

Stian Karsrud

---

Satellittceller, myokjerner og fiberareal hos  
yngre, eldre og skrøpelige eldre.  
Status hos utrente og effekter av styrketrening

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2017





## Sammendrag

Hos eldre skjer det en reduksjon i muskelmasse- og styrke med påfølgende økt risiko for redusert livskvalitet og nedsatt funksjon i hverdagen. Styrketrening har vist seg å være et effektivt tiltak for å motvirke reduksjonen i muskelmasse- og styrke hos eldre personer. Satellittceller og myokjerner er viktige regulatorer av muskelmassen.

Hensikten med denne studien var derfor å sammenligne fiberareal, myokjerner og satellittceller hos unge, eldre og skrøpelige eldre, samt hvordan en styrketreningsperiode påvirker disse variablene hos unge og eldre.

12 friske yngre, 12 friske eldre og 15 skrøpelige eldre gjennomførte en muskelbiopsi fra *m.vastus lateralis*. Eldre og yngre gjennomførte 12 uker styrketrening med ny muskelbiopsi etter perioden. Fiberareal, myokjerner og satellittceller i type I og type II muskelfibre ble undersøkt med immunohistokjemi.

Fiberarealet i type I fibre var ikke forskjellig mellom gruppene, mens type II fibre var større hos yngre enn eldre og skrøpelige eldre. Eldre hadde flere myokjerner i type I fibre enn unge og skrøpelige eldre, mens det var ingen forskjell mellom gruppene for type II fibre. Det var flere satellittceller rundt type I fibre hos eldre enn skrøpelige eldre, mens yngre hadde flere satellittceller rundt type II fibre enn skrøpelige eldre. Fiberarealet økte *kun* i type II fibre hos yngre og eldre som følge av styrketrening. Antall myokjerner økte *kun* i type II fibre hos yngre, mens det var ingen endring i antall satellittceller hos gruppene etter styrketreningsperioden.

Resultatene viser at størrelsen på type II fibre reduseres som følge av aldring, akkompagnert av en fibertypespesifikk reduksjon i antall satellittceller. Lavere kjernedomene hos eldre ser ut til og skyldes at fiberarealet reduseres mer enn antall myokjerner. 12 uker styrketrening medførte økning i fiberarealet i type II fibre hos både yngre og eldre. Hos eldre ble hypertrofien muligens dekket med eksisterende antall myokjerner, mens vi så en tilførsel av nye myokjerner hos yngre. I motsetning til vår hypotese var det ingen endring i antall satellittceller som følge av 12 uker styrketrening.



## Forord

Denne masteroppgaven er basert på resultater fra TINE-prosjektet og STAS-prosjektet. Disse studiene ble gjennomført på seksjon for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole, våren 2014 og våren 2016. Det siste året har vært en lang og lærerik prosess og mange fortjener en stor takk.

Takk til Hege og Ingrid for deres gode humør og opplæring på laben! En stor takk til Kristoffer som har lært meg å kutte muskelsnitt og finne satellittceller. Du har alltid vært behjelpelig, uansett tid på døgnet! Takk til Sigve for at du alltid svarer raskt på spørsmål, uansett hvor travel du er.

Takk til Truls for god veiledning med oppgaven.

Takk til min søster for korrekturlesing!

Takk til satellittcellene som medførte at jeg ikke så dagslys i lange perioder. Dere har gitt meg et nytt syn på tålmodighet. Takk til Daniel, Martin og Ole (Team Immuno FTW) for mye moro det siste året!

Takk til alle deltagerne i STAS som gjorde prosjektet mulig. Dere har vært krevende til tider, men det har sikkert vi også vært.

En spesiell takk til Sylvi for at du har tatt hensyn i perioder med mye masterjobbing. Du er snill du.



# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Forord</b> .....	<b>5</b>
<b>Innhold</b> .....	<b>7</b>
<b>1. Innledning</b> .....	<b>11</b>
<b>2. Teori</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 Muskel og aldring</b> .....	<b>15</b>
2.1.1 Fiberareal og fibertype.....	17
2.1.2 Konsekvenser av endringer i muskelmasse og fiberareal ved aldring.....	18
<b>2.2 Satellittcellen</b> .....	<b>18</b>
2.2.1 Identifisering av satellittcellen.....	20
2.2.2 Hvordan aktiveres satellittcellen?.....	21
2.2.3 Mengde satellittceller hos yngre og eldre.....	22
2.2.4 Satellittcellen og aldring.....	24
<b>2.3 Myokjerner og kjernedomene</b> .....	<b>24</b>
2.3.1 Myokjerner og kjernedomene hos yngre og eldre.....	25
<b>2.4 Treningseffekt</b> .....	<b>26</b>
2.4.1 Fiberareal.....	26
2.4.2 Satellittceller.....	26
2.4.3 Myokjerner og kjernedomene.....	27
<b>2.5 Oppsummering</b> .....	<b>27</b>
<b>3. Metode</b> .....	<b>29</b>
<b>3.1 Studiedesign</b> .....	<b>29</b>
<b>3.2 Forsøkspersoner/ inklusjons- og eksklusjonskriterier</b> .....	<b>29</b>
3.2.1 Rekruttering.....	29
3.2.2 Skrøpelige eldre (SE).....	29
3.2.3 Friske eldre (E) og yngre (Y).....	30
<b>3.3 Testing</b> .....	<b>32</b>
3.3.1 Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA).....	32
3.3.2 Maksimal voluntær kontraksjon (MVK).....	32
<b>3.4 Baselinemålinger</b> .....	<b>32</b>
<b>3.5 Treningsintervensjon</b> .....	<b>33</b>
<b>3.6 Muskelbiopsier</b> .....	<b>33</b>
3.6.1 Snitting av muskelbiopsier.....	33
<b>3.7 Immunohistokjemi</b> .....	<b>34</b>



3.7.1	Antistoffer .....	34
3.7.2	Mikroskopet .....	35
3.7.3	Kvantifisering av satellittceller .....	35
3.7.4	Kvantifisering av muskelfiberareal og muskelfibertype .....	37
3.7.5	Kvantifisering av myokjerner.....	38
<b>3.8</b>	<b>Statistikk.....</b>	<b>39</b>
<b>4.</b>	<b>Resultater.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1</b>	<b>Baselinemålinger.....</b>	<b>41</b>
4.1.1	Karakteristikk .....	41
4.1.2	Fiberareal og fibertype .....	41
4.1.3	Myokjerner .....	42
4.1.4	Kjernedomene .....	43
4.1.5	Satellittceller.....	43
<b>4.2</b>	<b>Treningseffekt .....</b>	<b>44</b>
4.2.1	Fiberareal og fibertype .....	44
4.2.2	Myokjerner .....	44
4.2.3	Kjernedomene .....	45
4.2.4	Satellittceller.....	45
<b>5.</b>	<b>Diskusjon .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Fiberareal og fibertypfordeling.....</b>	<b>48</b>
5.1.1	Baselinemålinger.....	48
5.1.2	Treningseffekt .....	49
<b>5.2</b>	<b>Myokjerner og kjernedomene .....</b>	<b>51</b>
5.2.1	Baselinemålinger .....	51
5.2.2	Treningseffekt .....	52
<b>5.3</b>	<b>Satellittceller .....</b>	<b>53</b>
5.3.1	Baselinemålinger .....	53
5.3.2	Treningseffekt .....	54
<b>6.</b>	<b>Konklusjon.....</b>	<b>57</b>
	<b>Referanser.....</b>	<b>58</b>
	<b>Tabelloversikt .....</b>	<b>67</b>
	<b>Figuroversikt.....</b>	<b>68</b>
	<b>Forkortelser .....</b>	<b>70</b>
	<b>Vedlegg 1: Informert samtykke .....</b>	<b>71</b>
	<b>Vedlegg 2: Fried Frailty, modified.....</b>	<b>79</b>
	<b>Vedlegg 3: SPPB .....</b>	<b>81</b>

**Vedlegg 4: Merkeprotokoll..... 83**



# 1. Innledning

Andelen eldre som er 70 år eller mer dobles på tre tiår, fra nesten 600 000 i dag til nærmere 1,2 millioner (SSB, 2017). I 2016 var den nest største helserelaterte utgiftsposten i Norge pleie- og omsorgstjenester som hovedsakelig består av hjemmesykepleie og sykehjemstjenester knyttet til eldre og pleietrengende (SSB, 2017). En sterk og funksjonell muskulatur er viktig for å kunne utføre hverdagslige aktiviteter og leve selvstendig, men som følge av blant annet alderdom og redusert fysisk aktivitet kan det oppstå endringer i muskulaturen. Sarkopeni er et begrep som beskriver disse endringene, og kan defineres som en reduksjon i muskelmasse- og styrke med påfølgende økt risiko for redusert livskvalitet, nedsatt fysisk funksjon og død (Delmonico et al., 2007; Goodpaster et al., 2006). Tapet av muskelmasse skyldes en reduksjon i antall type I- og type II muskelfibre (Kalyani, Corriere, & Ferrucci, 2014), men også atrofi av muskelfibrene, spesielt type II (Miljkovic, Lim, Miljkovic, & Frontera, 2015). Siden satellittceller spiller en sentral rolle i reguleringen av muskelmasse gjennom vedlikehold, reparasjon og hypertrofi, vil en reduksjon i mengden av, eller funksjon til satellittcellen, mest sannsynlig bidra til det aldersrelaterte tapet av muskelmasse og muskelfunksjon.

Det er observert samme antall (Petrella, Kim, Cross, Kosek, & Bamman, 2006) eller færre (Kadi, Charifi, Denis, & Lexell, 2004) satellittceller rundt muskelfibrene hos eldre sammenlignet med yngre. De ulike resultatene kan skyldes fravær av fibertypespesifikke data. Ved å analysere type I og type II muskelfibre hver for seg er det blitt observert færre satellittceller rundt type II muskelfibre hos eldre sammenlignet med yngre (J. P. Nederveen et al., 2016; Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014). Det ser dermed ut til at den aldersrelaterte atrofien som oppstår i type II muskelfibrene delvis kan skyldes en fibertypespesifikk reduksjon i antall satellittceller. Satellittcellen gir opphav til myokjerner<sup>1</sup> som har en sentral rolle i regulering av muskelmassen ved å kontrollere proteinsyntesen for et bestemt område av cytoplasma, også kjent som kjernedomenet (Cheek, 1985). Det er vanskelig å si noe sikkert om hvordan antall myokjerner og kjernedomenet påvirkes av aldring. En studie fant ingen sammenheng mellom antall myokjerner og alder, men observerte at antall myokjerner samsvarte med

---

<sup>1</sup> Cellekjerner i muskelfibrene

muskelfiberstørrelse, som førte til et konstant kjernedomene (Vassilopoulos, Lumb, & Emery, 1977). I en oversiktsartikkel av Hikida (2011) ser man ingen signifikant forskjell i antall myokjerner og kjernedomene mellom unge og eldre, men samlet sett gir studiene en indikasjon på at en økning i antall myokjerner oppstår med økende alder, og samme eller mindre kjernedomene er tilfellet hos eldre sammenlignet med yngre. Ved å skille mellom type I og type II muskelfibre, er det blitt observert færre myokjerner og mindre kjernedomene i type II muskelfibre hos eldre sammenlignet med voksne og yngre (Verdijk et al., 2014), og dette er fordi fiberarealet av type II fibre reduseres i større grad enn antall kjerner.

Styrketrening har vist seg å være et effektivt tiltak for å motvirke aldersrelatert tap av funksjonalitet og muskelmasse (Chou, Hwang, & Wu, 2012; Kosek, Kim, Petrella, Cross, & Bamman, 2006). Hos unge er det normalt å se en økning i det totale muskelfiberarealet (type I og type II) som følge av en styrketreningsperiode (Bellamy et al., 2014), mens hos eldre er det observert økning i fiberareal (Mero et al., 2013; Petrella et al., 2006), men også ingen endring (A. Mackey et al., 2007). De sprikende resultatene ser hovedsakelig ut til å skyldes en fibertypespesifikk hypertrofi i type II muskelfibre hos eldre (Leenders et al., 2012; Verdijk et al., 2009), og det ser dermed ut til at en styrketreningsperiode kan motvirke den aldersrelaterte atrofien som oppstår i type II fibre. Siden satellittcellen er den eneste donoren av nye myokjerner som vi vet om, er det foreslått at det er nødvendig med en økning i antall satellittceller for å oppnå >26% økning i fiberareal (Kadi, 2008). Flere studier viser at en styrketreningsperiode øker antall satellittceller rundt muskelfibre hos unge (Kadi, Schjerling, et al., 2004; Petrella et al., 2006), men det er også rapportert om ingen endring i satellittcelleandelen (Hikida et al., 1998). Hos eldre er det observert både økning i antall satellittceller rundt muskelfibre (A. Mackey et al., 2007), men også ingen endring (Petrella et al., 2006). De sprikende resultatene kan skyldes fravær av fibertypespesifikke data, fordi flere studier som har undersøkt dette har observert en økning i antall satellittceller rundt type II muskelfibre hos eldre som følge av styrketrening (Verdijk et al., 2009; Verney et al., 2008). Selv om det ikke skjer en økning i antall satellittceller etter en treningsperiode, kan det likevel ha forekommet en aktivering av satellittcellen, fordi de nye satellittcellene kan ha rukket å fusjonere med de voksende fibre og gitt økt antall myokjerner (S. Roth et al., 2001). Som tidligere nevnt spiller myokjerner en sentral rolle ved endring av muskelmassen, og en styrketreningsperiode har medført både en økning

i antall myokjerner per fiber (Kadi & Thornell, 2000), men også ingen endring hos unge (Hikida et al., 1998; Kadi, Schjerling, et al., 2004). Hos eldre er det observert økning i antall myokjerner i type II muskelfibrene (Leenders et al., 2012; Verdijk et al., 2014), men også ingen endring (Hikida et al., 2000; Verdijk et al., 2009), selv ved hypertrofi. Det ser ut til at moderat hypertrofi kan forekomme uten økning i antall myokjerner ved at hver myokjerne øker proteinsyntesen og dermed kjernedomenet (Edgerton & Roy, 1991), og dette kan muligens forklare de sprikende resultatene. En annen forklaring på uendret antall myokjerner etter en styrketreningsperiode kan være ”muskelhukommelse”. Denne teorien går ut på at antall myokjerner holder seg konstant selv om fiberarealet reduseres (kjernedomenet reduseres). Dermed har muskelfibrene en overkapasitet av myokjerner ved starten av en treningsperiode, og det er ikke nødvendig å inkorporere flere myokjerner for å få hypertrofi (Gundersen, 2016).

Så vidt undertegnede kjenner til er det ingen studier som har undersøkt mengden satellittceller og myokjerner hos de aller eldste (>85 år). I tillegg viser litteraturen sprikende resultater om effekten av styrketrening på antall satellittceller og myokjerner hos unge og eldre, og flere studier er nødvendig for å få et klarere bilde. Hensikten med denne studien var derfor å sammenligne fiberareal, myokjerner og satellittceller hos unge, friske eldre og skrøpelige eldre, samt undersøke effekten av en styrketreningsperiode på de samme variablene hos unge og eldre. Følgende hypoteser blir utledet med bakgrunn i gjeldende kunnskap på området.

Hypoteser:

Før trening vil vi finne:

- Lavere fiberareal i type II fibre hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre
- Likt eller flere myokjerner hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre
- Lavere kjernedomene hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre
- Færre satellittceller rundt type II muskelfibrene hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre

Etter treningsperioden vil vi finne:

- Økning i fiberareal hos yngre og økning i fiberareal i type II fibre hos eldre
- Uendret eller økning i antall myokjerner hos unge og eldre
- Uendret eller økt kjernedomene hos unge og eldre.
- Økning i antall satellittceller rundt type II muskelfibre hos eldre og yngre.

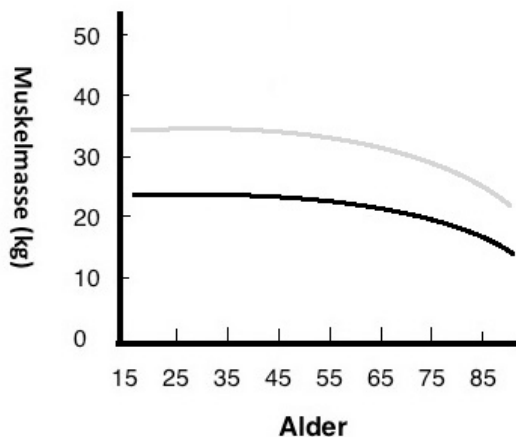
## 2. Teori

### 2.1 Muskel og aldring

Sarkopeni kan karakteriseres ved en gradvis reduksjon i muskelmasse og muskelstyrke med påfølgende økt risiko for nedsatt fysisk funksjon, redusert livskvalitet og død (Delmonico et al., 2007; Goodpaster et al., 2006). ”The European Working Group on Sarcopenia in Older People” (EWGSOP), anbefaler å benytte følgende kriterier ved diagnostisering av sarkopeni; Lav muskelmasse i tillegg til lav muskelstyrke eller lav fysisk funksjon (Cruz-Jentoft et al., 2010). Sarkopeni overlapper med begrepet ”frailty” (skrøpelig) som karakteriseres ved svikt i flere fysiologiske systemer med påfølgende økt risiko for fall, sykehusinnleggelse, institusjonalisering og død (Bauer & Sieber, 2008; Fried et al., 2001). Det er foreslått en definisjon av ”skrøpelig” ved oppfyllelse av tre eller flere av følgende kriterier; Ufrivillig vekttap, utmattelse, redusert muskelstyrke, redusert ganghastighet og lavt fysisk aktivitetsnivå (Fried et al., 2001). Fysisk inaktivitet er kanskje den største årsaken til utvikling av sarkopeni, men selv hos idrettsutøvere skjer det en reduksjon i muskelmasse- og funksjon ved økende alder (Angulo, El Assar, & Rodríguez-Mañas, 2016; Grassi, Cerretelli, Narici, & Marconi, 1991; Pearson et al., 2002).

Muskelmassen reduseres med økende alder og det er observert tap av muskelmasse på 0,5-1 prosent per år etter fylte 70 (Mitchell et al., 2015). Det er for eksempel observert 40% reduksjon i tverrsnittsareal av *m. vastus lateralis* fra 2. til 8. tiår (Kalyani et al., 2014). Det er vist at muskelmassen representerer 50% av total kroppsvekt hos unge menn, og bare 25% hos eldre mellom 70 og 80 år. Det ser ut til at tapet av muskelmasse er størst i underekstremitetene (Janssen, Heymsfield, Wang, & Ross, 2000). Dette kan delvis skyldes redusert fysisk aktivitet hos eldre som assosieres med mindre bruk av underkroppen, siden disse musklene brukes mest i hverdagslige aktiviteter (Janssen et al., 2000). Reduksjonen i muskelmasse forekommer som følge av en reduksjon i antall muskelfibre og fiberareal. Antall muskelfibre reduseres med 30-40% fra 2. til 8. tiår (Kalyani et al., 2014), og vi vet ikke om fallet er størst i type I eller type II fibre (Angulo et al., 2016). Fiberstørrelsen reduseres også med økende alder, hvorav type II fibre virker å være påvirket i størst grad (Miljkovic et al., 2015).





Figur 1: Forholdet mellom muskelmasse og alder. Grå linje representerer menn, Svart linje representerer kvinner. Basert på figur fra Jansen et al., 2000.

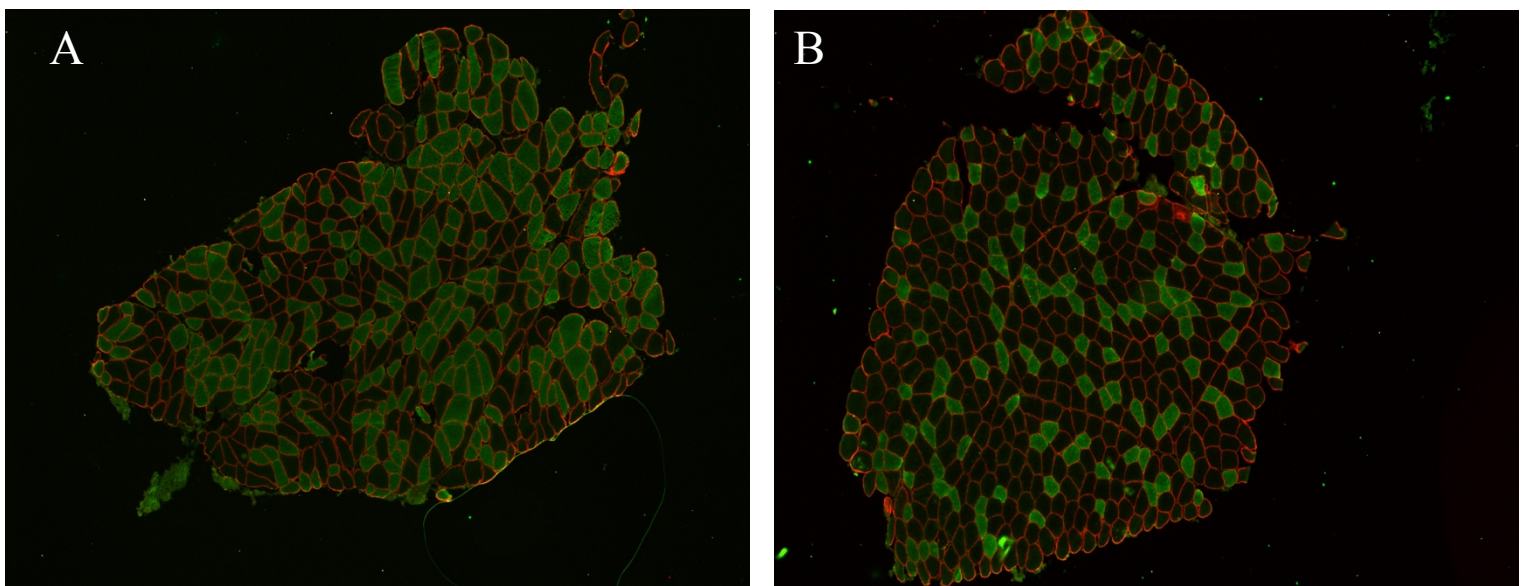
Muskelstyrken reduseres enda raskere som følge av aldring, og dette virker å være mest framtreddende etter 30-40 års alderen (Janssen et al., 2000; McGregor, Cameron-Smith, & Poppitt, 2014). Muskelstyrke virker å være en sentral indikator på helsen, da det er vist i flere studier at redusert gripestyrke er assosiert med økt dødelighet (Gale, Martyn, Cooper, & Sayer, 2007; Newman et al., 2006). Muskelstyrke ser også ut til å være assosiert med fysisk handikap i hverdagslige aktiviteter og funksjonelle begrensninger i enda større grad enn muskelmasse- og kvalitet. Ved å måle styrke i større muskelgrupper som benmuskulaturen har man funnet en enda større sammenheng mellom styrke og funksjonsdyktighet, sykkelighet og dødelighet (Ruiz et al., 2008).

Det er vist at "power", som er produktet av kraft\* hastighet og en svært viktig egenskap for å forhindre fall, reduseres tidligere og raskere enn maksimalstyrken med økende alder. Power kan derfor assosieres med fysisk kapasitet i enda større grad enn styrke hos skrøpelige eldre (Casas, Cadore, Martínez, & Izquierdo, 2014). En medvirkende årsak til reduksjon i power er tap av motonevroneer. I hovedsak rammes motonevroneer som er i kontakt med type II muskelfibre, og disse fibre vil da enten gradvis atrofiere og forsvinne, eller reinnerveres av nærliggende motonevroneer (fortrinnsvis type I motonevroneer). Når en type II muskelfiber reinnerveres av type I motonevroneer vil fiberen begynne å uttrykke myosin heavy chain I (MHC-1) og bli en type I muskelfiber (Clark et al., 2010; Gordon, Hegedus, & Tam, 2004; R Deschenes, 2011). Som følge av dette er det observert grupperinger av fibre hvor type I og type II fibre samler seg på hvert sitt område (Lexell, Downham, & Sjöström, 1986) (Figur 2). Denne prosessen sammen med atrofi som oppstår i type II fibre virker å være hovedårsaken til

reduksjonen i power hos eldre (Hunter, McCarthy, & Bamman, 2004). Det skal sies at dette er den tradisjonelle teorien, og man vil derfor anta at man vil få flere type I muskelfibre som følge av aldring, men som nevnt tidligere vet vi ikke helt sikkert hvordan fibertypefordelingen påvirkes av aldring (Angulo et al., 2016).

### 2.1.1 Fiberareal og fibertype

Det er blitt observert 10-40% mindre areal av type II muskelfibre hos eldre sammenlignet med yngre (Frontera, Suh, et al., 2000), og det virker som type I muskelfibrene reduseres i mye mindre grad (Andersen, 2003). Det er usikkert hvordan fibertypefordelingen påvirkes av aldring. Det er observert både mindre (Ciciliot, Rossi, Dyar, Blaauw, & Schiaffino, 2013; Frontera, Hughes, et al., 2000), høyere (Verdijk et al., 2007) og uforandret (Lexell, Taylor, & Sjöström, 1988) andel type I muskelfibre hos eldre sammenlignet med yngre.



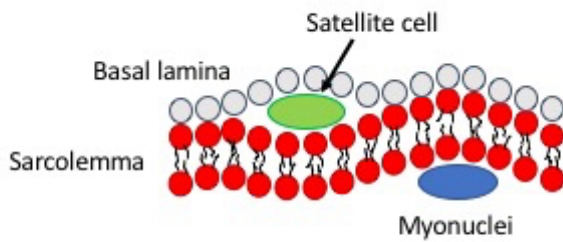
*Figur 2: A: Fibertype I (grønn farge) og fibertype II (sort) fra eldre (TINE). B: Fibertype I (grønn) og fibertype II (sort) fra yngre (TINE). Legg merke til hvordan type I og type II muskelfibrene samler seg på bilde A fra eldre, mens de er mer spredt på bilde B fra yngre*

### **2.1.2 Konsekvenser av endringer i muskelmasse og fiberareal ved aldring**

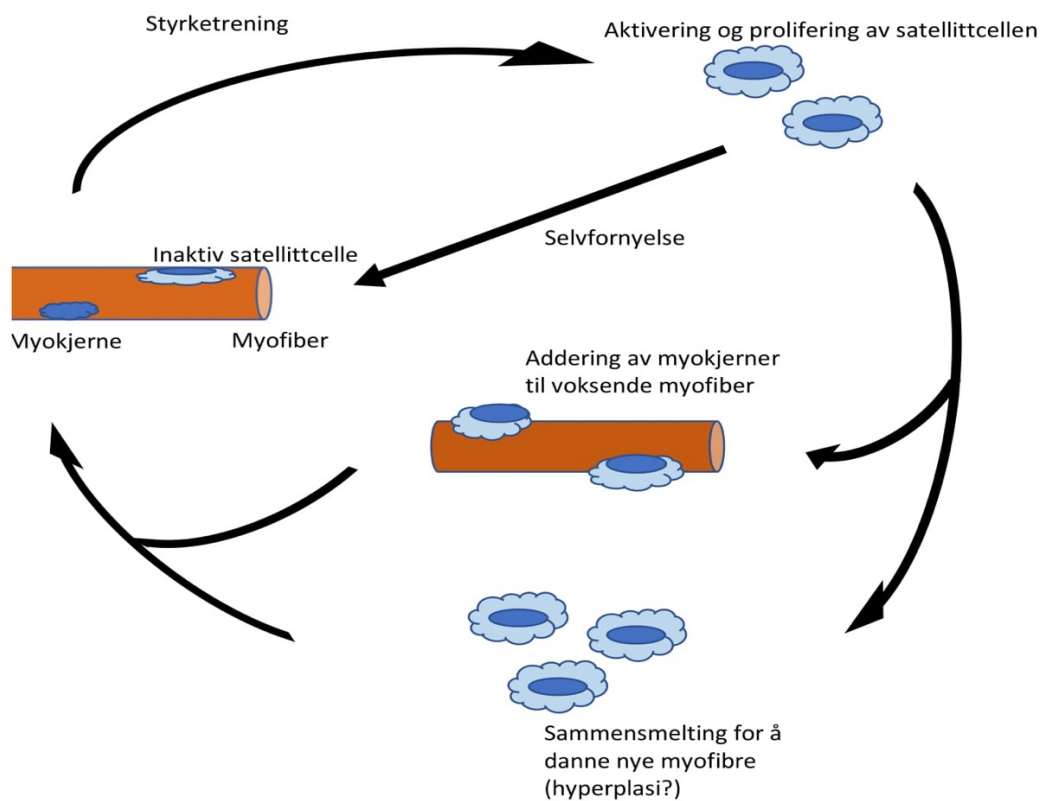
Tap av muskelmasse medfører at de eldre må bruke en større andel av sin maksimale muskelkraft for å utføre hverdagslige aktiviteter og gjøremål, som igjen er vist å medvirke til en overgang fra uavhengig til avhengig livsstil (Degens, 2010). I tillegg vil tap av muskelmasse føre til økt risiko for å utvikle kroniske, metabolske sykdommer ved senere alder (Evans, 1995). Som nevnt tidligere er redusert muskelstyrke assosiert med økt dødelighet, og gripestyrke kan se ut til å være en risikofaktor for hjertesykdom og en god indikator på risiko for tidlig død hos personer som har utviklet hjertesykdom eller andre sykdommer (Leong et al., 2015). Power i underekstremiteten har vist seg å være en god indikator på risiko for fall og fysisk prestasjon som igjen kan gi en indikasjon på funksjonshemming og dødelighet (Bean et al., 2003; Moreland, Richardson, Goldsmith, & Clase, 2004).

## **2.2 Satellittcellen**

Ved bruk av elektronmikroskop var Alexander Mauro i 1961 den første til å identifisere satellittcellen (SC)(Mauro, 1961). SC fikk navnet etter dens særegne plassering mellom cellemembranen og basalmembranen i muskelfibrene (Figur 3). Flere egenskaper gjør SC unik. Den kjennetegnes av få organeller, liten cellekjerne og et stort område av cytoplasma i forhold til cellekjernen (Yin, Price, & Rudnicki, 2013). I uaffisert tilstand forblir SC i dvale, men ved mekanisk stimuli som følge av blant annet styrketrening, eller ved skade på muskelen, kan SC aktiveres, proliferere og tre inn i celsesyklus, og dermed addere flere myokjerner til muskelfibrene, eller smelte sammen med andre SC og danne nye myofibre (Figur 4) (Bischoff, 1994; Schultz & McCormick, 1994). Satellittcellen oppfyller dermed kriteriene til en stamcelle ved å ha evnen til å skape differensierte celler, men også fornye seg selv.



Figur 3: Satellittcellen, lokalisert mellom sarkolemma og basal lamina. Legg merke til forskjell fra myokjernens plassering på innsiden av sarkolemma.



Figur 4: Som følge av styrketrening blir satellittcellen aktivert. Nå kan den returnere tilbake til inaktiv tilstand eller starte å prolifere. Etter prolifering kan den enten: 1. addere flere myokjerner til voksende myofiber eller 2. smelte sammen med andre satellittceller for å danne nye myofibre. Basert på Hawke og Garry, 2001.

### 2.2.1 Identifisering av satellittcellen

Det finnes ulike metoder for å identifisere SC og elektronmikroskop regnes som gullstandarden. Men noen av ulempene med denne metoden er små prøvevev, og veldig tidkrevende blant annet på grunn av høy forstørrelse (S Hikida, 2011). På bakgrunn av disse problemene er det blitt utviklet immunhistokjemiske markører for SC. Bruk av lysmikroskop tillater analyser av relativt store vevsprøver, men satellittcellens plassering gjør det vanskelig å skille den fra myokjerner, som også er lokalisert perifert i muskelfiberen. Derfor er det blitt utviklet flere antistoffer som binder seg til proteiner uttrykt av SC. Uttrykkelsen av de ulike proteinene avhenger om SC er inaktiv eller aktivert. Det antas at antistoff mot Paired-box transcription factor 7 (Pax7) og neural cell adhesion molecule (NCAM) merker flesteparten av SC (A. L. Mackey et al., 2009). I skjelettmuskulatur hos mennesker uttrykker tilnærmet alle SC, både inaktive og prolifererende, transkripsjonsfaktoren pax7, som er lokalisert i nukleus (Yin et al., 2013). NCAM er et glykoprotein som er lokalisert på membranen til SC og har vist seg å være en velfungerende markør for SC i muskulatur hos mennesker (Kadi et al., 2005). NCAM markerer en større del av SC enn Pax7 og et studie viste at SC markert med NCAM er synlige i snitt opp til 35µm, mens SC markert med Pax7 er synlige i snitt opp til 14 µm (A. L. Mackey et al., 2009). Myogenin og MyoD uttrykkes i SC ved både tidlig proliferering og sen differensiering, og brukes til å identifisere aktive SC (Wernbom et al., 2013). Ki67 nukleus antigen har tradisjonelt blitt brukt som en markør for prolifererende celler, ofte for å undersøke forløp og diagnose av kreft, men det ser ut til at denne markøren også kan fungere bra sammen med NCAM for å kartlegge antall aktive SC (A. L. Mackey et al., 2009). Det er verdt å merke seg at flesteparten av studiene som er gjort på identifisering av SC ikke skiller mellom aktive og inaktive (A. L. Mackey et al., 2009) og siden ulike studier bruker ulike markører for identifisering av SC, er resultatene vanskelige å sammenligne direkte.

### 2.2.2 Hvordan aktiveres satellittcellen?

Som tidligere beskrevet er SC inaktiv i uaffisert tilstand, men ved skade på muskelen og ved styrketrening, kan SC aktiveres på flere ulike måter. Det er for eksempel vist at deltagere med høyest forekomst av ultrastrukturell skade etter styrketrening også hadde høyest innhold av aktive SC (S. Roth et al., 2001). Styrketrening fører til frigjøring av ulike inflammatoriske substanser, cytokiner og vekstfaktorer fra muskel og bindevev, og det er foreslått at hepatocyte growth factor (HGF) aktiverer SC, mens insulin-like growth factor 1 (IGF-1) og fibroblast growth factor (FGF) øker prolifering av SC straks de er aktivert (Anderson & Wozniak, 2004). Produksjon av Nitrogenoksid (NO), aktiviteten til matrix metalloproteinaser (MMP-er), Notch signalering og konsentrasjonen av kjønns hormoner er andre sentrale faktorer som påvirker SC aktivering.

Siden kraften musklene genererer medfører tilsvarende stress på **bindevev** rundt musklene er det sannsynlig å anta at bindevevet også spiller en sentral rolle i aktiveringen av SC (Flück, Chiquet, Schmutz, Mayet-Sornay, & Desplanches, 2003; Kjaer, 2004). Bindevevet er bygd opp av **ekstracellulært matrix** (ECM) og ECM regulerer utskillelsen av vekstfaktorer som stimulerer SC til prolifering og differensiering (S Hikida, 2011). **NO** er et fritt radikal som produseres av nitrogenoksid syntaser (NOS-er), og frigjøring av HGF lokalisert ekstracellulært, kan se ut til å være avhengig av NO-produksjon som følge av mekanisk stimuli (Tatsumi, 2010). Normalt produseres NO i små mengder i muskelen når SC er inaktiv, men uttrykk og aktiviteten av NO øker ved trening, belastning, skade, skjærkrefter og mekanisk drag. Et legemiddel kalt guaifenesin dinitrate har vist seg å øke leveringen av NO til muskelen, og inntak av dette førte til en sterk økning i SC-aktivering og prolifering (Wang et al., 2009). ECM reguleres i stor grad av **MMP-er** som er zinc-avhengige endopeptidaser som sammen degraderer en eller flere deler av ekstracellulær matrix. Det er vist at MMP-er aktiveres som følge av produksjon av NO, og MMP-er sørger for HGF-utskillelse og påfølgende aktivering av SC som følge av mekanisk stimuli (Yamada et al., 2006).

**Notch-signalering** kan også se ut til å regulere SC. Ved muskelskade er det registrert en oppregulering av Notch ligand-delta uttrykk<sup>2</sup>, etterfulgt av SC-aktivering (Conboy et al., 2003). **Testosteron** er vist å påvirke aktivering av SC gjennom økt Notch-signalering (Sinha-Hikim, Cornford, Gaytan, Lee, & Bhasin, 2006), og det er funnet sammenheng mellom økning i antall SC og konsentrasjonen av testosteron hos mennesker (Sinha-Hikim et al., 2003).

### **2.2.3 Mengde satellittceller hos yngre og eldre**

Ved bruk av elektronmikroskop er det vist at SC står for 15% av alle cellekjernene i muskelvev ved fødsel, 6-10 % av kjernene ved en alder av to år og bare 4% av kjernene i voksen alder (Fardeau & Tome, 1981; Schmalbruch & Hellhammer, 1976).

Litteraturen viser sprikende resultater om hvordan aldring påvirker antall SC. Snow et al (1977) undersøkte satellittcelleandelen hos eldre og yngre rotter ved bruk av elektronmikroskop, og fant lavere satellittcelleandel (antall satellittceller i forhold til totalt antall kjerner) hos de eldre rottene. Ved å se på antall SC per fiber var det derimot ingen forskjell mellom gruppene. Gibson & Schultz (1983) fant lavere antall SC per fiber og satellittcelleandel hos eldre rotter sammenlignet med yngre, mens Brooks et al (2009) fant ingen forskjell i satellittcelleandelen mellom yngre og eldre rotter. De motstridende resultatene kan skyldes ulike analysemetoder for identifisering av SC. I tillegg kan ulike metoder for å kvantifisere SC påvirke resultatene. I hovedsak brukes det to ulike metoder for å kvantifisere SC; Antall satellittceller per fiber og satellittcelleandel (antall satellittceller som prosent av totalt antall myokjerner + satellittceller). Satellittcelleandelen vil ikke gi oss et nøyaktig bilde på mengden satellittceller da denne kvantifiseringen kan endre seg uten at absolutt antall satellittceller endres, som følge av endringer i antall myokjerner (Allen, Roy, & Edgerton, 1999).

Studier gjennomført på mennesker viser også motstridende resultater. Kadi et al (2004) fant lavere antall SC per fiber og satellittcelleandel hos eldre sammenlignet med yngre, og dette er også funnet i andre studier (Renault, Thorne, Eriksson, Butler-Browne, & Mouly, 2002). Hikida et al (1998) observerte imidlertid ingen forskjell i

---

<sup>2</sup> Binding mellom delta protein (ligand) og transmembranproteinet Notch fører til spaltning av intracellulær region av Notch som igjen aktiverer transkripsjonsfaktorer i nucleus.

satellittcelleandelen mellom yngre og eldre, og dette støttes også av andre studier (Dreyer, Blanco, Sattler, Schroeder, & Wiswell, 2006; Petrella et al., 2006; S. M. Roth et al., 2000). De sprikende resultatene kan skyldes ulike analysemetoder, aktivitetsnivå, ulike muskler og ulikheter i alder og treningsstatus hos deltagerne (Kadi, Charifi, et al., 2004; Verdijk et al., 2007).

Fravær av fibertypespesifikke data virker også å spille en sentral rolle. Det er tidligere blitt observert ingen forskjell i antall SC mellom type I og type II muskelfibre hos yngre (Kadi, Charifi, & Henriksson, 2006), men siden fiberstørrelse i muskelfibertype II reduseres mest som følge av aldring (Miljkovic et al., 2015), ønsket Verdijk et al (2007) å undersøke om dette også var akkompagnert av en reduksjon i antall SC rundt type II fibre. Det viste seg at eldre hadde færre SC og lavere satellittcelleandel i type II muskelfibre sammenlignet med de yngre. Ved å kun se på den eldre gruppen var det også færre SC rundt type II muskelfibre sammenlignet med type I fibre, noe som også er funnet i senere studier (Verney et al., 2008). Lavere satellittcelleandel i type II muskelfibre hos eldre sammenlignet med yngre er også blitt observert av Verdijk et al (2012). Som nevnt tidligere påvirker SC muskelmassen gjennom reparasjon og addering av myokjerner ved hypertrofi. En reduksjon i antall SC eller en redusert evne til å proliferere og differensiere vil mest sannsynlig resultere i svekket muskelstruktur og funksjon, noe som kan være med på å forklare atrofien som oppstår i type II muskelfibre hos eldre (Shefer, Van de Mark, Richardson, & Yablonka-Reuveni, 2006).



#### **2.2.4 Satellittcellen og aldring**

Som tidligere beskrevet ser det ut til at eldre har færre SC rundt type II muskelfibrene, og redusert evne til prolifering og regenerering sammenlignet med yngre (Sousa-Victor et al., 2014), men det er usikkert i hvor stor grad dette bidrar til sarkopeni. Data fra *in vitro* eksperimenter har vist at potensialet for prolifering og differensiering i SC fra eldre er *tilstrekkelig* for muskelregenerering (Angulo et al., 2016). I kontrast til dette er muligens *aktiveringen* av SC svekket da det er observert færre aktiverte SC hos eldre sammenlignet med yngre etter en serie med eksentriske kontraksjoner (Dreyer et al., 2006). Samspillet mellom muskel og bindevev ser ut til å spille en viktig rolle, *in vivo* eksperimenter i mus indikerer at regenereringspotensialet til SC fra eldre mus kan delvis bli reddet ved å utsette SC for faktorer som er tilstede i blodet hos yngre mus (Conboy, Conboy, Wagers, & Girma, 2005). Det nærliggende miljøet til SC, ofte omtalt som ”satellittcellenisjen” består av muskelfiberen, basalmembranen og bindevevet som er tilknyttet fiberen, og det ser ut til at endringer i dette nærliggende miljøet som følge av aldring delvis kan forklare den reduserte SC funksjonen observert hos eldre (S Hikida, 2011). Som tidligere nevnt er Notch-signalering med sin ligand delta, en viktig signalvei for aktivering av SC, men i eldre muskulatur blir ikke denne signalveien like lett oppregulert som i yngre muskulatur, og SC aktiveringen ser derfor ut til å bli svekket (Conboy & Rando, 2005). Eldre menn har også lavere nivå av testosteron enn yngre menn, som også kan bidra til redusert SC aktivering (van den Beld, de Jong, Grobbee, Pols, & Lamberts, 2000).

### **2.3 Myokjerner og kjernedomene**

I hver muskelfiber ligger det alt fra hundre til tusenvis av myokjerner, vanligvis lokalisert rett under cellemembranen. Disse myokjernene inneholder genetisk informasjon som er nødvendig for proteinsyntesen, og det er generelt akseptert at hver myokjerne kontrollerer proteinsyntesen for et bestemt volum av cytoplasma, også kjent som kjernedomenet (Cheek, 1985). Flere studier har vist at antall myokjerner korrelerer med muskelfiberstørrelse og spiller en sentral rolle ved endring av muskelmassen (Allen et al., 1999; Kadi & Thornell, 2000). Hypertrofi kan imidlertid også forekomme uten økning i antall myokjerner, ved at hver myokjerne øker translasjonskapasiteten/proteinsyntesen (Edgerton & Roy, 1991).

### **2.3.1 Myokjerner og kjernedomene hos yngre og eldre**

Basert på de studier som har undersøkt hvordan myokjerner og kjernedomenet påvirkes av alder, er det vanskelig å trekke en klar konklusjon. Vassilopoulos et al (1997) tok biopsi av friske mennesker i alderen 1-71 år og fant at endringer i antall myokjerner samsvarte med endringer i muskelfiberstørrelse, og dette førte til et konstant kjernedomene. I kontrast til dette er det blitt observert en aldersrelatert nedgang i fiberstørrelse uten endringer i antall myokjerner som dermed har resultert i redusert kjernedomene (Dreyer et al., 2006; Petrella et al., 2006; S. M. Roth et al., 2000). En oversiktsartikkel av Hikida (2011) indikerer at antall myokjerner øker med aldring, og dette er blitt rapportert i noen studier (Kadi, Charifi, et al., 2004; Verdijk et al., 2007). Disse motstridende resultatene kan skyldes fravær av fiberspesifikke data. Siden aldersrelatert reduksjon i fiberstørrelse primært berører fibertype II, kan man muligens anta at endringer i antall myokjerner og kjernedomene oppstår hovedsakelig i type II muskelfibre (Snijders, Verdijk, & van Loon, 2009). Denne teorien støttes av en studie hvor Verdijk et al (2014) tok muskelbiopsier av 50 yngre (18-49 år), 53 voksne (50-69 år) og 49 eldre personer (70-86 år). Her ble det observert færre myokjerner i type II fibre hos eldre sammenlignet med voksne og yngre. Hos de voksne og eldre ble det også observert færre myokjerner i type II fibre sammenlignet med type I muskelfibre. I kontrast til dette er det observert flere myokjerner i både type I og type II fibre hos eldre sammenlignet med yngre (Verdijk et al., 2007). I samme studie ble det også observert en reduksjon i kjernedomenet i type I og type II fibre hos eldre sammenlignet med yngre, hvorav reduksjonen i type II fibre var større enn i type I fibre.

## **2.4 Treningseffekt**

### **2.4.1 Fiberareal**

Det er vist at styrketrening øker fiberarealet til både type I og type II muskelfibre hos unge (Bellamy et al., 2014). Hos eldre er det observert en økning i det totale muskelfiberarealet (type I og type II) som følge av styrketrening (Mero et al., 2013; Petrella et al., 2006), men også ingen endring (A. Mackey et al., 2007). Det ser ut til at endringer i muskelfiberareal som følge av styrketrening hos eldre, oppstår hovedsakelig på grunn av en økning i type II muskelfibre (Leenders et al., 2012; Verdijk et al., 2009), selv om det også er blitt observert i type I muskelfibre (Verdijk et al., 2014). I studiet av Verdijk et al (2009) ble det observert større fiberareal i type I muskelfibrene sammenlignet med type II muskelfibrene ved baseline, men etter treningsintervensjonen var denne forskjellen ikke lenger til stede. For eldre ser styrketrening ut til å være et svært viktig tiltak for å opprettholde et funksjonsnivå som er tilstrekkelig til at daglige gjøremål kan utføres. Det er for eksempel vist at 12 uker med kombinert "power-styrketrening" og balansetrening to ganger i uken medførte hypertrofi og i tillegg en forbedring i ulike funksjonelle tester som "opp og gå", balanse og reduserte antall "ut av balanse situasjoner" hos skrøpelige eldre (Cadore et al., 2014).

### **2.4.2 Satellittceller**

Hos profesjonelle styrkeløftere er det blitt observert 70% flere SC i *m. trapezius* sammenlignet med kontroller (Kadi, Eriksson, Holmner, Butler-Browne, & Thornell, 1999). Det ser dermed ut til at flere år med regelmessig styrketrening øker mengden SC i muskulaturen. I flere studier hvor det er undersøkt hvordan SC påvirkes av en styrketreningsperiode (3-6 måneder), er det vist en økning i antall SC per muskelfiber eller satellittcelleandel hos unge og eldre (Kadi, Schjerling, et al., 2004; Kadi & Thornell, 2000; A. Mackey et al., 2007; S. Roth et al., 2001), men det er også rapportert om ingen endring (Hikida et al., 1998; Petrella et al., 2006). I studiet av Petrella et al (2006) førte 16 uker med styrketrening til en økning på 49% i antall SC per muskelfiber hos yngre, mens ingen endring ble observert hos eldre. Verdijk et al (2007) oppdaget færre SC rundt type II muskelfibrene hos eldre sammenlignet med unge, og Verney et al (2008) ønsket derfor å undersøke om satellittcelleresponsen til styrketrening også var fibertypespesifikk hos eldre. Etter 14 uker med kombinert utholdenhet- og styrketrening ble det observert en økning på 58% i antall SC rundt type II muskelfibrene, mens ingen endring ble observert rundt type I muskelfibrene. Verdijk et al (2009) fant også en

fibertypespesifikk økning i antall SC rundt type II muskelfibrene hos eldre etter 12 uker med styrketrening, og dette er også funnet etter 24 uker med styrketrening (Leenders et al., 2012; Snijders et al., 2017). Responsen til en styrketreningsperiode kan imidlertid variere fra person til person. Petrella et al (2006) oppdaget for eksempel at deltagerne som med størst hypertrofi opplevde også størst økning i satellittcelleinnhold og antall myokjerner.

### **2.4.3 Myokjerner og kjernedomene**

Som nevnt tidligere ser det ut til at en økning i antall myokjerner per muskelfiber spiller en sentral rolle ved økning i muskelmasse, og dette er observert hos både unge og eldre som følge av styrketrening (Kadi & Thornell, 2000). Men flere studier viser også ingen signifikant økning i antall myokjerner per fiber som følge av styrketrening selv ved hypertrofi (Verdijk et al., 2009; Verney et al., 2008). Kadi et al (2004) peker på at økning i antall myokjerner er blitt observert ved >26% økning i fiberareal, men ikke ved < 15% økning, og det ser dermed ut til moderat hypertrofi kan skje ved at eksisterende myokjerner øker proteinsyntesen og dermed øker kjernedomenet noe. Dette kan delvis forklare de sprikende resultatene i litteraturen.

## **2.5 Oppsummering**

Det skjer en reduksjon i muskelmasse- og styrke som følge av aldring og redusert fysisk aktivitet. Satellittceller og myokjerner er sentrale regulatorer av muskelmassen, og det er vist at aldring fører til atrofi av type II fibre akkompagnert av en fibertypespesifikk reduksjon i mengden satellittceller. Det ser ut til at antall myokjerner holdes konstant eller øker som følge av aldring, mens kjernedomenet reduseres. Styrketrening fører til en økning i fiberarealet i type II fibre hos eldre, akkompagnert av en fibertypespesifikk økning i mengden satellittceller rundt type II fibre. Hypertrofi kan dekkes ved at eksisterende myokjerner øker proteinsyntesen eller gjennom tilførsel av nye myokjerner. Styrketrening ser ut til å være et effektivt tiltak for å motvirke aldersrelaterte endringer i muskulaturen.



### **3. Metode**

Denne masteroppgaven vil bruke resultater fra to ulike prosjekter, styrketrening for sykehjemsbeboere (STAS) og TINE. STAS-studiet ble gjennomført på eldre med lavt funksjonsnivå høsten 2016, mens TINE-studiet ble gjennomført på friske eldre og yngre, i 2014/2015. Det ble gjennomført mange ulike tester i disse prosjektene, men i denne masteroppgaven vil kun resultater som er relevante for å besvare mine problemstillinger inkluderes. Prosjektene er godkjent i regional etisk komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, Sør-Øst Norge, og er gjennomført i henhold til Helsinki deklarasjonen.

#### **3.1 Studiedesign**

STAS-prosjektet undersøkte effekten av 10 uker tung styrketrening hos skrøpelige eldre, mens TINE-prosjektet undersøkte effekten av 12 uker tung styrketrening hos friske eldre og yngre. Begge prosjektene kan karakteriseres som randomiserte, kontrollerte studier.

#### **3.2 Forsøkspersoner/ inklusjons- og eksklusjonskriterier**

##### **3.2.1 Rekruttering**

Deltagere til gruppen skrøpelige eldre (SE) ble rekruttert fra sykehjem og dagsentre i Oslo, mens friske eldre (E) og yngre (Y) ble rekruttert gjennom oppslag i nærmiljøet og annonser i lokalavisen.

##### **3.2.2 Skrøpelige eldre (SE)**

Samtlige av deltagerne fra STAS bodde på sykehjem eller benyttet seg av et dagsenter. Inklusjons- og eksklusjonskriterier er listet opp i tabell 1. I STAS ble *Fried Frailty Criteria (FFC)* (vedlegg 2) brukt for å kartlegge hvilke personer som var aktuelle for studien. FFC består av fem ulike kriterier; Kroppsvekt, håndgrepsstyrke, utmattelse, ganghastighet og aktivitetsnivå. Dersom en person på over 65 år oppfylte tre eller flere av disse kriteriene, ble vedkommende regnet som skrøpelig, og inkludert i studien. Deltagerne ble også inkludert hvis minst to av følgende kriterier ble oppfylt; ganghastighet, håndgrepsstyrke og fysisk aktivitetsnivå. I tillegg ble det gjennomført et testbatteri, *Short physical performance battery (SPPB)* (vedlegg 3), hvorav en samlet poengsum på mellom 0-6 medførte inklusjon uavhengig av resultatet fra FFC.

Mini mental status evaluering (MMSE) ble benyttet for å måle personens mentale og kognitive helse.

I STAS ble 18 deltagere rekruttert til å delta i studien. Før treningsintervensjonen startet ble det tatt en muskelbiopsi hos 15 av disse. På grunn av stort frafall ble det bare tatt muskelbiopsi av 9 deltakere etter treningsintervensjonen, hvorav bare fire deltakere hadde gjennomført styrketrening. På grunn av få deltagere blir derfor kun baseline-resultater fra STAS inkludert i denne oppgaven. Videre ble to av de 15 med baseline-biopsi ekskludert som følge av at de likevel ikke tilfredsstilte kriteriene som skrøpelige. Dette på bakgrunn av ny screening etter mistanke om feilmåling.

*Tabell 1: Inklusjon- og eksklusjonskriterier for STAS (Skrøpelige eldre)*

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
≥65 år	Skade eller sykdom som umuliggjør trening
FFC ≥2 eller SPPB ≥6	Laktose eller melkeallergi
MMSE ≥22	Allergi mot lokalbedøvelse
	Bruk av spesifiserte medisiner*

\* *Blodfortynnende medisin som ikke kan seponeres*

### **3.2.3 Friske eldre (E) og yngre (Y)**

Til TINE-studien ble det rekruttert 30 eldre og 41 yngre personer. Tabell 2 viser inklusjons- og eksklusjonskriterier. For min masteroppgave ble det trukket tolv tilfeldige forsøkspersoner fra både den yngre og eldre gruppen som gjennomførte en muskelbiopsi før og etter 12 uker med styrketrening.

Tabell 2: Inklusjons- og eksklusjonskriterier for eldre og yngre (TINE).

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
<b><u>Yngre</u></b>	
18-45 år	
Ingen regelmessig styrketrening siste seks måneder	Laktoseintoleranse eller melkeallergi
Frisk, ingen muskel- og skjelettskader	Allergi mot lokalbedøvelse
	Inntak av kosttilskudd
<b><u>Eldre</u></b>	
≥70 år	
Ingen regelmessig styrketrening siste seks måneder	Bruk av spesifiserte medisiner*
	Laktoseintoleranse
	Allergi mot lokalbedøvelse
	Inntak av kosttilskudd

\* *Blodfortynnende medisin som ikke kan seponeres*

Forsøkspersonene som skal brukes i masteroppgaven er dermed inndelt i følgende grupper; eldre (E), yngre (Y) og skrøpelige eldre (SE). Baseline karakteristikker til gruppene er presentert i tabell 3.

Tabell 3: Baseline verdier for alle grupper inkludert i masteroppgaven.

	Yngre (n=12)	Eldre (n=12)	Skrøpelige eldre (n=15)
Mann/kvinne (%)	50/50	58/42	60/40
Alder (År)	26±3 <sup>ab</sup>	74±3 <sup>c</sup>	86±8
Vekt (Kg)	74,7±11,3	72,5±12,1	64,8±11,9
Fett (%)	27,8±6,1	30±6,2	32,8±6,6
Lean body mass (Kg)	52,1±8,9 <sup>b</sup>	48,9±9,6	42±6,3
MVK (N)	460±111 <sup>ab</sup>	318±83 <sup>c</sup>	218±71

MVK= Maksimal voluntær kontraksjonskraft for høyre ben. <sup>a</sup>=signifikant forskjell mellom yngre og eldre. <sup>b</sup>=signifikant forskjell mellom yngre og skrøpelige eldre. <sup>c</sup>=signifikant forskjell mellom eldre og skrøpelige eldre. (p≤0,05)



### **3.3 Testing**

#### **3.3.1 Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA)**

Vekt, fettprosent og fettfri masse ble undersøkt ved bruk av Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) av typen Lunar iDXA (GE Healthcare, enCORE Software, versjon 14.10.022). Testen gjennomføres vanligvis fastende for et best mulig resultat, men for SE ble dette problematisk. I hovedsak vil dette påvirke resultatene for mageregionen og ikke bena. Deltagerne ble bedt om å ligge i en standardisert supinert posisjon/flatt på ryggen i maskinen, men for noen var dette problematisk, derfor ble tilpasninger gjort, notert ned og gjennomført likt før og etter treningsintervensjonen. Det ble gjort tre forskjellige analyser, men kun fullkroppsanalysen benyttes i denne oppgaven. Forsøkspersonene fra TINE gjennomførte testen fastende.

#### **3.3.2 Maksimal voluntær kontraksjon (MVK)**

Maksimal isometrisk kneekstensjon med 90° knevinkel ble utført i et Gym2000 kneekstensjonsapparat, koblet til en kraftcelle (HMB U2AC2, Darmstadt, Tyskland). Kraftcellen var koblet til en arbeidsstasjon med analyseprogrammet LabVIEW 8.2 (National instr., Austin, Texas). Testen bestod av tre maksimale forsøk på hvert ben. Før de maksimale forsøkene ble det gjennomført to isometriske oppvarmingskontraksjoner med begge ben på 50 og 80% av MVK. Oppvarmingskontraksjonene ble holdt i 5-10 sekunder. Under MVK-testen ble forsøkspersonene oppfordret til å yte maksimalt i ca. tre sekunder. Hvert ben fikk ett minutt pause mellom hvert forsøk.

### **3.4 Baselinemålinger**

Alle forsøkspersonene gjennomførte en akutttdag med biopsi før og etter en treningsøkt. Resultatene for SE er hentet fra biopsien tatt før treningsøkt. Før biopsien ble det gitt en standardisert frokost og biopsi ble gjennomført en time etter dette. For E og Y fra TINE benyttes kun resultater fra første biopsi tatt under akutttdag 1 (før treningsintervensjon) og første biopsi tatt under akutttdag 2 (etter treningsintervensjon).

### **3.5 Treningsintervensjon**

E og Y fra TINE gjennomførte et helkropps-styrketreningsprogram tre ganger i uken, og fulgte prinsippet om kontinuerlig progresjon; i de første ukene (1-3) ble det gjennomført 1-2 sett per øvelse, mens mot slutten av perioden (9-12) ble det gjennomført tre sett i flesteparten av øvelsene. Belastningen startet på 12RM og gikk gradvis mot lavere RM gjennom treningsintervensjonen. To av øktene ble styrt etter RM-prinsippet, mens den siste var submaksimal. Programmet inneholdt følgende øvelser: Knebøy, benpress, kneekstensjon, sittende roing, benkpress, nedtrekk, makefleksjon i apparat og rygghev. E gjennomførte hack squat og brystpress istedenfor knebøy og benkpress.

### **3.6 Muskelbiopsier**

Proseduren for muskelbiopsi var lik for alle forsøkspersonene. På testdagen ble det tatt muskelbiopsier fra *m.vastus lateralis*. I forkant av muskelbiopsi ble huden vasket og sterilisert med klorhexidin, før lokalbedøvelse (xylocain med adrenalin) ble satt i huden/muskelfascien (AstraZeneca, Södertalje, Sverige). Skalpell ble brukt for å lage et snitt på 15-20 mm i huden og muskelfascien. Biopsiene ble tatt med en 6mm Bergstrømnlå, og en vakuumpumpe ble benyttet for å suge muskelvevet inn i nåla. Omtrent 150-200 mg ble tatt ut for hver biopsi, og dette krevde at man førte inn nåla 1-3 ganger. Vevsbitene med størst snittflate ble brukt til immunhistokjemi (IHC). Bitene ble bearbeidet ved dissekering av eventuell bindevev og fett, deretter ble de skåret vinkelrett med barberblad og lagt i en form O.C.T. compound (Optimal cutting temperature; Cellpath, Newton, Wales, UK). Umiddelbart etter dette fulgte en nedfrysning av formen med IHC-biten i isopentan, som var forhåndskjølt til -120 C på flytende nitrogen. Bitene ble så lagret i ultrafryser (-80C) for senere analyse.

#### **3.6.1 Snitting av muskelbiopsier**

Muskelbiopsiene ble tatt ut av ultrafryseren (-80C) og lagt i kryostat (CM1860, Leica Microsystems; Nuccloch, Tyskland) i 20 min sammen med annet utstyr (pinsetter, pensler, skalpell) som ble benyttet under snitting. Vevsbiten ble så festet til en kutteskruer med O.C.T. compound, før kutteskruen ble montert til kryostaten. Vevsbiten ble trimmet for å sjekke kvalitet på snittene og få en klar kutteflate. Snittene ble kuttet med en tykkelse på 8 µm og plassert på SuperFrost Plus mikroskopglass (Thermo Scientific, MA, USA). Alle muskelbiopsiene fra samme forsøksperson ble fordelt på ett objektivglass.

### 3.7 Immunohistokjemi

#### 3.7.1 Antistoffer

Merkeprotokollene som ble brukt for å undersøke muskelfibertype, muskelfiberareal og myokjerner var nesten identisk med protokollen for satellittceller (se vedlegg 4).

Antistoffene er listet opp i tabell 4.

Tabell 4: Primære og sekundære antistoff

Antistoff	Binder seg til	Produsent	Vert/opprinnelse	Fortynning	Produktnummer
Anti-NCAM	Neural cell adhesion molecule	Abcam	Mus	1:400	Ab9272
Anti-laminin	Laminin	Dako	Kanin	1:500	Z0097
DAPI	DNA i alle cellekjerner	Molecular Probes		Finnes i monterings medium	P36935
Anti MHC1	Myosin heavy chain I	DSHB	Mus	1:1000	BA-D5
Anti-dystrofin	Dystrofin	Abcam	Kanin	1:500	Ab15277
Alexa 488 $\alpha$ -mus*	Anti-mus	Molecular Probes	Geit	1:200	A11001
Alexa 594 $\alpha$ -kanin*	Anti-kanin	Molecular Probes	Geit	1:200	A11012

\*Sekundær antistoff

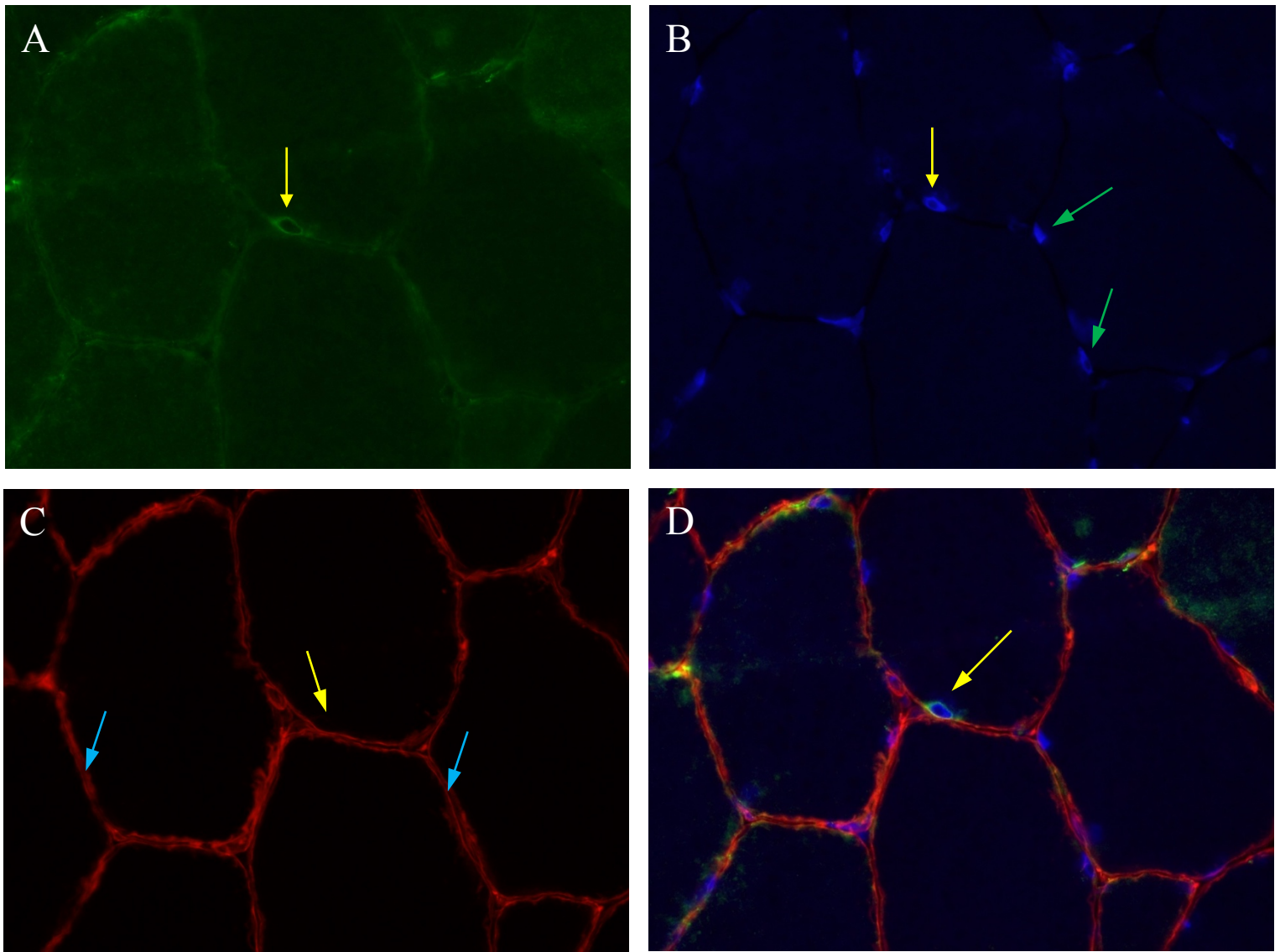
### **3.7.2 Mikroskopet**

Et lysmikroskop (Olympus BX61, Japan) ble brukt for å undersøke merkingen av de ulike antistoffene. Mikroskopet var tilkoblet en fluoriserende lyskilde (EXFO, XII20PC, Canada), og et digitalt kamera (Olympus DP72) var tilkoblet for å ta bilder av snittene.

### **3.7.3 Kvantifisering av satellittceller**

Snitt med 10µm tykkelse ble brukt til analyse av satellittceller. De ble merket med antistoff mot neural cell adhesion molecule (NCAM) og laminin (for detaljert protokoll, se vedlegg 4). Ett tilfredsstillende snitt fra pre og ett fra post ble valgt ut for analysen. Mikroskopet ble brukt til å undersøke snittet gjennom et 20x objektiv (UPlanFL N,0,55 NA, Olympus), og ved hjelp av en fluoriserende lyskilde ble det tatt bildesekvenser av merkingen mot NCAM (Abcam), laminin (Dako) og DAPI (Molecular Probes, USA). Det ble også tatt et oversiktsbilde av snittet gjennom et 4x objektiv (UPlanFL N,0,13 NA, Olympus) som senere ble skrevet ut i papirform og brukt til å lokalisere satellittcellene. Positiv NCAM merking vises ved en synlig grønn ring rundt satellittcellen (Figur 5A). Tellekriteriene for satellittcellen var at minst 50% av NCAM merkingen måtte omringe satellittcellen. I tillegg måtte NCAM-merkingen omringe en myokjerne identifisert ved hjelp av DAPI-merkingen (blå farge) (figur 5B) og samtidig ligge innenfor laminin merkingen (rød farge) (figur 5C). Satellittcellene blir presentert som antall satellittceller per 100 type I muskelfibre og 100 type II muskelfibre.

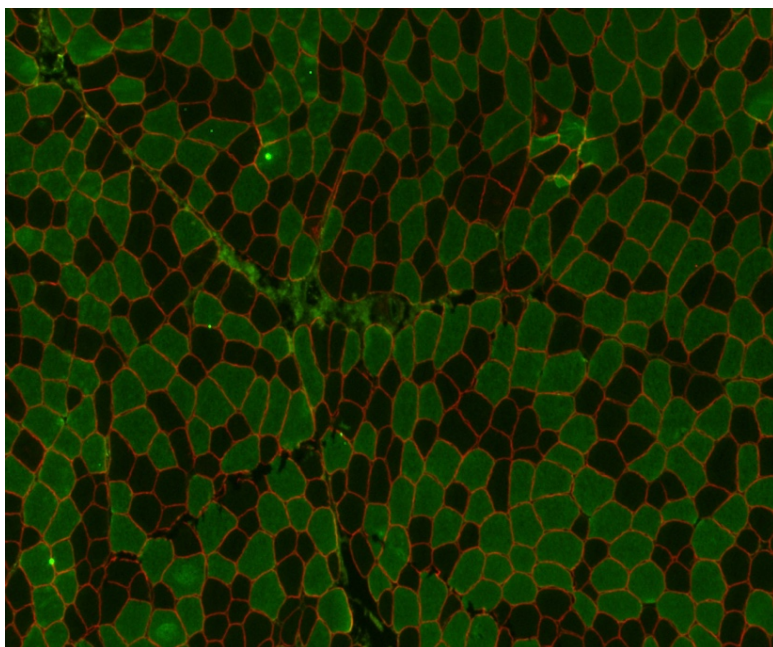
For å identifisere hvilken muskelfibertype hver satellittcelle tilhørte ble et nabosnitt merket med antistoff mot myosin heavy chain 1 (DSHB, USA) og dystrofin (Abcam, UK) (se vedlegg 4 for detaljert protokoll). Gjennomsnittlig antall fibre analysert for fibertype I var  $184 \pm 71$  (fra 44 til 362) og gjennomsnittlig antall fibre analysert for fibertype II var  $245 \pm 75$  (fra 32 til 417).



*Figur 5: A: Merking mot NCAM som vises ved en synlig grønn ring. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen. B: Merking mot myokjerner med DAPI som vises ved blå prikker. Gul pil viser den identifiserte satellittcellen fra bilde A. Grønne piler viser eksempler på myokjerner. C: Merking mot laminin som viser cellemembranen. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen. Blå piler viser cellemembranen. D: Merking mot NCAM, myokjerner og laminin satt sammen. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen.*

### 3.7.4 Kvantifisering av muskelfiberareal og muskelfibertype

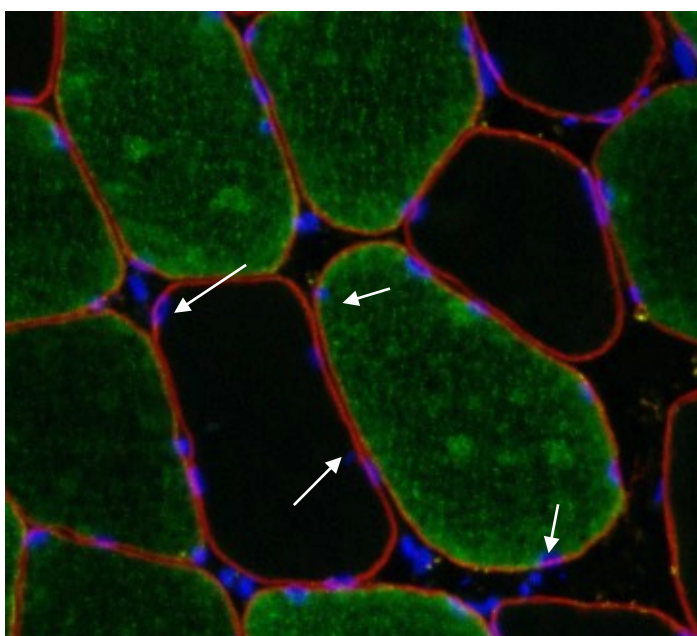
Snitt med 10µm tykkelse ble brukt til analyse av muskelfibertype og muskelfiberareal. De ble merket med antistoff mot myosin heavy chain 1 (DSHB, USA) og dystrofin (Abcam, UK) (se vedlegg 4 for detaljert protokoll). Det ble deretter tatt et bilde av snittet gjennom 4x objektivet, før bildet ble lastet inn i programmet TEMA (Checkvision, Denmark) som utregnet fiberspesifikt fiberareal og fibertypesammensetning (Figur 6). Muskelfibre i ytterkant av snittet eller med unormal form (lang eller ujevn cellemembran) ble ekskludert fra analysen. Muskelfiberareal blir presentert som  $\mu\text{m}^2$  og muskelfibertype blir presentert som antall type I fibre og antall type II fibre som prosent (%) av antall muskelfibre analysert. Gjennomsnittlig antall fibre analysert for muskelfibertype og muskelfiberareal:  $537 \pm 121$ .



*Figur 6: Merking mot muskelfibertype I vises ved en klar grønnfarge. Muskelfibertype II ble ikke merket og er derfor fargeløs (mørk).*

### 3.7.5 Kvantifisering av myokjerner

Snittet som ble brukt under 3.7.4, ble også brukt til analyse av myokjerner, derav samme immunhistokjemiske metode (for detaljert protokoll, se vedlegg 4). Deretter ble mikroskopet brukt til å finne 50 fibre av muskelfibertype I og II, og dette ble tatt bilde av gjennom et 10x objektiv. Myokjernen måtte ligge innenfor dystrofin merkingen for å bli kvantifisert som en myokjerne (Figur 7). I noen tilfeller ble det også observert myokjerner midt i fiberen, disse ble også telt. Myokjernene presenteres som antall myokjerner per type I muskelfiber og per type II muskelfiber. Det ble telt 50 type I og 50 type II fibre for analyse av antall myokjerner.



*Figur 7: Merking mot muskelfibertype I som vises ved en klar grønnfarge og myokjerner (blå prikker). Cellemembranen ble merket mot dystrofin og vises med en rød farge. Hvite piler viser eksempler på myokjerner som ligger innenfor dystrofin merkingen (cellemembranen).*

### **3.8 Statistikk**

I oppgaven har det blitt undersøkt forskjeller mellom grupper, men også innad i grupper før og etter treningsintervensjon. Enveis ANOVA med tukey's post hoc test ble benyttet for å undersøke forskjeller mellom tre grupper. Paret og uparet t-test ble brukt for å finne forskjeller innad og mellom grupper før og etter treningsintervensjonen.

Signifikansnivå er satt til  $p < 0,05$  for alle analysene. Dataene presenteres som gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik. Figurene viser individuelle resultater, gjennomsnitt og standardavvik. Utregninger ble gjennomført i Prism® 7 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA).





## 4. Resultater

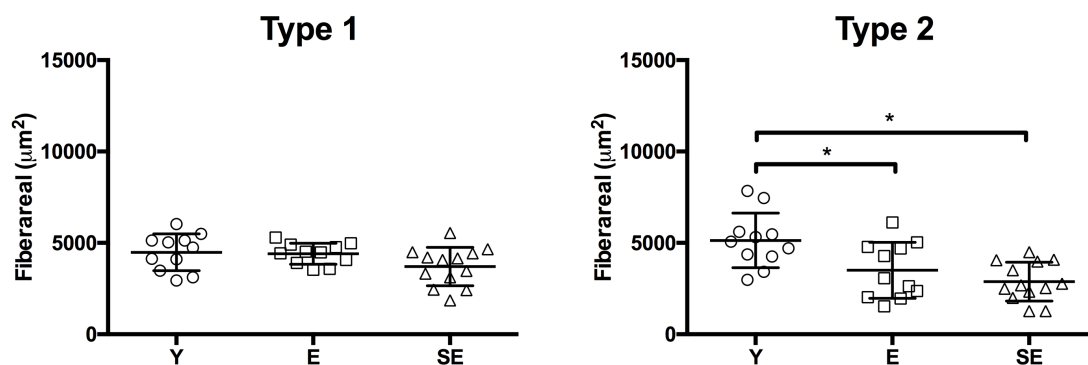
### 4.1 Baselinemålinger

#### 4.1.1 Karakteristikk

Det var forskjell i alder mellom Y ( $26\pm 3$  år), E ( $74\pm 3$  år) og SE ( $87\pm 8$  år) ( $P<0,05$ ). Det var ingen forskjell i vekt og fettprosent mellom gruppene. Fettfri masse var signifikant høyere hos Y sammenlignet med SE ( $P<0,05$ ). Det var signifikant forskjell i muskelstyrke i isometrisk kneekstensjon mellom Y ( $460\pm 111$  N), E ( $318\pm 83$  N), og SE ( $218\pm 71$  N) ( $P<0,05$ ) (se tabell 3 fra metodekapitlet).

#### 4.1.2 Fiberareal og fibertype

Fiberarealet i type I fibre var ikke forskjellig mellom gruppene. Fiberarealet i type II fibre var høyere hos Y ( $5384\pm 1576\mu\text{m}^2$ ) sammenlignet med både E ( $3500\pm 1535\mu\text{m}^2$ ) og SE ( $2882\pm 1067\mu\text{m}^2$ ) ( $P<0,05$ ; Figur 8). Det var ingen signifikante forskjeller i fiberareal mellom E og SE selv om SE hadde 15-25% mindre type I og II fibre enn E.



Figur 8: Fiberareal i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE).  
\*, signifikant forskjell mellom gruppene. ( $P<0,05$ ).

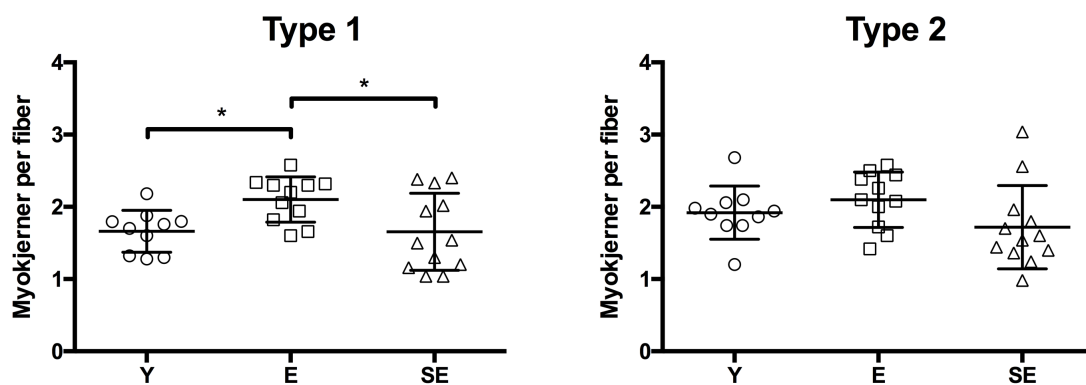
Fibertypefordelingen var ikke forskjellig mellom gruppene, og det var en svak overvekt av type II fibre i alle grupper (53-57 %) (Tabell 5).

Tabell 5: Muskelfibertypefordeling av antall type I og type II muskelfibre som prosent (%) av antall muskelfibre analysert.

	Yngre (Y)		Eldre (E)		Skrøpelige eldre (SE)	
	Type 1	Type 2	Type 1	Type 2	Type 1	Type 2
Fibertypefordeling (%)	45±13	55±13	47±17	53±17	43±17	57±17

#### 4.1.3 Myokjerner

Det var høyere antall myokjerner i type I fibre hos E ( $2,1 \pm 0,3$  myokjerner per fiber) sammenlignet med både Y ( $1,6 \pm 0,3$  myokjerner per fiber) og SE ( $1,6 \pm 0,5$  myokjerner per fiber) ( $P < 0,05$ ). Det var ingen forskjell i antall myokjerner i type II fibre mellom gruppene (Figur 9).



Figur 9: Antall myokjerner per fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skjøpelige eldre (SE). \*, signifikant forskjell mellom gruppene ( $P < 0,05$ )

#### 4.1.4 Kjernedomene

Kjernedomenet ( $\mu\text{m}^2/\text{myokjerner}$ ) i type I fibre var høyere hos Y sammenlignet med E ( $P < 0,05$ ). Kjernedomenet i type II fibre var høyere hos Y sammenlignet med E og SE ( $P < 0,05$ ; Tabell 6).

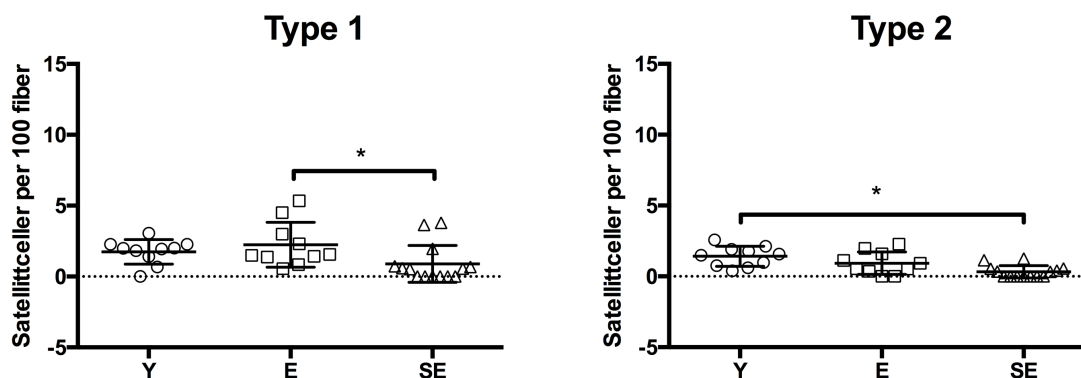
Tabell 6: Kjernedomene ( $\mu\text{m}^2$ ) i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE)

	Yngre		Eldre		Skrøpelige eldre	
	Type 1	Type 2	Type 1	Type 2	Type 1	Type 2
Kjernedomene	2858±571 <sup>a</sup>	2803±747 <sup>ab</sup>	2145±458	1625±496	2310±645	1824±393

<sup>a</sup>=signifikant forskjell mellom yngre og eldre. <sup>b</sup>=signifikant forskjell mellom yngre og skrøpelige eldre. ( $p < 0,05$ )

#### 4.1.5 Satellittceller

Antall SC rundt type I fibre var høyere hos E sammenlignet med SE (2,24±1,58 vs 0,89±1,30 SC per 100 fibre). Antall SC rundt type II fibre var høyere hos Y sammenlignet med SE (1,41±0,71 vs 0,32±0,42 SC per 100 fibre;  $P < 0,05$ ) (Figur 10).

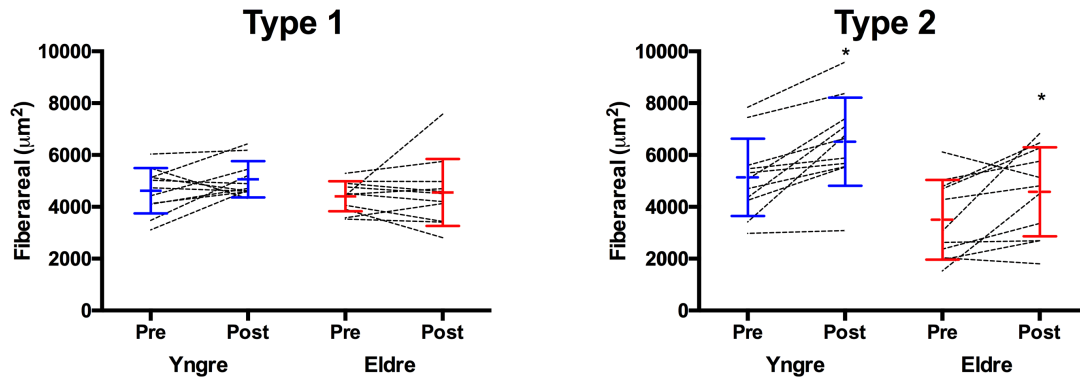


Figur 10: Antall satellittceller rundt fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). \*, signifikant forskjell mellom gruppene ( $P < 0,05$ )

## 4.2 Treningseffekt

### 4.2.1 Fiberareal og fibertype

Det var ingen endring i fiberareal i type I fibre som følge av treningsintervensjonen hos Y og E. Fiberarealet i type II fibre hos E økte med 20% (fra  $3500 \pm 1535$  til  $4578 \pm 1718 \mu\text{m}^2$ ) og Y økte med 14% (fra  $5135 \pm 1491$  til  $6511 \pm 1698$ ) som følge av treningsintervensjonen ( $P < 0,05$ ; Figur 12).

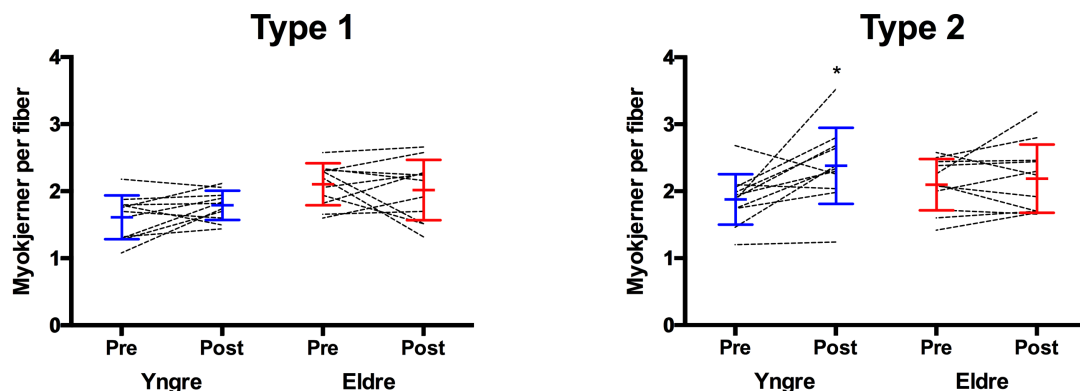


Figur 11: Fiberareal i fibertype I og II hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. \*, signifikant endring fra pre til post ( $P < 0,05$ )

Det var ingen endring i fibertypfordelingen som følge av treningsintervensjonen.

### 4.2.2 Myokjerner

Det var ingen endring i antall myokjerner i type I fibre hos Y og E som følge av intervensjonen. Antall myokjerner i type II fibre hos Y økte fra  $1,9 \pm 0,4$  til  $2,4 \pm 0,6$  ( $P < 0,05$ ), mens ingen endring ble observert hos E (Figur 13).



Figur 12: Antall myokjerner per type I og type II fiber hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. \*, signifikant endring fra til post ( $P < 0,05$ ).

### 4.2.3 Kjernedomene

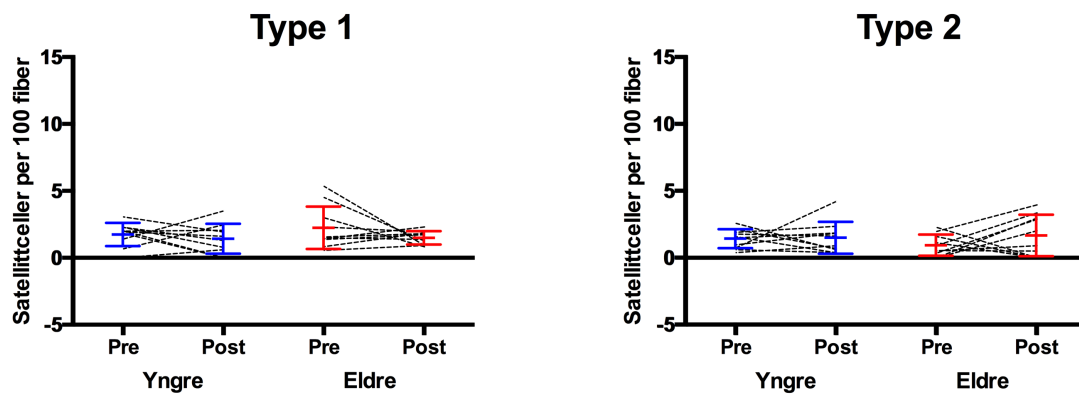
Det var ingen endring i kjernedomenet i type I og II fibre som følge av treningsintervensjonen, verken hos E eller Y (tabell 7).

Tabell 7: Kjernedomene (um<sup>2</sup>) i muskelfibertype I og II, før (pre) og etter (post) treningsintervensjon hos yngre (Y) og eldre (E).

Fibertype	Yngre				Eldre			
	I		II		I		II	
	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
Kjernedomene	2858±571	2841±281	2803±747	2704±339	2145±458	2308±587	1625±496	2069±589

### 4.2.4 Satellittceller

Det var ingen endring i antall SC rundt fibertype I og II hos Y og E etter 12 uker styrketrening (Figur 14).



Figur 13: Antall satellittceller per fibertype I og II hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen.



## 5. Diskusjon

Hensikten med studien var å sammenligne fiberareal, myokjerner og satellittceller hos unge, eldre og skrøpelige eldre. I tillegg ville vi undersøke hvordan en styrketreningsperiode påvirket disse variablene hos unge og eldre. Det var ingen forskjell i fiberarealet i type I fibre mellom gruppene, men type II fibre var større hos yngre sammenlignet med eldre og skrøpelige eldre. Fibertypefordelingen var ikke forskjellig mellom gruppene og det var en svak overvekt av type II fibre i alle gruppene. Antall myokjerner i type I fibre var høyere hos eldre sammenlignet med både yngre og skrøpelige eldre, mens antall myokjerner i type II fibre var likt mellom gruppene. Antall SC rundt type I fibre var høyere hos eldre sammenlignet med skrøpelige eldre, mens antall SC rundt type II fibre var høyere hos yngre sammenlignet med skrøpelige eldre. Som følge av 12 uker styrketrening var det ingen endring i fiberarealet i type I fibre hos gruppene, mens fiberarealet i type II fibre økte hos både eldre og yngre. Fibertypefordelingen endret seg ikke hos noen av gruppene. Det var ingen endring i antall myokjerner i type I fibre, mens antall myokjerner i type II fibre økte kun hos yngre som følge av styrketreningsperioden. Det ble ikke observert noen endring i antall satellittceller rundt type I og type II fibre etter 12 uker med styrketrening.



## 5.1 *Fiberareal og fibertypefordeling*

### 5.1.1 *Baselinemålinger*

Det er bred enighet om at reduksjonen i muskelmasse som følge av aldring skyldes atrofi i type II muskelfibrene, og denne studien støtter opp om dette da det ble observert 53% høyere fiberareal i type II fibre hos yngre sammenlignet med eldre. Denne forskjellen samsvarer godt med andre studier (Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014). Svært få har undersøkt fiberarealet hos de aller eldste (>85 år), og i denne studien ble det observert 92% høyere fiberareal i type II fibre hos yngre sammenlignet med skrøpelige eldre. Dette samsvarer med Andersen (2003) som observerte 133% høyere fiberareal i type II fibre hos yngre sammenlignet med skrøpelige eldre (85-97 år). Selv om vi ikke fant en *signifikant* forskjell, var fiberarealet i type II fibre 25% høyere hos eldre sammenlignet med skrøpelige eldre. Dette kan indikere at skrøpelige eldre opplever en kraftigere reduksjon i fiberarealet i type II fibre enn eldre, muligens som følge av et enda lavere aktivitetsnivå. Vi observerte ingen *signifikant* forskjell i fiberarealet i type I fibre mellom gruppene, og dette samsvarer med de fleste studier (Petrella et al., 2006; Verdijk et al., 2007). I tidligere studier har imidlertid personene i den eldre gruppen ofte vært mellom 70-85 år. Kryger & Andersen (2007) undersøkte størrelsen på type I fibre hos personer mellom 85-97 år, og selv om man ikke kan sammenligne resultater fra ulike studier direkte, er det likevel interessant at fiberarealet i type I fibre fra Kryger & Andersen (2007) var betydelig lavere ( $2770\mu\text{m}^2$ ) enn den eldre gruppen ( $5471\mu\text{m}^2$ ) (70-86 år) fra Verdijk et al (2007). Selv om vi ikke så en *signifikant* forskjell i vår studie var fiberarealet i type I fibre hos eldre 19% høyere enn skrøpelige eldre, og dette kan indikere at det skjer en atrofi av type I fibre først ved veldig høy alder. I vår studie var det store individuelle forskjeller. Fiberarealet i type I fibre varierte fra  $1851\mu\text{m}^2$  til  $6037\mu\text{m}^2$ , og fra  $1265\mu\text{m}^2$  til  $7847\mu\text{m}^2$  i type II fibre. Det var også store forskjeller innad i gruppene, fiberarealet i type II fibre hos eldre varierte fra  $1528\mu\text{m}^2$  til  $6121\mu\text{m}^2$ . Noe oppsiktsvekkende har det blitt observert en økning i fiberstørrelse i både type I og type II fibre hos menn i alderen 76-80 år i en longitudinal studie som pågikk over 11 år hvor mennene var 69 år ved starten av studiet (Aniansson, Grimby, & Hedberg, 1992). En mulig forklaring på dette kan være at musklene kompenserer for tapet av muskelmasse ved å øke størrelsen på fibre. Fiberarealet var generelt lavere i vår studie sammenlignet med flere andre studier (Bellamy et al., 2014; Verdijk et al., 2014). I vår studie var det omtrent lik fordeling av

både menn og kvinner, mens det var kun menn i Verdijk sin studie, og dette kan delvis forklare forskjellene i fiberareal da det er vist at type I og type II fibre i *m.vastus lateralis* er henholdsvis 19% og 59% større hos menn enn hos kvinner (Haizlip, Harrison, & Leinwand, 2015).

Fibertypefordelingen var ikke forskjellig mellom gruppene og ble karakterisert ved en svak overvekt av type II fibre i alle gruppene. Det var imidlertid stor variasjon i fibertypefordelingen innad i gruppene; Yngre varierte fra 30-70%, eldre fra 26-92% og skrøpelige eldre fra 18-70% andel type I fibre. Det er normalt at fibertypefordelingen kan variere stort mellom ulike individer. Det er i andre studier rapportert at andelen type I fibre i muskelbiopsier tatt fra *m.vastus lateralis* har variert fra 16,5 til 97,4% hos unge menn og kvinner (Staron et al., 2000). Store individuelle variasjoner og økende andel hybridfibre hos svært gamle er noen faktorer som gjør det vanskelig å vite hvordan fibertypefordelingen påvirkes. Ved gel elektroforese av enkeltfibre er det rapportert at nesten 1/3 av fibre hos svært gamle uttrykker både MHC-1 og MHC-II (Andersen, 2003), og til sammenligning er det funnet 1-5% hybridfibre hos yngre (Andersen, Terzis, & Kryger, 1999). Vi observerte også tydelig gruppering av fibre hos eldre og skrøpelige eldre hvor type I og type II fibre samlet seg på hvert sitt område. Dette skyldes mest sannsynlig tap av motoriske enheter tilknyttet type II fibre og påfølgende reinnerving av type I motonevroner (Lexell et al., 1986).

### **5.1.2 Treningseffekt**

Det var noe overraskende at det ikke ble observert økning i fiberarealet i type I fibre hos yngre, da dette er observert tidligere (Bellamy et al., 2014; Mero et al., 2013). Kombinasjonen av få sett (1-2) de tre første ukene og én submaksimal økt hver uke gjennom hele perioden har muligens resultert i et treningsstimuli som ikke har vært tilstrekkelig for hypertrofi av type I fibre. Styrketreningsintervensjonen i studien av Bellamy et al (2014) som medførte signifikant hypertrofi av type I fibre hadde til sammenligning lengre varighet (16 uker), flere økter (4 per uke) og flere serier (2-4). I vår studie var det heller ingen endring i type I fibre hos eldre som følge av treningsintervensjonen, og selv om det er blitt observert økning tidligere (Verdijk et al., 2014) viser de fleste studier ingen endring (Mero et al., 2013; Verdijk et al., 2009). Vi så som forventet en økning i fiberarealet i type II fibre hos både yngre (14%) og eldre (20%) som følge av treningsintervensjonen. Økningen hos gruppene samsvarer med

andre studier (Bellamy et al., 2014; Hikida et al., 1998; Mero et al., 2013; Verdijk et al., 2009; Verdijk et al., 2014). I vår studie var det også store variasjoner innad i gruppene. I type II fibre hos eldre ble det observert alt fra -19% reduksjon til 66% økning i fiberareal som følge av styrketreningsperioden. Det er normalt med store individuelle forskjeller, det er for eksempel observert alt fra -2% reduksjon til 59% økning i *tverrsnittsareal* i m. biceps brachii etter 12 uker styrketrening (Hubal et al., 2005). Basert på våre resultater ser vi at styrketrening er en effektiv metode for å motvirke aldersrelatert atrofi som oppstår i type II fibre. Det er vist at type II fibre produserer større kraft og har en høyere kontraksjonshastighet enn type I fibre (Malisoux, Francaux, Nielens, & Theisen, 2006; Widrick, Stelzer, Shoepe, & Garner, 2002), derfor vil hypertrofi av type II fibre være svært viktig for eldre, fordi det vil øke ”power” og redusere risikoen for å falle.

## **5.2 Myokjerner og kjernedomene**

### **5.2.1 Baselinemålinger**

I vår studie ble det observert flere myokjerner i type I fibre hos eldre sammenlignet med yngre og skrøpelige eldre. Dette medførte også et større kjernedomene hos yngre siden fiberarealet i type I fibre ikke var forskjellig mellom yngre og eldre. Flere myokjerner hos eldre enn yngre samsvarer med Verdijk et al (2007), men ikke med Verdijk et al (2014). Det er i tidligere studier rapportert at aldring fører til uendret (Dreyer et al., 2006; Petrella et al., 2006) eller økt (Kadi, Charifi, et al., 2004) mengde myokjerner, og konstant (Vassilopoulos et al., 1977) eller redusert (Petrella et al., 2006) kjernedomene. Disse studiene har imidlertid ikke tatt høyde for fibertypespesifikke forskjeller. Siden det er vist at kjernedomenet er lavere i type I fibre enn i type II fibre som følge av flere myokjerner i type I fibre (Bruusgaard, Liestøl, Ekmark, Kollstad, & Gundersen, 2003), og fibertypesammensetningen kan være forskjellig mellom unge og eldre (Ciciliot et al., 2013; Verdijk et al., 2007), kan dette delvis forklare de sprikende resultatene. Analyse av myokjerner er imidlertid ikke så enkelt. De fleste studier som har undersøkt mengden myokjerner hos mennesker har hovedsakelig benyttet 2D tverrsnittsanalyser og ikke tatt høyde for ulikheter mellom kjønn og fiberstørrelse (Cristea et al., 2010). Det er rapportert at myokjerner hos eldre "forlenges" og har en annen form enn hos yngre, og dette kan ha ført til en overestimert av antall myokjerner i tidligere studier (Cristea et al., 2010). Det er foreslått at siden reduksjonen i fiberstørrelse som følge av aldring primært berører type II fibre, vil endringer i antall myokjerner hovedsakelig ramme type II fibre (Verdijk et al., 2014), men vi observert ingen forskjell i antall myokjerner i type II fibre mellom gruppene. I kontrast til dette oppdaget Verdijk et al (2007) flere myokjerner i type II fibre hos eldre sammenlignet med yngre. Vår studie støtter teorien om at aldring fører til redusert kjernedomene da eldre hadde et lavere kjernedomene i både type I og type II fibre sammenlignet med yngre. Dette ser ut til å være et resultat av at eldre hadde større mengde myokjerner i type I fibre enn yngre, mens det økte kjernedomenet i type II fibre hos yngre ser ut til og skyldes større fiberareal hos yngre sammenlignet med eldre og skrøpelige eldre. Redusert kjernedomene i type II fibre hos eldre har blitt observert tidligere (Cristea et al., 2010) og dette reflekterer muligens en svekket translasjonskapasitet som følge av aldring (Mosoni, Mirand, Houlier, & Arnal, 1993).

Det var generelt færre myokjerner og påfølgende lavere kjernedomene i vår studie sammenlignet med hva andre har rapportert (Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014), og det er uklart hvorfor vi fikk lavere verdier. Ved større tykkelse på snittene fra muskelbiopsien vil man naturligvis kunne observere flere myokjerner, men tykkelsen i vår studie var ikke lavere enn i andre studier (J. Nederveen et al., 2015; Verdijk et al., 2014). Hvis man tar utgangspunkt i at antall myokjerner samsvarer med muskelfiberstørrelse (Vassilopoulos et al., 1977) kan dette delvis forklare forskjellen i antall myokjerner da fiberarealet i vår studie var betydelig lavere i type I og type II fibre hos både yngre og eldre sammenlignet med andre studier (Verdijk et al., 2007; Verdijk et al., 2014).

### **5.2.2 Treningseffekt**

Antall myokjerner i type I fibre endret seg ikke hos yngre eller eldre som følge av treningsintervensjonen, og siden antall myokjerner ser ut til å korrelere med endringer i muskelfiberstørrelsen (Vassilopoulos et al., 1977), var ikke dette resultatet veldig overraskende da størrelsen på type I fibre ikke endret seg hverken hos yngre eller eldre. Fraværende endringer i antall myokjerner og fiberareal i type I fibre hos eldre etter en styrketreningsperiode samsvarer med studien av Verdijk (2009). Vi observerte en økning i antall myokjerner i type II fibre *kun* hos yngre, selv om vi også så en økning i fiberareal hos eldre (20%), men hypertrofi av muskelfibre uten økning i antall myokjerner er også observert tidligere (Verdijk et al., 2014). Det lave kjernedomenet i type II fibre hos eldre ved baseline kan tyde på at de har en overkapasitet av myokjerner, og det er kanskje ikke nødvendig med addering av myokjerner for å øke størrelsen på type II fibre tilbake til ”normal” størrelse. Det er for eksempel hevdet at økning i antall myokjerner er nødvendig først ved >26% økning i fiberareal (Kadi, Schjerling, et al., 2004), og siden eksperimenter viser at transkripsjonsaktiviteten hos individuelle myokjerner ikke er maksimal (Rennie, Wackerhage, Spangenburg, & Booth, 2004), er det mulig at hypertrofien har blitt dekket ved at eksisterende myokjerner har økt proteinsyntesen. Fraværende endringer i antall myokjerner i type II fibre hos eldre kan også skyldes store individuelle variasjoner i responsen til styrketrening. Petrella et al (2006) benyttet cluster-analyse på bakgrunn av % økning i fiberareal etter 16 uker styrketrening, og så at de med størst hypertrofi også hadde størst økning i antall myokjerner.

## 5.3 Satellittceller

### 5.3.1 Baselinemålinger

Vi fant ingen forskjell i antall SC rundt type I fibre mellom yngre og eldre, og dette støtter teorien om at aldring ikke endrer mengden SC rundt type I fibre (Verdijk et al., 2014). Men noe overraskende observerte vi færre SC rundt type I fibre hos skrøpelige eldre sammenlignet med eldre. Hos 6 av deltagerne fra skrøpelige eldre fant vi ingen satellittceller rundt type I fibre og dette ser ut til å være hovedårsaken til forskjellen. Så vidt undertegnede kjenner til er det ingen studier som har undersøkt mengden SC hos de aller eldste (>85 år). Derfor kan disse resultatene tyde på at det også forekommer endringer i mengden SC i type I fibre, men at dette skjer først ved veldig høy alder. Vi vet at bevegelse i form av både utholdenhetstrening- og styrketrening kan stimulere til aktivering og prolifering av SC (Bazgir, Fathi, Valojerdi, Mozdziak, & Asgari, 2017; Ceccarelli, Benedetti, Arcari, Carubbi, & Galli, 2017), mens muskelinaktivitet kan redusere prolifering av SC (Schultz, 1984). Skrøpelige eldre har mest sannsynlig et veldig lavt aktivitetsnivå på grunn av funksjonsnedsettelse, og dette kan delvis forklare at det ble observert færre satellittceller sammenlignet med eldre. En annen forklaring kan være aldersrelaterte forandringer som oppstår i satellittcellenisjen, spesielt i bindevevet. Som følge av aldring produserer fibroblastene fragmenterte kollagenfibre som ikke klarer å holde bindevevet sammen (Fisher, Varani, & Voorhees, 2008). ECM reduseres som følge av at MMP-er bryter ned unormalt mye kollagen og andre komponenter av ECM, som basal lamina (Rullman et al., 2007; Varani et al., 2004). Siden basal lamina beskytter satellittcellen, kan endringer her forstyrre satellittcellenisjen og dermed aktivering og prolifering av SC (S Hikida, 2011).

Flere studier de siste årene har vist en aldersrelatert reduksjon i antall SC rundt type II fibre (J. P. Nederveen et al., 2016; Verdijk et al., 2007), og i samsvar med dette observerte vi færre SC hos skrøpelige eldre sammenlignet med yngre. Hos 7 av deltagerne fra skrøpelige eldre observerte vi *ingen* satellittceller, og dette virker å være hovedårsaken til den observerte forskjellen mellom yngre og skrøpelige eldre. Men noe overraskende så vi ingen forskjell mellom yngre og eldre. Mulige årsaker til dette diskuteres senere.

### 5.3.2 Treningseffekt

Det er tidligere blitt observert en økning i antall SC rundt både type I og type II fibrene hos unge etter en styrketreningsintervensjon (Bellamy et al., 2014; Farup et al., 2014), men dette ble ikke observert i vår studie. Hos eldre har flere studier vist en økning i antall satellittceller rundt type II fibrene som følge av en styrketreningsperiode (Verdijk et al., 2009; Verdijk et al., 2014), men vi så ingen økning i hverken type I eller type II fibrene. Styrketreningen i vår studie bestod av 2-4 serier per øvelse og motstanden varierte fra 12 til 8RM. Denne belastningen har vist seg å være tilstrekkelig for aktivering av satellittceller tidligere (J. Nederveen et al., 2015), derfor har det mest sannsynlig skjedd en aktivering i vår studie også. Det er observert økt antall satellittceller hos unge og eldre menn 24 timer etter en akutt styrketreningsøkt (Dreyer et al., 2006), og mengden satellittceller har vist seg å øke med 22, 40 og 27% etter henholdsvis 4, 8 og 16 uker med styrketrening (Kadi et al., 2005). Det spekuleres derfor i at antall satellittceller når en topp relativt tidlig i en treningsperiode når prolifereringen er som størst (S. Roth et al., 2001), og vi kan ikke utelukke at dette har skjedd i vår studie. Type II fibrene økte i størrelse hos både yngre og eldre som følge av styrketreningsperioden i vår studie, men vi så ingen forskjell i antall SC, og i litteraturen spekuleres det i om SC er nødvendig for hypertrofi. McCarthy et al. (2011) fjernet pax7 positive SC hos mus, men observerte likevel hypertrofi på lik linje med kontrollmus som hadde normal mengde SC etter 2 uker overbelastning. Nylig ble imidlertid de samme eksperimentene repetert av Egner et al. (2016) og resultatet var stikk motsatt. Hypertrofi var fraværende i mus uten SC, og forfatterne konkluderer med at addering av myokjerner fra SC ser ut til å være nødvendig for *de novo*<sup>3</sup> hypertrofi. I en annen studie så de at ved å blokkere for sammensmelting av SC til myofiberen skjedde det ingen hypertrofi (Goh & Millay, 2017), og lavere mengde SC er assosiert med redusert hypertrofi hos eldre (Ballak et al., 2015). Disse studiene tyder på at SC spiller en sentral rolle ved hypertrofi.

Antall satellittceller i vår studie var generelt lavere ved både baseline og etter en styrketreningsperiode sammenlignet med andre studier. Hos de fleste forsøkspersonene i vår studie ble hele muskelsnittet benyttet for å oppnå størst mulig sensitivitet ved analyse av SC, og totalt antall telte fibre (type I og type II) var hovedsakelig mellom

---

<sup>3</sup> Starter fra begynnelsen av eller nyoppstått

350-450 fibre. Kvaliteten og størrelsen på snittene varierte imidlertid noe mellom deltagerne. Hos fem av deltagerne ble det for eksempel telt 44-85 type I fibre, og selv om dette overstiger minimumsanbefalingen (50 type I fibre) for analyse av SC, er det vist at korrelasjonskoeffisienten forbedres ved økende antall telte fibre (A. L. Mackey et al., 2009). I noen tilfeller ble deler av snittet ekskludert som følge av at fibre hadde en unormal form eller ufullstendig/skadet cellemembran, og dette kan også ha påvirket resultatet da Mackey (2009) rapporterte at noen deler av et snitt kan inneholde betydelig flere satellittceller enn andre. Det er vist at deinnerverte og nylig reinnerverte muskelfibre uttrykker NCAM og disse kalles for NCAM-positive fibre (Covault & Sanes, 1986). Det er tidligere blitt rapportert om flere NCAM-positive fibre hos eldre rotter sammenlignet med yngre rotter (Larkin, Kuzon, & Halter, 2003). Flere muskelsnitt i vår studie, spesielt hos eldre og skrøpelige eldre, hadde mange SC i tilknytning til NCAM-positive fibre, og disse SC ble konsekvent ikke telt i analysene fra starten av. Det er mulig at ekskludering av disse fibre kan ha bidratt til den generelt lave mengden SC observert i vår studie. Det er usikkert hvorvidt andre studier har telt SC tilknyttet disse fibre, derfor er det svært viktig med klare kriterier ved analyser av SC. Vi benyttet antistoff mot NCAM som markør for identifisering av satellittcellene, og selv om det er vist at NCAM og Pax7 merker >95% av alle satellittceller hos både unge og eldre (McKay, Toth, Tarnopolsky, & Parise, 2010; Verdijk et al., 2007), er det blitt observert små forskjeller mellom disse markørene (A. L. Mackey et al., 2009). NCAM har vist seg å merke høyere (A. L. Mackey et al., 2009), men også lavere (Verdijk et al., 2007) antall SC sammenlignet med Pax7. Noe av grunnen til ulikhetene kan være at forskjellige membranproteiner i satellittcellen uttrykkes i ulike faser av celledyklusen (S Hikida, 2011). Bruk av én markør for å identifisere SC hos mennesker kan derfor underestimere den reelle mengden, og det er mulig at dobbeltmerking med både NCAM og Pax7 kunne medført et høyere antall SC i vår studie (Snijders et al., 2015).





## 6. Konklusjon

Hensikten med denne studien var å sammenligne fiberareal, myokjerner og satellittceller hos yngre, eldre og skrøpelige eldre, samt effekten av en styrketreningsperiode på de samme variablene hos yngre og eldre. I samsvar med vår hypotese var størrelsen på type II fibre lavere hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre, mens type I fibre var ikke forskjellig mellom gruppene. Det var flere myokjerner i type I fibre hos eldre sammenlignet med yngre, men noe overraskende hadde skrøpelige eldre færre myokjerner enn eldre. Antall myokjerner i type II fibre var ikke forskjellig mellom gruppene. I samsvar med vår hypotese var kjernedomenet i type I fibre lavere hos eldre sammenlignet med yngre, og kjernedomenet i type II fibre var lavere hos eldre og skrøpelige eldre sammenlignet med yngre. I tråd med vår hypotese hadde yngre flere satellittceller rundt type II fibre sammenlignet med skrøpelige eldre, men det var overraskende at vi ikke så en forskjell mellom yngre og eldre.

12 uker styrketrening medførte en økning i fiberarealet *kun* i type II fibre hos både yngre og eldre. Hos eldre ble hypertrofien muligens dekket ved at eksisterende myokjerner økte proteinsyntesen, mens hos yngre skyldtes det mest sannsynlig en tilførsel av nye myokjerner. I motsetning til vår hypotese var det ingen endring i antall satellittceller som følge av 12 uker styrketrening.

## Referanser

- Allen, D. L., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (1999). Myonuclear domains in muscle adaptation and disease. *Muscle & nerve*, 22(10), 1350-1360.
- Andersen, J. L. (2003). Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 13(1), 40-47.
- Andersen, J. L., Terzis, G., & Kryger, A. (1999). Increase in the degree of coexpression of myosin heavy chain isoforms in skeletal muscle fibers of the very old. *Muscle & nerve*, 22(4), 449-454.
- Anderson, J. E., & Wozniak, A. C. (2004). Satellite cell activation on fibers: modeling events in vivo—an invited review. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 82(5), 300-310.
- Angulo, J., El Assar, M., & Rodríguez-Mañas, L. (2016). Frailty and sarcopenia as the basis for the phenotypic manifestation of chronic diseases in older adults. *Molecular aspects of medicine*, 50, 1-32.
- Aniansson, A., Grimby, G., & Hedberg, M. (1992). Compensatory muscle fiber hypertrophy in elderly men. *Journal of Applied Physiology*, 73(3), 812-816.
- Ballak, S. B., Jaspers, R. T., Deldicque, L., Chalil, S., Peters, E. L., de Haan, A., & Degens, H. (2015). Blunted hypertrophic response in old mouse muscle is associated with a lower satellite cell density and is not alleviated by resveratrol. *Experimental gerontology*, 62, 23-31.
- Bauer, J., & Sieber, C. (2008). Sarcopenia and frailty: a clinician's controversial point of view. *Experimental gerontology*, 43(7), 674-678.
- Bazgir, B., Fathi, R., Valojerdi, M. R., Mozdziak, P., & Asgari, A. (2017). Satellite cells contribution to exercise mediated muscle hypertrophy and repair. *Cell Journal (Yakhteh)*, 18(4), 473.
- Bean, J. F., Leveille, S. G., Kiely, D. K., Bandinelli, S., Guralnik, J. M., & Ferrucci, L. (2003). A comparison of leg power and leg strength within the InCHIANTI study: which influences mobility more? *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 58(8), M728-M733.
- Bellamy, L. M., Joannis, S., Grubb, A., Mitchell, C. J., McKay, B. R., Phillips, S. M., . . . Parise, G. (2014). The acute satellite cell response and skeletal muscle hypertrophy following resistance training. *PloS one*, 9(10), e109739.
- Bischoff, R. (1994). The satellite cell and muscle regeneration. *Myology*, 1, 97-118.
- Bruusgaard, J., Liestøl, K., Ekmark, M., Kollstad, K., & Gundersen, K. (2003). Number and spatial distribution of nuclei in the muscle fibres of normal mice studied in vivo. *The Journal of physiology*, 551(2), 467-478.

Cadore, E. L., Casas-Herrero, A., Zambom-Ferraresi, F., Idoate, F., Millor, N., Gómez, M., . . . Izquierdo, M. (2014). Multicomponent exercises including muscle power training enhance muscle mass, power output, and functional outcomes in institutionalized frail nonagenarians. *Age*, 36(2), 773-785.

Casas, H. Á., Cadore, E. L., Martínez, V. N., & Izquierdo, R. M. (2014). Physical exercise in the frail elderly: an update. *Revista española de geriatría y gerontología*, 50(2), 74-81.

Ceccarelli, G., Benedetti, L., Arcari, M. L., Carubbi, C., & Galli, D. (2017). Muscle stem cell and physical activity: what point is the debate at? *Open Medicine*, 12(1), 144-156.

Cheek, D. B. (1985). The control of cell mass and replication. The DNA unit—a personal 20-year study. *Early human development*, 12(3), 211-239.

Chou, C.-H., Hwang, C.-L., & Wu, Y.-T. (2012). Effect of exercise on physical function, daily living activities, and quality of life in the frail older adults: a meta-analysis. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, 93(2), 237-244.

Ciciliot, S., Rossi, A. C., Dyar, K. A., Blaauw, B., & Schiaffino, S. (2013). Muscle type and fiber type specificity in muscle wasting. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 45(10), 2191-2199.

Clark, D. J., Patten, C., Reid, K. F., Carabello, R. J., Phillips, E. M., & Fielding, R. A. (2010). Impaired voluntary neuromuscular activation limits muscle power in mobility-limited older adults. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 65(5), 495-502.

Conboy, I. M., Conboy, M. J., Wagers, A. J., & Girma, E. R. (2005). Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature*, 433(7027), 760.

Conboy, I. M., & Rando, T. A. (2005). Aging, stem cells and tissue regeneration: lessons from muscle. *Cell cycle*, 4(3), 407-410.

Covault, J., & Sanes, J. R. (1986). Distribution of N-CAM in synaptic and extrasynaptic portions of developing and adult skeletal muscle. *The Journal of cell biology*, 102(3), 716-730.

Cristea, A., Qaisar, R., Edlund, P. K., Lindblad, J., Bengtsson, E., & Larsson, L. (2010). Effects of aging and gender on the spatial organization of nuclei in single human skeletal muscle cells. *Aging cell*, 9(5), 685-697.

Cruz-Jentoft, A. J., Baeyens, J. P., Bauer, J. M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., . . . Schneider, S. M. (2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and ageing*, 39(4), 412-423.

Degens, H. (2010). The role of systemic inflammation in age-related muscle weakness and wasting. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 20(1), 28-38.

Delmonico, M. J., Harris, T. B., Lee, J. S., Visser, M., Nevitt, M., Kritchevsky, S. B., . . . Newman, A. B. (2007). Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance,

- and functional impairment with aging in older men and women. *Journal of the American Geriatrics Society*, 55(5), 769-774.
- Dreyer, H. C., Blanco, C. E., Sattler, F. R., Schroeder, E. T., & Wiswell, R. A. (2006). Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle & nerve*, 33(2), 242-253.
- Edgerton, V. R., & Roy, R. R. (1991). Regulation of skeletal muscle fiber size, shape and function. *Journal of biomechanics*, 24, 123-133.
- Evans, W. J. (1995). What is sarcopenia? *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 50(Special\_Issue), 5-8.
- Fardeau, M., & Tome, F. (1981). Non-neoplastic disorders of the skeletal muscle. *Electron Microscopy in Human Medicine*, 4, 257-319.
- Farup, J., Rahbek, S. K., Riis, S., Vendelbo, M. H., de Paoli, F., & Vissing, K. (2014). Influence of exercise contraction mode and protein supplementation on human skeletal muscle satellite cell content and muscle fiber growth. *Journal of Applied Physiology*, 117(8), 898-909.
- Fisher, G. J., Varani, J., & Voorhees, J. J. (2008). Looking older: fibroblast collapse and therapeutic implications. *Archives of dermatology*, 144(5), 666-672.
- Flück, M., Chiquet, M., Schmutz, S., Mayet-Sornay, M.-H., & Desplanches, D. (2003). Reloading of atrophied rat soleus muscle induces tenascin-C expression around damaged muscle fibers. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 284(3), R792-R801.
- Fried, L. P., Tangen, C. M., Walston, J., Newman, A. B., Hirsch, C., Gottdiener, J., . . . Burke, G. (2001). Frailty in older adults evidence for a phenotype. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 56(3), M146-M157.
- Frontera, W. R., Hughes, V. A., Fielding, R. A., Fiatarone, M. A., Evans, W. J., & Roubenoff, R. (2000). Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *Journal of Applied Physiology*, 88(4), 1321-1326.
- Frontera, W. R., Suh, D., Krivickas, L. S., Hughes, V. A., Goldstein, R., & Roubenoff, R. (2000). Skeletal muscle fiber quality in older men and women. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 279(3), C611-C618.
- Gale, C. R., Martyn, C. N., Cooper, C., & Sayer, A. A. (2007). Grip strength, body composition, and mortality. *International journal of epidemiology*, 36(1), 228-235.
- Gibson, M. C., & Schultz, E. (1983). Age-related differences in absolute numbers of skeletal muscle satellite cells. *Muscle & nerve*, 6(8), 574-580.
- Goh, Q., & Millay, D. P. (2017). Requirement of myomaker-mediated stem cell fusion for skeletal muscle hypertrophy. *Elife*, 6.
- Goodpaster, B. H., Park, S. W., Harris, T. B., Kritchevsky, S. B., Nevitt, M., Schwartz, A. V., . . . Newman, A. B. (2006). The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in

- older adults: the health, aging and body composition study. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 61(10), 1059-1064.
- Gordon, T., Hegedus, J., & Tam, S. L. (2004). Adaptive and maladaptive motor axonal sprouting in aging and motoneuron disease. *Neurological research*, 26(2), 174-185.
- Grassi, B., Cerretelli, P., Narici, M., & Marconi, C. (1991). Peak anaerobic power in master athletes. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 62(6), 394-399.
- Gundersen, K. (2016). Muscle memory and a new cellular model for muscle atrophy and hypertrophy. *Journal of Experimental Biology*, 219(2), 235-242.
- Haizlip, K., Harrison, B., & Leinwand, L. (2015). Sex-based differences in skeletal muscle kinetics and fiber-type composition. *Physiology*, 30(1), 30-39.
- Hawke, T. J., & Garry, D. J. (2001). Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of Applied Physiology*, 91(2), 534-551.
- Helseutgifter utgjorde vel 10 prosent av BNP. (2017). Hentet 20.august 2017 fra <https://www.ssb.no/nasjonalregnskap-og-konjunkturer/artikler-og-publikasjoner/helseutgifter-utgjorde-vel-10-prosent-av-bnp>
- Hikida, R. S., Staron, R. S., Hagerman, F. C., Walsh, S., Kaiser, E., Shell, S., & Hervey, S. (2000). Effects of high-intensity resistance training on untrained older men. II. Muscle fiber characteristics and nucleo-cytoplasmic relationships. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 55(7), B347-B354.
- Hikida, R. S., Walsh, S., Barylski, N., Campos, G., Hagerman, F. C., & Staron, R. S. (1998). Is hypertrophy limited in elderly muscle fibers? A comparison of elderly and young strength-trained men. *BAM-PADOVA*, 8, 419-428.
- Hubal, M. J., Gordish-Dressman, H., Thompson, P. D., Price, T. B., Hoffman, E. P., Angelopoulos, T. J., . . . Visich, P. S. (2005). Variability in muscle size and strength gain after unilateral resistance training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37(6), 964-972.
- Hunter, G. R., McCarthy, J. P., & Bamman, M. M. (2004). Effects of resistance training on older adults. *Sports Medicine*, 34(5), 329-348.
- Janssen, I., Heymsfield, S. B., Wang, Z., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *Journal of Applied Physiology*, 89(1), 81-88.
- Kadi, F. (2008). Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. *British journal of pharmacology*, 154(3), 522-528.
- Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., & Lexell, J. (2004). Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. *Muscle & nerve*, 29(1), 120-127.

- Kadi, F., Charifi, N., Denis, C., Lexell, J., Andersen, J. L., Schjerling, P., . . . Kjaer, M. (2005). The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? *Pflügers Archiv*, *451*(2), 319-327.
- Kadi, F., Charifi, N., & Henriksson, J. (2006). The number of satellite cells in slow and fast fibres from human vastus lateralis muscle. *Histochemistry and cell biology*, *126*(1), 83-87.
- Kadi, F., Eriksson, A., Holmner, S., Butler-Browne, G. S., & Thornell, L.-E. (1999). Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochemistry and cell biology*, *111*(3), 189-195.
- Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, L. L., Charifi, N., Madsen, J. L., Christensen, L. R., & Andersen, J. L. (2004). The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *The Journal of physiology*, *558*(3), 1005-1012.
- Kadi, F., & Thornell, L.-E. (2000). Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. *Histochemistry and cell biology*, *113*(2), 99-103.
- Kalyani, R. R., Corriere, M., & Ferrucci, L. (2014). Age-related and disease-related muscle loss: the effect of diabetes, obesity, and other diseases. *The lancet Diabetes & endocrinology*, *2*(10), 819-829.
- Kjaer, M. (2004). Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiological reviews*, *84*(2), 649-698.
- Kosek, D. J., Kim, J.-s., Petrella, J. K., Cross, J. M., & Bamman, M. M. (2006). Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. *Journal of Applied Physiology*, *101*(2), 531-544.
- Larkin, L. M., Kuzon, W. M., & Halter, J. B. (2003). Effects of age and nerve-repair grafts on reinnervation and fiber type distribution of rat medial gastrocnemius muscles. *Mechanisms of ageing and development*, *124*(5), 653-661.
- Leenders, M., Verdijk, L. B., van der Hoeven, L., van Kranenburg, J., Nilwik, R., & van Loon, L. J. (2012). Elderly men and women benefit equally from prolonged resistance-type exercise training. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, *68*(7), 769-779.
- Leong, D. P., Teo, K. K., Rangarajan, S., Lopez-Jaramillo, P., Avezum, A., Orlandini, A., . . . Kelishadi, R. (2015). Prognostic value of grip strength: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *The Lancet*, *386*(9990), 266-273.
- Lexell, J., Downham, D., & Sjöström, M. (1986). Distribution of different fibre types in human skeletal muscles: fibre type arrangement in m. vastus lateralis from three groups of healthy men between 15 and 83 years. *Journal of the neurological sciences*, *72*(2), 211-222.
- Lexell, J., Taylor, C. C., & Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy?: Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15-to 83-year-old men. *Journal of the neurological sciences*, *84*(2), 275-294.

- Mackey, A., Esmarck, B., Kadi, F., Koskinen, S., Kongsgaard, M., Sylvestersen, A., . . . Kjaer, M. (2007). Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, *17*(1), 34-42.
- Mackey, A. L., Kjaer, M., Charifi, N., Henriksson, J., Bojsen-Moller, J., Holm, L., & Kadi, F. (2009). Assessment of satellite cell number and activity status in human skeletal muscle biopsies. *Muscle & nerve*, *40*(3), 455-465.
- Malisoux, L., Francaux, M., Nielens, H., & Theisen, D. (2006). Stretch-shortening cycle exercises: an effective training paradigm to enhance power output of human single muscle fibers. *Journal of Applied Physiology*, *100*(3), 771-779.
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, *9*(2), 493.
- McCarthy, J. J., Mula, J., Miyazaki, M., Erfani, R., Garrison, K., Farooqui, A. B., . . . Keller, C. (2011). Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. *Development*, *138*(17), 3657-3666.
- McGregor, R. A., Cameron-Smith, D., & Poppitt, S. D. (2014). It is not just muscle mass: a review of muscle quality, composition and metabolism during ageing as determinants of muscle function and mobility in later life. *Longevity & healthspan*, *3*(1), 1.
- McKay, B. R., Toth, K. G., Tarnopolsky, M. A., & Parise, G. (2010). Satellite cell number and cell cycle kinetics in response to acute myotrauma in humans: immunohistochemistry versus flow cytometry. *The Journal of physiology*, *588*(17), 3307-3320.
- Mero, A., Hulmi, J., Salmijärvi, H., Katajavuori, M., Haverinen, M., Holviala, J., . . . Ahtiainen, J. (2013). Resistance training induced increase in muscle fiber size in young and older men. *European journal of applied physiology*, *113*(3), 641-650.
- Miljkovic, N., Lim, J.-Y., Miljkovic, I., & Frontera, W. R. (2015). Aging of skeletal muscle fibers. *Annals of rehabilitation medicine*, *39*(2), 155-162.
- Mitchell, W. K., Williams, J., Atherton, P., Larvin, M., Lund, J., & Narici, M. (2015). Sarcopenia, dynapenia, and the impact of advancing age on human skeletal muscle size and strength; a quantitative review. *Physiology and Pathophysiology of Musculoskeletal Aging*, *39*.
- Moreland, J. D., Richardson, J. A., Goldsmith, C. H., & Clase, C. M. (2004). Muscle weakness and falls in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American Geriatrics Society*, *52*(7), 1121-1129.
- Mosoni, L., Mirand, P. P., Houlier, M. L., & Arnal, M. (1993). Age-related changes in protein synthesis measured in vivo in rat liver and gastrocnemius muscle. *Mechanisms of ageing and development*, *68*(1), 209-220.
- Nederveen, J., Joannis, S., Séguin, C., Bell, K., Baker, S., Phillips, S., & Parise, G. (2015). The effect of exercise mode on the acute response of satellite cells in old men. *Acta Physiologica*, *215*(4), 177-190.



- Nederveen, J. P., Joannisse, S., Snijders, T., Ivankovic, V., Baker, S. K., Phillips, S. M., & Parise, G. (2016). Skeletal muscle satellite cells are located at a closer proximity to capillaries in healthy young compared with older men. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(5), 547-554.
- Newman, A. B., Kupelian, V., Visser, M., Simonsick, E. M., Goodpaster, B. H., Kritchevsky, S. B., . . . Harris, T. B. (2006). Strength, but not muscle mass, is associated with mortality in the health, aging and body composition study cohort. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 61(1), 72-77.
- Pearson, S. J., Young, A., Macaluso, A., Devito, G., Nimmo, M. A., Cobbold, M., & Harridge, S. D. (2002). Muscle function in elite master weightlifters. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 34(7), 1199-1206.
- Petrella, J. K., Kim, J.-s., Cross, J. M., Kosek, D. J., & Bamman, M. M. (2006). Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 291(5), E937-E946.
- R Deschenes, M. (2011). Motor unit and neuromuscular junction remodeling with aging. *Current aging science*, 4(3), 209-220.
- Renault, V., Thorne, L. E., Eriksson, P. O., Butler-Browne, G., & Mouly, V. (2002). Regenerative potential of human skeletal muscle during aging. *Aging cell*, 1(2), 132-139.
- Rennie, M. J., Wackerhage, H., Spangenburg, E. E., & Booth, F. W. (2004). Control of the size of the human muscle mass. *Annu. Rev. Physiol.*, 66, 799-828.
- Roth, S., Martel, G., Ivey, F., Lemmer, J., Tracy, B., Metter, E., . . . Rogers, M. (2001). Skeletal muscle satellite cell characteristics in young and older men and women after heavy resistance strength training. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 56(6), B240-B247.
- Roth, S. M., Martel, G. F., Ivey, F. M., Lemmer, J. T., Metter, E. J., Hurley, B. F., & Rogers, M. A. (2000). Skeletal muscle satellite cell populations in healthy young and older men and women. *The Anatomical Record*, 260(4), 351-358.
- Ruiz, J. R., Sui, X., Lobelo, F., Morrow, J. R., Jackson, A. W., Sjöström, M., & Blair, S. N. (2008). Association between muscular strength and mortality in men: prospective cohort study. *Bmj*, 337, a439.
- Rullman, E., Rundqvist, H., Wågsäter, D., Fischer, H., Eriksson, P., Sundberg, C. J., . . . Gustafsson, T. (2007). A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 102(6), 2346-2351.
- S Hikida, R. (2011). Aging changes in satellite cells and their functions. *Current aging science*, 4(3), 279-297.
- Schmalbruch, H., & Hellhammer, U. (1976). The number of satellite cells in normal human muscle. *The Anatomical Record*, 185(3), 279-287.

- Schultz, E. (1984). A quantitative study of satellite cells in regenerated soleus and extensor digitorum longus muscles. *The Anatomical Record*, 208(4), 501-506.
- Schultz, E., & McCormick, K. M. (1994). Skeletal muscle satellite cells *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Volume 123* (pp. 213-257): Springer.
- Shefer, G., Van de Mark, D. P., Richardson, J. B., & Yablonka-Reuveni, Z. (2006). Satellite-cell pool size does matter: defining the myogenic potency of aging skeletal muscle. *Developmental biology*, 294(1), 50-66.
- Sinha-Hikim, I., Cornford, M., Gaytan, H., Lee, M. L., & Bhasin, S. (2006). Effects of testosterone supplementation on skeletal muscle fiber hypertrophy and satellite cells in community-dwelling older men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(8), 3024-3033.
- Snijders, T., Nederveen, J. P., Joannisse, S., Leenders, M., Verdijk, L. B., Loon, L. J., & Parise, G. (2017). Muscle fibre capillarization is a critical factor in muscle fibre hypertrophy during resistance exercise training in older men. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 8(2), 267-276.
- Snijders, T., Nederveen, J. P., McKay, B. R., Joannisse, S., Verdijk, L. B., van Loon, L. J., & Parise, G. (2015). Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Frontiers in physiology*, 6.
- Snijders, T., Verdijk, L. B., & van Loon, L. J. (2009). The impact of sarcopenia and exercise training on skeletal muscle satellite cells. *Ageing research reviews*, 8(4), 328-338.
- Snow, M. H. (1977). The effects of aging on satellite cells in skeletal muscles of mice and rats. *Cell and tissue research*, 185(3), 399-408.
- Sousa-Victor, P., Gutarra, S., Garcia-Prat, L., Rodriguez-Ubreva, J., Ortet, L., Ruiz-Bonilla, V., . . . Serrano, A. L. (2014). Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature*, 506(7488), 316.
- Staron, R. S., Hagerman, F. C., Hikida, R. S., Murray, T. F., Hostler, D. P., Crill, M. T., . . . Toma, K. (2000). Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 48(5), 623-629.
- van den Beld, A. W., de Jong, F. H., Grobbee, D. E., Pols, H. A., & Lamberts, S. W. (2000). Measures of bioavailable serum testosterone and estradiol and their relationships with muscle strength, bone density, and body composition in elderly men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(9), 3276-3282.
- Varani, J., Schuger, L., Dame, M. K., Leonard, C., Fligel, S. E., Kang, S., . . . Voorhees, J. J. (2004). Reduced fibroblast interaction with intact collagen as a mechanism for depressed collagen synthesis in photodamaged skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 122(6), 1471-1479.
- Vassilopoulos, D., Lumb, E., & Emery, A. (1977). Karyometric changes in human muscle with age. *European neurology*, 16(1-6), 31-34.

Verdijk, L. B., Gleeson, B. G., Jonkers, R. A., Meijer, K., Savelberg, H. H., Dendale, P., & van Loon, L. J. (2009). Skeletal muscle hypertrophy following resistance training is accompanied by a fiber type-specific increase in satellite cell content in elderly men. *The journals of gerontology series A: Biological Sciences and medical sciences*, 64(3), 332-339.

Verdijk, L. B., Koopman, R., Schaart, G., Meijer, K., Savelberg, H. H., & van Loon, L. J. (2007). Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292(1), E151-E157.

Verdijk, L. B., Snijders, T., Drost, M., Delhaas, T., Kadi, F., & van Loon, L. J. (2014). Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. *Age*, 36(2), 545-557.

Verney, J., Kadi, F., Charifi, N., Féasson, L., Saafi, M. A., Castells, J., . . . Denis, C. (2008). Effects of combined lower body endurance and upper body resistance training on the satellite cell pool in elderly subjects. *Muscle & nerve*, 38(3), 1147-1154.

Wernbom, M., Apro, W., Paulsen, G., Nilsen, T. S., Blomstrand, E., & Raastad, T. (2013). Acute low-load resistance exercise with and without blood flow restriction increased protein signalling and number of satellite cells in human skeletal muscle. *European journal of applied physiology*, 113(12), 2953-2965.

Widrick, J. J., Stelzer, J. E., Shoepe, T. C., & Garner, D. P. (2002). Functional properties of human muscle fibers after short-term resistance exercise training. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283(2), R408-R416.

Yin, H., Price, F., & Rudnicki, M. A. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological reviews*, 93(1), 23-67.

## Tabelloversikt

Tabell 1: Inklusjon- og eksklusjonskriterier for STAS (Skrøpelige eldre).....	30
Tabell 2: Inklusjons- og eksklusjonskriterier for eldre og yngre (TINE).....	31
Tabell 3: Baseline verdier for alle grupper inkludert i masteroppgaven. ....	31
Tabell 4: Primære og sekundære antistoff.....	34
Tabell 5: Muskelfibertypefordeling av antall type I og type II muskelfibre som prosent (%) av antall muskelfibre analysert. ....	42
Tabell 6: Kjernedomene ( $\mu\text{m}^2$ ) i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE) .....	43
Tabell 7: Kjernedomene ( $\mu\text{m}^2$ ) i muskelfibertype I og II, før (pre) og etter (post) treningsintervensjon hos yngre (Y) og eldre (E).....	45

## Figuroversikt

Figur 1: Forholdet mellom muskelmasse og alder. Grå linje representerer menn, Svart linje representerer kvinner. Basert på figur fra Jansen et al., 2000.....	16
Figur 2: A: Fibertype I (grønn farge) og fibertype II (sort) fra eldre (TINE). B: Fibertype I (grønn) og fibertype II (sort) fra yngre (TINE). Legg merke til hvordan type I og type II muskelfibrene samler seg på bilde A fra eldre, mens de er mer spredt på bilde B fra yngre .....	17
Figur 3: Satellittcellen, lokalisert mellom sarkolemma og basal lamina. Legg merke til forskjell fra myokjernens plassering på innsiden av sarkolemma. ....	19
Figur 4: Som følge av styrketrening blir satellittcellen aktivert. Nå kan den returnere tilbake til inaktiv tilstand eller starte å proliferere. Etter prolifering kan den enten: 1.addere flere myokjerner til voksende myofiber eller 2. smelte sammen med andre satellittceller for å danne nye myofibre. Basert på Hawke og Garry, 2001.....	19
Figur 5: A: Merking mot NCAM som vises ved en synlig grønn ring. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen. B: Merking mot myokjerner med DAPI som vises ved blå prikker. Gul pil viser den identifiserte satellittcellen fra bilde A. Grønne piler viser eksemplere på myokjerner. C: Merking mot laminin som viser cellemembranen. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen. Blå piler viser cellemembranen. D: Merking mot NCAM, myokjerner og laminin satt sammen. Gul pil viser lokalisasjonen til satellittcellen. ....	36
Figur 6: Merking mot muskelfibertype I vises ved en klar grønnfarge. Muskelfibertype II ble ikke merket og er derfor fargeløs (mørk). ....	37
Figur 7: Merking mot muskelfibertype I som vises ved en klar grønnfarge og myokjerner (blå prikker). Cellemembranen ble merket mot dystrofin og vises med en rød farge. Hvite piler viser eksemplere på myokjerner som ligger innenfor dystrofin merkingen (cellemembranen). ....	38
Figur 8: Fiberareal i fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). *, signifikant forskjell mellom gruppene. (P<0,05).....	41
Figur 9: Antall myokjerner per fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). *, signifikant forskjell mellom gruppene (P<0,05) .....	42
Figur 10: Antall satellittceller rundt fibertype I og II hos yngre (Y), eldre (E) og skrøpelige eldre (SE). *, signifikant forskjell mellom gruppene (P<0,05).....	43
Figur 12: Fiberareal i fibertype I og II hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. *, signifikant endring fra pre til post (P<0,05).....	44
Figur 13: Antall myokjerner per type I og type II fiber hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen. *, signifikant endring fra pre til post (P<0,05). ....	44

Figur 14: Antall satellittceller per fibertype I og II hos yngre (Y) og eldre (E) før (pre) og etter (post) treningsintervensjonen..... 45

## Forkortelser

CSA	Tverrsnittsareal
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
FFC	Fried frailty criteria
FFM	Fettfri masse
FGF	Fibroblast growth factor
HGF	Hepatocyte growth factor
IGF-1	Insulin-like growth factor
IHC	Immunohistokjemi
LBM	Lean body mass
MHC	Myosin heavy chain
MMP	Matrix metalloprotease
MMSE	Mini Mental Status Examination
MVK	Maksimal voluntær kontraksjonskraft
MyoD	Myogenic differentiation
Myokjerner	Cellekjerner i muskulaturen
NCAM	Neural cell adhesion molecule
NO	Nitrogenoksid
Pax7	Paired-box transcription factor 7
SC	Satellittcelle
SPPB	Short Physical Performance Battery
STAS	Styrketrening av sykehjemsbeboere

# Vedlegg 1: Informert samtykke

Styrketrening for eldre med lavt funksjonsnivå, 2. mai 2016, versjon 1



NORGES IDRETTSHØGSKOLE

FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

## STYRKETRENING FOR ELDRE MED LAV MUSKELSTYRKE

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

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

### HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?

Dette er en randomisert kontrollert studie. Det betyr at du trekkes tilfeldig til en av to grupper. Den ene gruppen skal gjennomføre styrketrening to ganger per uke i 10 uker, og innta en kartong Tine Styrk (0.33 l) daglig gjennom perioden. Den andre gruppen skal innta



samme mengde Tine Styrk, men ikke gjennomføre styrketrening. På denne måten kan vi sammenligne effekten av økt proteininntak alene og økt proteininntak i kombinasjon med styrketrening. Dersom du trekkes til treningsgruppen, vil all trening finne sted på ditt sykehjem, dagsenter, eller like i nærheten av der du bor. Før og etter intervensjonsperioden vil det gjennomføres ulike tester ved Norges idrettshøgskole.

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

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

### **Tester på Norges idrettshøgskole**

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

Testdag 1 gjennomføres den første gangen du kommer til Norges idrettshøgskole. Denne testdagen tar omtrent 3 timer å gjennomføre. Vi vil bistå med transport til og fra Norges idrettshøgskole.

- *DXA*: En DXA-analyse vil gjennomføres for å måle kroppssammensetningen din. Denne testen innebærer at man ligger stille i ca. 10 minutter.
- *Muskelfunksjonstest*: Gir et mål på styrke og eksplosivitet i musklene som strekker

kneleddet.

- *Grad av muskelaktivering:* For å undersøke i hvor stor grad du greier å aktivere muskulaturen når du tar i alt du kan.
- *1RM:* Maksimal styrke i øvelsen kneekstensjon.

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

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

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

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

- Huden og bindevevet lokalbedøves der vevsprøven skal tas.
- Et snitt på ca. 1-2 cm gjøres gjennom hud og bindevevet over muskelen.

- En nål med diameter på 6 mm føres inn (2-3 cm) og 1-3 små biter av muskulaturen tas ut (total 200-300 mg muskelvev).
- Snittet lukkes med tape (strips).

### **CT på Currato røntgen**

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

### **Muskelproteinnedbrytning**

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

### **Treningsperioden**

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

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

#### MULIGE FORDELER OG ULEMPER

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

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

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

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

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

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

#### FRIVILLIG DELTAKELSE OG MULIGHET FOR Å TREKKE SITT SAMTYKKE

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

#### HVA SKJER MED INFORMASJONEN OM DEG?

Informasjonen som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med studien. Du har rett til innsyn i hvilke opplysninger som er registrert om deg og rett til å få korrigert eventuelle feil i de opplysningene som er registrert. Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjennende 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 selvassurandør. Dette innebærer at det er NIH som dekker en eventuell erstatning og ikke et forsikringsselskap.

#### UTLEVERING AV OPPLYSNINGER TIL ANDRE

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

#### OPPFØLGINGSPROSJEKT

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

#### GODKJENNING

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

**SAMTYKKE TIL DELTAKELSE I PROSJEKTET**

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

Det er frivillig å delta og du kan når som helst trekke deg fra prosjektet uten videre begrunnelse. Alle data vil, som nevnt ovenfor, bli avidentifisert 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

FP:

Sted:

Høyde:

Vekt:

<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 ≤ 6.

Kan personen inkluderes som deltaker?      JA      NEI



FP:

Sted:

Høyde: Vekt:

Dato:

### **Kriterium 1**

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

- 1) God
- 2) Middels
- 3) Dårlig

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

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

### **Kriterium 3**

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

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

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

Påstand 2: "Jeg var initiativløs "

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

### **Kriterium 5**

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

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

# Vedlegg 3: SPPB

## Registreringsark

dd/mnd/år:

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

ID/navn:

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

### 1. Balansetest

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



1.  sek



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



2.  sek



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



3.  sek



Gå til gangtest

---

### 2. Gangtest



Ganghjelpemidler ved test (kryss av):

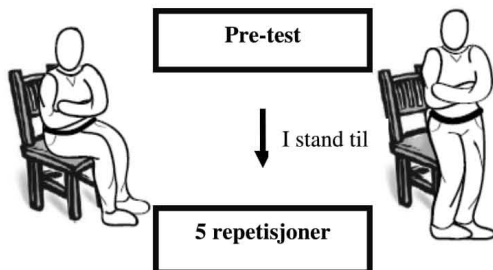
- uten
- krykke/stokk (er)
- rollator
- Annet (spesifiser) \_\_\_\_\_

Tid test 1:  sek

Tid test 2:  sek

---

### 3. Reise/ sette seg



→ Avslutt  
Ikke i stand til

Setehøyde  cm

Tid 5 repetisjoner uten armbruk:  sek

Tester:

# SCORING SPPB:


dd/mnd/år:

ID/navn:

## 1. Score statisk balanse

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

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



<b>Samlede føtter</b>	=10 sek = 1 p <10 sek = 0 p	<input type="text"/>
↓	+	
<b>Semi-tandem</b>	=10 sek = 1 p <10 sek = 0 p	<input type="text"/>
↓	+	
<b>Tandem</b>	=10 sek = 2 p 3 - 9.99 sek = 1 p < 3 sek = 0 p	<input type="text"/>
	=	<input type="text"/>
	Sum poeng balanse:	<input type="text"/>

## 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  $\geq 16.7$  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  $\leq 11.19$  sek = 4 poeng

Poeng reise/sette seg x5:



tester:

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

## Vedlegg 4: Merkeprotokoll

1. Snittene tempereres i 15-20 min ved romtemperatur
2. Bruk PAP-penn til å lage en barriere rundt snittene
3. Tilsett 1% BSA-t løsning på snittene og la det inkubere i 60 minutter (30 minutter for fibertype I).
4. Primær-antistoff inkuberes over natt ved 4 grader.
5. **Dagen etter:** Ta av antistoffet og vask snittene 3x 10 minutter i PBS-t løsning.
6. Sekundær-antistoff inkuberes i 60 min ved romtemperatur
7. Vask snittene 3x 10 minutter i PBS-t løsning.
8. Tørk snittene og monter på dekkglass med Prolong Antifade reagent med DAPI.
  - a. Snittene tørkes og herdes over natt i romtemperatur.



