngre (Cuthbertson et al., 2005). Den samme tendensen er observert en time etter styrketrening sammen med et inntak av 20 gram essensielle aminosyrer (Drummond, Dreyer, et al., 2008).

En styrketreningsøkt fører akutt til økt mTOR-aktivitet, trolig gjennom økt Rheb-aktivitet (Jacobs et al., 2013). Det ser ut til at styrketrening aktiverer mTOR uavhengig av PI3K/Akt (Deldicque et al., 2008; Hornberger et al., 2007; Hulmi et al., 2009). Hornberger et al. (2007) viste dette ved at mTOR-aktivering økte etter en styrketreningsøkt til tross for PI3K/Akt-inhibering. Videre har styrketrening vist å øke aktiveringen av mTOR på tross av at Akt-aktiveringen reduseres (Deldicque et al.,

2008; Hulmi et al., 2009). Det ser ut til at både insulin og vekstfaktorer aktiverer mTOR gjennom å fjerne TSC1/2 fra Rheb. Dette gjør de via ulike regulatorer oppstrøms, men akkurat hvilke oppstrømsregulatorer som involveres er enda ikke identifisert, men noen mulige forklaringer er rapportert (Hornberger et al., 2007; You et al., 2014).

MPS er en energikrevende prosess og dersom det er lite energi tilgjengelig i en celle velger den å regulere ned prosessen (Dodd & Tee, 2012). AMPK registrerer lave konsentrasjoner av ATP og deretter aktiverer ULK1 som fører til autofagi. Er det mye ATP tilgjengelig vil mTOR fosforylere et annet bindingssete på ULK1 og inhibere autofagi. mTOR kan også hindre autofagi gjennom å inhibere AMPK (Egan, Kim, Shaw, & Guan, 2011).

### **2.5.2 p70S6K**

70-kD S6 protein kinase (p70S6K) er en serinin/threonin-kinase som aktiveres gjennom fosforylering av Thr229 og Thr389 og endrer dermed sin funksjon (Pullen & Thomas, 1997). For at 3-fosofoinositide-avhengig protein kinase 1 (PDK-1) skal kunne fosforylere Thr229 må Thr389 fosforyleres først (Alessi, Kozlowski, Weng, Morrice, & Avruch, 1998). Fosforylering av p70S6K fører til en videre fosforylering av ribosomalt protein S6 (rpS6), dette fører videre til økt translasjon av spesifikke mRNA (Blomstrand, Eliasson, Karlsson, & Kohnke, 2006). Akutt p70S6k-fosforylering etter en styrketreningsøkt har vist seg å korrelere med flere ulike parametere for endring i muskel. Etter et 14-ukers treningsprogram fant Terzis et al. (2008) korrelasjoner mellom p70S6K-fosforylering etter en styrketreningsøkt og en økning i fettfri masse, 1RM knebøy og gjennomsnittlig muskeltverrsnitt. Baar and Esser (1999) studerte p70S6K-fosforylering på rotter og fant en sterk korrelasjon med prosentvis endring i muskelmasse etter 6 uker med styrketrening. Dette indikerer at fosforylering av p70S6K etter en styrketreningsøkt kan predikere muskulære adaptasjoner til styrketreningen over tid. Samtidig er det viktig å legge til at ingen andre studier har vist korrelasjon mellom akutt p70S6K-aktivering og påfølgende hypertrofi som følge av en periode med styrketrening, til tross for at denne sammenhengen sannsynligvis har vært undersøkt i samtlige studier som har undersøkt disse to variablene. Når styrketrening ble gjennomført med påfølgende proteininntak fant C. J. Mitchell et al. (2014) og West et al. (2012) økt MPS sammen med en økt fosforylering av mTOR og p70S6K. Denne korrelasjonen mellom p70S6K og MPS støttes av Burd et al. (2010) og ut i fra disse

studiene ser det ut til at intracellulær signalering og MPS etter en styrketreningsøkt med og uten proteininntak kan assosieres, og potensielt føre til økt hypertrofi.

Fry et al. (2011) fant ingen signifikant endring i fosforylering av p70S6K etter en styrketreningsøkt uten påfølgende proteininntak hos eldre (70 år). Hos yngre (27 år) derimot målte de en signifikant økning i fosforylering for p70S6K 3, 6 og 24 timer etter treningsøkten. Disse resultatene gjenspeilet MPS-responsen målt med stabile isotoper. Kumar et al. (2009) målte også en lavere fosforylering av p70S6K og en 30 % lavere MPS som en respons til en styrketreningsøkt uten proteininntak hos eldre sammenliknet med yngre. Dette tyder på at eldre kan ha en redusert anabol signalering som følge av en styrketreningsøkt.

På lik måte som MPS vil både treningsvolum og intensitet påvirke p70S6K-fosforyleringen hos yngre og eldre. Kumar et al. (2012) fant økt fosforylering når deltakerne doblet treningsvolumet fra 3 til 6 sett. På samme måte økte fosforyleringen når deltakerne økte intensiteten fra 40-75 % av 1RM. (Kumar et al., 2009) fant et platå for p70S6K-fosforylering hos yngre og eldre når styrketreningsøkten ble gjennomført med en intensitet på 60-90 % av 1RM.

Farnfield et al. (2012) målte større økning i fosforylering av p70S6K hos de eldre (60-75 år) sammenliknet med yngre (18-25 år) når de kombinerte styrketrening med proteininntak. Ser vi disse resultatene i sammenheng med resultatene fra studiene til Fry et al. (2011) og Kumar et al. (2009) ser det ut til at eldre har en lavere respons til styrketrening alene, men når tilstrekkelig mengde protein inntas etter økten kan denne forskjellen forsvinne (Farnfield et al., 2012). Videre kan det se ut som om eldre har en forsinket p70S6K-fosforylering sammen med forsinket MPS sammenliknet med yngre. Drummond, Dreyer, et al. (2008) målte lavere p70S6K-fosforylering og lavere MPS første timen etter styrketrening med påfølgende proteininntak hos eldre sammenliknet med yngre, mens 3 timer etter derimot viste de eldre størst fosforylering og MPS.

I likhet med MPS-responsen, ser treningsstatus ut til å kunne påvirke fosforylering av p70S6K etter styrketrening. Coffey et al. (2006) gjennomførte en styrketreningsøkt på styrketrente menn og utholdenhetstrente menn, hvor kun de utholdenhetstrente økte p70S6K-fosforyleringen etter økten. Dette støttes av studien til Farnfield et al. (2012)



hvor forsøkspersonene gjennomførte en økt med styrketrening med påfølgende proteininntak (26,6g myse) eller placebo før og etter en 12-ukers treningsintervensjon. Før treningsintervensjonen økte både yngre og eldre p70S6K-fosforylering med påfølgende proteininntak 2 timer etter sammenliknet med placebo, og eldre økte signifikant mer enn de yngre. Etter treningsintervensjonen var det bare de yngre som opprettholdt p70S6K-fosforyleringen mens de eldre viste en nedgang sammenliknet med før intervensjonen, men de eldre hadde fortsatt en større p70S6K-fosforylering sammenliknet med de yngre. Både yngre og eldre hadde lik økning i 1RM etter treningsintervensjonen (Farnfield et al., 2012).

Den anabole effekten av å kombinere styrketrening med proteininntak har også vist å øke den intracellulære signalering (Hulmi et al., 2009; Moore et al., 2011). Moore et al. (2011) gjennomførte en studie der forsøkspersonene gjennomførte beinpress og kneekstensjon til utmattelse på ett bein med påfølgende proteininntak (25 g myse), det andre beinet fungerte som kontroll. Biopsier tatt 1, 3 og 5 timer etter viste en økning i både p70S6K-fosforylering og MPS for det trente beinet ved alle tidspunkt, mens kontrollbeinet økte p70S6K-fosforylering og MPS kun 1 time etter (Moore et al., 2011). Hulmi et al. (2009) fant at en total mengde på 30 gram myse i forbindelse med en styrketreningsøkt var nødvendig for at det skulle ha noen adderende effekt på p70S6K-fosforyleringen sammenliknet med placebo.

### **2.5.3 4E-BP1**

*Eukaryot initieringsfaktor 4E-bindende protein 1 (4E-BP1)* blir inaktivert og bryter sin binding med eIF4E gjennom fosforylering av mTOR. Når 4E-BP1 ikke er fosforylert blir translasjonsinitieringen inhibert ved at 4E-BP1 er bundet til eIF4E. Når proteinet er tilstrekkelig fosforylert dissosierer 4E-BP1 fra eIF4E og initieringskomplekset kan bli fullstendig (Adams & Bamman, 2012; Dodd & Tee, 2012). 4E-BP1 har minst sju mulige bindingssteder (Hay & Sonenberg, 2004), hvor fullstendig aktivering av proteinet skjer i to steg. Thr37 og Thr46 fosforyleres i første omgang av mTOR, men først når bindingssete Thr70 og Ser 65 fosforyleres dissosierer 4E-BP1 fra eIF4E og initieringskomplekset er fullstendig (Gingras et al., 1999; Hay & Sonenberg, 2004).

Når sammenhengen mellom anabol signalering og proteinsyntese er studert er det funnet en sammenheng mellom økt fosforylering av 4E-BP1 og økt proteinsyntese som

respons på en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak (Churchward-Venne et al., 2012). Når styrketrening er gjennomført uten proteininntak er det rapportert redusert fosforylering (Deldicque et al., 2008; Dreyer et al., 2006). Etter en 10 rep x 10 sett kneekstensjonsprotokoll i fastende tilstand viste biopsier tatt 30 sekunder etter treningen en signifikant nedgang i 4E-BP1 Thr 37/46-fosforylering mens p70S6K Thr421/ser424-fosforylering økte 20 ganger (Deldicque et al., 2008). En time etter styrketrening uten proteininntak viste fortsatt en redusert fosforylering av 4E-BP1 (Hulmi et al., 2009). Denne reduksjonen i fosforylering forsvant ved inntak av 15 gram myse før og etter styrketreningsøkten (Hulmi et al., 2009).

Fry et al. (2011) sammenliknet anabol signalering hos eldre og yngre (70 vs. 27 år) etter en styrketreningsøkt og fant økt fosforylering av 4E-BP1 6 og 24 timer etter økten hos den yngre gruppen, men ingen endring blant de eldre. I kontrast til dette fant Farnfield et al. (2012) at den eldre gruppen (60-75 år) økte 4E-BP1 fosforyleringen i større grad enn den yngre (18-25 år) gruppen. Dette var i kombinasjon med et inntak av 25 gram myse og kan tyde på proteininntaket er viktig, og kanskje viktigere for 4E-BP1 fosforyleringen hos eldre. Dreyer fant økt 4E-BP1-fosforylering 3 timer en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak hos eldre. Hos yngre fant de økt fosforylering 3 og 6 timer etter.

Ved styrketrening med påfølgende proteininntak (25 g myse) hos yngre var fosforyleringen økt 1, 3 og 5 timer etter, men det var ingen forskjell mellom det trente beinet og kontrollbeinet (Moore et al., 2011). Se mer under p70S6K. Eldre personer viste økt fosforylering av 4E-BP1 når de inntok dobbelt så mye leucin som placebogruppen i forbindelse med en styrketreningsøkt (Dickinson et al., 2014). Dette kan bety at proteininntaket og spesielt leucin er viktigere enn styrketrening for fosforylering av 4E-BP1.

#### **2.5.4 eEF2**

*Eukaryot elongeringsfaktor 2 (eEF2)* er inaktivert når den er fosforylert og aktiv når den er defosforylert. Økt fosforylering av p70S6K inhiberer eEF2k som så reduserer fosforylering av eEF2. Defosforylert eEF2 bidrar til økt MPS ved å være en elongeringsfaktor i translasjonsprosessen (Fujita et al., 2007).

Dreyer et al. (2006) viste til en assosiasjon mellom redusert eEF2 og økt P70S6K og 4E-BP1-fosforylering og MPS etter en styrketreningsøkt uten påfølgende proteininntak. Hos yngre og eldre som var fastende ble eEF2-fosforyleringen redusert 20 % fra baseline direkte etter en styrketreningsøkt, men en time etter økten var fosforyleringen 120 % fra baseline (Kumar et al., 2009). Moore et al. (2011) fant en reduksjon i fosforylering etter proteininntak med og uten styrketrening 1, 3 og 5 timer etter, men størst reduksjon var det ved en kombinasjon av en styrketreningsøkt og et proteininntak. Den reduserte fosforyleringen var størst 3 og 5 timer etter økten (Moore et al., 2011). Etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak (20g EEA) fant Drummond, Dreyer, et al. (2008) en lik, men forsinket MPS respons for de eldre (77 år) sammenliknet med yngre (24 år), 1 til 6 timer etter økten. Til tross for den forsinkede MPS-responsen viste de eldre en lik tendens til redusert eEF2-fosforylering 1 time etter økten, mens begge gruppene hadde lik signifikant reduksjon i eEF2-fosforyleringen 3 og 6 timer etter økt. Hulmi et al. (2009) derimot fant ingen endring i eEF2-fosforylering 1 timer etter styrketrening med påfølgende proteininntak (30 gram myse) hos yngre. Breen et al. (2013) målte redusert eEF2-aktivitet som en respons til inntak av 20 gram eggehvite og fastende hos friske eldre etter 14 dager med redusert fysisk aktivitet. Dette underbygger teorien om at redusert fysisk aktivitet fører til økt anabol resistens blant eldre.

Litteraturen viser sprikende funn rundt endring i eEF2-fosforyleringen etter en styrketreningsøkt med og uten proteininntak. Grunnen til det kan være at biopsiene er tatt på ulike tidspunkt, men når styrketrening er gjennomført i kombinasjon med proteininntak ser det ut til å være en reduksjon i eEF2-fosforyleringen 3-5 timer etter og det ser ikke ut til å være noen forskjell mellom eldre og yngre.

### **2.5.5 Oppsummering, intracellulær signalering.**

Teoretisk sett vil økt p70 og 4E-BP1-fosforylering sammen med en reduksjon i eEF2-fosforylering starte translasjonsinitiering og elongering og dermed øke hastigheten på MPS. Etter en styrketreningsøkt og proteininntak vil fosforyleringen av disse signalene variere mellom biopsitidspunkt, alder og treningstilstand. Fosforyleringen vil også variere ettersom styrketreningsøkten og proteininntak er gjennomført alene eller som en kombinasjon. En kombinasjon har vist å gi sterkest aktivering.

Eldre ser ut til å ha en redusert p70S6K-fosforylering etter en styrketreningsøkt sammenliknet med yngre. Når økten er gjennomført i kombinasjon med proteininntak ser det imidlertid ut til at eldre har en tregere, men høyere respons. På samme måte ser det ut til at 4E-BP1-fosforylering er lavere for eldre etter en styrketreningsøkt, men når økten kombineres med et proteininntak er det ingen forskjell mellom yngre og eldre. Fosforyleringen av eEF2 ser ut til å reduseres som følge av en styrketreningsøkt og proteininntak og responsen oppstår 3-5 timer etter økten. Det ser imidlertid ikke ut til å være noen forskjell i den akutte eEF2-responsen mellom yngre og eldre. Gruppen yngre det refereres til her var i alderen 18-25 år, mens gruppen eldre var i alderen 60-77 år. Så langt er det ikke gjennomført noen studier på anabol signalering hos skrøpelige eldre og dette er utgangspunktet for denne oppgaven.

### **3. Metode**

Denne masteroppgaven er en del av to større prosjekt ved Norges idrettshøgskole (NIH). Prosjektene hadde til hensikt å undersøke effekten av styrketrening kombinert med proteininntak på muskelvekst for sykehjemsbeboere og hos friske hjemmeboende eldre personer. I denne oppgaven vil hovedfokus være hypertrofisignalering som respons på en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak gjennomført *før* treningsperioden. I begge prosjektene ble det gjennomført en treningsintervensjon, men i denne masteroppgaven inkluderes kun resultater fra akuttdag gjennomført før selve treningsperioden. I tillegg til biopsidata, vil også resultater fra funksjonelle tester og styrketester benyttes.

Prosjektet ble godkjent av regional etisk komite for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, Sør-Øst Norge og er gjennomført ut i fra helsinkideklarasjonen.

#### **3.1 Rekruttering**

Forsøkspersonene til gruppen skrøpelige eldre (SE) ble rekruttert fra sykehjem og dagsenter i Oslo, mens de friske eldre (FE) ble rekruttert gjennom oppslag i nærmiljøet og annonser i lokalavisen. Samtlige av deltakerne signerte et informert samtykke (se vedlegg 1).

#### **3.2 Inklusjon-/eksklusjonskriterier**

##### **3.2.1 Skrøpelige eldre**

For å kartlegge om personer var aktuelle for studien ble det brukt *Fried Frailty Criteria (FFC)*. FFC består av fem forskjellige kriterier (vektnedgang, håndgrepsstyrke, utmattelse, ganghastighet og aktivitetsnivå), og dersom en person over 65 år oppfyller tre eller flere av disse, kategoriseres vedkommende som skrøpelig. Vi foretok noe modifisering av de originale kriteriene (Se vedlegg 2), og inkluderte personer som oppfylte tre eller flere av disse. Også personer som oppfylte to av kriteriene ble inkludert, gitt at det var to av de følgende tre som var oppfylt: håndgrepsstyrke, ganghastighet, fysisk aktivitet. I tillegg gjennomførte forsøkspersonene et testbatteri, *Short Physical Performance battery (SPPB)* (Se vedlegg 3). Personer som hadde lav poengsum (0-6) på SPPB ble inkludert uavhengig av FFC-resultatet. Mini mental status

evaluering (MMSE) ble brukt for å måle personenes mentale og kognitive helse (Se vedlegg 4)

**Tabell 1:** Inklusjon- og eksklusjonskriterier for SE.

<b>Inklusjonskriterier</b>	<b>Eksklusjonskriterier</b>
> 65 år	Bruk av blodfortynnende medisin som ikke kan seponeres
>22/30 poeng på MMSE	Laktoseintoleranse eller melkeallergi
SPPB <6 eller FFC>2	Allergi mot lokalbedøvelse
	Sykdom/skade som umuliggjør testing/trening
	Ukontrollert hypertensjon

### 3.2.2 Friske eldre

**Tabell 2:** Inklusjon- og eksklusjonskriterier for friske eldre

<b>Inklusjonskriterier</b>	<b>Eksklusjonskriterier</b>
> 70 år	Bruk av blodfortynnende medisin som ikke kan seponeres
Frisk – ingen muskel- og skjelettskader	Laktoseintoleranse eller melkeallergi
	Allergi mot lokalbedøvelse
	Bruk av kortikosteroider siste sek måneder
	Benmineraltetthet under 0,84 g/cm <sup>2</sup> i L2-L4
	Hjerteinfarkt siste seks måneder
	Ukontrollert hypertensjon

### 3.3 Forsøkspersoner

Til denne oppgaven ble det brukt baseline resultater fra 13 skrøpelige og 7 friske eldre. Av de 13 skrøpelige var det bare 10 som gjennomførte både trening og proteindrikk, derfor inkluderes kun 10 postbiopsier fra skrøpelige eldre. Samtlige friske eldre gjennomførte både trening og proteininntak.

**Tabell 3:** Forsøkspersoner ved baseline. Verdier er oppgitt som gjennomsnitt ( $\pm$  standardavvik). \* indikerer signifikant forskjell mellom gruppene.

	Skrøpelige eldre (SE)	Friske eldre (FE)
Mann/Kvinne	8/5	3/4
Alder (ÅR)	86 ( $\pm 8,7$ )	74 ( $\pm 2,7$ )*
Høyde (CM)	164 ( $\pm 7$ )	169 ( $\pm 8$ )
Vekt (KG)	62,5 ( $\pm 10,7$ )	74,5 ( $\pm 12,7$ )
Fett (%)	31,5 ( $\pm 5,9$ )	33,9 ( $\pm 5,2$ )
LBM (KG)	41,5 ( $\pm 6,3$ )	47,2 ( $\pm 6,5$ )
MVC høyre bein (N)	214 ( $\pm 75$ )	271 ( $\pm 59$ )

Lean body mass (LBM) er kroppsmasse minus fett og knokler målt i Dexa. MVC er maksimal isometrisk kontraksjon i 90° knevinkel målt i volt regnet om til Newton.

### 3.4 Tester

#### 3.4.1 Stoltesten

Stoltesten ble gjennomført med stoppeklokke og instruksjon om å reise seg og sette seg så raskt de klarte 5 ganger. Testet startet sittende og ble avsluttet stående.



**Figur 2:** Bilde av stoltesten

### 3.4.2 MVC

Maksimal isometrisk kneekstensjon med 90° knevinkel ble utført i et Gym2000 kneekstensjonsapparat som er koblet til en kraftcelle (HBM U2AC2, Darmstadt, Tyskland). Kraftcellen var koblet til en arbeidsstasjon med analyseprogrammet Labview 8.2 (National instr., Austin, Texas). Forsøkspersonen gjennomførte først to oppvarmingskontraksjoner med begge bein på 50 og 80 % av MVC.

Oppvarmingskontrasjonene ble holdt i 5-10 sekunder. Testen besto av tre maksimale forsøk på hvert bein og forsøkspersonene fikk beskjed om å yte maksimalt i cirka 3 sekunder. Hvert bein fikk ett minuts pause mellom hvert forsøk. Samtlige av forsøkspersonene gjennomførte denne testen.



*Figur 3: Stol brukt til MVC målinger.*

### 3.4.3 Akuttdag og biopsiproedyre

Før treningsintervensjonen ble det gjennomført en akuttdag, med biopsi før og etter en styrketreningsøkt etterfulgt av proteininntak. Forsøkspersonene ble bedt om å møte fastende ved Norges idrettshøgskole 2 timer og 15 minutter før første biopsi. De fikk alle en standardisert frokost med havregryn og vann.

For de skrøpelige eldre ble første biopsi tatt 1 time etter frokost. Styrketreningsøkten startet 40 minutter etter den første biopsien og hadde en varighet på 20 minutter. Alle serier ble gjennomført med en treningsmotstand tilsvarende 8RM, og ny serie ble påbegynt hvert tredje minutt. De skrøpelige eldre var rett og slett for skrøpelige til å gjennomføre beinpress, og gjennomførte derfor 6 serier med kneekstensjon på en belastning tilsvarende 8RM. Ny serie ble påbegynt hvert tredje minutt. 2 timer og 30 minutter etter endt styrketreningsøkt ble det tatt en ny biopsi.



For de friske eldre ble første biopsi tatt 1 time etter frokost. Styrketreningsøkten startet 30 minutter etter første biopsien, og hadde en varighet på 57 minutter. Alle seriene ble gjennomført med en treningsmotstand tilsvarende 10RM, og ny serie ble påbegynt hvert tredje minutt. De friske eldre gjennomførte 3 serier hammer squat, 3 serier beinpress og 3 serier kneestensjon. I tillegg gjennomførte de 3 serier chest press, 3 serier sittende roing og 3 serier skulder press. 2 timer etter økten ble det tatt ny biopsi.

Umiddelbart etter treningsøkten inntok forsøkspersonene en drikk, bestående av protein, karbohydrater og fett. Selv om proteininnhold i de to gruppene var forholdsvis likt, var det litt forskjell i næringsinnhold i supplementet til de friske eldre (18,9 g protein, 6,9 g fett, 35,6 g karbohydrat) og de skrøpelige eldre (16,8 g protein, 0,7 g fett, 18,5 g karbohydrat). Biopsi 2 ble tatt 2 timer og 30 minutter etter endt styrketreningsøkt.

Muskelbiopsier ble tatt fra *m. vastus lateralis* før og etter styrketreningsøkt og proteindrikk. Det ble satt lokalbedøvelse i huden og muskelfasien (xylocain med adrenalin, 10mg/ml + 5 µg/ml) etter en vask med klorhexidin. Et 1-2 cm langt snitt ble laget i huden og muskelfasien og 2-3 muskelbiter ble tatt ut. Total mengde som ble tatt ut var ca. 150 mg. Det ble brukt en 6 mm Bergstrømnlåle og vakuumpumpe for å suge muskelvev inn i nålen. Muskelbitene ble hentet først distalt og deretter proksimalt for å unngå samme område. Bitene ble så delt opp i mindre biter, og ca. 50 mg ble lagt av til Western Blot-analyser på fosforyleringsstatus. Deretter ble de fryst i flytende nitrogen og oppbevart i -80°C.

### **3.5 Analyser**

#### **3.5.1 Homogenisering**

Muskelbiopsiene ble oppbevart på -80°C frem til homogeniseringen. Ved homogeniseringen ble det brukt 1 ml T-PER® (Tissue Protein Extraction Reagent, Thermo scientific, Rockford, IL USA), 20 µl Halt™ Protease and Phosphatase Inhibitor Cocktail (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) og 20 µl EDTA (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) per ~ 50 µg muskel. Dette var mengden brukt til muskelbiter i størrelse 40-60 µg. Var bitene større eller mindre enn dette ble mengden justert deretter. Hver prøve ble homogenisert i 2 ganger 3-5 sekunder, eller til alt vev ble løst opp. Prøvene ble så lagt til risting i kjøleskap i 30 minutter. Så ble de sentrifugert på 10000

G i 10 minutter ved 4°C. Supernatanten ble så pipettert over i ett 1,5 ml rør, og fra dette røret ble prøven fordelt i 25 µl aliquoter i 0,2 ml rør. Etter aliquotering ble prøvene frosset ned i -80°C.

### **3.5.2 Proteinmåling**

Totalt proteininnhold ble målt ved RC/DC Protein Assay kit (BioRad, cat. no. 500-0121, Herkules, CA, USA). Bovine  $\gamma$ -globulin ble brukt for å danne en standardkurve for hver 96-brønners plate; 0,125; 0,25; 0,5; 1; 1,5; µg/ml. For å få proteinkonsentrasjonen innenfor spennet mellom nedre og øvre verdi i standardkurven ble homogenatet fortynnet 1:4 (15 µl dH<sub>2</sub>O + 5µl prøve). På hver 96-brønners plate ble det tatt med to kontroller, med en kjent proteinkonsentrasjon. Etter pipettering av 5 µl dH<sub>2</sub>O, standarder, prøver eller kontroll pr brønn ble 25 µl A+S reagens (Kat.nr. #500-0115, Bio-Rad Laboratories Inc., USA) tilsatt i hver brønn, deretter 200 µl reagens B per brønn (Kat.nr. #500-0114, Bio-Rad Laboratories Inc., USA). Etter 15 minutter inkubering i mørkt skap ble platen avlest ved 690 nm i KIM Immunochemical Processing Software 32. Proteinkonsentrasjonene ble beregnet ut ifra standardene.

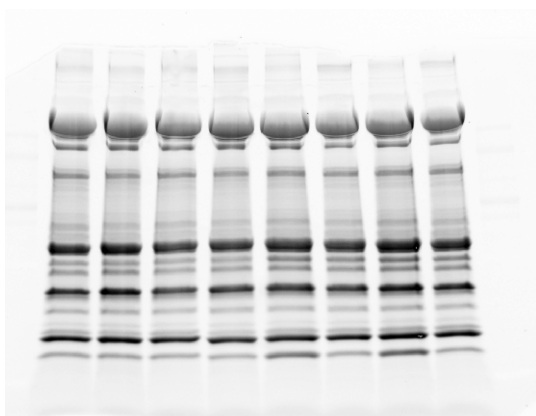
### **3.5.3 Western blot**

Elektroferese og Western Blot av muskelhomogenat ble utført med precast TGX Stain Free geler (4-20 % polyacrylamide): BioRad-systemet. For fullstendig protokoll se vedlegg 5.

Proteinkonsentrasjonen som ble brukt til analysene var 30 µg og 30 ul ble applisert i hver brønn. Før applisering ble homogenatet tilsatt en bestemt mengde sample buffer som inneholdt 4 % 5M DTT (dithiothreitol, kat.nr. #161-0610, Bio-Rad Laboratories Inc.) og 96 % Laemmli (4x Laemmli Sample Buffer, kat.nr. #161-0747, Bio-Rad Laboratories Inc.) I tillegg ble dH<sub>2</sub>O tilsatt slik at proteinkonsentrasjonen ble lik for alle prøvene. Proteinene ble så denaturert på varmeblokk på 70°C i 10 minutter. Prøvene ble applisert som duplikater for hvert biopsitidspunkt i Stain Free-geler (Mini-PROTEIN® TGX Stain-Free™ Gels, Kat.nr. #456-8094, Bio-Rad Laboratories Inc.) sammen med 5 µl vektmarkør (Protein Ladder PS 11, Kat.nr. #310005, GeneOn).

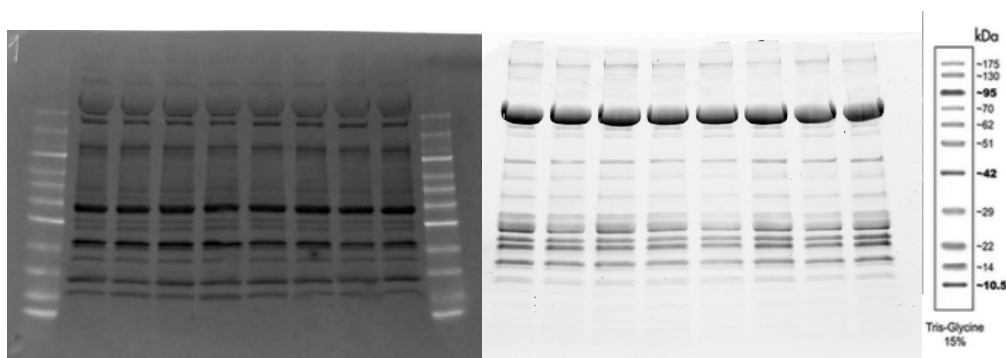
Elektroferesen ble kjørt på 200 volt i 25 minutter (Mini PROTEAN® Tetra Cell, Bio-Rad). Gelene ble tatt bilde av i Bio-Rad ChemiDoc™ MP System (#170-8280, Bio-Rad

Laboratories, Hercules, CA, USA). Gelene ble eksponert for UV-lys i 2,5 minutter for å aktivere aminosyren Tryptofan. På samme tid ble PVDF-membranene (kat.nr. #162-0177, Bio-Rad, CA, USA) aktivert, først 30 sekunder i mentanol (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA), deretter 30 sekunder i dH<sub>2</sub>O, 2 minutter i nytt dH<sub>2</sub>O og tilslutt 15 minutter i transferbuffer.



**Figur 4:** Gel etter elektroferese

Sandwichen ble sett sammen av pads, filterpapir (Criterion™ blotter Filter paper, kat.nr. #1704085, Bio-Rad Laboratories Inc.), PVDF-membraner og geler. Kjøleelement, transferbuffer magnetrørepinne ble lagt i blottetekammeret sammen med sandwichen. Blottingen ble gjort på 100 volt i 60 minutter. Både gelene og membranene ble tatt bilde av etter blottingen for å kontrollere at proteinene ble overført tilstrekkelig.



**Figur 5:** Membran, til venstre, gel i midten etter blotting. Markørvekt, til høyre, brukt for å finne proteinene etter vekt.

Membranene ble så blokkert i 5 % melkeløsning (Skim milk powder (EMD Millipore Corporation, Billerica, MA, USA) + TBS-T) i to timer på svak risting i romtemperatur. Etter det ble membranene kuttet etter proteinene eEF2 (90kDa), p70S6K (70kDa) og 4E-BP1 (14-22 kDa), og lagt i spesifikt primært antistoff for fosforylerte proteiner til

inkubering på svak risting i kjøleskap over natt (Se tabell 4). Videre ble membranene vasket og lagt i sekundært antistoff i 1 time etterfulgt av en ny vaskerunde. Membranene ble så tilsatt Chemiluminescence Substrate SuperSignal® WestDura (Extended Duration Substrate, Thermo Scientific, kat.nr. #34076, Rockford IL, USA). Bildene ble tatt med Bio-Rad ChemiDoc™ MP System (#170-8280, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA USA), målt og analysert i Image Lab™ Software (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). Membranene ble så strippet i 10 minutter med Restore™ Western Blot Stripping Buffer (kat.nr. #21059, Thermo Scientific, Rockford, IL, USA), etterfulgt av vasking og blokkering i 5 % melkeløsning i to timer i romtemperatur. Prosessen videre er lik fra primært antistoff, men spesifikt antistoff for total protein over natt ble brukt.

**Tabell 4:** Primære og sekundære antistoff benyttet

Antistoff	Produsent	Vert	Fortynning	Kat.NR
p70S6 kinase	Cell Signalling	Kanin	1:1000	#8209S
p-P70S6 kinase (Thr389)	Cell Signalling	Kanin	1:1000	#8209S
eEF2	Cell Signalling	Kanin	1:5000	#2332S
p-eEF2 (Thr56)	Cell Signalling	Kanin	1:5000	#2331S
4E-BP1	Cell Signalling	Kanin	1:1000	#9452S
p-4E-BP1 (Thr70)	Cell Signalling	Kanin	1:1000	#94552
Anti-rabbit IgG HRP-linked antibody	Cell Signalling	Geit	1:3000	#7074S

### 3.6 Statistikk

Normalfordeling av data ble undersøkt før gruppene ble sammenlignet med uparret tosidig t-test. Signifikansnivå for alle analysene ble satt til  $p < 0,05$ . Endring i ratio fra pre til post innenfor hver gruppe ble sammenlignet med parret tosidig t-test, og sammenligninger i endring i ratio mellom gruppene ble gjort med en uparret tosidig t-test. Forskjeller i fosforyleringsstatus ved pre og postbiosier ble gjort ved en uparret tosidig t-test. Korrelasjonskoeffisienten Pearsons r og P-verdi ble brukt til å se på

forholdet mellom relativ styrke og tid brukt ved stoltesten. Alle resultater presenteres med gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik. Beregninger ble gjort i Microsoft® Excel 2013 og Prism® 7 GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).

## 4. Resultater

### 4.1 Karakteristikk

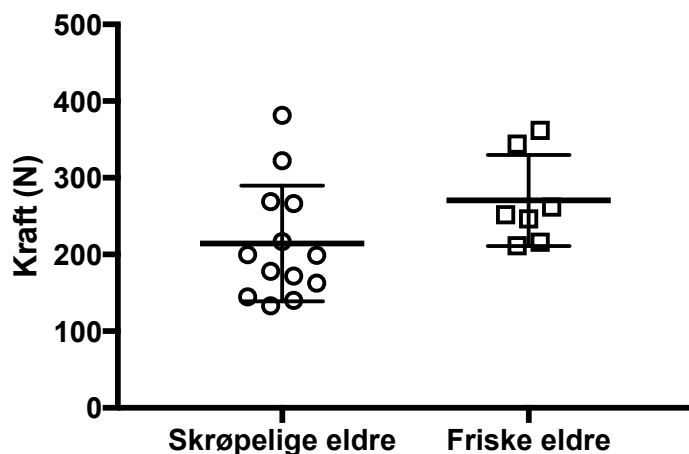
Gruppene friske eldre ble klassifisert som over 70 år og ingen muskel eller skjelettlidelser. Skrøpelige eldre ble klassifisert som over 65 år og 0-6 poeng på SPPB (vedlegg 4) eller innfridde tre av de fem kriterier i FFC (vedlegg 2).

Det var kun signifikant forskjell i alder mellom gruppene ( $p < 0,01$ )

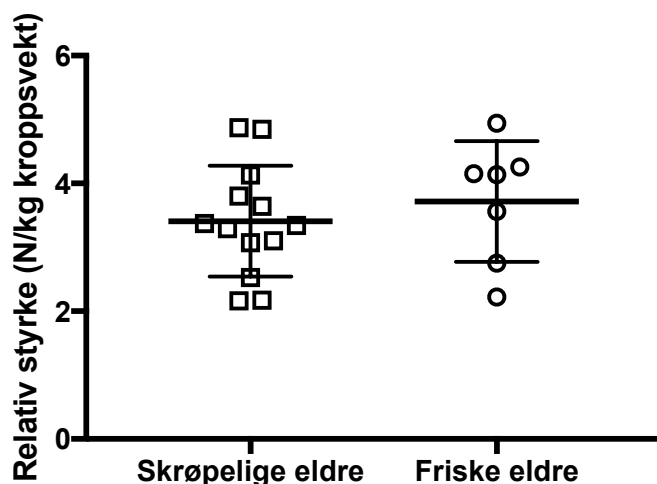
Det var en tendens til forskjell i LBM ( $P = 0,077$ ). Det var også en høyere andel kvinner i gruppen friske eldre 57 % sammenliknet med skrøpelige eldre 38 %. Se tabell 3.

#### 4.1.1 Styrke og stoltesten

Styrke målt ved maksimal isometrisk kneekstensjon viste en gjennomsnittlig høyere maksimal kraft i for friske eldre sammenliknet med skrøpelige eldre, men denne forskjellen var ikke signifikant ( $x \pm y$  vs  $x \pm y$  N,  $p = 0,xx$ , figur 6). Når styrken ble relatert til kroppsvekt ble forskjellene mindre og fortsatt ikke signifikante (figur 7).

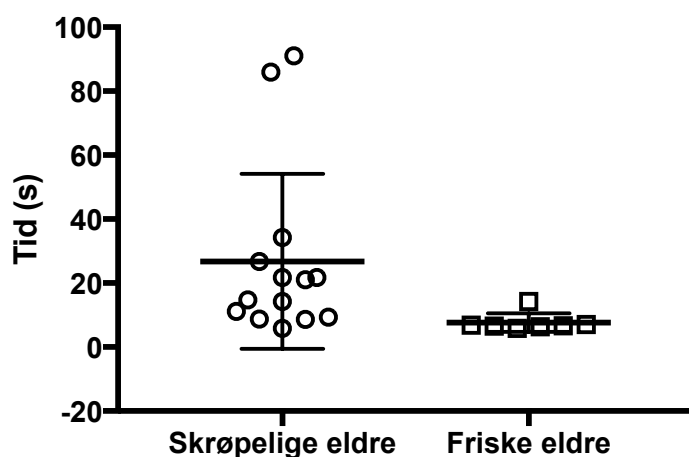


**Figur 6:** Maksimal styrke målt på høyre bein i en isometrisk kneekstensjon for begge gruppene.



*Figur 7: Relativ styrke i høyre bein målt i en isometrisk kneekstensjon for begge gruppene.*

Resultatene fra stoltesten viser en tendens til at friske eldre brukte kortere tid på å reise seg 5 ganger fra en stol sammenliknet med skrøpelige eldre ( $P=0,08$ , figur 8). Det var veldig stor variasjon blant de skrøpelige eldre i denne testen.

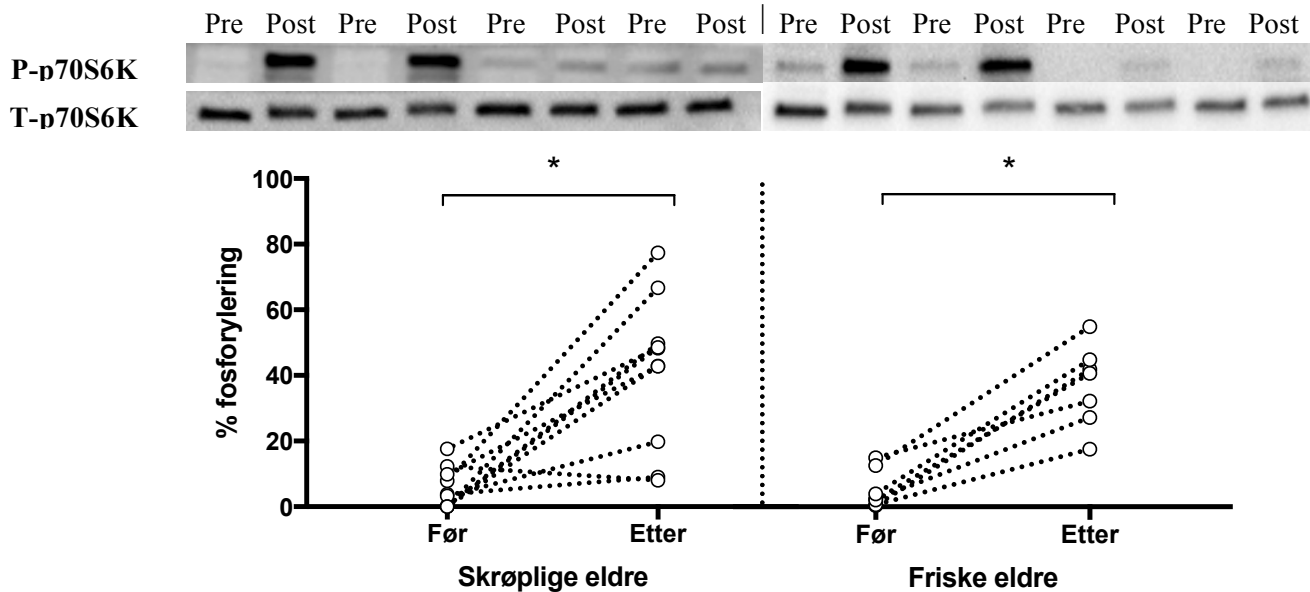


*Figur 8: Tid brukt til å reise seg opp og ned fem ganger fra en stol for begge gruppene.*

## 4.2 Intracellulær signalering

### 4.2.1 P70S6K

Den prosentvise andelen av fosforylert p70S6K økte signifikant etter styrketreningsøkten med påfølgende proteininntaket i begge gruppene ( $P<0,01$ , figur 9). Det var ingen signifikant forskjell mellom gruppene.

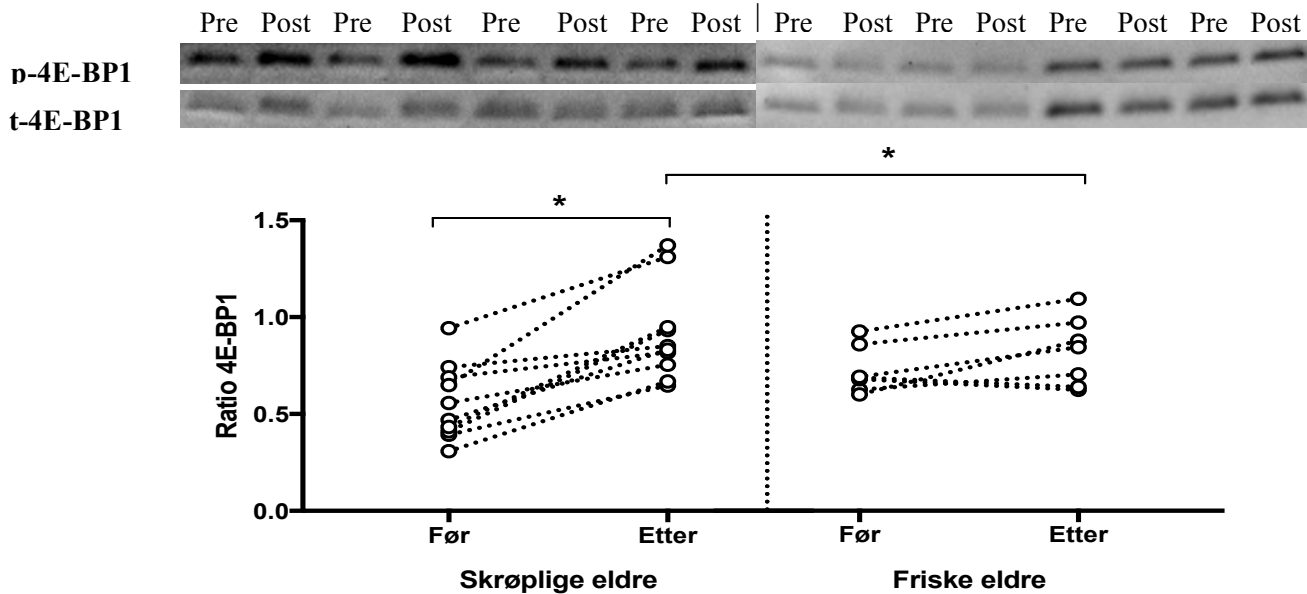


**Figur 9:** Fosforylering av p70S6K (thr389) før og to timer etter styrketreningsøkt og proteininntak. Prosent fosforylering angir hvor stor andel av p70S6K som er fosforylert på hvert biopsitidspunkt. \* indikerer signifikant økning fra pre til post ( $p < 0,01$ ). Verdiene representerer gjennomsnittet av to duplikater.

#### 4.2.2 4E-BP1

Etter styrketreningsøkten med påfølgende proteininntak var det en signifikant økning i ratioen mellom fosforylert og total 4E-BP1 hos skrøpelige eldre ( $P < 0,01$ , figur 10). Det var også en tendens til den samme økningen for friske eldre ( $P = 0,09$ , figur 10). Ratioen økte signifikant mer i skrøpelige eldre sammenliknet med friske eldre etter styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak ( $P < 0,05$ , figur 10). Forskjellen ved baseline viste en tendens til høyere fosforyleringsratio for friske eldre ( $P = 0,0674$ ).

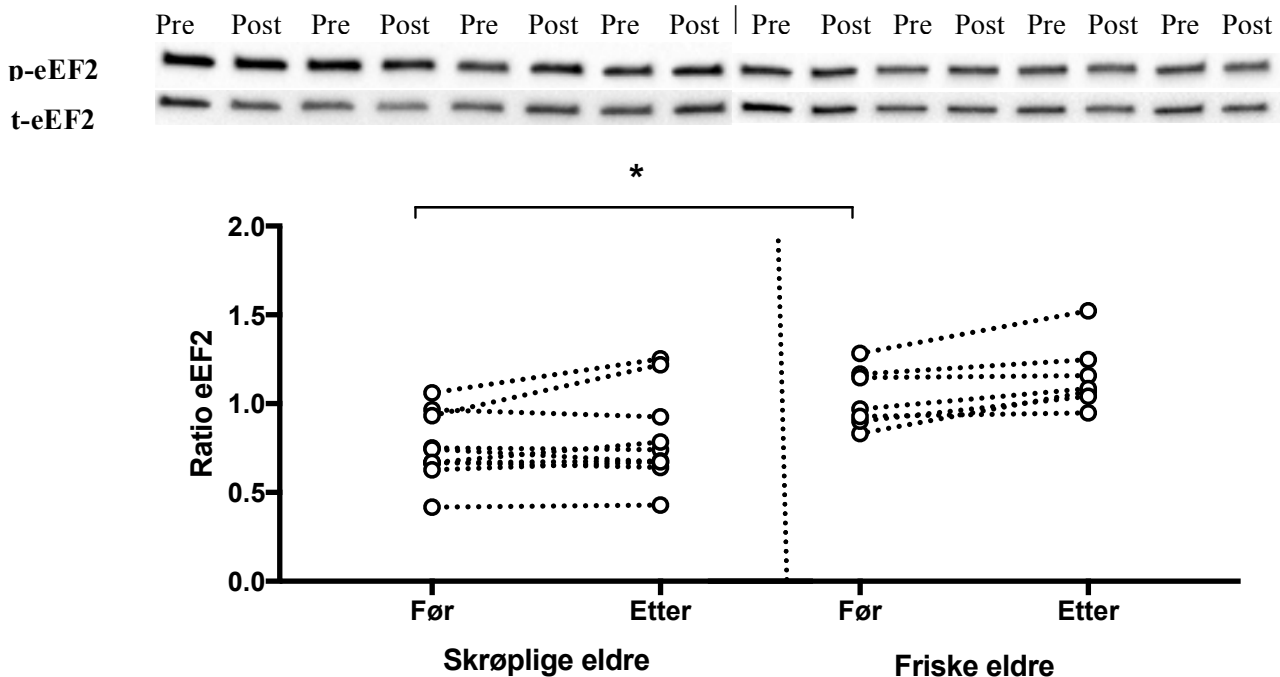




**Figur 10:** Ratio mellom fosforylert 4E-BP1 (thr70) og total mengde 4E-BP1 før og 2 timer etter styrketreningsøkt og proteininntak.. \* indikerer signifikant økning fra baseline og forskjell i fosforyleringen fra baseline mellom gruppene ( $P < 0,05$ ).

#### 4.2.3 eEF2

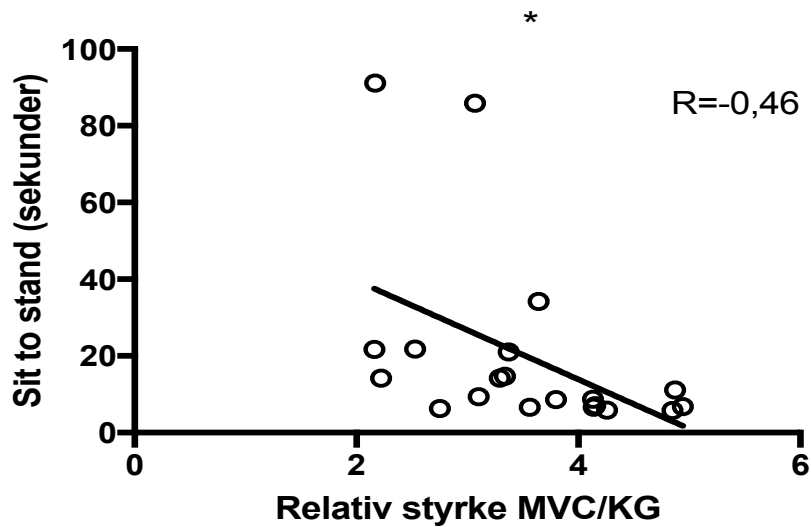
Skrøplige eldre hadde en signifikant lavere ratio mellom fosforylert og totalt eEF2 ved baseline ( $p < 0,01$ , figur 11). Det var en tendens til økning i ratioen hos friske eldre etter styrketreningsøkten med påfølgende proteininntak ( $P = 0,06$ , figur 11).



**Figur 11:** Ratio mellom fosforylert eEF2 (thr56) og total eEF2 før og 2 timer etter styrketreningsøkt og proteininntak. \* indikerer signifikant forskjell i fosforyleringen ved baseline ( $P < 0,05$ )

### 4.3 Korrelasjoner

Det var en moderat signifikant negativ sammenheng mellom relativ styrke i MVC høyre bein og tid brukt på stol-testen for begge gruppene samlet (Pearsons  $r=0,46$  og  $p<0,05$ , figur 9)



**Figur 12:** Styrke målt i MVC høyre bein delt på kg kroppsvekt sammenliknet med tid brukt ved stol testen. (Pearsons  $r= -0,44$ ,  $P<0,05$ )

## 5. Diskusjon

Hovedhensikten med denne studien var å undersøke om den anabole responsen i muskel etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak er forskjellig hos friske eldre og skrøpelige eldre. Den anabole responsen i muskel ble målt som fosforyleringsgrad av p70S6K, 4E-BP1 og eEF2. Både skrøpelige og friske eldre aktiverte p70S6k signifikant fra baseline uten forskjell mellom gruppene. Skrøpelige eldre hadde økt 4E-PB1-aktivering fra baseline, og de skrøpelige økte signifikant mer enn de friske. Det var ingen endring i aktivering av eEF2 etter styrketreningsøkten og proteininntaket, men de skrøpelige hadde signifikant lavere fosforylering (økt aktivering) ved baseline. Fysiske tester viste at de skrøpelige brukte lengre tid på stoltesten, og de viste også lavere maksstyrke uten at noen av disse resultatene var signifikante. Disse resultatene indikerer at skrøpelige eldre kan ha en like god muskelrespons på en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak, som friske eldre og, dermed at anabol resistens ikke ser ut til å være mer utalt for denne gruppen.

### 5.1 Fysiske tester

Vi gjennomførte ulike fysiske tester for å måle muskelfunksjon og funksjonsnivå i de to gruppene. De skrøpelige presterte dårligere enn de friske, men forskjellen var ikke signifikant og det kan ha vært flere årsaker til akkurat dette. En årsak kan være at ved stoltesten måtte fire av deltakerne i gruppen skrøpelige eldre bruke armene for å klare å reise seg fra stolen. Dette gjorde at de fikk et bedre resultat enn de ville fått uten armbruk. En annen årsak kan være at det var en høyere andel kvinner i gruppen friske eldre (57 % > 38 %). I følge studien til Fragala et al. (2012) ser det ikke ut til å være noen kjønnsforskjeller i prestasjon ved stoltesten hos eldre kvinner og menn over 80 år. I vår studie derimot fant vi at i gruppen friske eldre var mennene 19,9 % raskere enn kvinnene og hos de skrøpelige var mennene 13,4 % raskere (upubliserte resultater). Det betyr at en høyere andel kvinner i gruppen friske eldre kan ha utgjort en forskjell. Kjønnsforskjellene i gruppene kan også ha påvirket resultatene fra styrke målt ved MVC. Kvinner i alderen 80+ har vist å være 31 % svakere i beinpress sammenliknet med jevnaldrende menn (Fragala et al., 2012). Beinpress krever stort bidrag i styrke fra *m.quadriceps* og kan derfor overføres til styrke målt ved kneekstensjon hvor bidraget i hovedsak kommer fra *m.quadriceps*. I gruppen friske eldre var kvinnene 20 % svakere enn mennene, mens hos skrøpelige eldre var kvinnene 40 % svakere enn mennene

(upubliserte resultater). Forskjellene i styrke og prestasjon ved stoltesten mellom gruppene ville derfor mest sannsynlig vært større hvis det hadde vært likt antall kvinner og menn i begge gruppene.

## **5.2 p70S6K**

Som forventet økte fosforyleringen av p70S6K signifikant fra baseline 2 timer og 30 minutter etter treningsøkten for begge gruppene (Farnfield et al., 2012; Katsanos et al., 2005; Moore et al., 2011). Vi hadde en forventning om at de skrøpelige skulle ha en lavere respons enn de friske eldre, men det var ingen forskjell mellom gruppene. Dersom p70S6K-aktivering gjenspeiler endring i MPS, viser våre resultater ingen tegn til økt anabol resistens med økende alder fra 75 til 85 år, eller for skrøpelig eldre sammenlignet med friske eldre.

Redusert fysisk aktivitet har vist å redusere MPS-responsen til et proteininntak blant friske eldre (Breen et al., 2013). Gruppen skrøpelige eldre i denne studien var med stor sannsynlighet betydelig mindre fysisk aktive enn de friske eldre i studien til Breen et al. (2013), derfor kunne vi forventet en redusert anabol signalering hos de skrøpelige. Deltakerne i denne studien gjennomførte en treningsøkt i kombinasjon med styrketrening, noe som har vist å gi en lik eller høyere p70S6K-fosforylering og MPS hos eldre sammenliknet med yngre (Farnfield et al., 2012; Kumar et al., 2009). Disse tallene er basert på friske og aktive eldre i alderen 65-70 år, og kan kanskje ikke assosieres med de eldre i den skrøpelige gruppen i dette studiet.

Funnene i studien til Farnfield et al. (2012) tyder på at treningstilstand kan påvirke hypertrofisignalering som en respons til styrketrening med påfølgende proteininntak i den retning at styrketrente personer kan ha lavere signalering enn utrente. Selv om de friske eldre var mer fysisk aktive enn de skrøpelige var begge gruppene utrente for styrketrening og det er derfor lite sannsynlig at det har påvirket resultatene vesentlig.

Som nevnt tidligere ser det ut til at eldre har lavere anabol respons til proteininntak med og uten styrketrening, sammenliknet med yngre når proteininntaket er lavt (Katsanos et al., 2005; Moore et al., 2015). Ved inntak av høye doser (>10-15 gram EEA) ser det ikke ut til at MPS-responsen er ulik mellom eldre og yngre (Drummond, Dreyer, et al., 2008; Symons et al., 2011). Våre deltakere inntok henholdsvis 18,9 og 16,8 gram

melkeprotein, noe som kan ha ført til litt redusert signalering og MPS respons hos begge gruppene. De friske eldre hadde litt høyere LBM, noe som assosieres med et økt proteinbehov, enn de skrøpelige, og det kan derfor tenkes at det lave inntaket av protein har påvirket begge gruppene i like stor grad. Eventuelt kunne det påvirke resultatene i retning av redusert p70S6K-fosforylering hos de skrøpelige, dette på grunn av økt anabol resistens sett hos eldre ved suboptimale proteininntak (Moore et al., 2015), noe som ikke ble målt i vår studie.

Både treningsvolum og intensitet i styrketreningsøkten har vist å påvirke p70S6K-fosforyleringen. Kumar et al. (2012) fant økt fosforylering når deltakerne doblet treningsvolumet fra 3 til 6 serier. På samme måte økte fosforyleringen når deltakerne økte intensiteten fra 40 til 75 % av 1RM. Deltakerne i denne studien gjennomførte 3 serier av 10RM (friske eldre) og 6 serier av 8RM (skrøpelig eldre), hvilket vil tilsvare omtrent 70-85 % av 1RM. Kumar et al. (2009) fant et platå for p70S6K-fosforylering hos yngre og eldre når styrketreningsøkten ble gjennomført med en intensitet på 60-90 % av 1RM. Dette tyder på at verken treningsvolumet eller intensiteten i styrketreningsøkten gjennomført i denne studien har vært begrensende for fosforyleringen. De friske eldre gjennomførte 3 ulike beinøvelser med 3 serier og har derfor gjennomført et større treningsvolum på beina, mens de skrøpelige har gjennomført 6 serier isolert på *m.quadriceps*. Det er usikkert om dette har påvirket fosforyleringen av p70S6K forskjellig i de to gruppene. I og med at vi forventet en lavere respons hos gruppen skrøpelige eldre kan det spekuleres i om deres treningsprotokoll har ført til et kraftigere stimuli på *m.vastus lateralis*, men det faktum at en av øvelsene var identisk hos de friske eldre og de to andre øvelsene også involverte *m.quadriceps* som en av hovedmusklene skulle tilsi at dette ikke var tilfellet.

Biopsitidspunktet kan påvirke p70S6K-fosforyleringen (Drummond, Dreyer, et al., 2008). Gruppene friske eldre og skrøpelige eldre i denne studien gjennomførte siste biopsien henholdsvis 2 timer og 27 minutter og 2 timer og 30 minutter etter siste beinøvelse. Denne vage forskjellen har neppe påvirket resultatene vesentlig. Noe som imidlertid kan ha påvirket p70S6k-fosforyleringen er at de skrøpelige inntok proteiner 2 timer og 30 minutter før siste biopsi, mens de friske inntok proteiner 2 timer før sin siste biopsi. Drummond, Dreyer, et al. (2008) fant økt fosforylering 3 timer etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak, sammenliknet med 1 time etter hos

eldre. I kontrast til dette fant Moore et al. (2011) størst fosforylering 1 time etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak hos eldre, sammenliknet med 3 timer etter hos yngre. Det ser derfor ut til at eldre har en tregere respons sammenliknet med yngre (Drummond, Dreyer, et al., 2008), og det kan spekuleres i om et senere inntak av proteiner for de friske eldre kan ha ført til redusert fosforylering på biopsitidspunktet. Dette kan derfor være en forklaring på hvorfor det ikke ble oppdaget noe redusert anabol signalering blant skrøpelige eldre i denne studien.

### **5.3 4E-BP1**

Begge gruppene fikk en økning i ratio mellom fosforylert og total mengde 4E-BP1 som respons til styrketrening med påfølgende proteininntak. For gruppen skrøpelige eldre var denne økningen signifikant, mens det kun ble målt en tendens hos de friske. Denne økning stemmer overens med økning Farnfield et al. (2012) fant i sin studie. Basert på kunnskapen om anabol resistens og redusert signalering hos eldre ble det forventet en lavere endring i ratio hos de skrøpelige sammenliknet med de friske (Drummond, Dreyer, et al., 2008). Mulige årsaker til at dette ikke ble funnet i denne studien blir diskutert videre.

En årsak til at det ikke ble målt noen signifikant økning for gruppen friske eldre kan være at de hadde en tendens til høyere andel fosforylert 4E-BP1 ved baseline. Begge gruppen ankom NIH fastende og inntok den samme standardiserte frokosten. Det kan tenktes at de friske eldre responderte litt bedre enn de skrøpelige på den frokosten. Det kan stemme overens med det vi vet om inaktivitet og økt anabol resistens til et måltid. Breen et al. (2013) fant redusert 4E-BP1-fosforylering fastende, og etter inntak av 20 gram eggehvite etter 14 dager med redusert aktivitet hos friske eldre. Sammenlikningen gjort mellom eldre i alderen 65-74 år og yngre i alderen 21-30 år viser ingen forskjell i basal MPS (Katsanos et al., 2006; Kumar et al., 2009; Pennings et al., 2011; Symons et al., 2011). Det er sannsynlig at de eldre som er representert i disse studiene er friske aktive eldre. Disse funnene kan derfor ikke generaliseres til gruppen med skrøpelige eldre i vår studie, med en gjennomsnittsalder på 86 år. Basert på Breen et al. (2013) sine funn, kan det spekuleres i om tendensen til den reduserte 4E-BP1-fosforyleringen ved baseline funnet i denne studien gjenspeiler en lavere basal MPS hos skrøpelige eldre. Samtidig er det viktig å understreke at lik p70S6K-aktivering ved baseline i de to gruppene antyder at dette ikke er tilfellet.

Biopsitidspunktet kan som sagt påvirke resultatene i denne studien. Drummond, Dreyer, et al. (2008) fant økt fosforylering 3 timer etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak, men ingen økning 1 og 6 timer etter. Basert på en sen respons sett hos eldre i studien til Drummond, Dreyer, et al. (2008) kan det spekuleres om de friske eldre har hatt en redusert fosforylering på grunn av at de inntok protein ca. 30 min nærmere biopsitidspunktet, selv om tidspunktet fra beintreningen til biopsitidspunktet var likt mellom gruppene. Se mer under p70S6K.

Våre deltakere inntok henholdsvis 18,9 og 16,8 gram melkeprotein, noe som kan ført til litt redusert 4E-BP1-fosforylering og MPS respons hos begge gruppene, enn hva tilfellet ville vært med et inntak over 20 gram. Som nevnt tidligere ser det ut til at eldre har lavere anabol respons til proteininntak med og uten styrketrening, sammenliknet med yngre når proteininntaket er lavt (Katsanos et al., 2005; Moore et al., 2015). De friske eldre hadde litt høyere LBM enn de skrøpelige og det kan derfor tenkes at det lave inntaket av protein har påvirket begge gruppene i like stor grad. Proteininntak fordelt på kg LBM viste at begge gruppene inntok samme mengde protein (0,40 gram protein per kg LBM). Eventuelt kan dette ha påvirket resultatene i retning av lavere 4E-BP1-fosforylering for de skrøpelige, noe som ikke ble målt i denne studien.

Alle de omtalte studiene som har målt 4E-BP1-fosforylering har brukt spesifikt antistoff for bindingssetet Thr 37/46. I denne studien derimot, ble det brukt spesifikt antistoff for Thr 70. Fosforylering av Thr 37/46 bryter ikke binding med eIF4E. Det er først når Thr 70 fosforyleres at bindingen brytes og initieringskomplekset er komplett slik at det kan bidra i translasjonsprosessen (Gingras et al., 1999). Til tross for disse metodiske forskjellene er det ifølge Hay and Sonenberg (2004) og Gingras et al. (1999) trolig tillatt å trekke linjer mellom disse studiene fordi fosforyleringsstatus på de ulike setene vil ha en nær sammenheng.

#### **5.4 eEF2**

Fosforylering av p70S6K inhiberer eEF2k som reduserer fosforylering av eEF2 dermed øker aktiviteten (Fujita et al., 2007). I og med at vi målte en kraftig økning i p70S6K-fosforylering kunne det forventes en reduksjon i eEF2-fosforylering (Dreyer et al., 2006; Moore et al., 2011). I vår studie derimot fant vi ingen endring i fosforyleringen av eEF2 som en respons til en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak noen av

gruppene. Det ble ikke gjort analyser på MPS i denne studien, men basert på p70S6K-fosforyleringen er det sannsynlig at MPS er økt hos begge gruppene (West et al., 2011). Dette tyder på at eEF2 kanskje ikke er et begrensende steg for MPS, og at tilstrekkelig eEF2 er aktivert til enhver tid hos begge gruppene.

Et interessant funn var at vi i gruppen av skrøpelige eldre fant en lavere ratio for fosforylert eEF2 ved baseline enn hos de friske. Dette kan ha bidratt til en høyere MPS ved baseline for de skrøpelige. I og med at Breen et al. (2013) fant redusert eEF2-aktivering (økt fosforylering), som en respons til et proteininntak eller fastende, etter 14 uker inaktivitet, er det overraskende at det ble målt større eEF2-aktivitet hos den gruppen som var mest inaktive i denne studien. Dette funnet samsvarer heller ikke med resultatene for 4E-BP1 og p70S6K i denne studien.

I motsetning til Drummond, Dreyer, et al. (2008) ble det ikke funnet en reduksjon i eEF2-fosforyleringen i denne studien. En årsak til det kan være at deltakerne i studien til Drummond, Dreyer, et al. (2008) tok pre-biopsier i en fastende tilstand, mens våre forsøkspersoner fikk en frokost rik på karbohydrater før pre-biopsien. Denne metodiske forskjellen har vist å påvirke eEF2-fosforyleringen (Deldicque et al., 2010). Deldicque et al. (2010) fant større reduksjon i fosforyleringen som en respons til en styrketreningsøkt når deltakerne ikke inntok en karbohydratrik frokost før pre-biopsien.

Biopsitidspunktet etter treningsøkten og proteininntaket kan være en annen årsak til at det ikke ble funnet noen reduksjon i eEF2-fosforyleringen i denne studien. Som nevnt tidligere vil fosforylert p70S6K inhibere eEF2K, som igjen fører til redusert eEF2-fosforylering (Fujita et al., 2007). Basert på p70S6K-fosforyleringen funnet i begge gruppene i vår studie, er det overraskende at ikke eEF2-fosforyleringen var redusert. I og med at eEF2 ligger nedstrøms for p70S6K kan det tenkes at eEF2 aktiveres ved et senere tidspunkt og derfor ble det ikke fanget opp på det valgte biopsitidspunktet i vår studie. Andre studier kan støtte en slik antagelse i og med at de har vist størst reduksjon i eEF2-fosforyleringen først etter 3, 5 og 6 timer etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak (Drummond, Dreyer, et al., 2008; Moore et al., 2011). eEF2-fosforyleringen som en respons til en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak kan derfor være redusert for friske eldre og skrøpelige eldre på et senere tidspunkt enn målt i vår studie.



## 5.5 **Skrøpelige eldre og friske eldre**

Som nevnt flere steder var det noen forskjeller i protokollen mellom gruppene i denne studien, og disse vil bli ytterligere diskutert her.

Den opprinnelige planen var at begge gruppene skulle gjennomføre den samme styrketreningsøkten, men det lot seg ikke gjøre, da gruppen skrøpelige eldre verken kom seg ned i beinpressapparatet eller klarte å gjennomføre hammer squat. Det ble derfor gjennomført 6 serier i øvelsen kneekstensjon til utmattelse med treningsmotstand tilsvarende 8RM, mens de friske eldre gjennomførte 3 serier med 3 ulike øvelser på bein med en belastning på 10RM (se side 33 og 34 i metodekapittelet). De skrøpelige gjennomførte da 48 repetisjoner i en øvelse som belaster i hovedsak *m.vastus lateralis*. De friske gjennomførte derimot bare 32 repetisjoner i denne øvelsen, men de gjennomførte også 64 repetisjoner tilsammen i beinpress og hammer squat, som også belaster *m.vastus lateralis*, men kanskje ikke i like stor grad. De skrøpelige har derfor gjennomført færre repetisjoner totalt enn de friske, men har gjennomført flere av repetisjoner i kneekstensjon. I forkant til gjennomføring av studien på de skrøpelige eldre ble det vurdert at belastningen på *m.vastus lateralis* ville være tilnærmet lik. Det er imidlertid usikkert om dette kan ha påvirket resultatet, men det er sannsynlig at begge har oppnådd tilnærmet samme belastning på *m.vastus lateralis*. Eventuelt kan man argumentere for at de friske eldre har hatt en noe større belastning og burde økt aktivering mer. Dette fordi det ser ut til at eldre trenger et større stimuli fra styrketrening med økende alder for å maksimere MPS og anabol signalering (Kumar et al., 2012; Sheffield-Moore et al., 2005). I og med at det ble forventet en lavere respons i gruppen skrøpelige eldre kan det spekuleres i om deres treningsøkt kan ha ført til en større anabol respons sammenliknet med de friske, men vår vurdering er at belastningen ikke var større enn hos de friske eldre.

En annen faktor som kan ha påvirket resultatet i denne studien, er forskjeller i næringsinnholdet i proteininntaket etter styrketreningsøkten. De friske eldre inntok 2,1 gram mer protein, 6,2 gram mer fett og 17,1 gram mer karbohydrater. Tilsammen utgjør dette 132,6 kcal. Koopman et al. (2007) fant ingen økning i MPS når de økte inntaket av karbohydrater sammen med proteiner etter en styrketreningsøkt. Men et høyere inntak av kcal kan bidra til en mer positiv energibalanse i muskulaturen, og økt MPS gjennom redusert AMPK-aktivering (Egan et al., 2011). Dette kan teoretisk ha bidratt til en

lavere fosforylering hos de skrøpelige eldre, men dette var som vist ikke tilfelle i denne studien. Dette tyder på at de skrøpelige eldre har hatt minst like god respons som de friske eldre. De friske eldre hadde en høyre LBM, noe som fører til økt energiforbruk, og det er derfor usannsynlig at denne forskjellen har påvirket resultatet. De skrøpelige eldre inntok 2,1 gram mindre protein enn de friske. Eldre har vist redusert signalering og MPS ved lave inntak av protein (Katsanos et al., 2005; Moore et al., 2015). Det er usikkert om denne forskjellen har påvirket resultatene. Som nevnt hadde de friske eldre høyere LBM som er assosiert med økt proteinbehov. Derfor ser det ut til at de skrøpelige eldre er minst like responsive som de friske eldre.

Biopsitidspunktet påvirker fosforyleringsstatus av p70S6K, 4E-BP1 og eEF2 (Dreyer et al., 2006). Selv om det var en forskjell i biopsitidspunktet mellom gruppene i forhold til inntaket av proteiner, var det ingen eller liten forskjell i tid etter siste beinøvelse til siste biopsi. De skrøpelige tok siste biopsi 2 timer og 30 minutter etter siste repetisjon i kneekstensjon. De friske tok siste biopsi 2 timer og 27 minutter etter siste repetisjon i siste beinøvelse. Det er derfor usannsynlig resultatene har blitt påvirket av biopsitidspunktet som følge av responsen til styrketreningen. Når det gjelder proteininntaket derimot, ble ikke det inntatt til samme tid i begge gruppene. På grunn av at de friske eldre gjennomførte 3 øvelser på overkroppen etter beinøvelsene, inntok de protein 2 timer før siste biopsi, mens de skrøpelige inntok protein 2 timer og 30 minutter før siste biopsi. Det er usikkert i hvilken retning dette kan ha påvirket resultatene og dette er nærmere diskutert under p70S6K, 4E-BP1 og eEF2.

## **5.6 Intracellulær signalering og MPS**

Studier som har funnet økt anabol signalering har også funnet økt MPS, men noen studier finner og en økning i MPS til tross for manglende aktivering av anabol signalering. I vår studie ble det funnet økt aktivering av anabole signaler, men MPS ble ikke målt. Om størrelsen på det anabole signalet kan si noe om størrelsen på MPS er derfor usikkert.

C. J. Mitchell et al. (2014) fant økt MPS 1 til 3 timer og 3 til 6 timer etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak, de fant samtidig en signifikant økning i fosforylert mTOR, 1 og 3 timer etter økten hos utrente menn. Samme resultat ble rapportert av West et al. (2012), der økte MPS 1 til 3 og 3 til 5 timer etter styrketrening

med påfølgende proteininntak. Også her økte fosforyleringen av mTOR og p70S6K 1, 3 og 5 timer etter økten. Det er viktig å merke seg at det ikke er rapportert om noen korrelasjon mellom endringene i anabol signalering og MPS i disse to studiene. Burd et al. (2010) derimot fant en korrelasjon mellom økning i p70S6K fosforylering og MPS 5 timer etter styrketrening med påfølgende proteininntak hos styrketrente menn og Kumar et al. (2009) fant en korrelasjon mellom MPS og p70S6K-fosforylering 1 time etter en styrketreningsøkt uten proteininntak hos yngre forsøkspersoner.

Ut i fra resultatene fra den anabole signaleringen kan vi ikke si noe om hvor stor økningen i MPS har vært hos deltakerne eller om MPS var stimulert forskjellig mellom gruppene av friske og skrøpelige eldre. En studie gjort av Moore, Robinson, et al. (2009) målte MPS og p70S6K-fosforylering etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak av ulike mengder. Resultatet viste økende MPS med økende proteininntak, men ingen forskjell i p70S6K-fosforylering. Det er derfor usikkert hvor godt p70S6K-fosforylering korrelerer med MPS hos eldre, men det ser ut til at det er en sammenheng hos yngre. Noen få studier viser korrelasjoner mellom p70S6K, men det er mange studier har analysert disse to variablene uten å presentere noen korrelasjoner (Camera et al., 2015; Churchward-Venne et al., 2014; C. J. Mitchell et al., 2015; W. K. Mitchell et al., 2015). På grunn av manglende signifikante korrelasjoner har forfatterne mest sannsynlig valgt å utelate disse resultatene fra artiklene. Det er derfor vanskelig å trekke noen konklusjon rundt sammenhengen mellom anabol signalering og MPS i vår studie, men vi antar at våre resultater antyder en noenlunde lik stimulering av MPS i begge grupper. Direkte måling av MPS må imidlertid inkluderes i videre studier for å kunne bekrefte denne antagelsen.

## **5.7 Konklusjon**

Hovedhensikten med denne studien var å undersøke aktivering av signalproteinene p70S6K, eEF2 og 4E-BP1 hos friske eldre og skrøpelige eldre før og etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak. Det var en signifikant økning i p70S6K-fosforyleringen etter styrketreningsøkten og proteininntaket uten forskjell mellom gruppene. Det ble videre funnet en signifikant økning i 4E-BP1-fosforylering hos gruppen skrøpelige eldre etter styrketreningsøkten og proteininntaket, og denne økningen var signifikant større sammenliknet med gruppen friske eldre. Det ble ikke målt endring i andelen fosforylert eEF2 etter styrketreningsøkten og proteininntaket for

noen av gruppene, men fosforylering ved baseline var signifikant lavere hos de skrøpelige eldre sammenliknet med de friske.

Hypotesen om at skrøpelige eldre har lavere anabol respons i muskel etter en styrketreningsøkt med påfølgende proteininntak sammenliknet med friske eldre ble ikke bekreftet i denne studien fordi vi ikke observerte noen forskjeller i p70S6K og 4E-BP1-aktivering mellom disse to gruppene.

Hvorvidt denne aktiveringen har ført til en like stor MPS for begge gruppene er imidlertid uvisst, og studier som måler MPS og MPN hos skrøpelige eldre behøves for å få en større forståelse av hvorfor muskelstyrke og muskelmasse reduseres kraftig i denne gruppen.

## Referanser

- Adams, G. R., & Bamman, M. M. (2012). Characterization and regulation of mechanical loading-induced compensatory muscle hypertrophy. *Compr Physiol*, 2(4), 2829-2870. doi:10.1002/cphy.c110066
- Alessi, D. R., Kozlowski, M. T., Weng, Q. P., Morrice, N., & Avruch, J. (1998). 3-Phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDK1) phosphorylates and activates the p70 S6 kinase in vivo and in vitro. *Curr Biol*, 8(2), 69-81.
- Apro, W., Moberg, M., Hamilton, D. L., Ekblom, B., Rooyackers, O., Holmberg, H. C., & Blomstrand, E. (2015). Leucine does not affect mechanistic target of rapamycin complex 1 assembly but is required for maximal ribosomal protein s6 kinase 1 activity in human skeletal muscle following resistance exercise. *FASEB J*, 29(10), 4358-4373. doi:10.1096/fj.15-273474
- Atherton, P. J., Etheridge, T., Watt, P. W., Wilkinson, D., Selby, A., Rankin, D., . . . Rennie, M. J. (2010). Muscle full effect after oral protein: time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *Am J Clin Nutr*, 92(5), 1080-1088. doi:10.3945/ajcn.2010.29819
- Attaix, D., Baracos, V. E., & Pichard, C. (2012). Muscle wasting: a crosstalk between protein synthesis and breakdown signalling. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 15(3), 209-210. doi:10.1097/MCO.0b013e328352b80c
- Baird, F. E., Bett, K. J., MacLean, C., Tee, A. R., Hundal, H. S., & Taylor, P. M. (2009). Tertiary active transport of amino acids reconstituted by coexpression of System A and L transporters in *Xenopus* oocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 297(3), E822-829. doi:10.1152/ajpendo.00330.2009
- Biolo, G., Maggi, S. P., Williams, B. D., Tipton, K. D., & Wolfe, R. R. (1995). Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *Am J Physiol*, 268(3 Pt 1), E514-520.
- Biolo, G., Tipton, K. D., Klein, S., & Wolfe, R. R. (1997). An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *Am J Physiol*, 273(1 Pt 1), E122-129.
- Blomstrand, E., Eliasson, J., Karlsson, H. K., & Kohnke, R. (2006). Branched-chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. *J Nutr*, 136(1 Suppl), 269S-273S.
- Bodine, S. C., Stitt, T. N., Gonzalez, M., Kline, W. O., Stover, G. L., Bauerlein, R., . . . Yancopoulos, G. D. (2001). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal

- muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol*, 3(11), 1014-1019. doi:10.1038/ncb1101-1014
- Bohe, J., Low, J. F., Wolfe, R. R., & Rennie, M. J. (2001). Latency and duration of stimulation of human muscle protein synthesis during continuous infusion of amino acids. *J Physiol*, 532(Pt 2), 575-579.
- Boirie, Y., Gachon, P., & Beaufriere, B. (1997). Splanchnic and whole-body leucine kinetics in young and elderly men. *Am J Clin Nutr*, 65(2), 489-495.
- Borsheim, E., Cree, M. G., Tipton, K. D., Elliott, T. A., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2004). Effect of carbohydrate intake on net muscle protein synthesis during recovery from resistance exercise. *J Appl Physiol (1985)*, 96(2), 674-678. doi:10.1152/jappphysiol.00333.2003
- Borsheim, E., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2004). Effect of an amino acid, protein, and carbohydrate mixture on net muscle protein balance after resistance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 14(3), 255-271.
- Bouillanne, O., Curis, E., Hamon-Vilcot, B., Nicolis, I., Chretien, P., Schauer, N., . . . Aussel, C. (2013). Impact of protein pulse feeding on lean mass in malnourished and at-risk hospitalized elderly patients: a randomized controlled trial. *Clin Nutr*, 32(2), 186-192. doi:10.1016/j.clnu.2012.08.015
- Breen, L., Stokes, K. A., Churchward-Venne, T. A., Moore, D. R., Baker, S. K., Smith, K., . . . Phillips, S. M. (2013). Two weeks of reduced activity decreases leg lean mass and induces "anabolic resistance" of myofibrillar protein synthesis in healthy elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(6), 2604-2612. doi:10.1210/jc.2013-1502
- Burd, N. A., Holwerda, A. M., Selby, K. C., West, D. W., Staples, A. W., Cain, N. E., . . . Phillips, S. M. (2010). Resistance exercise volume affects myofibrillar protein synthesis and anabolic signalling molecule phosphorylation in young men. *J Physiol*, 588(Pt 16), 3119-3130. doi:10.1113/jphysiol.2010.192856
- Burd, N. A., Tang, J. E., Moore, D. R., & Phillips, S. M. (2009). Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences. *J Appl Physiol (1985)*, 106(5), 1692-1701. doi:10.1152/jappphysiol.91351.2008
- Burd, N. A., West, D. W., Moore, D. R., Atherton, P. J., Staples, A. W., Prior, T., . . . Phillips, S. M. (2011). Enhanced amino acid sensitivity of myofibrillar protein synthesis persists for up to 24 h after resistance exercise in young men. *J Nutr*, 141(4), 568-573. doi:10.3945/jn.110.135038
- Burd, N. A., Yang, Y., Moore, D. R., Tang, J. E., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2012). Greater stimulation of myofibrillar protein synthesis with ingestion of whey protein isolate v. micellar casein at rest and after resistance exercise in elderly men. *Br J Nutr*, 108(6), 958-962. doi:10.1017/S0007114511006271

- Byfield, M. P., Murray, J. T., & Backer, J. M. (2005). hVps34 is a nutrient-regulated lipid kinase required for activation of p70 S6 kinase. *J Biol Chem*, 280(38), 33076-33082. doi:10.1074/jbc.M507201200
- Baar, K., & Esser, K. (1999). Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *Am J Physiol*, 276(1 Pt 1), C120-127.
- Camera, D. M., West, D. W., Phillips, S. M., Rerечich, T., Stellingwerff, T., Hawley, J. A., & Coffey, V. G. (2015). Protein ingestion increases myofibrillar protein synthesis after concurrent exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 47(1), 82-91. doi:10.1249/MSS.0000000000000390
- Caserotti, P., Aagaard, P., Simonsen, E. B., & Puggaard, L. (2001). Contraction-specific differences in maximal muscle power during stretch-shortening cycle movements in elderly males and females. *Eur J Appl Physiol*, 84(3), 206-212. doi:10.1007/s004210170006
- Cholewa, J. M., Dardevet, D., Lima-Soares, F., de Araujo Pessoa, K., Oliveira, P. H., Dos Santos Pinho, J. R., . . . Zanchi, N. E. (2017). Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response. *Amino Acids*, 49(5), 811-820. doi:10.1007/s00726-017-2390-9
- Churchward-Venne, T. A., Breen, L., Di Donato, D. M., Hector, A. J., Mitchell, C. J., Moore, D. R., . . . Phillips, S. M. (2014). Leucine supplementation of a low-protein mixed macronutrient beverage enhances myofibrillar protein synthesis in young men: a double-blind, randomized trial. *Am J Clin Nutr*, 99(2), 276-286. doi:10.3945/ajcn.113.068775
- Churchward-Venne, T. A., Burd, N. A., Mitchell, C. J., West, D. W., Philp, A., Marcotte, G. R., . . . Phillips, S. M. (2012). Supplementation of a suboptimal protein dose with leucine or essential amino acids: effects on myofibrillar protein synthesis at rest and following resistance exercise in men. *J Physiol*, 590(11), 2751-2765. doi:10.1113/jphysiol.2012.228833
- Coffey, V. G., Zhong, Z., Shield, A., Canny, B. J., Chibalin, A. V., Zierath, J. R., & Hawley, J. A. (2006). Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. *FASEB J*, 20(1), 190-192. doi:10.1096/fj.05-4809fje
- Cruz-Jentoft, A. J., Baeyens, J. P., Bauer, J. M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., . . . European Working Group on Sarcopenia in Older, P. (2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing*, 39(4), 412-423. doi:10.1093/ageing/afq034
- Cuthbertson, D., Smith, K., Babraj, J., Leese, G., Waddell, T., Atherton, P., . . . Rennie, M. J. (2005). Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *FASEB J*, 19(3), 422-424. doi:10.1096/fj.04-2640fje

- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C., & Ugrinowitsch, C. (2015). A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Med*, *45*(6), 801-807. doi:10.1007/s40279-015-0320-0
- Deldicque, L., Atherton, P., Patel, R., Theisen, D., Nielens, H., Rennie, M. J., & Francaux, M. (2008). Decrease in Akt/PKB signalling in human skeletal muscle by resistance exercise. *Eur J Appl Physiol*, *104*(1), 57-65. doi:10.1007/s00421-008-0786-7
- Deldicque, L., De Bock, K., Maris, M., Ramaekers, M., Nielens, H., Francaux, M., & Hespel, P. (2010). Increased p70s6k phosphorylation during intake of a protein-carbohydrate drink following resistance exercise in the fasted state. *Eur J Appl Physiol*, *108*(4), 791-800.
- Dickinson, J. M., Drummond, M. J., Coben, J. R., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2013). Aging differentially affects human skeletal muscle amino acid transporter expression when essential amino acids are ingested after exercise. *Clin Nutr*, *32*(2), 273-280. doi:10.1016/j.clnu.2012.07.009
- Dickinson, J. M., Fry, C. S., Drummond, M. J., Gundermann, D. M., Walker, D. K., Glynn, E. L., . . . Rasmussen, B. B. (2011). Mammalian target of rapamycin complex 1 activation is required for the stimulation of human skeletal muscle protein synthesis by essential amino acids. *J Nutr*, *141*(5), 856-862. doi:10.3945/jn.111.139485
- Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Walker, D. K., Reidy, P. T., Borack, M. S., Drummond, M. J., . . . Rasmussen, B. B. (2014). Leucine-enriched amino acid ingestion after resistance exercise prolongs myofibrillar protein synthesis and amino acid transporter expression in older men. *J Nutr*, *144*(11), 1694-1702. doi:10.3945/jn.114.198671
- Dillon, E. L., Casperson, S. L., Durham, W. J., Randolph, K. M., Urban, R. J., Volpi, E., . . . Sheffield-Moore, M. (2011). Muscle protein metabolism responds similarly to exogenous amino acids in healthy younger and older adults during NO-induced hyperemia. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, *301*(5), R1408-1417. doi:10.1152/ajpregu.00211.2011
- Dodd, K. M., & Tee, A. R. (2012). Leucine and mTORC1: a complex relationship. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *302*(11), E1329-1342. doi:10.1152/ajpendo.00525.2011
- Dreyer, H. C., Drummond, M. J., Pennings, B., Fujita, S., Glynn, E. L., Chinkes, D. L., . . . Rasmussen, B. B. (2008). Leucine-enriched essential amino acid and carbohydrate ingestion following resistance exercise enhances mTOR signaling and protein synthesis in human muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *294*(2), E392-400. doi:10.1152/ajpendo.00582.2007
- Dreyer, H. C., Fujita, S., Cadenas, J. G., Chinkes, D. L., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2006). Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1



phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *J Physiol*, 576(Pt 2), 613-624. doi:10.1113/jphysiol.2006.113175

Drummond, M. J., Bell, J. A., Fujita, S., Dreyer, H. C., Glynn, E. L., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2008). Amino acids are necessary for the insulin-induced activation of mTOR/S6K1 signaling and protein synthesis in healthy and insulin resistant human skeletal muscle. *Clin Nutr*, 27(3), 447-456. doi:10.1016/j.clnu.2008.01.012

Drummond, M. J., Dreyer, H. C., Pennings, B., Fry, C. S., Dhanani, S., Dillon, E. L., . . . Rasmussen, B. B. (2008). Skeletal muscle protein anabolic response to resistance exercise and essential amino acids is delayed with aging. *J Appl Physiol (1985)*, 104(5), 1452-1461. doi:10.1152/jappphysiol.00021.2008

Drummond, M. J., Fry, C. S., Glynn, E. L., Dreyer, H. C., Dhanani, S., Timmerman, K. L., . . . Rasmussen, B. B. (2009). Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *J Physiol*, 587(Pt 7), 1535-1546. doi:10.1113/jphysiol.2008.163816

Drummond, M. J., Fry, C. S., Glynn, E. L., Timmerman, K. L., Dickinson, J. M., Walker, D. K., . . . Rasmussen, B. B. (2011). Skeletal muscle amino acid transporter expression is increased in young and older adults following resistance exercise. *J Appl Physiol (1985)*, 111(1), 135-142. doi:10.1152/jappphysiol.01408.2010

Drummond, M. J., Glynn, E. L., Fry, C. S., Timmerman, K. L., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2010). An increase in essential amino acid availability upregulates amino acid transporter expression in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 298(5), E1011-1018. doi:10.1152/ajpendo.00690.2009

Egan, D., Kim, J., Shaw, R. J., & Guan, K. L. (2011). The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR. *Autophagy*, 7(6), 643-644.

Evans, K., Nasim, Z., Brown, J., Butler, H., Kauser, S., Varoqui, H., . . . Bevington, A. (2007). Acidosis-sensing glutamine pump SNAT2 determines amino acid levels and mammalian target of rapamycin signalling to protein synthesis in L6 muscle cells. *J Am Soc Nephrol*, 18(5), 1426-1436. doi:10.1681/ASN.2006091014

Farnfield, M. M., Breen, L., Carey, K. A., Garnham, A., & Cameron-Smith, D. (2012). Activation of mTOR signalling in young and old human skeletal muscle in response to combined resistance exercise and whey protein ingestion. *Appl Physiol Nutr Metab*, 37(1), 21-30. doi:10.1139/h11-132

Fragala, M. S., Clark, M. H., Walsh, S. J., Kleppinger, A., Judge, J. O., Kuchel, G. A., & Kenny, A. M. (2012). Gender differences in anthropometric predictors of physical performance in older adults. *Gen Med*, 9(6), 445-456. doi:10.1016/j.genm.2012.10.004

- Fry, C. S., Drummond, M. J., Glynn, E. L., Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Timmerman, K. L., . . . Rasmussen, B. B. (2011). Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis. *Skeletal Muscle*, 1(1), 11. doi:10.1186/2044-5040-1-11
- Fry, C. S., Drummond, M. J., Glynn, E. L., Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Timmerman, K. L., . . . Rasmussen, B. B. (2013). Skeletal muscle autophagy and protein breakdown following resistance exercise are similar in younger and older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 68(5), 599-607. doi:10.1093/gerona/gls209
- Fujita, S., Dreyer, H. C., Drummond, M. J., Glynn, E. L., Cadenas, J. G., Yoshizawa, F., . . . Rasmussen, B. B. (2007). Nutrient signalling in the regulation of human muscle protein synthesis. *J Physiol*, 582(Pt 2), 813-823. doi:10.1113/jphysiol.2007.134593
- Gingras, A. C., Gygi, S. P., Raught, B., Polakiewicz, R. D., Abraham, R. T., Hoekstra, M. F., . . . Sonenberg, N. (1999). Regulation of 4E-BP1 phosphorylation: a novel two-step mechanism. *Genes Dev*, 13(11), 1422-1437.
- Glover, E. I., Phillips, S. M., Oates, B. R., Tang, J. E., Tarnopolsky, M. A., Selby, A., . . . Rennie, M. J. (2008). Immobilization induces anabolic resistance in human myofibrillar protein synthesis with low and high dose amino acid infusion. *J Physiol*, 586(24), 6049-6061. doi:10.1113/jphysiol.2008.160333
- Glynn, E. L., Fry, C. S., Drummond, M. J., Dreyer, H. C., Dhanani, S., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2010). Muscle protein breakdown has a minor role in the protein anabolic response to essential amino acid and carbohydrate intake following resistance exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 299(2), R533-540. doi:10.1152/ajpregu.00077.2010
- Goodpaster, B. H., Park, S. W., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Nevitt, M., Schwartz, A. V., . . . Newman, A. B. (2006). The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 61(10), 1059-1064.
- Groen, B. B., Hamer, H. M., Snijders, T., van Kranenburg, J., Frijns, D., Vink, H., & van Loon, L. J. (2014). Skeletal muscle capillary density and microvascular function are compromised with aging and type 2 diabetes. *J Appl Physiol* (1985), 116(8), 998-1005. doi:10.1152/jappphysiol.00919.2013
- Handegaard, V. (2016). *Nativ myse kontra lettmejølk: effekt av 12 veker regelbunden styrketrening og proteintilskott på anabol signalering*. (Master), Norwegian school of sports science. Brage database.
- Hara, K., Maruki, Y., Long, X., Yoshino, K., Oshiro, N., Hidayat, S., . . . Yonezawa, K. (2002). Raptor, a binding partner of target of rapamycin (TOR), mediates TOR action. *Cell*, 110(2), 177-189.

- Harbo, T., Brincks, J., & Andersen, H. (2012). Maximal isokinetic and isometric muscle strength of major muscle groups related to age, body mass, height, and sex in 178 healthy subjects. *Eur J Appl Physiol*, *112*(1), 267-275. doi:10.1007/s00421-011-1975-3
- Hay, N., & Sonenberg, N. (2004). Upstream and downstream of mTOR. *Genes Dev*, *18*(16), 1926-1945. doi:10.1101/gad.1212704
- Hornberger, T. A., Sukhija, K. B., Wang, X. R., & Chien, S. (2007). mTOR is the rapamycin-sensitive kinase that confers mechanically-induced phosphorylation of the hydrophobic motif site Thr(389) in p70(S6k). *FEBS Lett*, *581*(24), 4562-4566. doi:10.1016/j.febslet.2007.08.045
- Hulmi, J. J., Tannerstedt, J., Selanne, H., Kainulainen, H., Kovanen, V., & Mero, A. A. (2009). Resistance exercise with whey protein ingestion affects mTOR signaling pathway and myostatin in men. *J Appl Physiol (1985)*, *106*(5), 1720-1729. doi:10.1152/jappphysiol.00087.2009
- Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. (2004). Effects of resistance training on older adults. *Sports Med*, *34*(5), 329-348.
- Hyde, R., Cwiklinski, E. L., MacAulay, K., Taylor, P. M., & Hundal, H. S. (2007). Distinct sensor pathways in the hierarchical control of SNAT2, a putative amino acid transceptor, by amino acid availability. *J Biol Chem*, *282*(27), 19788-19798. doi:10.1074/jbc.M611520200
- Jacobs, B. L., You, J. S., Frey, J. W., Goodman, C. A., Gundermann, D. M., & Hornberger, T. A. (2013). Eccentric contractions increase the phosphorylation of tuberous sclerosis complex-2 (TSC2) and alter the targeting of TSC2 and the mechanistic target of rapamycin to the lysosome. *J Physiol*, *591*(18), 4611-4620. doi:10.1113/jphysiol.2013.256339
- Katsanos, C. S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2005). Aging is associated with diminished accretion of muscle proteins after the ingestion of a small bolus of essential amino acids. *Am J Clin Nutr*, *82*(5), 1065-1073.
- Katsanos, C. S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., & Wolfe, R. R. (2006). A high proportion of leucine is required for optimal stimulation of the rate of muscle protein synthesis by essential amino acids in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *291*(2), E381-387. doi:10.1152/ajpendo.00488.2005
- Kim, I. Y., Schutzler, S., Schrader, A., Spencer, H., Kortebein, P., Deutz, N. E., . . . Ferrando, A. A. (2015). Quantity of dietary protein intake, but not pattern of intake, affects net protein balance primarily through differences in protein synthesis in older adults. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *308*(1), E21-28. doi:10.1152/ajpendo.00382.2014
- Koopman, R., Beelen, M., Stellingwerff, T., Pennings, B., Saris, W. H., Kies, A. K., . . . van Loon, L. J. (2007). Coingestion of carbohydrate with protein does not

- further augment postexercise muscle protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293(3), E833-842. doi:10.1152/ajpendo.00135.2007
- Koopman, R., Verdijk, L. B., Beelen, M., Gorselink, M., Kruseman, A. N., Wagenmakers, A. J., . . . van Loon, L. J. (2008). Co-ingestion of leucine with protein does not further augment post-exercise muscle protein synthesis rates in elderly men. *Br J Nutr*, 99(3), 571-580. doi:10.1017/S0007114507812013
- Koopman, R., Walrand, S., Beelen, M., Gijsen, A. P., Kies, A. K., Boirie, Y., . . . van Loon, L. J. (2009). Dietary protein digestion and absorption rates and the subsequent postprandial muscle protein synthetic response do not differ between young and elderly men. *J Nutr*, 139(9), 1707-1713. doi:10.3945/jn.109.109173
- Kostka, T. (2005). Quadriceps maximal power and optimal shortening velocity in 335 men aged 23-88 years. *Eur J Appl Physiol*, 95(2-3), 140-145. doi:10.1007/s00421-005-1390-8
- Kumar, V., Atherton, P. J., Selby, A., Rankin, D., Williams, J., Smith, K., . . . Rennie, M. J. (2012). Muscle protein synthetic responses to exercise: effects of age, volume, and intensity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 67(11), 1170-1177. doi:10.1093/gerona/gls141
- Kumar, V., Selby, A., Rankin, D., Patel, R., Atherton, P., Hildebrandt, W., . . . Rennie, M. J. (2009). Age-related differences in the dose-response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. *J Physiol*, 587(1), 211-217. doi:10.1113/jphysiol.2008.164483
- Landi, F., Liperoti, R., Russo, A., Giovannini, S., Tosato, M., Capoluongo, E., . . . Onder, G. (2012). Sarcopenia as a risk factor for falls in elderly individuals: results from the ilSIRENTE study. *Clin Nutr*, 31(5), 652-658. doi:10.1016/j.clnu.2012.02.007
- Loewith, R., Jacinto, E., Wullschleger, S., Lorberg, A., Crespo, J. L., Bonenfant, D., . . . Hall, M. N. (2002). Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control. *Mol Cell*, 10(3), 457-468.
- Louis, M., Poortmans, J. R., Francaux, M., Berre, J., Boisseau, N., Brassine, E., . . . Rennie, M. J. (2003). No effect of creatine supplementation on human myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis after resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285(5), E1089-1094. doi:10.1152/ajpendo.00195.2003
- Macnaughton, L. S., Wardle, S. L., Witard, O. C., McGlory, C., Hamilton, D. L., Jeromson, S., . . . Tipton, K. D. (2016). The response of muscle protein synthesis following whole-body resistance exercise is greater following 40 g than 20 g of ingested whey protein. *Physiol Rep*, 4(15). doi:10.14814/phy2.12893
- Marcotte, G. R., West, D. W., & Baar, K. (2015). The molecular basis for load-induced skeletal muscle hypertrophy. *Calcif Tissue Int*, 96(3), 196-210. doi:10.1007/s00223-014-9925-9

- Metter, E. J., Conwit, R., Tobin, J., & Fozard, J. L. (1997). Age-associated loss of power and strength in the upper extremities in women and men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *52*(5), B267-276.
- Miller, B. F., Olesen, J. L., Hansen, M., Dossing, S., Cramer, R. M., Welling, R. J., . . . Rennie, M. J. (2005). Coordinated collagen and muscle protein synthesis in human patella tendon and quadriceps muscle after exercise. *J Physiol*, *567*(Pt 3), 1021-1033. doi:10.1113/jphysiol.2005.093690
- Mitchell, C. J., Churchward-Venne, T. A., Parise, G., Bellamy, L., Baker, S. K., Smith, K., . . . Phillips, S. M. (2014). Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men. *PLoS One*, *9*(2), e89431. doi:10.1371/journal.pone.0089431
- Mitchell, C. J., McGregor, R. A., D'Souza, R. F., Thorstensen, E. B., Markworth, J. F., Fanning, A. C., . . . Cameron-Smith, D. (2015). Consumption of Milk Protein or Whey Protein Results in a Similar Increase in Muscle Protein Synthesis in Middle Aged Men. *Nutrients*, *7*(10), 8685-8699. doi:10.3390/nu7105420
- Mitchell, W. K., Phillips, B. E., Williams, J. P., Rankin, D., Lund, J. N., Smith, K., & Atherton, P. J. (2015). A dose- rather than delivery profile-dependent mechanism regulates the "muscle-full" effect in response to oral essential amino acid intake in young men. *J Nutr*, *145*(2), 207-214. doi:10.3945/jn.114.199604
- Mitchell, W. K., Williams, J., Atherton, P., Larvin, M., Lund, J., & Narici, M. (2012). Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Front Physiol*, *3*, 260. doi:10.3389/fphys.2012.00260
- Moore, D. R., Atherton, P. J., Rennie, M. J., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2011). Resistance exercise enhances mTOR and MAPK signalling in human muscle over that seen at rest after bolus protein ingestion. *Acta Physiol (Oxf)*, *201*(3), 365-372. doi:10.1111/j.1748-1716.2010.02187.x
- Moore, D. R., Churchward-Venne, T. A., Witard, O., Breen, L., Burd, N. A., Tipton, K. D., & Phillips, S. M. (2015). Protein ingestion to stimulate myofibrillar protein synthesis requires greater relative protein intakes in healthy older versus younger men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *70*(1), 57-62. doi:10.1093/gerona/glu103
- Moore, D. R., Robinson, M. J., Fry, J. L., Tang, J. E., Glover, E. I., Wilkinson, S. B., . . . Phillips, S. M. (2009). Ingested protein dose response of muscle and albumin protein synthesis after resistance exercise in young men. *Am J Clin Nutr*, *89*(1), 161-168. doi:10.3945/ajcn.2008.26401
- Moore, D. R., Tang, J. E., Burd, N. A., Rerich, T., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2009). Differential stimulation of myofibrillar and sarcoplasmic protein synthesis with protein ingestion at rest and after resistance exercise. *J Physiol*, *587*(Pt 4), 897-904. doi:10.1113/jphysiol.2008.164087

- Paddon-Jones, D., Sheffield-Moore, M., Zhang, X. J., Volpi, E., Wolf, S. E., Aarsland, A., . . . Wolfe, R. R. (2004). Amino acid ingestion improves muscle protein synthesis in the young and elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *286*(3), E321-328. doi:10.1152/ajpendo.00368.2003
- Pennings, B., Groen, B., de Lange, A., Gijsen, A. P., Zorenc, A. H., Senden, J. M., & van Loon, L. J. (2012). Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *302*(8), E992-999. doi:10.1152/ajpendo.00517.2011
- Pennings, B., Koopman, R., Beelen, M., Senden, J. M., Saris, W. H., & van Loon, L. J. (2011). Exercising before protein intake allows for greater use of dietary protein-derived amino acids for de novo muscle protein synthesis in both young and elderly men. *Am J Clin Nutr*, *93*(2), 322-331. doi:10.3945/ajcn.2010.29649
- Phillips, S. M. (2009). Physiologic and molecular bases of muscle hypertrophy and atrophy: impact of resistance exercise on human skeletal muscle (protein and exercise dose effects). *Appl Physiol Nutr Metab*, *34*(3), 403-410. doi:10.1139/H09-042
- Phillips, S. M., Tipton, K. D., Aarsland, A., Wolf, S. E., & Wolfe, R. R. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *Am J Physiol*, *273*(1 Pt 1), E99-107.
- Pullen, N., & Thomas, G. (1997). The modular phosphorylation and activation of p70s6k. *FEBS Lett*, *410*(1), 78-82.
- Reidy, P. T., Walker, D. K., Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Drummond, M. J., Timmerman, K. L., . . . Rasmussen, B. B. (2014). Soy-dairy protein blend and whey protein ingestion after resistance exercise increases amino acid transport and transporter expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*, *116*(11), 1353-1364. doi:10.1152/jappphysiol.01093.2013
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., & Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J*, *280*(17), 4294-4314. doi:10.1111/febs.12253
- Schoenfeld, B. J., Aragon, A. A., & Krieger, J. W. (2013). The effect of protein timing on muscle strength and hypertrophy: a meta-analysis. *J Int Soc Sports Nutr*, *10*(1), 53. doi:10.1186/1550-2783-10-53
- Shad, B. J., Thompson, J. L., & Breen, L. (2016). Does the muscle protein synthetic response to exercise and amino acid-based nutrition diminish with advancing age? A systematic review. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *311*(5), E803-E817. doi:10.1152/ajpendo.00213.2016
- Sheffield-Moore, M., Paddon-Jones, D., Sanford, A. P., Rosenblatt, J. I., Matlock, A. G., Cree, M. G., & Wolfe, R. R. (2005). Mixed muscle and hepatic derived plasma protein metabolism is differentially regulated in older and younger men

- following resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288(5), E922-929. doi:10.1152/ajpendo.00358.2004
- Silva, N. L., Oliveira, R. B., Fleck, S. J., Leon, A. C., & Farinatti, P. (2014). Influence of strength training variables on strength gains in adults over 55 years-old: a meta-analysis of dose-response relationships. *J Sci Med Sport*, 17(3), 337-344. doi:10.1016/j.jsams.2013.05.009
- Smith, K., Reynolds, N., Downie, S., Patel, A., & Rennie, M. J. (1998). Effects of flooding amino acids on incorporation of labeled amino acids into human muscle protein. *Am J Physiol*, 275(1 Pt 1), E73-78.
- Symons, T. B., Sheffield-Moore, M., Mamerow, M. M., Wolfe, R. R., & Paddon-Jones, D. (2011). The anabolic response to resistance exercise and a protein-rich meal is not diminished by age. *J Nutr Health Aging*, 15(5), 376-381.
- Symons, T. B., Sheffield-Moore, M., Wolfe, R. R., & Paddon-Jones, D. (2009). A moderate serving of high-quality protein maximally stimulates skeletal muscle protein synthesis in young and elderly subjects. *J Am Diet Assoc*, 109(9), 1582-1586. doi:10.1016/j.jada.2009.06.369
- Tang, J. E., Perco, J. G., Moore, D. R., Wilkinson, S. B., & Phillips, S. M. (2008). Resistance training alters the response of fed state mixed muscle protein synthesis in young men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 294(1), R172-178. doi:10.1152/ajpregu.00636.2007
- Terzis, G., Georgiadis, G., Stratakos, G., Vogiatzis, I., Kavouras, S., Manta, P., . . . Blomstrand, E. (2008). Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. *Eur J Appl Physiol*, 102(2), 145-152. doi:10.1007/s00421-007-0564-y
- Tieland, M., Borgonjen-Van den Berg, K. J., van Loon, L. J., & de Groot, L. C. (2012). Dietary protein intake in community-dwelling, frail, and institutionalized elderly people: scope for improvement. *Eur J Nutr*, 51(2), 173-179. doi:10.1007/s00394-011-0203-6
- Timmerman, K. L., Lee, J. L., Fujita, S., Dhanani, S., Dreyer, H. C., Fry, C. S., . . . Volpi, E. (2010). Pharmacological vasodilation improves insulin-stimulated muscle protein anabolism but not glucose utilization in older adults. *Diabetes*, 59(11), 2764-2771. doi:10.2337/db10-0415
- Tipton, K. D., Ferrando, A. A., Phillips, S. M., Doyle, D., Jr., & Wolfe, R. R. (1999). Postexercise net protein synthesis in human muscle from orally administered amino acids. *Am J Physiol*, 276(4 Pt 1), E628-634.
- Tipton, K. D., Rasmussen, B. B., Miller, S. L., Wolf, S. E., Owens-Stovall, S. K., Petrini, B. E., & Wolfe, R. R. (2001). Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 281(2), E197-206.

- Valenzuela, T. (2012). Efficacy of progressive resistance training interventions in older adults in nursing homes: a systematic review. *J Am Med Dir Assoc*, 13(5), 418-428. doi:10.1016/j.jamda.2011.11.001
- Volpi, E., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Mittendorfer, B., & Wolfe, R. R. (2003). Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults. *Am J Clin Nutr*, 78(2), 250-258.
- Volpi, E., Mittendorfer, B., Wolf, S. E., & Wolfe, R. R. (1999). Oral amino acids stimulate muscle protein anabolism in the elderly despite higher first-pass splanchnic extraction. *Am J Physiol*, 277(3 Pt 1), E513-520.
- Wall, B. T., Gorissen, S. H., Pennings, B., Koopman, R., Groen, B. B., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. (2015). Aging Is Accompanied by a Blunted Muscle Protein Synthetic Response to Protein Ingestion. *PLoS One*, 10(11), e0140903. doi:10.1371/journal.pone.0140903
- Wall, B. T., Snijders, T., Senden, J. M., Ottenbros, C. L., Gijsen, A. P., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. (2013). Disuse impairs the muscle protein synthetic response to protein ingestion in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*, 98(12), 4872-4881. doi:10.1210/jc.2013-2098
- West, D. W., Burd, N. A., Churchward-Venne, T. A., Camera, D. M., Mitchell, C. J., Baker, S. K., . . . Phillips, S. M. (2012). Sex-based comparisons of myofibrillar protein synthesis after resistance exercise in the fed state. *J Appl Physiol (1985)*, 112(11), 1805-1813. doi:10.1152/jappphysiol.00170.2012
- West, D. W., Burd, N. A., Coffey, V. G., Baker, S. K., Burke, L. M., Hawley, J. A., . . . Phillips, S. M. (2011). Rapid aminoacidemia enhances myofibrillar protein synthesis and anabolic intramuscular signaling responses after resistance exercise. *Am J Clin Nutr*, 94(3), 795-803. doi:10.3945/ajcn.111.013722
- Witard, O. C., Jackman, S. R., Breen, L., Smith, K., Selby, A., & Tipton, K. D. (2014). Myofibrillar muscle protein synthesis rates subsequent to a meal in response to increasing doses of whey protein at rest and after resistance exercise. *Am J Clin Nutr*, 99(1), 86-95. doi:10.3945/ajcn.112.055517
- Wolfe, R. R. (2006a). Skeletal muscle protein metabolism and resistance exercise. *J Nutr*, 136(2), 525S-528S.
- Wolfe, R. R. (2006b). The underappreciated role of muscle in health and disease. *Am J Clin Nutr*, 84(3), 475-482.
- Yang, Y., Churchward-Venne, T. A., Burd, N. A., Breen, L., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2012). Myofibrillar protein synthesis following ingestion of soy protein isolate at rest and after resistance exercise in elderly men. *Nutr Metab (Lond)*, 9(1), 57. doi:10.1186/1743-7075-9-57



You, J. S., Lincoln, H. C., Kim, C. R., Frey, J. W., Goodman, C. A., Zhong, X. P., & Hornberger, T. A. (2014). The role of diacylglycerol kinase zeta and phosphatidic acid in the mechanical activation of mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling and skeletal muscle hypertrophy. *J Biol Chem*, 289(3), 1551-1563. doi:10.1074/jbc.M113.531392

Aas, S. N. (2014). *Effekten av ulike melkeproteinprodukter på hypertrofisignalering etter en styrketreningsøkt*. (Master Master), Norwegian school of sports science, Brage.

## Tabelloversikt

<b>Tabell 1:</b> Inklusjon- og eksklusjonskriterier for SE.....	28
<b>Tabell 2:</b> Inklusjon- og eksklusjonskriterier for friske eldre.....	28
<b>Tabell 3:</b> Forsøkspersoner ved baseline. Verdier er oppgitt som gjennomsnitt ( $\pm$ standardavvik). * indikerer signifikant forskjell mellom gruppene.....	29
<b>Tabell 4:</b> Primære og sekundære antistoff benyttet .....	34

## Figuroversikt

<b>Figur 1:</b> Forenklet oversikt over intracellulær signaler som fører til økt proteinsyntese. Grønne piler aktiverer mens røde piler inhiberer. Fosforyleringsstatus av proteiner uthevet i gult ble analysert i denne studien. Tegning er basert på (Apro et al., 2015; Dodd & Tee, 2012; Handegaard, 2016; Aas, 2014).	19
<b>Figur 2:</b> Bilde av stoltesten	29
<b>Figur 3:</b> Stol brukt til MVC målinger	30
<b>Figur 4:</b> Gel etter elektroferese	33
<b>Figur 5:</b> Membran, til venstre, gel i midten etter blotting. Markørvekter, til høyre, brukt for å finne proteinene etter vekt	33
<b>Figur 6:</b> Maksimal styrke målt på høyre bein i en isometrisk kneekstensjon for begge gruppene	36
<b>Figur 7:</b> Relativ styrke i høyre bein målt i en isometrisk kneekstensjon for begge gruppene	37
<b>Figur 8:</b> Tid brukt til å reise seg opp og ned fem ganger fra en stol for begge gruppene	37
<b>Figur 9:</b> Fosforylering av p70S6K (thr389) før og to timer etter styrketreningsøkt og proteininntak. Prosent fosforylering angir hvor stor andel av p70S6K som er fosforylert på hvert biopsitidspunkt. * indikerer signifikant økning fra pre til post ( $p < 0,01$ ). Verdiene representerer gjennomsnittet av to duplikater	38
<b>Figur 10:</b> Ratio mellom fosforylert 4E-BP1 (thr70) og total mengde 4E-BP1 før og 2 timer etter styrketreningsøkt og proteininntak. * indikerer signifikant økning fra baseline og forskjell i fosforyleringen fra baseline mellom gruppene ( $P < 0,05$ )	39
<b>Figur 11:</b> Ratio mellom fosforylert eEF2 (thr56) og total eEF2 før og 2 timer etter styrketreningsøkt og proteininntak. * indikerer signifikant forskjell i fosforyleringen ved baseline ( $P < 0,05$ )	39
<b>Figur 12:</b> Styrke målt i MVC høyre bein delt på kg kroppsvekt sammenliknet med tid brukt ved stol testen. (Pearsons $r = -0,44$ , $P < 0,05$ )	40

## Forkortelser

4E-BP1	Eukaryot translasjonsinitieringsfaktor 4E-bindende protein
AA	Aminosyrer
Akt/PKB	Protein kinase B
AMPK	AMP aktivert protein kinase
ATP	Adenosintrifosfat
DEXA	Dual X-ray absorptiometry
EAA	Essensielle aminosyrer
eEF2	Eukaryot elongeringsfaktor 2
eEF2K	Eukaryot elongeringsfaktor 2 kinase
eIF3	Eukaryot initieringsfaktor 3
eIF4E	Eukaryot initieringsfaktor 4E
eIF4B	Eukaryot initieringsfaktor 4B
hVps34	Human vacuolar protein sorting 34
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
LAT1	Large neutral amino acid transporter 1
LMB	Lean body mass
MAP4K3	Mitogen-aktvert protein kinase kinase kinase kinase 3
MPS	Muskelproteinsyntese
MPN	Muskelproteinnedbrytning
mRNA	Messenger ribonucleic acid
mTORC1/2	Mammalian/mechanistic target of rapamycin kompleks 1/2
MVC	Maksimal volunær kontraksjon
p-p70S6K	Fosforylert p70S6K
p-4EBP1	Fosforylert 4E-BP1

p-eEF2	Fosforylert eEF2
p70S6K	70 KDa s6 protein kinase
PI3K	Posphatidylinositol-3-kinase
Rag GTPase	Ras-related guanosin trifoastaf
RCT	Randomisert kontrollert studie
Rheb	Ras homolog enriched in brain
RM	Repetisjon maksimum
rpS6	40S ribosomal protein S6
Ser	Serin
SNAT2	Sodium coupled neutral amino acid transporter 2
Thr	Treonin
TSC1/2	Tuberous sclorosis 1/2
ULK1	Unc-51 Like autophagy activationg



## Vedlegg 1: Informert samtykke



NORGES IDRETTSHØGSKOLE

### 6. FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

## STYRKETRENING FOR ELDRE MED LAV MUSKELSTYRKE

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

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

#### • HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?

Dette er en randomisert kontrollert studie. Det betyr at du trekkes tilfeldig til en av to grupper. Den ene gruppen skal gjennomføre styrketrening to ganger per uke i 10 uker,

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

### **Tester på sykehjemmet/omsorgsboligen**

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

### **Tester på Norges idrettshøgskole**

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

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

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

- *DXA*: En DXA-analyse vil gjennomføres for å måle kroppssammensetningen din.



Denne testen innebærer at man ligger stille i ca. 10 minutter.

- *Muskelfunksjonstest*: Gir et mål på styrke og eksplosivitet i musklene som strekker kneleddet.
- *Grad av muskelaktivering*: For å undersøke i hvor stor grad du greier å aktivere muskulaturen når du tar i alt du kan.
- *1RM*: Maksimal styrke i øvelsen kneekstensjon.

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

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

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

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

- Huden og bindevevet lokalbedøves der vevsprøven skal tas.
- Et snitt på ca. 1-2 cm gjøres gjennom hud og bindevevet over muskelen.
- En nål med diameter på 6 mm føres inn (2-3 cm) og 1-3 små biter av

muskulaturen tas ut (total 200-300 mg muskelvev).

- Snittet lukkes med tape (strips).

### **CT på Currato røntgen**

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

### **Muskelproteinnedbrytning**

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

### **Treningsperioden**

Dersom du trekkes til treningsgruppen, skal du gjennomføre styrketrening i 10 uker. Treningsperioden starter når du har gjennomført alle testene. Du skal gjennomføre styrketrening to ganger i uken i grupper på to/tre deltakere. Hver enkelt økt vil ha en varighet på 20-40 minutter, og den vil gjennomføres der du bor (sykehjem, dagsenter, i tilknytning omsorgsbolig). Alle treningsøkter gjennomføres med oppfølging av en instruktør. Treningsprogrammet som skal gjennomføres består av beinpress, kneekstensjon (kneestekk) og to øvelser der du går opp på en kasse. Alle øvelser vil tilpasses den enkeltes funksjonsnivå. Treningsøvelsene som er valgt belaster muskler som innehar en viktig rolle i mange daglige gjøremål. Etter treningsperioden gjennomføres testdag 1 og testdag 3 og CT på Currato røntgen på nytt for å måle

endringer.

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

#### • MULIGE FORDELER OG ULEMPER

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

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

Vevsprøvetakninger (biopsier) medfører en liten infeksjonsfare (minimal), og litt ubehag/smerter kan oppleves under inngrepet. Du kan også oppleve lette til moderate

smerter i 1-2 døgn etter inngrepet. Du vil få et lite arr etter snittet i huden; arret vil sakte bli mindre tydelig. Enkelte personer vil kunne få en fortykning av huden i arrområdet.

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

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

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

- **FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE SITT SAMTYKKE**

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

- **HVA SKJER MED INFORMASJONEN OM DEG?**

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

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

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

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

- **FORSIKRING**

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

- **UTLEVERING AV OPPLYSNINGER TIL ANDRE**

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

- **OPPFØLGINGSPROSJEKT**

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

- **GODKJENNING**

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

## 7. SAMTYKKE TIL DELTAKELSE I PROSJEKTET

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

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

Med vennlig hilsen,

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

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

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

-----  
Sted og dato

-----  
Deltakers signatur

-----  
Deltakers navn med trykte bokstaver

Jeg bekrefter å ha gitt informasjon om prosjektet

---

Sted og dato

Signatur

---

Rolle i prosjektet

## Vedlegg 2: Fried Frailty, modified

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

Personer som oppfyller tre av kriteriene kan inkluderes.

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



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

Kan personen inkluderes som deltaker?            JA            NEI

Dato:

### **Kriterium 1**

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

- 1) God
- 2) Middels
- 3) Dårlig

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

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

### **Kriterium 3**

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

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

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

Påstand 2: "Jeg var initiativløs "

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

### **Kriterium 5**

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

- 1) Flere ganger i uka
- 2) 4-5 ganger per måned

- 3) 1-3 ganger per måned
- 4) Nesten aldri/aldri

# Vedlegg 4: SPPB

Registreringsark

dd/mnd/år:

ID/navn:

## 1. Balansetest

1. Samlede føtter  
10 sekunder



1.     sek



2. Semi-tandem  
10 sekunder



2.     sek



3. Tandem  
10 sekunder



3.     sek



Gå til gangtest

## 2. Gangtest



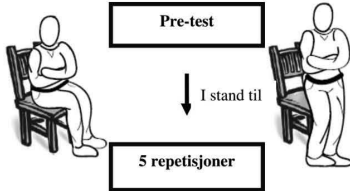
Ganghjelpemidler ved test (kryss av):

1.  uten
2.  krykke/stokk (er)
3.  rollator
4.  Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_

Tid test 1:     sek

Tid test 2:     sek

## 3. Reise/ sette seg



Pre-test

I stand til

5 repetisjoner

Ikke i stand til → Avslutt

Setehøyde  cm

Tid 5 repetisjoner uten armbruk:     sek

Tester:

# SCORING SPPB:

dd/mnd/år:

ID/navn:

## 1. Score statisk balanse

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

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

**Samlede føtter** =10 sek = 1 p  
<10 sek = 0 p

↓ +

**Semi-tandem** =10 sek = 1 p  
<10 sek = 0 p

↓ +

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

=

Sum poeng balanse:

## 2. Score 4m gangtest

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

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

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

Poeng ganghastighet (beste av to forsøk):

## 3. Score reise/sette seg x5

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

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

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

Poeng reise/sette seg x5:

tester:

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

## Vedlegg 3: Westernblot prosedyre.

DAG1.

1. Lage buffere til antall geller. (2 geller)  
**Transferbuffer:** 200ml Tris/glycine + 200ml metanol + 1600ml dH<sub>2</sub>O.

LEGGES KALDT

**Runningbuffer:** 400ml SDS(10xTGS) + 1600ml dH<sub>2</sub>O.

**TBS:** 200ml TBS + 1800ml dH<sub>2</sub>O.

**TBS-T:** 200ml TBS + 1800ml dH<sub>2</sub>O + 2ml TWEEN 20.

2. Klargjøring av prøver via excel.

Org. Kons	Prøve ul	dH <sub>2</sub> O	Sample buffer
3,4455	40,6	64,4	35
4,093	34,2	70,8	35

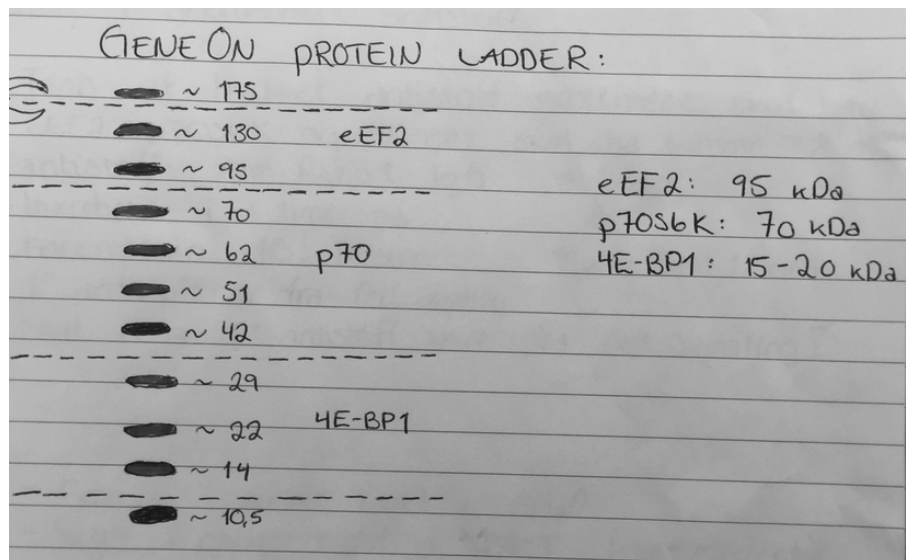
Sample buffer = 35\*4=140. 140\*1,2=168. 168\*0,04=**6,72**(5mdt).

168-6,72=**161,28**(laemmeli): LAEMMLI + 4% 5mdt(1,3ul).

- Bland vann, samplebuffer og prøve i den rekkefølgen i henhold til sample preparation mal.
  - Sett på varmeblokk på 62 grader (faktisk temperatur 70 grader)
  - Rist og sentrifuger før du plasserer prøvene i varmeblokken i 10 min.
3. Finn frem geller, runningbuffer, elektrofereseboksen, gene on markør.
    - Klipp av plasten rundt gelen og ta av tapen på undersiden og fjern kammen.
    - Rett opp brønnene hvis det er nødvendig.
    - Bruk en pasteur-pipette og skylt brønnene med RUNNINGBUFFER.
    - Skriv tall på gelene og sett de i boksen med brønnene inn.
    - Fyll indre kammer med RUNNINGBUFFER, se at den ikke lekker.
    - Pipetter 5 ul Gene On i brønn 1 og 10.
    - Pipetter 30ul prøver i brønn 2-9.
    - Pipeter duplikater på denne måten: 1.1 1.2 1.1 1.2 2.1 2.2 2.1 2.2
    - Fyll kammeret med RUNNINGBUFFER til merket.
    - Sett på lokk, still inn på 200V og slå på.
    - Elektroferesen vil ta 25-45 min. Husk å se til at det bobler og proteinene vandrer.

4. Klargjør til blotting mens elektroferesen går.
  - Finn frem x antall filterpapir og pads.
  - Klipp til membranen og merk den.
  - Finn frem Blottekasse og kassetter.
  - Legg padsene i TRANSFERBUFFER i mer enn 15 min, klem ut luftbobler.
  
5. Aktiver membranene på følgende måte i lilla matboks.
  - 30 sek i methanol.
  - 30 sek i dH<sub>2</sub>O.
  - 1-2 min i nytt dH<sub>2</sub>O.
  - 10-15 min i TRANSFER buffer.
  - Husk å følge med elektroferesen så den ikke proteinene vandrer for langt.
  
6. Slå av og trekk ut ledninger
  - Ta ut en gel av gangen, knekk opp med grønt verktøy og la gelen ligge på den minste platen.
  - Fjern brønnene, litt i bunnen, og litt på siden slik at den blir enklere å løsne.
  - Kutt oppe i venstre hjørne og legg i TRANSFERBUFFER.
  
7. Ta bilde av gelen.
  - ChemiDOC imagine system.
  - Gelimage → Protein gels → Stein free gel → Gel activation good sensitivity 2,5 min.
  - Lagre bilde som Gel etter elfo i aktuell mappe.
  
8. Lag sandwich i denne rekkefølgen. Legg rød side opp.
  - Pad.
  - Filterpapir (våtes i TRANSFER rett før).
  - Gel: vend gellen en halv runde før du legger den på (kuttet blir da oppe til høyre).
  - Membran (skriv navn på membranen).
  - Filterpapir (våtes i TRANSFER rett før).
  - Pad.
  - Lukk igjen sandwichen og sett kassetten i boksen.
  - Fyll opp boksen med TRANSFERBUFFER.
  - Legg i magnet og kjøleelement.
  - Sett på lokk og ledninger.
  - 60min på 100V.
  
9. Når blottingen er i gang.
  - Lag 5% melkeløsning (5g melkepulver + 100ml TBS-T).

- Spinnes og settes romtemperert.
10. Etter blottingen.
- Åpne sandwichen og legg membranen og gelen i TRANSFERBUFFER.
  - Ta bilde av membranen først →Bots→Stain free blot.
  - Gjør det samme med gelen.
  - Lagre bilde som Gel og membran etter blotting i aktuell mappe.
  - Legg membranen i 5%melkeløsning i 2 timer i romtemperatur
11. Vasking.
- Skyll membranene 2 ganger raskt i TBS-T.
  - Og 2 ganger 2 min i TBS-T.
12. Lag primært antistoff
- Bland 20ml 5% melk med 80ml TBS-T.
  - Finn frem antistoff for P-P70, P-eEF2 og P-4E-BP1.
  - P-P70: 1:1000. 4ml 1%melk + 4ul antistoff.
  - P-eEF2: 1:5000. 10ml 1% melk + 2ul antistoff. Eller 5ml og 1ul.
  - P-4E-BP1: 1:1000. 4ml 1%melk + 4ul antistoff.
  - Bland antistoffet direkte i boksen.
13. Tilsett 0,05% ProClin i antistoffene. Samme for fosfo som total.
- P-P70 = 2ul
  - P-eEF2 = 5ul
  - p-4E-BP1 = 2ul
14. Kutt membranen: Legg på glassplate og tegn kuttestrek med blyant.
- eEF2= ca 90-95kDa
  - P70= ca 70kDa
  - 4E-BP1= ca 15-20 kDa.
  - Husk og kutte under 29kDa for å unngå merkingen der.
  - Legg membranene i primært antistoff over nattet på rister.



## DAG 2

### 15. Vasking

- Skyll 2 ganger raskt i TBS-T.
- Skyll 1 ganger 15 min i TBS-T på gyrorocker (hastighet 65).
- Skyll 3 ganger 5 min i TBS.

### 16.

- Alle skal ha samme sekundære antistoff fra Cell Signaling: anti-rabbit, fortynnes 1:3000. Blanding: 30ml 1%melk + 10 ul antistoff i rosa boks.
- Sett på rister i romtemperatur i 1 time.

### 17. Vasking.

- Skyll 2 ganger i TBS-T.
- 1 gang i 15 min i TBS-T på gyrorocker 65.
- 3 ganger 5 min i TBS På gyrorocker 65.

### 18. Mens membranen vaskes, finn frem et lite rør med blå kort og pakk det inn i aluminiumsfolie.

- Bland substratvæske: Reagens A + reagens B. 4 ml av hver.
- Bruk en grønn pinsett og legg membranen på glassplaten. (La membranen gli langs boksen for å fjerne overflødig vaskebuffer.
- Bruk en pasteur-pipette og lag en film av substratvæske over membranen.
- La det ligge i 5 minutter.
- Ta bilde: Blots → Chemi Hi sensitivity.



19. For å måle båndene bruker du volume tools → Rectangle:
- Lag rektangel rundt det største båndet og kopier det 8 ganger.
  - Velg analyse table.
  -
20. Stripping, vasking og blokkering.
- Stripp membranene med <<Restore PLUS Western blot stripping>> (10min).
  - Skyll 2 ganger i TBS.
  - Skyll 3 ganger 5 min i TBS.
  - Blokker i 5% melk i 2 timer.
  - Klargjør primært antistoffløsninger for total protein.
  -
21. Vask 2 ganger raskt i TBS-T og 2 ganger 2 min i TBS-T
- Legg membranene i primært antistoff for totalprotein på rister i kjøleskap over natt.

### DAG 3:

22. Vasking
- Skyll 2 ganger raskt i TBS-T
  - Skyll 1 gang 15 min i TBS-T på gyrorocker (hastighet 65)
  - Skyll 3 ganger 5 min i TBS
- 23.
- Alle skal ha samme sekundære antistoff fra Cell Signaling: anti-rabbit, fortynnes 1:3000. Blanding: 30ml 1%melk + 10 ul antistoff i rosa boks.
  - Sett på rister i 1 time.
24. Vasking.
- Skyll 2 ganger i TBS-T.
  - 1 gang i 15 min i TBS-T på gyrorocker 65.
  - 3 ganger 5 min i TBS På gyrorocker 65.
25. Mens membranene vaskes, finn frem et lite rør med blå kort og pakk det inn i aluminiumsfolie.
- Bland substratvæske: Reagens A + reagens B. 2 ml av hver.
  - Bruk en grønn pinsett og legg membranene på glassplaten. (La membranene gli langs boksen for å fjerne overflødig vaskebuffer.
  - Bruk en pasteur-pipette og lag en film av substratvæske over membranene.
  - La det ligge i 5 minutter.
  - Ta bilde: Blots → Chemi Hi sensitivity.

# Vedlegg 5: MMSE



## NORSK REVIDERT MINI MENTAL STATUS EVALUERING (MMSE-NR2)

Carsten Strobel & Knut Engedal, 2014

Pasient (PAS): \_\_\_\_\_ Fødselsdato/aldre: \_\_\_\_\_  
 Nasjonalitet/morsmål/tolk: \_\_\_\_\_ Høyre-/venstrehandt: \_\_\_\_\_  
 Utdanning: \_\_\_\_\_ Antall år: \_\_\_\_\_ Yrke: \_\_\_\_\_  
 Hørsel/høreapparat: \_\_\_\_\_ Syn/briller: \_\_\_\_\_ Geriatrik leseprøve: \_\_\_\_\_  
 Testleder (TL): \_\_\_\_\_ Dato: \_\_\_\_\_ Klokken: \_\_\_\_\_  
 Teststed/hjemmebesøk: \_\_\_\_\_ Er PAS testet med MMSE-NR samme sted tidligere? Ja  Nei   
 Hvis ja, når? \_\_\_\_\_ Når/hvor ble PAS sist testet med MMSE-NR (oppgavesett)? \_\_\_\_\_

MMSE-NR er ikke en demenstest, kun et grovt kognitivt funksjonsmål som supplerer annen utredning som somatisk undersøkelse (inkl. medikamentgjennomgang) og komparentintervju (inkl. forløp/varighet av kognitiv svikt og endret ADL-funksjon). Alle som administrerer MMSE-NR bør ha opplæring og god kjennskap til manual (lastes ned fra [www.aldringoghelse.no](http://www.aldringoghelse.no)). Følg standardisert instruksjon, ikke gi ledetråder, se retningslinjer for administrasjon, oppfølgende spørsmål og skåring på skjema og i manual. Ved lav norskspråklig kompetanse og annet morsmål enn norsk bruk fagutdannet tolk, ikke slektninger/bekjente. For oppgave 16 og 18, bruk standardiserte oversettelser og stimuliark der disse foreligger.

### Instruksjon

Utfør testing en-til-en, uten pårørende til stede. Unngå at PAS ser skjema og skåring, bruk f.eks. skriveunderlag med klemme. Les fet skrift (**bold**) høyt, tydelig og langsomt. Pause (markert: [pause]) skal vare 1 sekund. Samtlige spørsmål skal stilles, også om PAS har besvart oppgaveledd under tidligere stilte spørsmål. Instruksjon kan gjentas, unntatt på oppgave 12 og 17 hvor det er svært viktig at instruksjon kun gis én gang. Skriv ordrett ned svar på hvert spørsmål. PAS kan korrigere svar underveis, gi derfor ikke tilbakemelding om svar er rett eller galt.

Ved retesting skift alltid oppgavesett som angitt på oppgave 11, 12 og 13 for å redusere læringseffekt. Sett kryss i ruten for «0» ved feil svar og i ruten for «1» ved rett svar, gi aldri ½ poeng. Totalskåre regnes alltid fra 30 poeng: Er PAS ikke testbar på en oppgave pga. ikke-kognitive handikapp, angi hvorfor og sett ring rundt ruten for «0». Gir PAS utrykk for ikke å klare en oppgave, oppfordre likevel til å gjøre et forsøk. Er du usikker på hvordan et svar skåres etter å ha sjekket manual, rådfør deg med en erfaren kollega. Lavere alder og høyere utdanning gir ofte bedre skåre. Likeså testing på hjemmebesøk/vante omgivelser pga. stedsorienteringsledd. Lav motivasjon, dårlig dagsform, tretthet, afasi, lese- og skrivevansker, redusert syn og hørsel, depresjon, testangst, legemiddeleffekter (bivirkninger/interaksjoner), akutt somatisk sykdom, lav norskspråklig kompetanse, stress og liten testledererfaring kan påvirke resultat negativt. Totalskåre sier lite om spesifikke kognitive sviktområder som kan være diagnostisk og klinisk relevante, presiser derfor alltid utfall. Skåringsprofil og kvalitativ vurdering av utførelse kan også gi informasjon om kognitive restressurser og kompenserende mestringsstrategier som kan gi innspill til hvordan tilrettelegge aktivitet og samhandling. Bemerke påfallende forhold som lang tidsbruk, usikkerhet, mange korrigeringer, behov for gjentakelse av instruksjon, årsaker til testavbrudd e.l.

Skåring MMSE-NR2. Oppgavesett (ordsett/startall oppgave 11, 12 og 13) administrert i dag: 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/>		
KOMMENTARER TIL SPESIFIKKE OPPGAVELEDD:		
<b>Tidsorientering</b>	(oppgave 1–5)	/5
<b>Stedsorientering</b>	(oppgave 6–10)	/5
<b>Umiddelbar gjenkalling</b>	(oppgave 11)	/3
<b>Hoderegning</b>	(oppgave 12)	/5
<b>Utsatt gjenkalling</b>	(oppgave 13)	/3
<b>Språk og praksis</b>	(oppgave 14–19)	/8
<b>Figurkopiering</b>	(oppgave 20)	/1
<b>Total poengskåre</b>		<b>/30</b>

Vurderer du som testleder (TL) at samarbeid/motivasjon/testinnsats var uten anmerkning? Ja  Nei  Usikker

Vurderer du at oppmerksomhet/bevissthetsnivå/våkenhet var uten anmerkning? Ja  Nei  Usikker

Vurderes ikke resultat som valid/gyldig, angi årsak(er): \_\_\_\_\_

**Spesielt å bemerke** (henvisningsgrunn, medikamenter som kan påvirke kognitiv funksjon, atferd, dagsform, stemningsleie, smerter, afasi, ikke-kognitive handikapp, bruk av ikke-dominant hånd f.eks. ved lammelse, tidsbruk, vansker på distraksjonsbetingelsen, glemt briller/høreapparat e.l.):

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Basert på: Folstein, M.F., Folstein, S.E., & McHugh, P.R. (1975). "Mini-Mental State": A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research*, 12, 189-198.  
 Engedal, K., Haugen, P.K., Gilje, K., & Laake, P. (1998). Efficacy of short mental tests in the detection of mental impairment in old age. *Comp Gerontol* A, 2, 87-93.  
 Strobel, C., & Engedal, K. (2008). MMSE-NR. Norsk Revidert Mini Mental Status Evaluering. Revidert og utvidet manual. Oslo. Nasjonalt kompetansesenter for aldring og helse.  
 Palmquist, S., Terzis, B., Strobel, C., & Wallin, A. (2012). Mini Mental State Examination, Svensk Revidering (MMSE-SR). Svensk Förening för Kognitiva sjukdomar.

Start med introduksjonsspørsmålet: **Synes du hukommelsen har blitt dårligere siste år?** Ja  Nei  Usikker   
**Jeg skal nå stille deg noen spørsmål vi bruker bl.a. for å undersøke hukommelsen. Svar så godt du kan.**

#### TIDSORIENTERING

Det er TL sitt ansvar å forhindre at PAS kan ta i bruk ledetråder: Se ut av vindu (årstid, måned), bruke kalender, avis, innkallingsbrev (årstall, måned, ukedag, dato), sjekke dato på klokke, mobil e.l.

1. **Hvilket årstall har vi nå?** (Kun fullt årstall med 4 sifre gir poeng) \_\_\_\_\_ 0  1
2. **Hvilken årstid har vi nå?** (Ta hensyn til vær og geografiske forhold) \_\_\_\_\_ 0  1
3. **Hvilken måned har vi nå?** (Kun rett navn på måned gir poeng, ikke nummer på måned) \_\_\_\_\_ 0  1
4. **Hvilken dag har vi i dag?** (Kun rett navn på ukedag gir poeng) \_\_\_\_\_ 0  1
5. **Hvilken dato har vi i dag?** (Unngå følgefeil: Kun dagsledd må være rett, måned/år kan være feil) \_\_\_\_\_ 0  1

#### STEDSORIENTERING

Bruk best egnet stedsord og spørsmålsstilling, sett ring rundt valgt alternativ. Landsdel\* skal kun benyttes ved testing i Oslo.

6. **Hvilket land er vi i nå?** \_\_\_\_\_ 0  1
7. **Hvilket (fylke/landsdel\*) er vi i nå?** (For landsdel gi poeng for Østlandet og Sør-Norge) \_\_\_\_\_ 0  1
8. **Hvilken (by/tettsted/kommune) er vi i nå?** \_\_\_\_\_ 0  1
9. **Hva heter dette (stedet/sykehuset/sykehjemmet/legkontoret e.l.)? Eller Hvor er vi nå?** \_\_\_\_\_ 0  1
10. **I hvilken etasje er vi nå?** (Still spørsmål selv der bygg kun har én etasje. Ta hensyn til språk/kultur) \_\_\_\_\_ 0  1

Unngå at PAS kan se ut av vindu (sted, etasje). Avhengig av inngang vil bygg i skrånende terreng kunne oppfattes å ha ulik etasjering for samme etasje. Gi poeng om PAS i tråd med språk/kultur benevner norsk 1. etasje som grunnplan (f.eks. Erdgeschoss, ground floor, stuen) og norsk 2. etasje som 1. etasje (1. Stock/Etage, first floor, 1. sal). Ved testing på hjemmebesøk, se manual.

#### UMIDDELBAR GJENKALLING

Bruk alltid nytt ordsett som angitt ved retesting for å hindre læringseffekt fra tidligere administrasjon. Sett ring rundt dagens ordsett. Ved 1. adm. bruk oppgavesett 1, ved 2. adm. bruk sett 2 osv., ved 6. adm. bruk sett 1, ved 7. adm. bruk sett 2 osv.

11. **Hør godt etter. Jeg vil si 3 ord som du skal gjenta etter meg. Disse skal du også prøve å huske, for jeg kommer til å spørre deg om dem litt senere. Er du klar?**

**Nå kommer ordene:** ..... [pause], ..... [pause], ..... [pause]. **Nå kan du gjenta disse ordene.**

Gjentar ikke PAS alle 3 ord, repeteres hele ordsettet inntil alle 3 ord gjengis i samme forsøk, opptil 3 presentasjoner. Gi kun poeng for riktige ord etter 1. presentasjon, rekkefølge PAS sier ordene er uten betydning. Antall presentasjoner: \_\_\_\_\_ stk.

Oppgavesett:

1 2 3 4 5

**Nå kommer ordene: ...**

<b>HUS</b>	<b>STOL</b>	<b>SAFT</b>	<b>KATT</b>	<b>FLY</b>	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
<b>KANIN</b>	<b>BANAN</b>	<b>LAMPE</b>	<b>AVIS</b>	<b>EPLE</b>	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
<b>TOG</b>	<b>NÅL</b>	<b>BÅT</b>	<b>LØK</b>	<b>SKO</b>	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>

Etter 3 gjenkalte ord eller 3 presentasjoner, si: **Husk disse ordene, for jeg vil spørre deg om hvilke de er litt senere.**

#### HODEREGNING (Bruk alltid obligatorisk distraksjonsbetingelse i tillegg)

Bruk alltid nytt starttall som angitt ved retesting. Ved 6. adm. bruk oppgavesett 1 osv. Sett ring rundt dagens starttall, skriv ned tallsvar. Unngå følgefeil: Gi poeng når svar er minus 7 fra forrige tall, uavhengig av om forrige tallsvar var rett eller galt.

12. **Nå vil jeg at du trekker 7 fra ..... [Gir ikke PAS tallsvar, si: Hva er ..... minus 7?] [Rett etter tallsvar, si]: Og så fortsetter du å trekke 7 fra tallet du kom frem til, helt til jeg sier stopp. [Instruksjon gis kun én gang. Ikke informer underveis om subtraksjonstall eller hvor langt PAS har kommet].** Ved færre enn 5 tallsvar, gå til distraksjonsbetingelsen.

Oppgavesett:

1 2 3 4 5

Starttall: **Nå vil jeg at du trekker 7 fra ...**

<b>80</b>	<b>50</b>	<b>90</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
<b>Og så fortsetter du å trekke 7 fra tallet du kom frem til, helt til jeg sier stopp →</b>	73	43	83	33	53 _____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
	66	36	76	26	46 _____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
Ved behov si: <b>Og så videre</b>	59	29	69	19	39 _____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
Ved behov si: <b>Og så videre</b>	52	22	62	12	32 _____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
Ved behov si: <b>Og så videre</b>	45	15	55	5	25 _____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>

Etter 5 subtraksjoner, si: **Fint, det holder** [Gå til distraksjonsbetingelsen].

*Obligatorisk distraksjonsbetingelse – OBS, er ikke poenggivende!*

Bruk alltid distraksjonsbetingelsen for å sikre tilstrekkelig tidsopphold med distraksjon. Dette for å fremme reell kartlegging av langtidshukommelse fremfor arbeidshukommelse på oppgave 13. Be PAS telle baklengs fra 100 ca. 30 sekunder med følgende instruksjon: **Nå vil jeg at du teller baklengs fra 100 på denne måten: 99, 98, 97..., helt til jeg sier stopp. Vær så god!** [Etter ca. 30 sek. si:] **Fint, det holder.**

### UTSATT GJENKALLING

13. Hvilke 3 ord var det jeg ba deg om å huske? [Ikke gi ledetråder/stikkordshjelp, sett ring rundt dagens ordsett]

Oppgavesett:

	1	2	3	4	5	
	HUS	STOL	SAFT	KATT	FLY	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
	KANIN	BANAN	LAMPE	AVIS	EPLE	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>
	TOG	NÅL	BÅT	LØK	SKO	_____ 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/>

Nevnes mer enn 3 ord, må PAS velge hvilke 3 ord som skal være svaret, rekkefølge er uten betydning. Gi *kun* poeng for dagens ordsett og eksakt gjengivelse, dvs. bolighus, hytte, kaninen, kaniner, hare, togbane, lokomotiv e.l. gir ikke poeng.

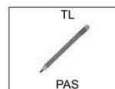
### BENEVNING

14. Hva heter dette? [Vis stimuliarket riktig vei og pek på blyanten] \_\_\_\_\_ 0  1

15. Hva heter dette? [Vis stimuliarket riktig vei og pek på armbåndsuret] \_\_\_\_\_ 0  1

Alternative poenggivende svar: Penn, gråblyant, fargeblyant, ur, klokke, klokkerem e.l.

Bruk kun stimuliarket i farger med blyant og armbåndsut, ikke andre objekter, gjelder også retesting. Eneste unntak er testing av sterkt synshemmete eller blinde, hvor stimuliobjektene blyant og armbåndsut kan presenteres taktilt med konkrete.



### FRASEREPETISJON

16. Gjenta ordrett det jeg sier. Er du klar? [Si tydelig]: «ALDRI ANNET ENN OM OG MEN».

Gi poeng når hele frasen gjengis korrekt med alle 6 ord i riktig rekkefølge. Dialektvarianter godtas.

TL kan si frasen 3 ganger, men gi *kun* poeng etter 1. presentasjon. Antall presentasjoner: \_\_\_\_\_ stk.

ALDRI ANNET ENN OM OG MEN \_\_\_\_\_ 0  1

### 3-LEDDET KOMMANDO

Legg et ubrukt A4-ark på bordet midt foran PAS, kortsiden mot PAS. For å unngå at PAS starter før hele instruksjonen er gitt, legg egen hånd på arket til all instruksjon er gitt. Gi poeng for hver korrekt utførte delhandling.

17. Hør godt etter, for jeg skal be deg gjøre 3 ting i en bestemt rekkefølge. Er du klar?

Ta arket med én hånd [pause], brett arket på midten kun én gang, med en eller begge hender [pause], og gi arket til meg [pause]. Vær så god! [Instruksjon gis kun én gang, enkeltledd kan ikke repeteres]

TAR ARKET MED KUN EN HÅND \_\_\_\_\_ 0  1

BRETTET ARKET PÅ MIDTEN KUN EN GANG \_\_\_\_\_ 0  1

GIR ARKET TIL TL (gi også poeng om arket legges på bordet tydelig foran TL) \_\_\_\_\_ 0  1

### LESNING

18. Nå vil jeg at du gjør det som står på arket [Vis PAS teksten]. PAS må lukke øynene for poeng. Lukker ikke PAS øynene, kan instruksjon gjentas 2 ganger til. Hver presentasjon gir mulighet for poeng. Antall presentasjoner: \_\_\_\_\_ stk.

LUKK ØYNE DINE \_\_\_\_\_ 0  1

### SETNINGSGENERERING

Legg nedre del av neste side MMSE-NR skjema med kortsiden foran PAS, og gi vedkommende en blyant.

19. Skriv en meningsfull setning her. [Pek på øvre del av neste side] \_\_\_\_\_ 0  1

Skrives imperativsetning med kun ett ord, f.eks. «Spis», si: **Skriv en lengre setning.** Skrives intet eller tidligere gitt setning/frase, f.eks. «Lukk øynene dine» eller «En meningsfull setning», si: **Skriv en setning du lager selv.**

Skriver ikke PAS noe nå heller, si: **Skriv om været.**

Setningen må gi mening, men trenger ikke ha objekt og tidvis heller ikke subjekt eller verb, se manualeksempler. Ignorer stave- og grammatikalske feil. Gi poeng ved rett utførelse etter supplerende instruksjon og for spørresetning, om kriterier ellers er innfridd.

### FIGURKOPIERING

Legg figurarket som vist med figurspissene mot PAS over øvre del av neste side (over setningen PAS skrev), viskelær ved siden av (skal ikke brukes som linjal). PAS får ikke rotere eller flytte på figurarket som TL må sørge for at blir liggende til PAS er ferdig.

20. Kopier figuren så nøyaktig du kan her. [Pek på nedre del av neste side] \_\_\_\_\_ 0  1

Du kan bruke viskelær. Ta deg god tid. Si fra når du er ferdig.

Er PAS misfornøyd med utførelse, oppfordre til å korrigere/tegne figuren på nytt, maks. 3 poenggivende forsøk.

Gi poeng når to 5-kantede figurer former en 4-sidet figur der 5-kantene overlapper: 5-4-5. Rotert utførelse, størrelsesforskjell mellom 5-kantene eller hvor de overlapper er ikke avgjørende for skåring om kriterier ellers er innfridd, se skåringseksempler i manual. Er TL i tvil om utførelse er korrekt, be PAS tegne figuren på nytt.

