

Kristoffer Rosvold Kokvik

---

## Hvordan påvirker androgen deprivasjonsterapi muskelsignaleren hos prostatakreftpasienter?

En tverrsnittstudie på prostatakreftpasienter under behandling av androgen deprivasjonsterapi og prostatakreftpasienter som aldri har fått denne behandlingen.

---

Masteroppgave i idrettsvitenskap  
Seksjon for fysisk prestasjonsevne  
Norges idrettshøgskole, 2019



## Sammendrag

**Bakgrunn:** Prostatakreftpasienter (PK pasienter) som får androgen deprivasjonsterapi (ADT) får ofte bivirkninger av behandlingen, slik som redusert muskelmasse.

Styrketrening har potensialet til å motvirke dette, men effekten av styrketrening virker redusert for PK pasienter på ADT sammenlignet med de som ikke får den behandlingen.

**Hensikten:** Hensikten med studien var å undersøke om det var forskjell i aktivering av anabole og katabole signalveier mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette ble studert ved å undersøke fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og mengde REDD1 mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid.

**Metode:** Studien er en tverrsnittstudie med ni PK pasienter, fem på ADT og fire opererte, som gjennomførte en tilvenningsdag, to treningsøkter og en akuttidag. Treningsøkten bestod av styrketrening med øvelsene ettbeins-beinpress, ettbeins-kneekstensjon, brystpress og sittende roing (3x10RM), hvor kontralateralt bein fungerte som kontrollbein (ikke-trent). På akuttidagen fikk pasientene to standardiserte måltider og gjennomførte en siste treningsøkt, og det ble tatt en fastende muskelbiopsi fra *m.vastus lateralis* i utrent bein og senere to timer etter måltid fra begge bein, samt to timer etter styrketrening kombinert med nytt måltid fra begge bein. Biopsiprøvene ble analysert for fosforylert og total mengde av p70S6K, PKB, foxO3a og mengde REDD1 med western blot.

**Resultater:** Det var ingen forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fosforyleringsstatus av p70S6K, PKB og foxO3a ved baseline, etter måltid eller etter en styrketreningsøkt kombinert med måltid. Det var en tendens til forskjell i mengde REDD1 mellom gruppene etter måltid. PK pasienter på ADT hadde en tendens til økning i fosforylering av p70S6K og PKB som respons på måltidet.

**Konklusjon:** Resultatene indikerer at PK pasienter på ADT kan ha lik signalering i hvile, etter måltid og styrketrening som opererte PK pasienter. Studien trenger flere forsøkspersoner før det er riktig å konkludere at signaleringen er lik mellom gruppene.

**Nøkkelord:** Prostatakraft, androgen deprivasjonsterapi, testosteron, styrketrening, måltid, muskelsignalering, p70S6K, PKB, foxO3a og REDD1.

## Forord

Denne masteroppgaven ble skrevet basert på resultater fra PROST100, en pågående studie på seksjonen for fysisk prestasjonsevne ved Norges idrettshøgskole 2019.

Denne masteroppgaven har vært en (ekstra) lang, lærerik og varierende prosess. Jeg er takknemlig for å ha kunne delta på et spennende prosjekt, hvor arbeidet har variert fra gjennomføring av tester og trening, analyse av muskelprøver på laboratoriet og sette på kaffetrakteren på seksjonen utallige ganger.

Først og fremst takk til min hovedveileder, Tormod, for at du alltid tar deg tid til å svare på spørsmål og at du gjør dette med et smil om munnen og glimt i øyet. Det samme kan sies om min andre veileder, Truls. Takk for at du alltid har gode løsninger og at du også tar deg tid til å dele din brede ekspertise. Takk til alle på labben, Vilde, Sigve, Øyvind, Håvard, Marte, Hege og (gamle) Kristoffer for alle faglige og ufaglige samtaler. En spesiell takk til Vilde og Sigve, for at dere alltid har hjulpet meg med små og store utfordringer på laboratoriet.

Takk Elisabeth for et supert samarbeid på prosjektet. Det er utrolig hva du får til med så mange baller i luften. Takk også til alle andre masterstudenter på seksjonen, som har gjort hverdagen på masterkontoret og laboratoriet sosialt og hyggelig.

Takk til min familie Åke, Torny og Marie for all støtte og forståelse. Takk for korrekturrettingen, Torny og Marit. Dere har fjernet mange morsomme ord og setninger, men jeg tror det var til det beste.

Til slutt ønsker jeg å takke alle forsøkspersonene for de hyggelige samtale og den upåklagelig innsats. Uten dere hadde ikke dette vært mulig å gjennomføre.

Oslo – mai 2019

*Kristoffer Rosvold Kokvik*

# Innhold

<b>Sammendrag</b> .....	<b>3</b>
<b>Forord</b> .....	<b>4</b>
<b>1.0 Innledning</b> .....	<b>7</b>
1.1 Hypotese .....	9
<b>2.0 Teori</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1 Prostatakraft</b> .....	<b>10</b>
2.1.1 Diagnostikk	10
2.1.2 Behandling	11
2.1.3 Androgen deprivasjons terapi	11
2.1.4 Bivirkninger av androgen deprivasjons terapi	12
2.1.5 Prostatakraft pasienter og muskelmasse	12
<b>2.2 Muskelmassen</b> .....	<b>13</b>
2.2.1 Regulering av muskelmassen	13
2.2.1.1 Transkripsjon og translasjon	14
2.2.1.2 Mammalian target of rapamycin	15
2.2.1.3 PKB	16
2.2.1.4 P70S6K	16
2.2.1.5 FoxO3a	17
2.2.1.6 REDD1	17
2.2.2 Effekt av testosteron	18
2.2.2.1 Effekten av testosteron på PKB og p70S6K	19
2.2.2.3 Effekten av testosteron på foxO3a	20
2.2.2.4 Effekten av testosteron på REDD1	20
2.2.3 Effekt av styrketrening og proteininntak	21
2.2.3.1 Effekten av styrketrening og proteininntak på muskelproteinsyntesen	21
2.2.3.2 Effekt av styrketrening på PKB	23
2.2.3.3 Effekt av styrketrening på P70S6K	23
2.2.3.4 Effekt av styrketrening på foxO3a	25
2.2.3.5 Effekt av styrketrening på REDD1	26
2.2.4 Oppsummering	26
<b>2.3 Effekten av styrketrening under ADT</b> .....	<b>27</b>
2.3.1 Treningsintervensjoner	28
2.3.2 MPS under ADT	29
<b>2.4 Oppsummering</b> .....	<b>30</b>
<b>3.0 Metode</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1 Rekruttering og inklusjon</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2 Forsøksprotokoll</b> .....	<b>33</b>
3.2.1 Gjennomføringsplan	33
3.2.2 Supplement	36
3.2.3 Muskelbiopsi	36
3.2.3 Maksimal viljestyrt kontraksjon	37
<b>3.3 Analyser</b> .....	<b>37</b>
3.3.1 Homogenisering	37
3.3.2 Proteinmåling	37
3.3.3 Western blot	38
<b>3.4 Statistikk</b> .....	<b>40</b>
<b>4.0 Resultater</b> .....	<b>41</b>

4.1 Antropometriske data	41
4.2 Endring i maksimal viljestyrt kontraksjon (MVC)	42
<b>4.3. Intracellulær signalering</b> .....	<b>42</b>
4.3.1 Fastende hvile (baseline)	42
4.3.2 Effekt av måltid	43
4.3.3 Effekt av styrketrening	44
<b>5.0 Diskusjon</b> .....	<b>46</b>
<b>5.1 Metodiske betraktninger</b> .....	<b>46</b>
5.1.2 Pasientutvalg	46
5.1.3 Intern validitet	47
5.1.4 Ekstern validitet	48
5.1.5 Repeterbarhet og reproduserbarhet	49
5.1.6 Western blot	50
5.1.7 Oppsummering	51
<b>5.2 Intracellulær signalering</b> .....	<b>51</b>
5.2.1 Baseline	51
5.2.2 Effekt av måltid	53
5.2.3 Effekt av trening	55
<b>5.3 Oppsummering</b> .....	<b>59</b>
<b>6.0 Konklusjon</b> .....	<b>60</b>
<b>Referanseliste</b> .....	<b>62</b>
<b>Tabelloversikt</b> .....	<b>84</b>
<b>Figuroversikt</b> .....	<b>85</b>
<b>Forkortelser</b> .....	<b>87</b>
<b>Vedlegg</b> .....	<b>89</b>

## 1.0 Innledning

Den vanligste kreftformen i Norge er prostatakraft (PK) som utgjorde 28% av nye krefttilfeller hos menn i årene mellom 2013-2017 (Cancer Registry of Norway, 2018). Kirurgi og strålebehandling i kombinasjon med hormonbehandling er de vanligste kurative behandlingsalternativer for PK pasienter. Hormonbehandlingen reduserer mengden sirkulerende testosteron til kastrasjonsnivåer i den hensikt å krympe størrelsen til, eller bremse vekst i androgensensitive svulster. Hormonbehandlingen, videre kalt androgen deprivasjonsterapi (ADT), gir imidlertid flere negative bivirkninger som økt fettmasse og redusert muskelmasse (Grossmann, Cheung, & Zajac, 2013; Hamilton et al., 2010).

Styrketrening blir ofte brukt for å motvirke tap av muskelmasse (Fragala, Kenny, & Kuchel, 2015; Keilani et al., 2017), og er effektivt for å bedre den fysiske funksjonen hos eldre (Liu & Latham, 2009). En studie fra Norges idrettshøgskole (NIH) rapporterte overaskende liten endring i muskelmassen hos PK pasienter på ADT etter 16 ukers styrketreningsintervensjon. PK pasientene på ADT oppnådde kun 1/3 av den økningen i muskelmasse observert hos friske eldre som tidligere hadde trent på NIH (Nilsen, 2015b). I en metaanalyse hvor man gikk gjennom alle styrketreningsstudier på PK frem til 2017, konkluderes det med at PK pasienter på ADT kan ha fordel av å trene styrketrening (Keilani et al., 2017), men økningen i muskelmasse ser ut til å være mindre sammenlignet med friske jevnaldrende (Peterson, Sen, & Gordon, 2011).

Det er få studier som har undersøkt effekten av styrketrening på ett cellulært nivå hos PK pasienter på ADT, og det er ingen studier som har sett på den anabole signaleringen hos PK pasienter på ADT etter styrketrening. En bedre forståelse av mekanismene som regulerer muskelmassen under ADT behandling vil kunne bidra til at en kan optimalisere ett treningsprogram til PK pasienter på ADT (de Rooy, Grossmann, Zajac, & Cheung, 2016). En sannsynlig årsak til redusert respons kan være lavere testosteron. Testosteron er et stimuli for både økt muskelproteinsyntese (MPS) og redusert muskelproteinnedbrytning (MPN), og kan dermed potensielt øke muskelmassen

(Dubois, Laurent, Boonen, Vanderschueren, & Claessens, 2012). Siden testosteronnivået blir redusert til kastreringsnivå hos PK pasienter på ADT, vil det være naturlig å undersøke den signaleringen man vet testosteron påvirker.

Så vidt forfatteren kjenner til, er det kun én studie som har undersøkt bakenforliggende mekanismer ved å se på MPS hos PK pasienter på ADT (Hanson et al., 2017). Studien rapporterte at MPS var redusert i hvile og etter inntak av proteiner hos PK pasienter på ADT sammenlignet med jevnaldrende friske menn. Når proteininntak ble kombinert med styrketrening, rapporterte de en signifikant økning for begge grupper sammenlignet med kun inntak av proteiner. Hanson et al. (2017) undersøkte ikke anabol signalering, som er interessant for å se enda nærmere på mekanismene bak den mulige negative effekten på MPS.

Mammalian target of rapamycin (mTOR) er et stort proteinkompleks som er sentralt i MPS (Dickinson et al., 2011; Farnfield, Breen, Carey, Garnham, & Cameron-Smith, 2011). mTOR kan fange opp flere ulike signaler og videre sørge for flere ulike responser i cellen. Ett av flere primære nedstrømsprotein for mTOR er 70 kDa ribosomal S6 kinase (P70S6K), og fosforylering av dette proteinet vil i teorien føre til økt MPS og på sikt økt celledørrelse (Coffey & Hawley, 2007; Park, Erbay, Nuzzi, & Chen, 2005). Et protein lokalisert oppstrøms for mTOR som kan inducere MPS er protein kinase B (PKB) (Coffey & Hawley, 2007; Glass, 2005). PKB er sentral i signalveien som insulin/insulin-like growth factor 1 (IGF-1) aktiverer, som også kan fosforylere forkhead box O3a (foxO3a). Det vil kunne redusere MPN (Dubois et al., 2012). Et protein som derimot hemmer aktivering av mTOR, regulated in development and DNA damage 1 (REDD1), har blitt rapportert i større mengde hos kastrerte rotter sammenlignet med sham opererte rotter (Gordon, Steiner, Williamson, Lang, & Kimball, 2016; White et al., 2013). Det kan derfor være interessant å studere aktiveringen av disse proteinene respons til inntak av næring og til styrketrening for å kartlegge om de er påvirket av ADT, og således involvert i den negative effekten ADT ser ut til å ha på muskelmassen.



## **1.1 Hypotese**

Hensikten med studien var å undersøke om det var forskjell i aktivering av anabole og katabole signalveier mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette ble studert ved å undersøke fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og mengde REDD1 mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid.

Studien har følgende hypotese og underhypoteser:

PK pasienter på ADT vil ha lavere aktivering av anabole signalveier og større aktivering av katabole signalveier i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid sammenlignet med opererte PK pasienter.

Denne hovedhypotesen ble operasjonalisert til følgende testbare underhypoteser:

- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av p70S6K1 etter måltid, men lik på baseline og etter styrketrening kombinert med måltid, sammenlignet med opererte PK pasienter.
- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av PKB etter styrketrening kombinert med måltid, men lik på baseline og etter måltid, sammenlignet med opererte PK pasienter.
- PK pasienter på ADT vil ha en større mengde REDD1 på baseline, men lik mengde etter måltid og styrketrening kombinert med måltid, sammenlignet med opererte PK pasienter.
- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av foxO3a etter styrketrening kombinert med måltid, men lik på baseline og etter måltid.

## 2.0 Teori

### 2.1 Prostatakreft

Prostatakreft (PK) er den vanligste kreftformen blant norske menn og utgjorde 28% av nye krefttilfeller i årene mellom 2013-2017 (Cancer Registry of Norway, 2018). PK er en kreftform for de eldre, med medianalder på 69 år for diagnose (Kreftregisteret, 2018). I 2017 var det 4983 nye tilfeller av PK hos norske menn og 5-års overlevelsesraten var på 93.9% i perioden 2013 til 2017 (Cancer Registry of Norway, 2018). Dette fører til et økende antall menn som lever med PK og som trenger en form for oppfølging av sin sykdom (Solberg et al., 2015). Til tross for høy overlevelsesrate er PK blant de kreftformene flest menn dør av i Norge (Cancer Registry of Norway, 2017).

#### 2.1.1 Diagnostikk

Mistanke om PK forkommer ofte ved vannlatingsproblemer fordi prostatakjertelen er lokalisert under urinblæren. Økt størrelse på prostatakjertelen vil kunne presse på og skape hindring i urinrøret. Epitelcellene i prostata produserer prostata spesifikt antigen (PSA) som kan brukes som indikator for størrelsen på prostatakjertelen. PK cellene produserer også dette stoffet, slik at en forhøyning i PSA kan tyde på PK (Kreftregisteret, 2017). Ved videre utredning blir ofte magnetresonanstomografi (MR) og biopsi med veiledet ultralyd benyttet (Solberg et al., 2015).

PK deles inn i ulike stadier ut i fra serum PSA, Gleason score (aggressivitet) og t-stadium (Graden kreft lokal i prostata, spredning til lymfeknuter og metastaser). Kreftens forløp kan variere fra individ til individ fra aggressivt til langsamt utviklende, slik at stadiet og forløpet av kreftformen vil påvirke hvilken behandling som skal benyttes (Solberg et al., 2015).

### **2.1.2 Behandling**

Ved valg av behandling tas flere forhold i betraktning; slik som pasientens allmenntilstand, forventet levetid og risiko for bivirkninger. Hos noen pasienter kan det være hensiktsmessig å utsette den kurative behandlingen, fordi svulsten ikke er truende, og heller da nøye følge pasientene etter tegn på utvikling av kreften. Denne metoden kalles aktiv overvåkning, hvor man følger med på symptomer, måler PSA-verdien og tar gjentatte biopsier (Kåresen & Wist, 2012).

I Norge brukes kirurgi og kombinasjonen stråle- og hormonbehandling som kurative behandlingsalternativer. Kirurgi innebærer fullstendig fjerning av prostata, og som regel fjernes også vesicula seminales (sædblære). Ved ekstern strålebehandling blir fotonbestråling brukt for å ødelegge PK-cellene lokalt, og denne behandlingen blir ofte kombinert med hormonbehandling, hvor hormonbehandlingen brukes for å krympe eller bremse kreftsvulsten. Dette gir bedre totaloverlevelse enn strålebehandling alene (Bolla et al., 2010; Mason et al., 2015).

### **2.1.3 Androgen deprivasjons terapi**

Hormonbehandlingen, ofte kalt androgen deprivasjon terapi (ADT), benyttes i 3 ulike former. Disse fungerer enten ved å redusere mengden androgener, blokkere androgen reseptorene, eller en kombinasjon av begge som kalles total androgen blokkade (Solberg et al., 2015).

PK-cellene uttrykker androgen reseptor (AR) som androgener, hovedsakelig testosteron og dihydro-testosteron, kan binde seg til og dermed stimulere til vekst og overlevelse (Gobinet, Poujol, & Sultan, 2002; Grossmann et al., 2013). De fleste PK-celler er avhengige av AR stimuleringen, og en reduksjon av testosteron eller blokkering av reseptorene vil derfor kunne føre til celle syklus arrest og mulig apoptose av prostatakreftcellene (Agus et al., 1999). ADT har en positiv virkning for å bekjempe kreftsvulsten, men er også reletart til flere negative bivirkninger som vil bli nevnt nedenfor.

#### **2.1.4 Bivirkninger av androgen deprivasjons terapi**

Redusert livskvalitet, hetetokter og økt tretthet er rapportert hos PK pasienter på ADT (Grossmann & Zajac, 2012; Spry et al., 2006; Stone, Hardy, Huddart, A'hern, & Richards, 2000; Trost et al., 2013). ADT behandling har også vist å kunne redusere libido (Fode & Sønksen, 2014).

Videre har testosteron påvirkning på kroppssammensetningen, og en kraftig senkning av testosteron ved ADT behandling har en negativ bivirkning på flere typer vev. Det er rapportert økt fettmasse, redusert muskelmasse (Grossmann et al., 2013; Smith et al., 2002; van Londen, Levy, Perera, Nelson, & Greenspan, 2008) og redusert beinmineraltetthet (Hamilton et al., 2010). Reduksjonen i muskelmasse og økningen i fettmasse kan føre til økt risiko for metabolsk syndrom (Braga-Basaria et al., 2006), økt risiko for diabetes type 2, hjerte- og karsykdom (Grossmann et al., 2013), og redusert fysisk funksjon (Gonzalez et al., 2016). Av disse bivirkningene vil fokuset videre i denne oppgaven være på reduksjonen i muskelmassen. For å måle muskelmassen til et individ brukes ofte Dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), som gir et mål på fettfri masse (kroppsvekt uten fett og skjelett).

#### **2.1.5 Prostatakreft pasienter og muskelmasse**

En studie med en frisk kontrollgruppe rapporterte reduksjon i fettfri masse 2 år etter baseline, herunder 2.3% for PK pasienter med nylig startet ADT, 1% for PK pasienter med langvarig ADT, 0.6% for PK pasienter uten ADT og 0.2% for kontrollgruppen (van Londen et al., 2008). Dette tyder på at reduksjonen er størst ved oppstart av ADT behandlingen, noe som senere også ble rapportert i en annen studie (Smith et al., 2012). Smith et al. (2012) fant at eldre pasienter (>70år) og pasienter som nylig har startet behandling (<6 måneder) hadde større reduksjon i fettfri masse enn yngre (<70år). Hvis man summerer effekten som er rapportert i de ulike studiene ser vi at PK pasienter på ADT behandling har en gjennomsnittlig vektet reduksjon av muskelmasse på 0,7 kg etter 6 måneder og 1,2 kg etter 12 måneder (Tabell 2.1.5) (Berruti et al., 2002; Boxer, Kenny, Dowsett, & Taxel, 2005; Lee, McGovern, Finkelstein, & Smith, 2005; Smith, 2004; Torimoto et al., 2011).

**Tabell 2.1.5:** Studier som har undersøkt effekten av ADT behandling på muskelmasse (Fettfri masse).

Forfattere	Årstall	Deltagere	Målemetode	Varighet ADT for oppstart (måneder)	Endring i total fettfrimasse fra baseline (kg)			
					6 måneder	12 måneder	24 måneder	
Berruti et al.	2002	35	DXA	0	-1	-1		
Smith et al.	2004	79	DXA	0		- 1,5		
Boxer et al.	2005	30	DXA	0	- 1,2			
Lee et al.	2005	65	DXA	35*		- 1,5		
Van London et al.	2008	43	DXA	3	- 0,2	- 0,9	- 1,8	
Torimoto et al.	2011	39	BIA	0	- 0,5	- 0,6		
Vektet gjennomsnitt basert på antall deltagere:						-0,7	-1,2	-1,8

NS; Ikke signifikant, ADT; Androgen deprivasjons terapi, BIA; elektrisk impedans analyse, DXA; Dual-energy X-ray absorptiometry. \* Gjelder 35% av forsøkspersonene som allerede hadde startet ADT behandling før starten på studien.

## 2.2 Muskelmassen

En muskel består av flere bunter med muskelfibre. Inne i hver muskelfiber er det myofibriller som er organisert parallelt i forhold til hverandre. Disse består av flere sarkomerer, som inneholder de kontraktile proteinene aktin og myosin. Ved å trekke seg sammen kan aktin og myosin skape bevegelse ved å danne kryssbroer. Muskelfibrenes samlede diameteren på tvers av muskelen kan defineres som muskelens tverrsnittareal, og er en av de avgjørende faktorene for hvor stor kraft en muskel kan skape (T Raastad, Paulsen, Refsnes, Rønnestad, & Wisnes, 2010). Dette kapittelet vil gå nærmere inn på hvordan muskelmassen reguleres, og hvordan dette påvirkes av testosteron, styrketrening og proteininntak.

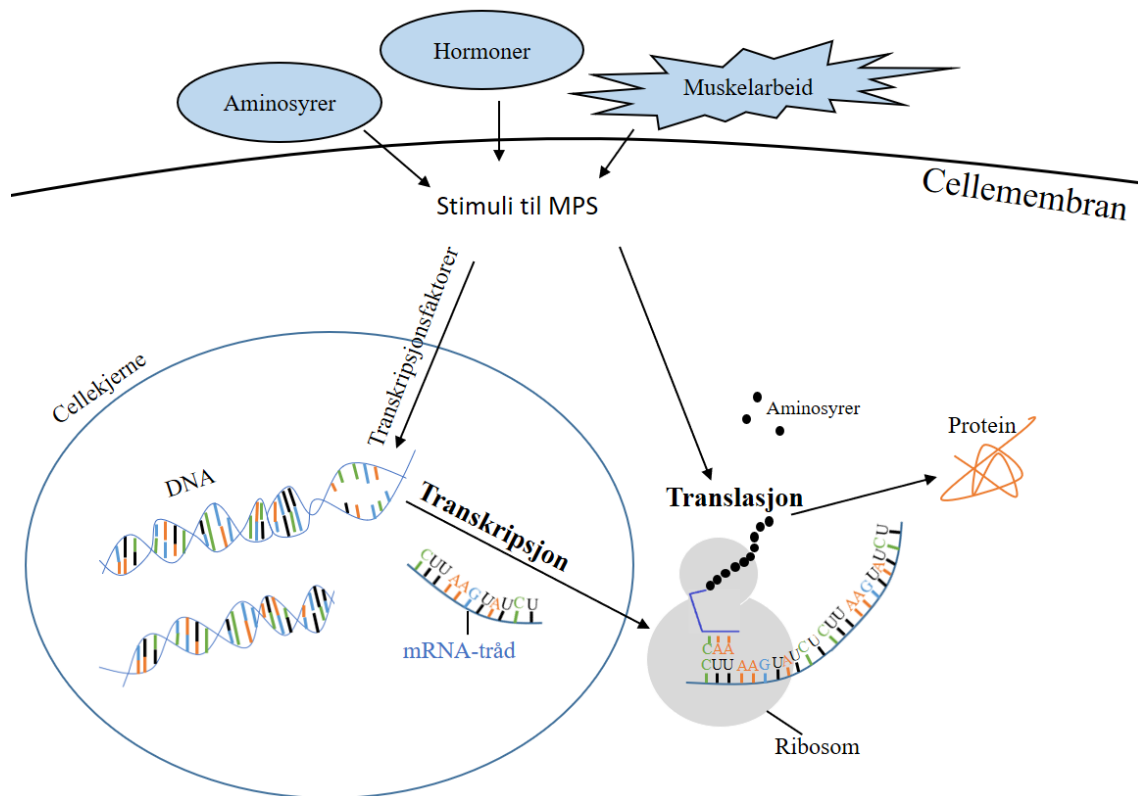
### 2.2.1 Regulering av muskelmassen

Om muskelmassen til et individ øker (hypertrofi), reduseres (atrofi) eller opprettholdes stabilt bestemmes av proteinbalansen i muskulaturen. Proteinbalansen er i ett kontinuum regulert av hastigheten på muskelproteinsyntesen (MPS) og muskelproteinnedbrytningen (MPN) (Schiaffino, Dyar, Ciciliot, Blaauw, & Sandri, 2013), og denne balansen vil avgjøre om en muskels tverrsnittareal økes eller reduseres.

Intracellulære signalveier styrer proteinbalansen til en muskelcelle (Figur 2), og kan aktiveres av flere ulike stimuli. Eksempler på slike stimuli kan være mekanisk drag i cellemembranen (Hornberger, Armstrong, Koh, Burkholder, & Esser, 2005), metabolsk stress som et resultat av utmattende muskelarbeid (Schoenfeld, 2013), tilskudd av aminosyrer (Dodd & Tee, 2012) og ulike hormoner (Eksempelvis testosteron, insulin og IGF-1)(Coffey & Hawley, 2007; Rommel et al., 2001).

### **2.2.1.1 Transkripsjon og translasjon**

Et resultat av de aktiverte signalveiene er ofte transkripsjon, eller kopiering av spesifikke gener i DNAet, som er oppskriften til spesifikke proteiner. Transkripsjonen finner sted i cellekjernen, og gjør at cellen raskt kan kopiere ett gen til mange kopier, eller mRNA-tråder (Figur 2.2.1). Videre er det mRNA-trådene som blir oversatt til aminosyrekjeder eller proteiner, i en prosess kalt translasjon, som finner sted i ribosomene (Coffey & Hawley, 2007; Rennie, Wackerhage, Spangenburg, & Booth, 2004; Wang & Proud, 2006). Translasjon skjer ved at ribosomer binder seg til mRNA-tråden, som er nødvendig for at andre enzymer kan hurtig lese av mRNA-tråden og levere riktig aminosyre. Flere ribosom kan binde seg til mRNA-tråden samtidig slik at det raskt kan produseres mer av det spesifikke proteinet, som for eksempel et kontraktile protein (Alberts et al., 2014).



**Figur 2.2.1:** Forenklet virkningsmekanisme for transkripsjon og translasjon (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007).

### 2.2.1.2 Mammalian target of rapamycin

En viktig aktør i disse signalveiene er et stort regulatorisk proteinkompleks kalt mammalian target of rapamycin (mTOR) (Dodd & Tee, 2012). mTOR utgjør to ulike komplekser, mTOR complex1 (mTORC1) og mTOR Complex 2 (mTORC2), som har ulike bestanddeler og nedstrøms målprotein. mTORC1 fosforylerer nedstrøms eIF4E-binding proteins (4E-BPs) (Gingras, Kennedy, O'Leary, Sonenberg, & Hay, 1998) og 70 kDa ribosomal protein S6 kinase (P70S6K), som fører til økt mRNA translasjon og proteinsyntese (Coffey & Hawley, 2007; Morita et al., 2015; Schiaffino et al., 2013). Vi skal nå se nærmere på tre proteiner som påvirker eller blir påvirket av mTORC1, herunder protein kinase B (PKB), p70S6K og regulated in development and DNA damage 1 (REDD1). I tillegg skal vi se nærmere på en transkripsjonsfaktor som er viktig for MPN, forkhead box O3a (foxO3a), som kan hemmes av PKB aktivering.

### **2.2.1.3 PKB**

PKB, også kalt Akt, har 3 isoformer, PKB $\alpha$  (Akt1), PKB $\beta$  (Akt2) og PKB $\gamma$  (Akt3). PKB $\alpha$  og PKB $\beta$  er relatert til spesifikke funksjoner, respektiv vekst og metabolisme, mens Akt3 uttrykkes mer restriktivt i vev som hjerne og testikler (Schultze, Jensen, Hemmings, Tschopp, & Niessen, 2011). Fosfatidylinositol 3-kinase (PI3-K) /PKB signalveien er en av signalveiene som aktiverer mTOR (Figur 2.2.2). PI3-K blir aktivert blant annet ved at insulin-like growth factor 1 (IGF-1) og insulin bindes til en insulinreseptor, som er en tyrosin kinase reseptor (RTKs) i cellemembranen (Dubois et al., 2012; Schultze et al., 2011). Dette rekrutterer PKB til cellemembranen som åpner for videre fosforylering av 3- phosphoinositide-dependent protein kinase 1 (PDPK1). mTORC2 vil videre fosforylere PKB på Ser473-bindingsetet, som sørger for fullt aktivert PKB (Schultze et al., 2011). Fullt aktivert PKB øker MPS ved å aktivere mTORC1, samt redusere MPN ved å blokkere transkripsjonen av viktige nedbrytningsproteiner (Dubois et al., 2012). PKB påvirker ikke mTORC1 direkte, men bidrar til aktivering ved å blokkere TSC2-TSC1 evne til å fungere som en GTPase-aktivator protein for Rheb. Dette vil føre til opphoping av Rheb-GTP som aktiverer mTORC1 (Manning & Cantley, 2007).

### **2.2.1.4 P70S6K**

S6K er ett av målproteinene til mTORC1, og S6K har flere nedstrøms målprotein som kan påvirke proteinsyntesen, cytoskjelettet, proliferering, spleising og overlevelse (Fenton & Gout, 2011). En av isoformene, S6K1, inneholder proteinkomplekset p70S6K som har vist seg å være viktig for muskelhypertrofi (Coffey & Hawley, 2007). p70S6K vil nedstrøms fosforylere ribosomalt protein S6, som er direkte involvert i kontroll av cellestørrelse (Meyuhas, 2015), og eukaryot elongeringsfaktor 2 kinase (eEF2K)(Raught et al., 2004; Wang et al., 2001). Når eEF2K blir fosforylert vil kinasen slutte å hemme eEF2. Dette vil føre til at eEF2 kan utføre sin funksjon, som translasjon elongeringsfaktor, ved å binde seg til ribosomene (Wang & Proud, 2006).

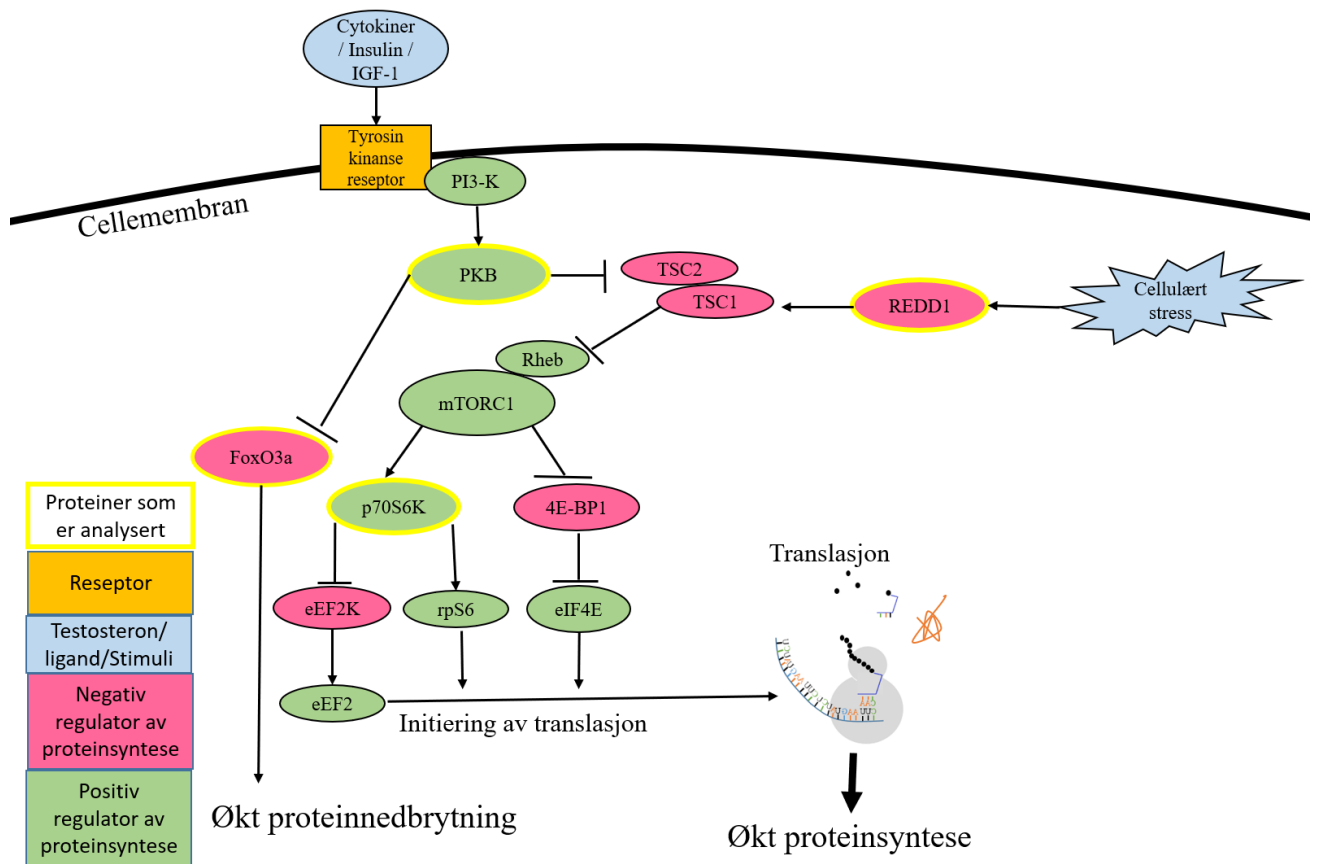


### **2.2.1.5 FoxO3a**

FoxO3a er et av fire protein i en underklasse av forkhead box transkripsjonsproteiner. I ufosforylert tilstand vil foxO3a fungere som transkripsjonsfaktor i cellekjernen for viktige proteiner i ubiquitin-proteasom systemet, atrogin-1 og muscle RING finger 1 (MURF1) (Sandri et al., 2004). Ved for eksempel fastende tilstand kan mengden foxO3a øke, og føre til økt MPN (Villareal et al., 2013). Ved anabole tilstander vil PI3-K/PKB signalveien fosforylere foxO3a på ser<sup>253</sup>, som fører til at foxO3a blir translokert fra cellekjernen til cytoplasma. Dette hindrer foxO's funksjon som transkripsjonsfaktor (Manning & Toker, 2017; Stefanetti, Voisin, Russell, & Lamon, 2018).

### **2.2.1.6 REDD1**

REDD1, også kalt RPT801 og DDIT4, blir oppregulert ved stress i cellen som hypoksi, energimangel og DNA-skade (Gordon et al., 2016). REDD1 er vist å hemme mTORC1 signalering, og dermed også nedstrøms målene p70S6K og 4E-BP1 (Corradetti, Inoki, & Guan, 2005; Gordon et al., 2016). I motsetning til de tre foregående proteinene beskrevet ovenfor; er det kun mengden REDD1 som er interessant. Mekanismen rundt inhiberingen er ikke helt kartlagt, men flere studier har rapportert at det skjer oppstrøms for Rheb (Dennis, Coleman, Berg, Jefferson, & Kimball, 2014; Gordon et al., 2016).



**Figur 2.2.2:** Forenklet illustrasjon av PI3-K/PKB signalveien for proteinsyntese. Proteinene analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; Gordon et al., 2016).

De fire proteinene beskrevet ovenfor har hver sin rolle i MPS og/eller MPN, men de er kun fire av mange proteiner som er med på å regulere muskelproteinbalansen (Coffey & Hawley, 2007).

### 2.2.2 Effekt av testosteron

Testosteron spiller en viktig rolle for muskelmassen ved å stimulere til MPS via økt transkripsjon og translasjon (S Bhasin, Woodhouse, & Storer, 2001; de Rooy et al., 2016) og redusere MPN ved å hemme viktige aktører i nedbrytningen (Dubois et al., 2012; Horstman, Dillon, Urban, & Sheffield-Moore, 2012). Dette kan observeres gjennom en livssyklus hvor mengden sirkulerende testosteron øker under puberteten

(Rogol, Clark, & Roemmich, 2000) til et stabilt nivå, før konsentrasjonen gradvis faller etter 35-40års alderen (Harman, Metter, Tobin, Pearson, & Blackman, 2001).

Muskelmassen vil også øke under puberteten, før den gradvis faller med økende alder (Horstman et al., 2012). Hvis man tilfører testosteron med supplement over det normale nivået hos mennesker kan både muskelstyrken og muskelmassen øke (Bhasin et al., 1996; Bhasin et al., 2001). Det skal sies at lavere testosteronnivå med økende alder er kun en av flere faktorer som kan føre til tap av muskelmasse.

Testosteron produseres hovedsakelig i testiklene og sekreses derfra ut i blodet (Horstman et al., 2012). Når testosteron kommer frem til en målcelle vil det diffundere gjennom cellemembranen og bindes til AR (figur 2.2.3). AR vil så bli en aktiv transkripsjonsfaktor som kan bindes til DNAet i cellekjernen, som i en muskelcelle vil føre til transkripsjon av muskelspesifikke gen (Dubois et al., 2012; Gobinet et al., 2002). Dette kan for eksempel være kontraktile proteiner, som gjør at muskelmassen øker (Bhasin et al., 2006). Til tross for at effektene av testosteron på muskelmasse er godt kjent, så er ikke signaleringen like godt utforsket (S Bhasin et al., 2001). Vi skal nå se nærmere på hvordan testosteron kan påvirke PKB, p70S6K, foxO3a og REDD1. For flere detaljer om mekanismer bak testostérons påvirkning henvises leseren til reviews av de Rooy et al. (2016); Hooper et al. (2017); M Vicencio et al. (2011).

### **2.2.2.1 Effekten av testosteron på PKB og p70S6K**

En mulig bakenforliggende mekanisme for hvordan testosteron kan aktivere PKB/mTOR/p70S6K signalveien er ved å øke transkripsjon av IGF-1 (Dubois et al., 2012). Dette er undersøkt hos eldre menn som fikk supplementet testosteron enanthate, som er et vanlig medisinsk supplement, hvor mennene fikk økt mengde IGF-1 og økt MPS (Ferrando et al., 2002; Urban et al., 1995). Testosteron er også vist å kunne øke konsentrasjonen av IGF-1 mRNA i cellekulturer og dyremodeller (Kamanga-Sollo et al., 2004). En annen mulig mekanisme er en direkte link mellom AR og PI3-Ks regulatoriske subenhet, p85, slik at AR kan direkte aktivere PKB/mTOR/p70S6K signalveien (Baron et al., 2004). Testosteron kan trolig føre til en anabol respons uten å binde seg til AR. Dette kan skje ved at testosteron binder seg til andre

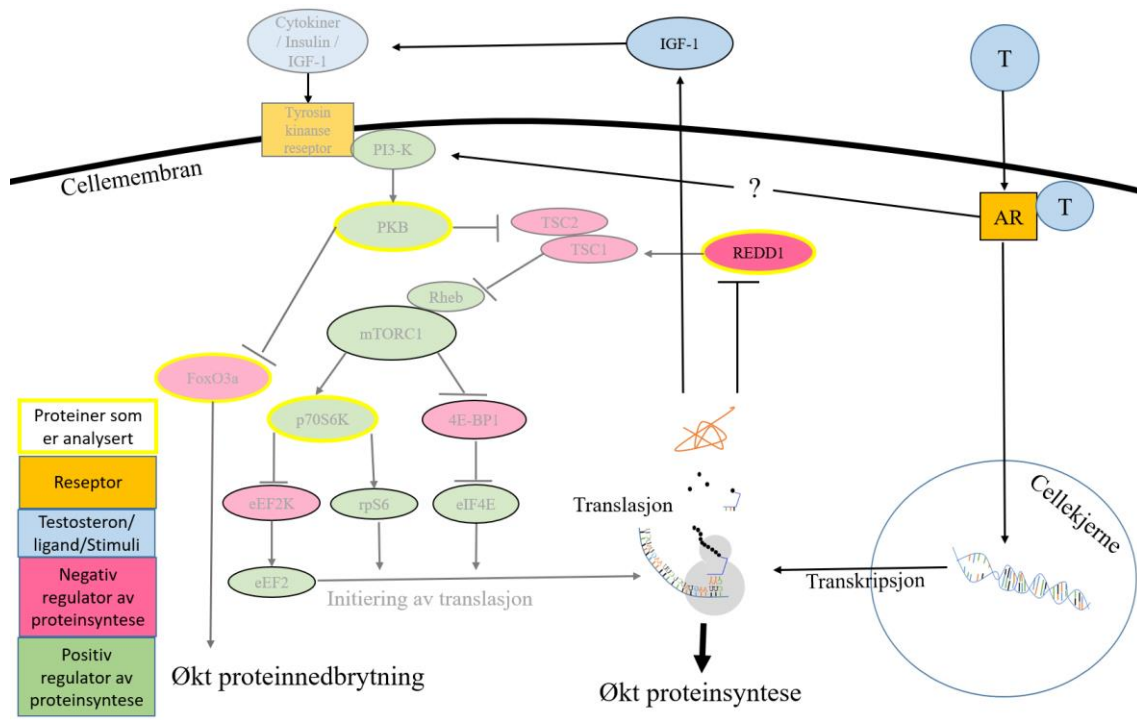
membranreseptorer, som videre aktiverer protein som PKB og p70S6K (Hooper et al., 2017; M Vicencio et al., 2011).

### **2.2.2.3 Effekten av testosteron på foxO3a**

Økt aktivitet igjennom PI3-K/ PKB vil også redusere MPN ved å fosforylere foxO3a (Dubois et al., 2012). Studier på mus og rotter viser en reduksjon i IGF-1 etter kastrering og reduksjon i fosforylert foxO3a, som videre førte til en økning i atrogen-1 og MURF1 (A. Jones, Hwang, Narayanan, Miller, & Dalton, 2010; White et al., 2013). Når det ble gitt testosteron proprionat eller nandrolone decanoate, ett steroid-supplement som har nesten lik aktiv struktur som testosteron, ble effekten av kastreringen reversert (A. Jones et al., 2010; Serra et al., 2013; White et al., 2013).

### **2.2.2.4 Effekten av testosteron på REDD1**

En studie på kastrerte mus rapporterte signifikant høyere REDD1 mRNA, lavere IGF-1 mRNA, lavere fosforylering av PKB og p70S6K hos de kastrerte sammenlignet med sham opererte. Når de kastrerte musene fikk nandrolone decanoate økte både IGF-1 mRNA konsentrasjonen og fosforyleringen av PKB og p70S6K signifikant samtidig som REDD1 mRNA ble redusert (White et al., 2013).



**Figur 2.2.3:** Forenklet illustrasjon av mulig virkningsmekanisme bak testosteronets påvirkning for økt fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og redusert mengde REDD1. Proteiner analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; Dubois et al., 2012; Gordon et al., 2016).

## 2.2.3 Effekt av styrketrening og proteininntak

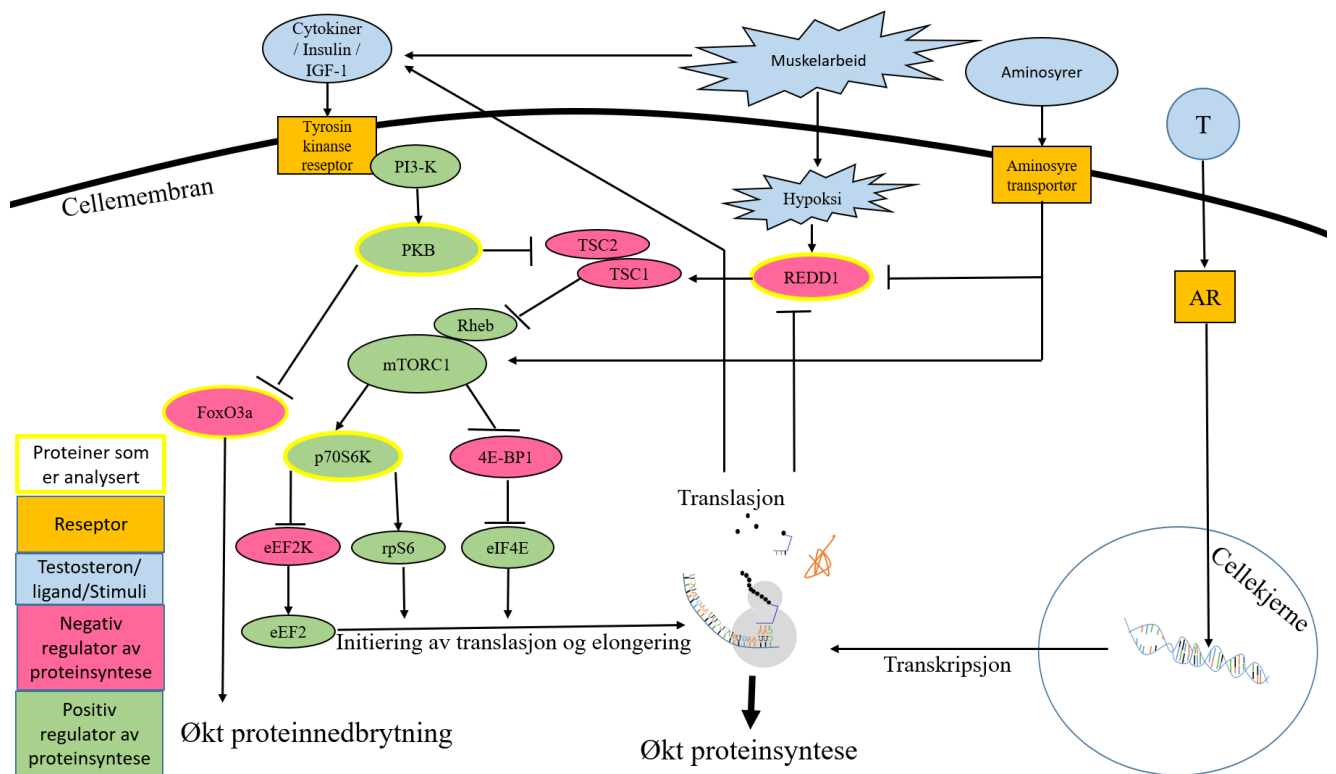
Styrketrening kan defineres som « ... all trening som er ment å utvikle eller vedlikeholde vår evne til å skape størst mulig kraft (eller dreiemoment) ved en spesifikk eller forutbestemt hastighet» (T Raastad et al., 2010). Som tidligere nevnt er muskelmassen en avgjørende faktor for hvor mye kraft en muskel kan skape, og i dette underkapittelet vil fokuset være på hvordan styrketreningen og proteininntak vil påvirke muskelmassen, proteinbalanse og de fire målproteinene.

### 2.2.3.1 Effekten av styrketrening og proteininntak på muskelproteinsyntesen

Styrketrening fører normalt til en økning i MPS (Phillips, Tipton, Ferrando, & Wolfe, 1999). Ved fravær av næring vil imidlertid den totale proteinbalansen være negativ fordi MPN også øker i etterkant av trening (Burd, Tang, Moore, & Phillips, 2009; Phillips,

Tipton, Aarsland, Wolf, & Wolfe, 1997). Inntak av proteiner vil på den andre siden påvirke proteinbalansen positivt fordi økt aminosyrekonsentrasjon i muskelcellene kan stimulere til å øke MPS (Atherton et al., 2010). Inntak av aminosyrer vil kunne øke MPS i et tidsrom på 0.5 til 6 timer (Reitelseder et al., 2011; Rennie, Bohé, & Wolfe, 2002; Tang, Moore, Kujbida, Tarnopolsky, & Phillips, 2009), avhengig av hvilken proteinkilde som inntas (Reitelseder et al., 2011). Kombinert styrketrening og proteininntak kan øke MPS inntil 48 timer (Phillips et al., 1997) og vil altså være fordelaktig for økning av muskelmasse (Morton et al., 2018).

En styrketreningsøkt vil i mange tilfeller aktivere flere, eller til og med samtlige, av de nevnte stimuliene (metabolsk stress, mekanisk drag, hormoner), og derfor er muskelvekst ofte et resultat av styrketrening (Coffey & Hawley, 2007). Etter en styrketreningsøkt ser man økt aktivering av transkripsjons- (for eksempel AR) og translasjonsfaktorer (for eksempel eEF2), som resulterer i både økt transkripsjon og translasjon. Hvis styrketreningen opprettholdes over en lengre periode vil dette resultere i en økning i muskelproteiner som vil gi økt muskelmasse.



**Figur 2.2.4:** Forenklet illustrasjon av mulig virkningsmekanisme bak testosteronets, styrketrening og proteininntaks påvirkning for økt fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og redusert mengde REDD1. Proteiner analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; de Rooy et al., 2016; Dubois et al., 2012; Gordon et al., 2016).

### 2.2.3.2 Effekt av styrketrening på PKB

Flere studier har rapportert en økt fosforylering av PKB på Ser473-bindingssete i etterkant av trening (Dreyer et al., 2006), proteininntak og næringsinntak (Creer et al., 2005; Francaux et al., 2016). Når protein- og/eller næringsinntak blir kombinert med styrketrening er det rapportert en større økning i fosforylering av PBK (Francaux et al., 2016; Kakigi et al., 2014). Andre studier finner ingen endring i fosforylering (Apró & Blomstrand, 2010; Farnfield et al., 2011), men det kan skyldes forskjeller i biopsitidspunkter, trening og proteininntak.

### 2.2.3.3 Effekt av styrketrening på P70S6K

I de fleste studier er det Thr389-bindingssete til p70S6K som er undersøkt, og det er rapportert økt fosforylering av dette bindingssete i etterkant av både proteininntak (Apró

& Blomstrand, 2010) og styrketrening (Eliasson et al., 2006; Terzis et al., 2008; Terzis et al., 2010). Av studier som har sammenlignet styrketrening med og uten proteininntak er det flere som rapporterer høyere fosforylering med kombinert enn med kun styrketrening alene (Apró & Blomstrand, 2010; Kakigi et al., 2014; Reitelseder et al., 2011). Kombinasjonen av styrketrening etterfulgt av proteininntak ser ut til å være mest ideelt for høyest mulig fosforylering av p70S6K på Thr389-bindingssete (Francaux et al., 2016; Kakigi et al., 2014). Fosforyleringen er ofte forhøyet 1 time etter trening og vedvarer i 3 timer etter endt trening (Reitelseder et al., 2011).

Hos eldre menn er det også rapportert økt fosforylering av p70S6K, men størrelsen på endringen varierer mellom studiene (Tabell 2.2.3). Dette kan skyldes ulik mengde protein som inntas etter økten (D'Souza et al., 2014; Dickinson et al., 2014), treningsstatus (Farnfield et al., 2011) eller biopsitidspunkt (Atherton et al., 2017; Drummond et al., 2008).



**Tabell 2.2.3:** Studier som har undersøkt effekten av styrketrening kombinert med proteininntak på p70S6K fosforylering på bindingssetet thr389 hos eldre menn.

Forfattere	Hensikt	Beskrivelse	Deltagere	Proteininntak	Biopsi-tidspunkt	Endring fra baseline/total mengde
Drummond et al, 2008	Sammenligne anabolsk signalering og proteinsyntese hos eldre og yngre etter styrketrening kombinert med proteininntak.	Møtte fastende til akutttdag. Bilateral kneekstensjon 8s/10r/70%/3min. Supplement 1 time etter trening.	6 (70år)	20g EA	1 time: 3 timer:	0,4 Fosforylert/total 1,2 -
Farnfield et al, 2011	Undersøke effekten av styrketrening og proteininntak på signal proteiner i muskel hos unge og eldre før og etter en 12 ukers styrketreningsintervensjon.	Møtte fastende til akutttdag før intervensjonen. Unilateral kneekstensjon 3s/8r/2min. Inntok supplement rett etter trening.	15(68år)	26.6g melkeprotein	3 timer:	28,4 Fold
Dickinson et al, 2014	Undersøke effekten av leucininntak etter styrketrening på proteinsyntesen, mTOR-signalering og aminosyretransporter mRNA ekspressjon.	Fastende over natten. Bilateral sittende kneektensjon 8s/10r/65/3min. Supplement 1 time etter trening.	15 (72år)	10g EA + 1.85g leucin: 3.5g leucin :	2 timer: -	11 Fold 12 -
D'Souza et al, 2014	Undersøke intramuskulær aminosyrenivå og fosforylert p70 etter styrketrening og ulike mengde proteininntak hos eldre menn.	Møtte fastende til akutttdag. Bilateral knebøy i smith-maskin, beinpress og sittende kneekstensjon 3s/8-10r/80%. Inntok supplement rett etter treningen.	46 (69år)	Melkeprotein Placebo: 10g: 20g: 30g: 40g:	2 timer: - - - -	5 Fold NS 15 - NS 23 - 32 - 38 -
Atherton et al, 2017	Undersøke forskjell mellom leucin-rik protein drikk og alanine etter styrketrening.	Møtte fastende til akutttdag. Unilateral kneekstensjon 6s/75%/3min. Inntok supplement rett etter og 30 min etter treningen.	18 (70 år)	10g melkeprotein + 4.2g leucin: - + 4.2g alanine: -	1 time: 2 timer: 1 time: 2 timer:	2.4 Fosforylert/total 3.2 - 1.8 - 2.1 -

NS; Ikke signifikant, RM; Repetisjon maksimum, s; Serie, r; Repetisjon, EA; Essensielle Aminosyrer, Fold; endring fra baseline, Fosforylert/total; raten mellom fosforylert og total på samme tidspunkt.

### 2.2.3.4 Effekt av styrketrening på foxO3a

En studie på yngre menn rapporterte en reduksjon i foxO3a mRNA 3,5 time og 6 timer etter en styrketreningøkt (Reitelseder et al., 2014). En annen studie på yngre menn rapporterte en reduksjon i foxO3a mRNA 5 timer etter en styrketreningsøkt, men ingen endring i total mengde eller fosforylering av foxO3a (Stefanetti et al., 2015). Hos yngre og eldre kvinner rapporterte en studie en signifikant nedgang i fosforylert foxO3a i cytosol etter en styrketreningsøkt hos begge grupper. Det var ingen endring i fosforylert foxO3a i cellekjernen etter styrketreningsøkten på samme tidspunkt (Williamson, Raue, Slivka, & Trappe, 2010). Yngre overvektige menn hadde ingen endring i fosforylering eller genuttrykk av foxO3a etter styrketrening og proteininntak under kalori restriksjon (Hector et al., 2017). Langvarig lavkarbohydrat diet derimot ført til økt genuttrykk av foxO3a hos mennesker (Villareal et al., 2013).

Det er, så vidt forfatteren kjent, få studier som har undersøkt fosforylering av foxO3a i etterkant av styrketrening. Det kan virke som styrketrening kan redusere mengden total foxO3a, som potensielt kan redusere funksjonen til foxO3a som transkripsjonsfaktor, mens fravær av næring kan øke mengden total foxO3a (Stefanetti et al., 2018). Diskusjonen rundt foxO sin virkning på levetid og helse vil ikke bli utdypet i denne oppgaven (Martins, Lithgow, & Link, 2016; Stefanetti et al., 2018).

### **2.2.3.5 Effekt av styrketrening på REDD1**

Ved styrketrening ser det ut som genuttrykket av REDD1 generelt blir redusert, men endringen i REDD1 er ikke konsekvent og korrelerer ikke alltid med endring i fosforylering av mTORC1 (Gordon et al., 2016). En mulig forklaring kan være at det ikke kun er mengden REDD1 som er avgjørende, men også plasseringen i cellen kan være av betydning. Translokalisering av REDD1 fra cytosol til cellemembranen, ved aktivering av G protein-koblet reseptor (GPCR), kan muligens fjerne REDD1 sin inhiberende effekt på mTOR (Michel et al., 2014).

En studie som undersøkte anabol signalering hos eldre og yngre fant økt REDD1 ekspresjon i etterkant av styrketrening kombinert med proteininntak hos de eldre, men ikke hos yngre deltagerne. De eldre hadde redusert fosforylering av p70 og PKB på samme tidspunkt sammenlignet med de yngre (Francaux et al., 2016). En annen studie, som sammenlignet yngre og eldre kvinner, rapporterte også lignende resultater. Etter en styrketreningsøkt fikk de yngre kvinnene ett lavere nivå av REDD1 mRNA, noe de eldre kvinnene ikke fikk (Greig et al., 2011).

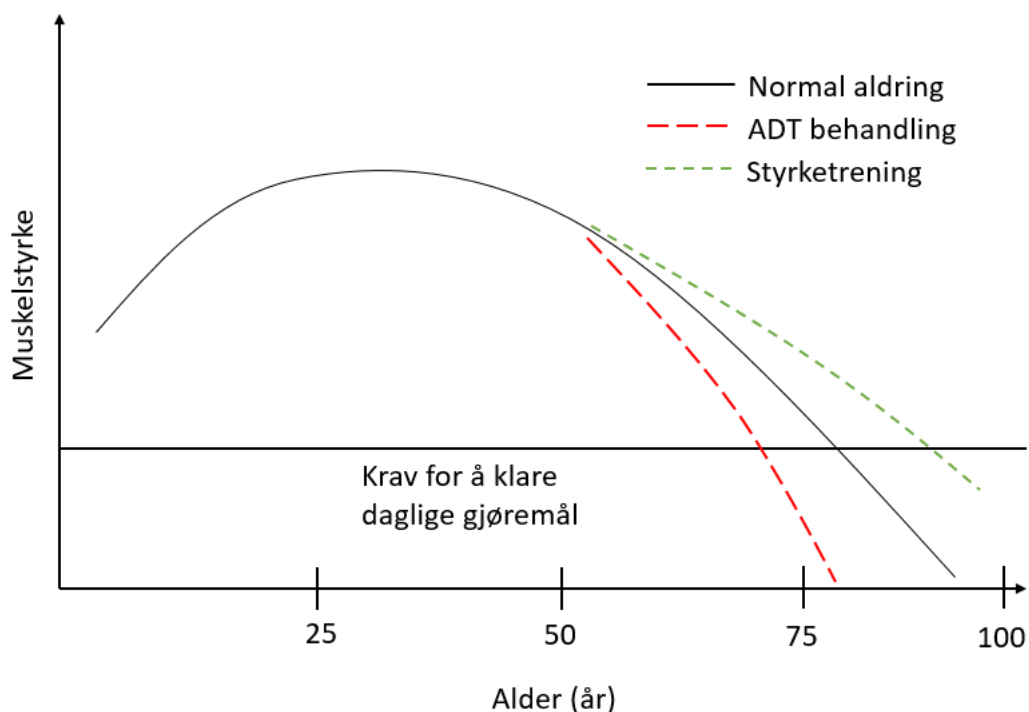
### **2.2.4 Oppsummering**

Kort oppsummert vil testosteron, styrketrening og proteininntak kunne føre til økt fosforylering av PKB, p70S6K og foxO3a. Dette vil kunne påvirke proteinbalansen ved å øke MPS og redusere MPN, som over tid vil kunne øke muskelmassen. Motsatt respons, men lik virkning, vil testosteron og proteininntak kunne ha på REDD1 mengden, mens styrketrening hos eldre individer kan potensielt øke mengden. I det

neste kapitlet vil vi se nærmere på effekten av styrketrening når en fjerner testosteronet (ADT behandling) for PK pasienter.

### 2.3 Effekten av styrketrening under ADT

Muskelstyrken er essensiell for funksjonsnivået (Figur 2.3)(D. Galvao, Taaffe, Spry, & Newton, 2007), og reduseres ved aldring (Fragala et al., 2015). Muskeltapet hos PK pasienter på ADT fremstår som akselerert sammenlignet med jevnaldrende kontroller (van Londen et al., 2008), og kan derfor kunne redusere funksjonsnivået hurtigere (Bylow, Mohile, Stadler, & Dale, 2007; Gonzalez et al., 2016; Storer, Miciek, & Travison, 2012). Både redusert grepstyrke (Alibhai et al., 2010) og overkroppsstyrke (Basaria et al., 2002) har blitt rapportert hos PK pasienter på ADT sammenlignet med PK pasienter uten ADT. Dette kan over tid øke risikoen for fall, flytting til pleiehjem og tap av uavhengighet (Janssen, Heymsfield, & Ross, 2002; T. E. Jones et al., 2009).



**Figur 2.3:** Teoretisk modell som illustrerer fallet i muskelstyrke gjennom aldringsprosessen. ADT; Androgen deprivasjonsterapi. Basert på figuren til Galvão et al., (2007).

Styrketrening er foreslått som en effektiv strategi for å motvirke tapet i muskelmasse for PK pasienter på ADT behandling (de Rooy et al., 2016), og generelt for den eldre populasjonen for å bedre den fysiske funksjonen (Liu & Latham, 2009).

### 2.3.1 Treningsintervensjoner

Det er flere studier som har undersøkt effekten av trening under ADT, og basert på tall fra 7 studier har en metaanalyse estimert en økning i fettfri masse på 1 kg ved styrketrening (Keilani et al., 2017). En ulempe med de inkluderte studiene er blant annet ulik intervensjonstid (3-12 måneder) og hvordan treningen ble gjennomført (hjemmebasert trening versus treningsstudio).

**Tabell 2.3.1:** Studier som har undersøkt effekten av styrketrening på fettfrimasse hos prostatakreftpasienter under androgen deprivasjons terapi (ADT).

Forfattere	Deltagere	Varighet (Uker)	Varighet ADT		Økter per uke	Trening	Endring total LBM (kg) innad i treningsgruppen	Endring total LBM (kg) per uke	Intervensjons effekt
			baseline (måneder)						
Galvao et al.,	2006	10	20	38	2	2-4s x 6-12RM	-0,2 NS	-0,01	Ikke kontroll
Galvao et al.,	2009	29	12	18	2	2-4s x 6-12RM	0,8	0,067	0,76
Alberga et al.,	2012	23	24	3	3	2s x 60-70% av 1RM	-0,3 NS	-0,013	2,75
Hanson et al.,	2012	17	12	44	3	1s x 15r av 5RM	1,7	0,142	Ikke kontroll
Cormie et al.,	2015	28	~12	0,2	2	1-4s x 6-12RM	-0,6 NS	-0,05	0,7
Nilsen et al.,	2015	28	16	9	3	1-3s x 6-10RM	0,5 NS	0,031	0,5
Winter-stone et al.,	2015	24	52	39	3	1-3s x 8-12R	0	0	0,3
Gjennomsnitt:		22,7	21,1	21,6	2,5	~2s x 10RM	0,27	0,024	~1

NS; Ikke signifikant, RM; Repetisjon maksimum, s; Serie, r; Repetisjon, ADT; Androgen deprivasjons terapi, LBM; Lean bodymass.

Alle studiene inkludert i tabellen ovenfor har gjennomført intervensjonen på treningsstudio med tilnærmet helkroppsprogram og målt muskelmasse med DXA (Tabell 2.3.1). Det er noe sprikende resultater innad i treningsgruppen i endring av total LBM, men sammenlignet med kontrollgruppene har treningsgruppene en samlet intervensjonseffekt på ca 1kg i fettfri masse (Alberga et al., 2012; Cormie et al., 2015; Galvão, Taaffe, Spry, Joseph, & Newton, 2009; Nilsen et al., 2015a; Winters-Stone et al., 2015). Til tross for en positiv intervensjonseffekt, så har fire av de fem studiene med kontrollgruppe en ikke signifikant endring innad i treningsgruppen i fettfri masse. Mye av årsaken til intervensjonseffekten til treningsgruppene er reduksjonen i kontrollgruppene, som Alberga et al., (2012) hvor kontrollgruppen har en reduksjon på

3 kg i fettfri masse (Alberga et al., 2012). To av studiene hadde ikke kontrollgruppe (Galvao et al., 2006; Hanson et al., 2012).

Ved å ekstrapolere gjennomsnittlig økning per uke ble den gjennomsnittlige økningen i muskelmasse etter 20 ukers styrketrening på 0,48kg for studiene i tabell 2.3.1, og sammenlignet med friske jevnaldrende er dette en mindre økning enn det som er rapportert for friske eldre på 1.1kg etter 20 uker (Peterson et al., 2011). Så vidt forfatteren kjent, så er det kun en studie som har undersøkt effekten av styrketrening hvor forsøkspersonene ble randomisert til enten ADT eller placebo. I studien fikk yngre menn redusert testosteronnivået, i samme relative grad som PK pasienter på ADT, som medførte en trend til redusert effekt på total LBM og signifikant redusert effekt på LBM i bein etter 12 ukers styrketrening sammenlignet med kontrollgruppen (Kvorning, Andersen, Brixen, & Madsen, 2006). Styrketrening har effekt for PK pasienter på ADT, men den er redusert sammenlignet med pasienter som ikke behandles med ADT. Hvilke av de bakenforliggende mekanismene, som vi har sett på i de foregående kapitlene, er det som fører til den reduserte effekten når man fjerner testosteronet hos PK pasienter på ADT?

### **2.3.2 MPS under ADT**

Det er kun én studie som har undersøkt MPS hos prostatakreftpasienter på ADT. Studien rapporterte at prostatakreftpasienter under ADT hadde redusert hvile og proteininntak-indusert økning i MPS sammenlignet med jevnaldrende friske menn. Når proteininntak ble kombinert med styrketrening ble det en signifikant økning for begge grupper sammenlignet med kun inntak av proteiner (Hanson et al., 2017). Dette kan tyde på at det ikke er stimuli etter styrketrening som er svekket, men at det er den basale MPS og proteininntak-induserte responsen som kan føre til at PK pasienter under ADT behandling får mindre økning i muskelmasse. En svakhet med denne studien er få deltagere og at det ble brukt litt ulikt proteinsupplement for ADT-gruppen og kontrollgruppen.

Både hvile og proteininntak-indusert MPS kan være redusert ved fravær av testosteron, men det trengs mer forskning for å kunne konkludere om effekten av styrketrening under ADT er redusert eller ikke, og eventuelt hvilke mekanismer som blir hindret av ADT. Så vidt forfatteren kjent er det ingen studier som har sett på muskelsignalerings hos PK pasienter på ADT.

## **2.4 Oppsummering**

Kort oppsummert ser det ut som at testosteron kan virke igjennom PI3-K/Akt signalveien som videre fosforylerer PKB, p70S6k og foxO3a. Testosteron kan også påvirke mengden REDD1. Styrketrening kombinert med proteininntak vil kunne øke fosforyleringen av PKB, p70S6K og potensielt foxO3a, samt mengden og translokering av REDD1. Hvordan vil dette bli påvirket av mangelen på testosteron for PK pasientene på ADT er ikke undersøkt. Teoretisk sett vil PK pasienter på ADT ha lavere fosforylering av PKB, p70S6K, foxO3a og større mengde REDD1 i hvile og etter proteininntak, men lik etter styrketrening sammenlignet med PK pasienter uten ADT. Dette kan være en mekanisme som hindrer MPS under ADT behandling.

## **3.0 Metode**

Denne masteroppgaven benytter resultater fra en større tverrsnittstudie (PROST100) som målte muskelproteinsyntesen, blodplasma glukose og insulin respons hos PK pasienter behandlet med Zoladex (ADT) og opererte PK pasienter som aldri har blitt behandlet med noen form for ADT. Prosjektet ble gjennomført som en tverrsnittstudie hvor pasientene møtte på Norges idrettshøyskole (NIH) ved fire anledninger: en tilvenningsdag, to treningsøkter og en akuttdag, hvor datainnsamlingen for denne masteroppgaven ble utført. Studien er godkjent av Regional etisk komité (REK) (2016/640/REK, vedlegg 2), Statens legemiddelverk (EUDRACT NO. 2016-005209-38, vedlegg 3) og i protokollutvalget ved Akershus universitetssykehus (AHUS, vedlegg 4). Kun metoder og analyser relevant for denne masteroppgaven vil bli beskrevet nedenfor.

### ***3.1 Rekrutering og inklusjon***

PK pasienter som ble behandlet med ADT, eller opererte som aldri hadde blitt behandlet med ADT, ble rekruttert fra urologisk avdeling ved AHUS og gjennom prostatakrefteforeningen (PROFO). Pasienter som var interessert i deltagelse fikk informasjon om prosjektet fra prosjektkoordinator Tormod S. Nilsen og ble videre klarert av medisinsk ansvarlig Kjell Magne Russnes. Alle pasienter signerte samtykkeerklæring ved første oppmøte på NIH. Alle pasientene måtte være innenfor inklusjons- og eksklusjonskriteriene oppgitt i tabell 3.1 for å kunne delta i studien.

**Tabell 3.1:** Inklusjonskriterier og eksklusjonskriterier for deltagelse i prosjektet.

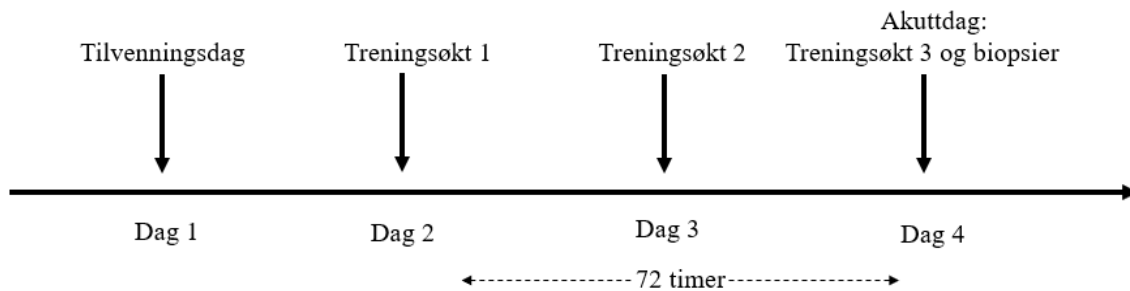
<b>Inklusjonskriterier</b>	<b>Eksklusjonskriterier</b>
Alder < 75 år	Har trent rutinemessig styrketrening (1 økt per uke siste 6 måneder)
Kapabel i å skrive og lese norsk	Medisinert mot osteoporose
Godtatt deltagelse av onkolog	Bruk av Warfarin (Marevan)
Mottatt informert samtykke	Stopp i behandling av acetylsalisylsyre ikke anbefalt
ADT-gruppen: behandlet med ADT	Forhold som kontraindikerer trening uten tilpassning:
Kontrollgruppen: ikke behandlet med ADT	Uregulert hypertensjon (> 160 / 95 mmHG)
	Ukontrollert kongestive hjertesvikt (NYHA klasse >2)
	Ustabil angina pectoris
	Nylig hjerteinfarkt (siste 6 måneder)
	Kardio arytmia
	Kronisk obstruktive lungesykdom
	Alvorlig astma
	Nylig infarkt
	Eplepsi
	Insulin-avhengig diabetes mellitus
	Skjelettmetastaser
	Mentalt forhold som kontraindikerer:
	Alvorlig angst eller depresjon
	Demens
	Alkoholiker eller andre misbruk (Lever-test)
	Mentalt utviklingshemmet
	Forhold som kompliserer evnen til å gjennomføre treningen:
	Ukontrollert smerte
	Alvorlig artrose
	Planlagt hofte / kne protese
	Patologiske brudd siste 6 måneder
	Amputering



## 3.2 Forsøksprotokoll

### 3.2.1 Gjennomføringsplan

Samtlige tester og treninger ble gjennomført på NIH, og er beskrevet i detalj nedenfor.



**Figur 3.2.1:** Oversikt over studien. Tiden fra tilvenningsdag (Dag 1) til treningsøkt 1 (Dag 2) varierte fra 3 til 14 dager.

#### Dag 1: Tilvenningsdag

På tilvenningsdagen ble forsøkspersonene introdusert til alle testprosedyrer i prosjektet. Dagen startet med at forsøkspersonene signerte samtykkeerklæring for deltagelse i studien (vedlegg 5). Forsøkspersonene svarte deretter på spørreskjema Godin Exercise Lesure-Time Questiiinaire (Godin, Jobin, & Bouillon, 1986) som tok for seg diverse bakgrunnsopplysninger, som blant annet kosthold og fysiske aktivitetsvaner (vedlegg 6). Videre ble det gjennomført en dual x-ray absorptiometry (DXA)-test for å måle kroppssammensetningen (Lunar IDXA, GE Healthcare, Madison, USA).

Som oppvarming til styrketestene ble det gjennomført 10 minutter sykling på en ergometersykkel. Etter oppvarmingen ble det gjennomført tilvenning til protokollen for maksimal viljestyrt kontraksjon (MVC). Etter MVC ble det gjennomført testing av 1 repetisjon maksimum (1RM) i øvelsene ettbeins beinpress (Selection PRO leg press, Technogym, Cesena, Italia), ettbeins kneekstensjon (Selection PRO leg exstension, Technogym, Cesena, Italia), brystpress (Selection Chest press, Technogym, Cesena, Italia) og sittende roing (Power row, Freeweight, Panatta, Italy). Hver øvelse ble startet med serier på 10, 6, 3 og 1 repetisjon med gradvis økning av motstand før maksløftet ble gjennomført. Hensikten med å teste 1RM var å kunne beregne nøyaktig motstanden

forsøkspersonene skulle trene med under treningsøktene og akuttdagen. Kriteriene for godkjent 1RM løft var som følger:

- Beinpress: riktig dybde i starten av bevegelsen og full ekstensjon i kneleddet.
- Kneekstensjon: full ekstensjon kneleddet i slutfasen av bevegelsen, og ikke løfte setet.
- Brystpress: riktig start- og skulderbueposisjon gjennom hele bevegelsesbanen og full ekstensjon i albueleddet.
- Sittende roing: albueene langt nok bak i sittende roing, brystet inntil brystputen.

## Dag 2: Treningsøkt 1

Den første treningsøkten ble gjennomført 3 til 14 dager etter tilvenningsdagen på NIH. Treningsøkten startet med ti minutters oppvarming på ergometersykkel etterfulgt av to oppvarmingssett med økende belastning. Deretter ble tre serier med 10 repetisjoner gjennomført i øvelsene ettbeins beinpress, ettbeins kneekstensjon, brystpress og roing (Tabell 3.2.1). Belastningen i treningsøkt 1 og 2 var 10 av 12RM for de to første seriene per øvelse, altså ikke til utmattelse. Den tredje serien ble gjennomført med 10RM til utmattelse. Motstanden ble satt til 70% av 1RM.

**Tabell 3.2.1:** Treningsprogram for treningsøkt 1, treningsøkt 2 og akuttdag

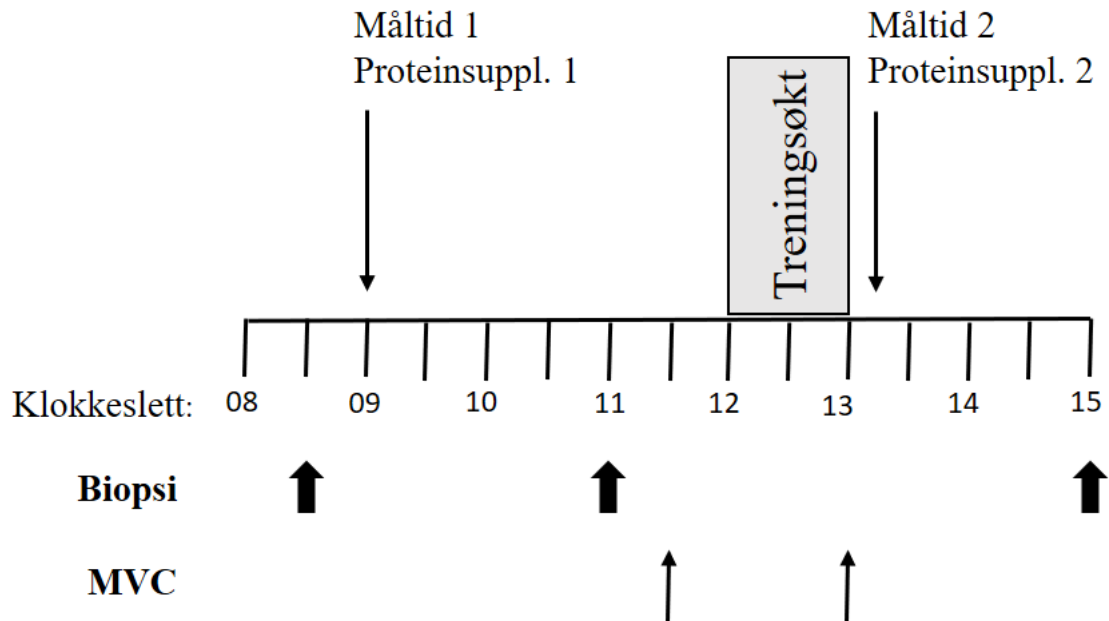
Øvelse	Oppv 1, 10 rep		Oppv 2, 10 rep		1.set 10 rep, 70% av 1 RM		2.set 10 rep, 70% av 1RM		3.set 10 rep, 70% av 1RM	
	Kg	Anstr	Kg	Anstr	Kg	Anstr	Kg	Anstr	Kg	Anstr
Ettbeins beinpress										
Ettbeins kneeks										
Brystpress										
Sittende roing										

## Dag 3: Treningsøkt 2

Den andre treningsøkten ble gjennomført på samme måte og innen det hadde gått 48 timer siden den første treningsøkten.

#### Dag 4: Akuttdag

På akuttdagen møtte pasientene fastene på NIH klokken 08.00 (Figur 3.2.2).



**Figure 3.2.2:** Oversikt over akuttdag. MVC; Maksimal viljestyrt kontraksjon.

- 08.30: Muskelbiopsi i fastende tilstand ble tatt i *m. vastus lateralis* i det ikke-trente bein før en standardisert frokost ble konsumert. Måltidet bestod av en frokostblanding med høy glykemisk indeks og en proteindrink.
- 11.00: En muskelbiopsi ble tatt i begge bein to timer etter måltidet for å måle effekten av måltid på muskelprotein-syntese og nedbrytning.
- 11.30: Gjennomføring av treningsøkt 3 var lik de beskrevet ovenfor, med unntak av belastningen som ble økt til 10 RM på alle 3 serier. Rett før og rett etter treningsøkten ble det gjennomført MVC. Etter treningen fikk pasientene ett nytt måltid, lik frokosten, for å optimalisere den anabole responsen.
- 14.30: To timer etter treningen ble det tatt en biopsi fra hvert bein for å måle effekten av trening på den anabole responsen.

### 3.2.2 Supplement

Forsøkspersonene fikk to standardiserte måltider under akuttdagen (Dag 4). Det første måltidet ble gitt rett etter første biopsi når forsøkspersonene var i en fastende tilstand. Det andre måltidet ble gitt rett etter treningsøkten. Hensikten med måltidene var å kunne måle den anabole- og blodglukoseresponsen etter overnatten faste og responsen av et måltid kombinert med trening. Hvert måltid bestod av en frokostblanding med høy glykemisk indeks og en proteindrink. Størrelsen på måltidet ble beregnet ut i fra kroppsvekt med følgende formel: 1.0 g karbohydrat per kg kroppsvekt og 0.3 g protein per kg kroppsvekt.

### 3.2.3 Muskelbiopsi

Under akuttdagen (Figur 3.2.2) ble det tatt fem muskelbiopsier på tre ulike tidspunkter, alle fra *m. vastus lateralis*. Første biopsi ble tatt fra det ikke-trente beinet rett etter oppmøte på NIH, hvor pasientene møtte opp fastende over natten. Den andre og tredje biopsien ble tatt 2 timer etter måltid, fra begge bein. De to siste biopsiene ble tatt 2 timer etter treningsøkten fra begge bein. Biopsitidspunktene var hensiktsmessig for å måle fosforyleringen av p70S6K1, men mulig for sent for å treffe toppunktet til PBK fosforyleringen.

Det ble gitt lokalbedøvelse (xylocain med adrenalin) før hvert snitt inn til muskelen ble laget (AstraZeneca, Södertälje, Sverige). Det ble laget tre snitt totalt, herunder to i venstrebeinet (ikke-trent) og ett i høyrebeinet (trent). Biopsiene ble tatt med en 6 mm Bergstrøm nål, som ble koblet på en vakuumpumpe. Muskelvev ble sugd inn i nålen ved bruk av vakuum før det så ble kuttet manuelt to ganger. Hver muskelbit var på ca. 150 mg. For å unngå at flere biopsier ble tatt i samme området varierte biopsitager mellom proksimal og distal retning på inngangen inn i muskelen. Videre ble muskelvevet fordelt til ulike analyser, før det så ble frosset ned ved hjelp av flyende nitrogen og lagret i ultrafrysere (-80°C).

### **3.2.3 Maksimal viljestyrt kontraksjon**

Maksimal viljestyrt kontraksjon i knestrekke ble testet i ett kneekstensjonsapparat fra Gym2000, med en tilkoblet kraftcelle (HBM U2AC2, Darmstadt, Tyskland).

Kraftcellen var koblet til en datamaskin med Labview 2017 (Labview 8.2, National instr., Austin, Texas), som registrerte kraften forsøkspersonene skapte under testen. Testen ble kun gjennomført på det trente beinet (høyrebeinet), og bestod typisk av mellom tre-fem maksimale forsøk. Den spesifikke oppvarmingen bestod av ett forsøk på ~ 50%, 70% og 90% av maksimal innsats. Forsøkspersonene ble bedt om å ta i maksimalt raskest mulig og holde i 2-3 sekunder på hvert forsøk. Det var en pause på 30-60 sekunder mellom hvert forsøk. Tilvenning til MVC ble gjennomført på tilvenningsdagen og testen ble gjennomført før og etter styrketreningen på akuttdagen (Dag3). Hensikten med MVC-testen var å objektivt måle hvor tung styrkeøkten på akuttdagen var.

## **3.3 Analyser**

### **3.3.1 Homogenisering**

Hver muskelbiopsiprøve ble tilsatt 1ml T-PER Tissue Protein Extraction (Thermo scientific, Kat. Nr.78510), 10 µl EDTA og 10 µl PINC. Deretter ble prøvene homogenisert 5 sekunder x 2 før den ble ristet i 30 minutter på en Multi-vortexer v-32 (Grant-Bio, England) på 4°C. Prøvene ble så sentrifugert på 10000 G i 5 minutter på 4°C ved bruk av Centrifuge 5417R (Eppendorf, Hamburg). Supernatanten fra hver prøve ble så pipettert over i nye rør, herunder 25 µl aliquoter i 10 stykk 0,2 ml rør og resterende mengde i ett 1,5 ml rør. Prøvene ble så frosset ned til -80°C.

### **3.3.2 Proteinmåling**

For å måle proteinkonsentrasjonen ble det brukt Bovine gamma globulin (Bio-Rad, USA) som standardprotein 0.125-1.5 mg/ml. Prøvene ble fortynnet 1:4 med dH<sub>2</sub>O (18.2 MΩ. Cm) i den hensikt å få lik proteinkonsentrasjon som standardproteinene. Standarder, prøver og kontroll ble pipettert i triplikater på 5 µl i hver brønn i en 96-brønns mikroplate (Greiner bio-one, Tyskland). Når alt var pipettert, ble det tilsatt 25 µl av reagens A:S (80 µl:4 ml) og 200 µl av reagens B i hver brønn. Prøvene ble så satt i et

mørkt skap i 15 minutter før analysert med FLUOstar Omega fra BMG Labtech (Offenburg, Germany). Proteinkonsentrasjonen (CV<10%) ble beregnet med Omega, MARS Data analysis, version 2.10 R3.

### 3.3.3 Western blot

For å måle fosforylering av p70S6K, PKB og foxO3A ble western blot brukt med antistoff mot bindingssete thr389, ser473 og ser253. Western blott ble også brukt for å måle total mengde av p70S6K, PKB, foxO3A og REDD1. Prøvene ble analysert som duplikater på samme gel i 12 brønns ferdigstøpte gradientgeler, Bolt™ 4-12% Bis- Tris Plus (Kat.Nr.# NW04122BOX, Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). I prøver, reagenser og kjemikalier ble dH<sub>2</sub>O (18.2 MΩ. Cm) tilsatt. Se vedlegg 1 for fullstendig protokoll.

Før muskelprøvene ble pipettert ble dH<sub>2</sub>O vann tilsatt for å justere proteinkonsentrasjonen i hver prøve. Deretter ble muskelprøvene, NuPAGE® LSD Sample Buffer (4x) (Kat.Nr# NP008, Novex Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) og NuPAGE® Sample Reducing Agent (10x) (Kat.Nr# NP009, Invitrogen™, Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) pipettert i det samme røret. Hver prøve ble tilsatt 25 µl av sampel buffer og 10 µl reducing agent. Når prøvene var ferdig preparert ble de satt på en varmeblokk med 70°C i 10 minutter, før pipettert over i 12 brønns gelene. Samtlige tidspunkt (før måltid, etter måltid, før trening og etter trening) fra en PK pasient på ADT og en operert PK pasient, samt to kontrollprøver, ble pipettert i en gel med tilsvarende duplikat gel. Loading volumet i hver brønn var 45 µl prøve med 30 µg protein per brønn.

For å separere proteinene ble elektroforesen kjørt i 45 minutter på 200 volt i systemet XCell Surelock™ Electrophoresis Cell (Novex® Mini-cell, Invitrogen™, USA). Blottingen ble kjørt i 90 minutter på 30 volt i XCell 11™ Blot module (Invitrogen™, Carlsbad, CA, USA), hvor proteinene ble overført fra gelen til en PVDF-membran, immun-Blot®PVDF (Kat.Nr#162-0177, Bio-Rad, CA, USA). Etter blottingen ble membranene blokkert i 5% melkeløsning under svak risting i 2 timer i romtemperatur,

før de ble kuttet opp i den hensikt å inkubere membranene i ulike primære antistoff. Inkuberingen av det primære antistoffet (tabell 3.3.3) for de fosforylerte proteinene ble gjort over natten på 4°C under svak risting. Neste dag ble membranene vasket i TBS-T i 15 minutter og deretter 3x5 minutter i TBS. Etter vaskingen ble membranene inkubert i sekundært antistoff i 1 time i romtemperatur under svak risting, etterfulgt av en ny vaskerunde med TBS-T og TBS.

Før bildene ble tatt ble membranene inkubert i Chelimescent Substrate SuperSignal® West Dura (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA) i 5 minutter. ChemiDoc™ MP Imaging System fra Bio-RAD (Hercules, CA, USA) ble brukt for til å ta bildene og analyser.

Etter billedtagningen ble membranen vasket i Stripping buffer (kat.Nr# 21059, Restore western blot, Thermo scientific, USA) i 10/30 minutter på en bordvippe i romtemperatur/50° for å fjerne alle antistoff. Deretter ble membranene vasket i TBS raskt 5 ganger, etterfulgt av 3 x 5 minutters runder på bordvippet i TBS. Etter vaskingen ble membranene blokkert på nytt i 5% melkeløsning i 2 timer i romtemperatur, før de ble vasket på nytt 2 ganger raskt og 2x2 minutter i TBS-T. Membranene ble deretter inkubert over natten i antistoff for total mengde. Videre ble samme prosess som tidligere gjentatt frem til billedtagningen.

**Tabell 3.3.3: Primær- og sekundærantistoff brukt under western blot.**

Antistoff	Produsent	Vert	Fortynning	Kat.nr
p70S6K	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#2708
Phospho p70S6K (Thr389)	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#9234
PKB	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#9272
Phospho PKB (Thr 473)	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#9271
FoxO3a	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#2497
Phospho FoxO3a (Ser253)	Cell Signaling	Kanin	1:1000	#9466
REDD-1	Proteintech	Kanin	1:1000	#10638-1-AP
Anti-rabbit IgG HRP-linked antibody	Cell Signaling	Geit	1:3000	#7074

### **3.4 Statistikk**

Hensikten med studien var å undersøke om det var forskjell i aktivering av anabole og katabole signalveier mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette ble studert ved å undersøke fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og mengde REDD1 mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid. For å sammenligne forskjellen mellom gruppene i hvile, effekt av måltid og effekt av trening, ble Mann-Whitney U test brukt. For å teste effekten av måltid og trening innad i gruppene ble Wilcoxon matched-pairs signed rank test brukt. For å sammenligne forskjellen i endring i MVC mellom gruppene fra før trening til etter trening ble Mann-Whitney U test brukt. Forskjellen innad i gruppene fra før trening til etter trening ble testet med Wilcoxon matched-pairs signed rank test. Sammenligninger mellom gruppene i antropometriske data ble gjennomført med uparet t-test. For å teste om dataene var normalfordelt ble Shapiro-Wilk test ( $n < 50$ ) gjennomført. Signifikansnivå på 5% ble vurdert til statistisk signifikant. Statistiske tester og beregninger ble gjort i Microsoft® Excel® 2016 MSO og GraphPad Prism 8® (GraphPad software inc., San Diego, CA, USA).



## 4.0 Resultater

### 4.1 Antropometriske data

Det var fem forsøkspersoner i gruppen PK pasienter på ADT og fire forsøkspersoner i gruppen opererte PK pasienter. I tillegg ble en forsøksperson fra ett tidligere prosjekt (Hamarsland, 2017) lagt til gruppen opererte PK pasienter i målingene av effekt av styrketrening.

Det var en signifikant forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i LBM ( $p=0,018$ ), fettfrimasse ( $p=0,014$ ), 1RM kneekstensjon ( $p=0,019$ ) og en tendens til forskjell i høyde ( $p=0,086$ ). Det var ingen forskjell mellom gruppene i alder, vekt, BMI, fettprosent, totalt fett, 1RM beinpress, 1RM brystpress og 1RM sittende roing (tabell 4.1).

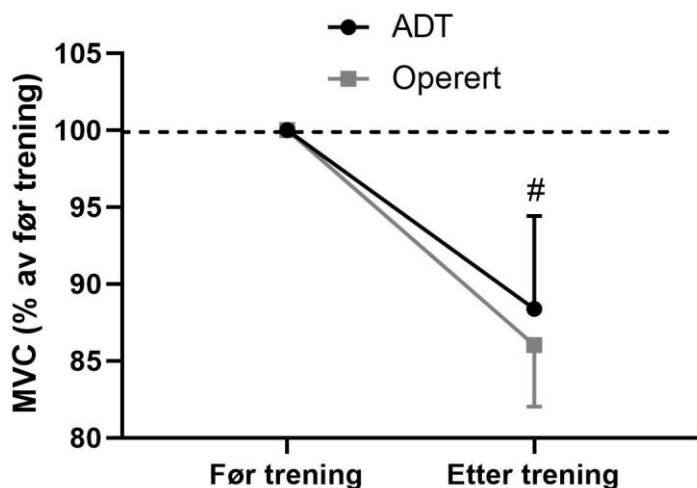
**Tabell 4.1:** Antropometriske data for PK pasientene.

	ADT (n=5)	Operert (n=4)	Forskjell mellom gruppene (p-verdi)
Alder (år)	71,1± 3,3	67,7±5,3	0,271
Vekt (kg)	84,8±14,4	90,1±7,1	0,527
Høyde (cm)	176,5±3,7	183,1±6,1	0,086
BMI	27,1±3,6	27±2,8	0,947
LBM (kg)	53±4,7	61,3±2,1	<b>0,018</b>
Fettfri masse (kg)	56,2±4,7	64,7±2,5	<b>0,014</b>
Fettprosent (%)	34,2±6	29,3±3,6	0,186
Totalt fett (kg)	28,8±9,8	25,6±5,3	0,576
1RM beinpress (kg)	72±33,5	77,5±22,2	0,787
1RM kneekstensjon (kg)	34±3,2	41,3±4,3	<b>0,019</b>
1RM brystpress (kg)	59±8,3	49,4±13,3	0,205
1RM sittende roing (kg)	35,3±5,6	38,8±4,8	0,477
Hard/moderat kondis. (min per uke)	147±128	255±135,3	0,318
Lett kondisjon (min per uke)	118±247,3	130±34,6	0,139
Styrketrening (min per uke)	50±91,1	40±61,4	0,999
Tid fra diagnose (måneder)	83,6±109,3	48,5±28,9	0,500
Varighet ADT (måneder)	37±31,5		

ADT; Androgen deprivasjons terapi, BMI; Body mass index, LBM; Lean body mass, RM; Reptisjon maksimum, Kondis; Kondisjon. Verdiene er gjennomsnitt ± standardavvik.

## 4.2 Endring i maksimal viljestyrt kontraksjon (MVC)

PK pasienter på ADT hadde en tendens til reduksjon i MVC på  $11,6 \pm 6,1\%$  ( $p=0,065$ ) etter treningen (Figur 4.2). Opererte PK pasienter hadde en ikke signifikant reduksjon på  $14 \pm 4\%$  ( $p=0,125$ ). Det var ingen forskjell i endringen mellom gruppene etter trening ( $p>0,999$ ).

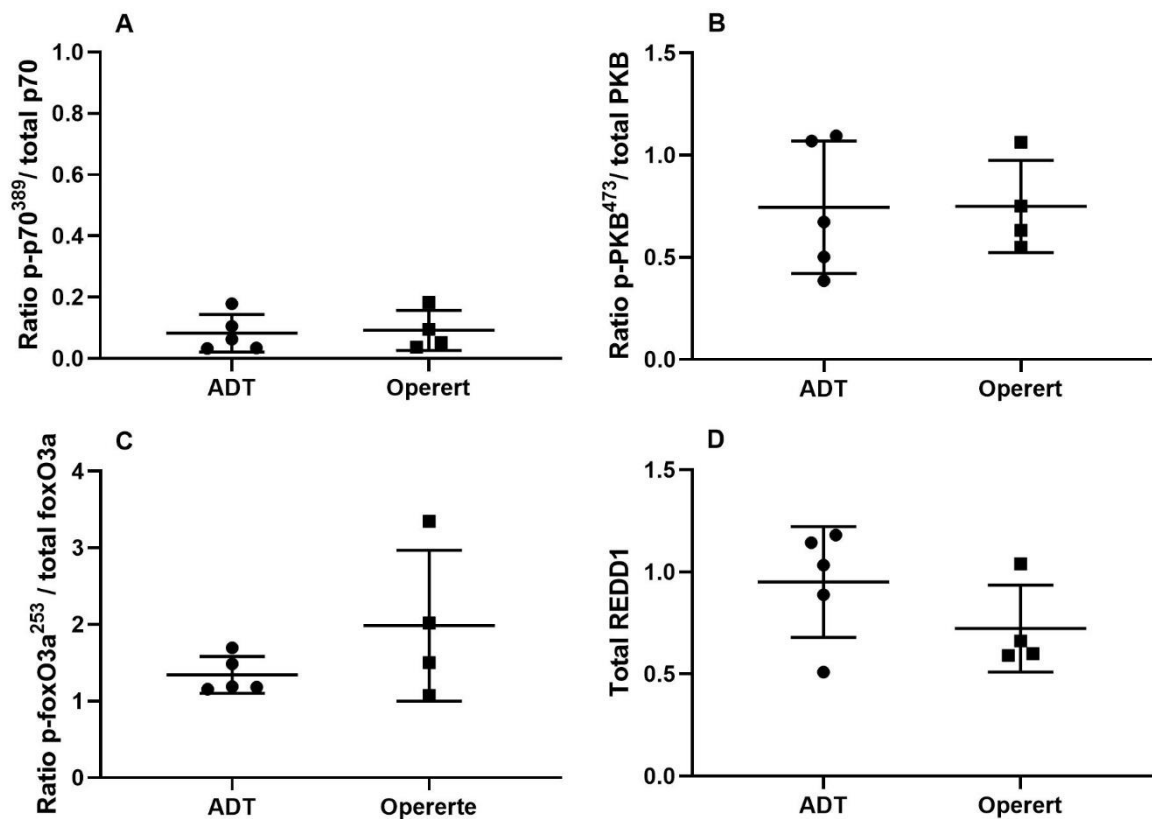


**Figur 4.2:** Endring i maksimal viljestyrt kontraksjon (MVC) i kneekstensjon for det trente beinet fra før til etter treningsøkten, for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Stiplet linje viser verdien før trening (100%). # Indikerer tendens til endring fra før trening ( $p<0,09$ ). Verdiene er gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik av de to høyeste målingene.

## 4.3. Intracellulær signalering

### 4.3.1 Fastende hvile (baseline)

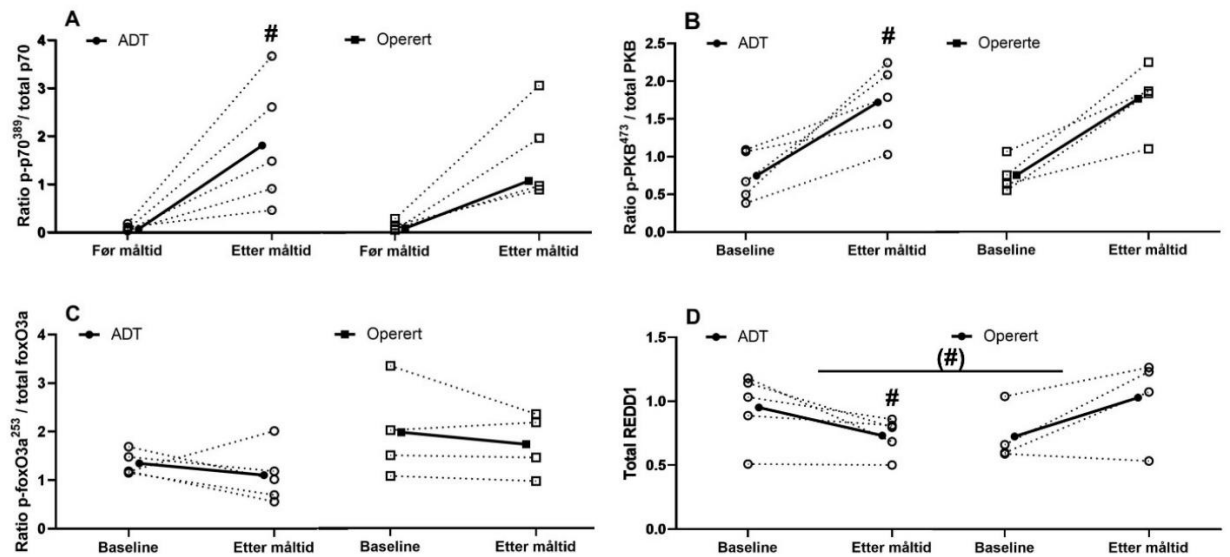
Det var ingen forskjeller i fosforylering av p70S6K ( $p=0,730$ ), PKB ( $p>0,999$ ), foxO3a ( $p=0,417$ ) eller mengde REDD1 ( $p=0,417$ ) på baseline mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter (figur 4.3.1).



**Figur 4.3.1:** Fosforylering av p70S6k (thr389, A), PKB (ser473, B), foxO3a (ser253, C) og total mengde REDD1 (D) på baseline, for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Resultatet er presentert med individuelle verdier med gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik for hver gruppe.

#### 4.3.2 Effekt av måltid

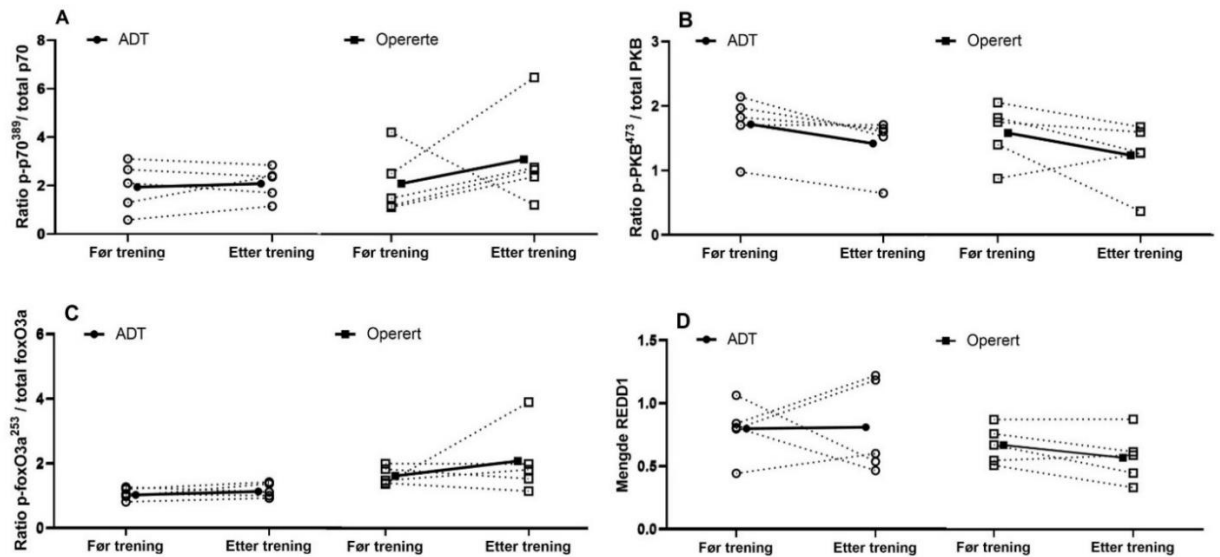
PK pasienter på ADT hadde en tendens til endring i p70S6K på 27 fold (Figur 4.3.2 A,  $p=0,063$ ) og PKB på 2,6 fold (Figur 4.3.2 B,  $p=0,063$ ) som et resultat av inntak av et måltid. Opererte PK pasienter hadde ingen endring i p70S6K (Figur 4.3.2 A,  $p=0,125$ ) og PKB (Figur 4.3.2 B,  $p=0,125$ ) i etterkant av et måltid. PK pasienter på ADT hadde en tendens til endring fra baseline til etter måltid i mengde REDD1 ( $p=0,0625$ ), og det var en tendens til forskjell mellom gruppene i mengde REDD1 (Figur 4.3.2 D,  $p=0,064$ ). Det var ingen forskjell mellom gruppene i fosforyleringsproteinene og ingen endring i fosforylering av foxO3a innad i gruppene etter måltidet (Figur 4.3.2 C).



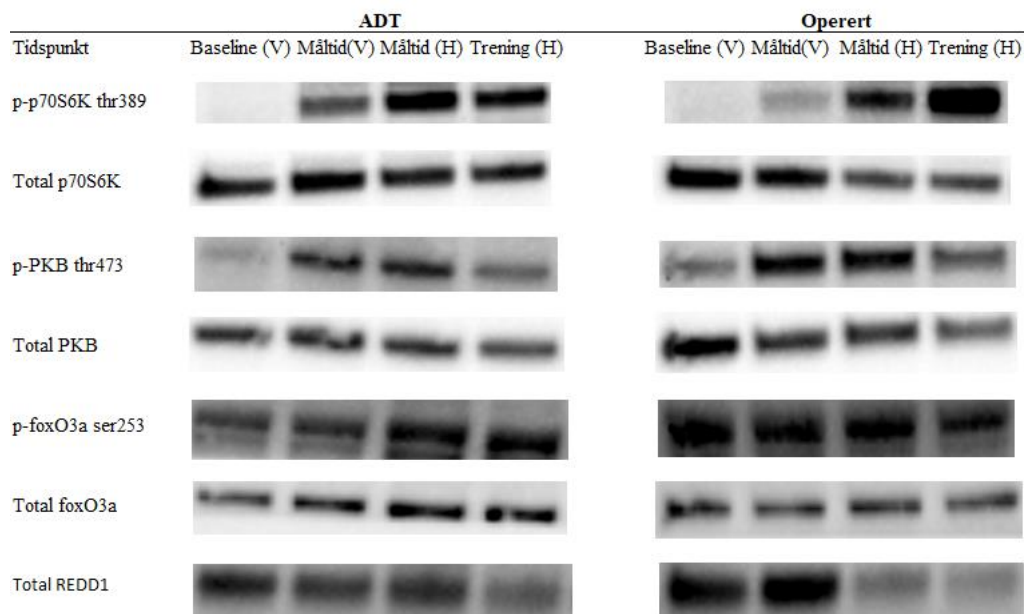
**Figur 4.3.2:** Endring i fosforyleringsstatus av p70S6K (thr473, A), PKB (ser473, B), foxO3a (ser253, C) og mengde REDD1 (D) fra baseline til etter et måltid, for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. # indikerer tendens til endring innad i gruppen ( $p < 0,09$ ). (#) indikerer tendens til forskjell mellom gruppene ( $p < 0,09$ ). Resultatet er presentert med individuelle verdier med gjennomsnitt (heltrukken linje)  $\pm$  standardavvik for hver gruppe.

### 4.3.3 Effekt av styrketrening

En jevnaldrende forsøksperson fra ett tidligere prosjekt ble lagt til gruppen opererte PK pasienter og økte antallet til fem forsøkspersoner. Det var ingen endring innad eller forskjell mellom gruppene i fosforylering av p70S6K (figur 4.3.3 A), PKB (figur 4.3.3 B), foxO3a (figur 4.3.3 C) og mengde REDD1 (figur 4.3.3 D) etter styrketrening kombinert med måltid.



**Figur 4.3.3:** Fosforylering av p70S6K (thr389, A), PKB (thr473, B), foxO3a (ser253, C) og mengde REDD1 (D) etter styrketrening kombinert med måltid, for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter etter trening. Verdiene er gjennomsnitt (heltrukket linje)  $\pm$  standardavvik. En jevnaldrende forsøksperson fra ett tidligere prosjekt ble lagt til gruppen opererte PK pasienter og økte antallet til fem.



**Figur 4.3.4:** Representative western blot bånd for proteinene som ble analysert. (V) er ikke-trent venstrebein. (H) er trent høyrebein.

## 5.0 Diskusjon

Hensikten med masteroppgaven var å undersøke om det var forskjell i aktivering av anabole og katabole signalveier i fastende hvile (baseline), etter måltid og styrketrening kombinert med måltid, mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette ble studert ved å undersøke fosforylering av p70S6K, PKB, og foxO3a, samt mengde REDD1 mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid. PK pasienter på ADT hadde en tendens til økning av fosforylert p70S6K og PKB fra baseline til etter måltid, men ingen endring etter treningsøkten. Det var ikke noen forskjeller mellom gruppene i hvile, etter måltid eller etter styrketrening kombinert med måltid. PK pasienter på ADT hadde en tendens til reduksjon i mengde REDD1, og det var en tendens til forskjell mellom gruppene etter måltid i mengde REDD1.

### 5.1 Metodiske betraktninger

Før diskusjon av resultatene vil metodiske betraktninger bli gjennomgått.

#### 5.1.2 Pasientutvalg

For å redusere sannsynligheten for å beholde eller forkaste en hypotese som ikke stemmer på feil grunnlag, ble det beregnet en utvalgsstørrelse for studien (Laake, Olsen, & Benestad (red.), 2015). Utvalgsstørrelsen ble beregnet på bakgrunn av fosforylering av p70S6K i etterkant av styrketrening, og er basert på kunnskap fra tidligere prosjekt fra NIHs laboratorium. Det ble forventet en 3,6 ( $\pm 1,1$ ) fold økning for opererte PK pasienter og 2,4 fold økning for PK pasienter på ADT etter styrketreningen. For å detektere en signifikant forskjell mellom gruppene med ett signifikansnivå på 5% og en teststyrke på 90%, tilsvarte dette at studien trengte 19 forsøkspersoner i hver gruppe.

Vi greide ikke å oppnå målet om 19 forsøkspersoner i hver gruppe innen analysearbeidet for denne masteroppgaven måtte igangsettes. Dette var fordi rekrutteringen tok litt lengre tid enn forventet. Dette kan skyldes både strenge inklusjons- og eksklusjonskriterier, og begrenset antall pasienter i nærområdet. En

annen grunn kan være designet til studiet med mange invasive inngrep på akuttdagen, som ikke gir så mye gevinst tilbake til forsøkspersonene. For å gi noe tilbake til forsøkspersonene ble det tilbudt treningsveiledning underveis og en individuell treningsplan, samt tilbud om å bruke NIHs treningslokaler i 6 måneder. Vi kunne i tillegg ha laget en artikkel eller kort video i PROFO, for å nå flere med informasjonen om prosjektet.

### **5.1.3 Intern validitet**

Med intern validitet menes det i hvilken grad resultatet i en studie kan tilskrives det man ønsker å undersøke eller om det er ytre faktorer som forstyrrer (Drageset & Ellingsen, 2009). Den interne validiteten kan trues blant annet av utvalgsskjevhet og statistisk validitet, som feil bruk av statistiske tester (Laake et al., 2015). For å redusere disse truslene ble det planlagt følgende tiltak beskrevet nedenfor.

Før oppstart av studiet ble det gjennomført pilottesting for alle tester og treninger. For å forhindre at testledere skulle påvirke resultatet ble begge testledere blindet frem til samtlige western blot analyser på laboratoriet var ferdig (Karanicolas, Farrokhyar, & Bhandari, 2010). Studiet var ikke dobbeltblindet, fordi pasientene visste hvilken behandling de hadde fått. Forfatteren var blindet for hvilken behandling forsøkspersonene hadde fått. Dette for å forhindre påvirkning i testingen og analysene på laboratoriet. De ulike biopsi-rørene, baseline, måltid og trening kunne også vært blindet for forfatteren slik at ingen påvirkning, bevist eller ubevist, kunne skjedd.

Det var en forskjell mellom gruppene i LBM, fettfrimasse, høyde og 1RM kneekstensjon. Forskjellen i LBM kan være relatert til ADT eller forskjellen i høyde mellom gruppene. Forskjellen i 1RM kneekstensjon kan være relatert til høydeforskjellen, men vil trolig ikke påvirke resultatene i denne masteroppgaven, da 1RM ble kun testet for å standardisere treningsmotstanden.

#### 5.1.4 Ekstern validitet

Med ekstern validitet menes hvilken populasjon vi kan generalisere våre konklusjoner til. Med inklusjons- og eksklusjonskriterier blir ofte forsøkspersoner selektert før deltagelse og dette kan føre til lav ekstern validitet (Laake et al., 2015).

I Norge har 48% av eldre menn i alderen 65 til 79 rapportert at de er mer enn 150 minutter fysiske aktive (svett og andpusten) ukentlig på fritiden (Engdahl et al., 2014). 20% av eldre i alderen 67 til 79 år (begge kjønn) rapporterte i 2015 at de trente styrketrening minst én gang i uken (Selmer-Andressen, 2018). I vår studie rapporterte PK pasientene på ADT at de trente hard (svett og veldig anstrengende)/moderat (litt svett og anstrengende) kondisjonstrening 147 ( $\pm 128$ ) minutter i uken, og 2 av 5 rapporterte at de trente styrke minimum én gang i uken. De opererte PK pasientene rapporterte 255 ( $\pm 135$ ) minutter hardt/moderat kondisjonstrening i uken og to av fire rapporterte at de trente styrketrening én gang i løpet av uken. Det kan dermed se ut som våre deltagere var blant de mest fysisk aktive i befolkningen (Engdahl et al., 2014). Det var ingen signifikant forskjell i fysisk aktivitet mellom gruppene i vår studie, men med flere deltagere kunne det ha vært en forskjell mellom PK pasientene i fysisk aktivitetsvaner.

Med strenge inklusjons- og eksklusjonskriterier fikk vi muligens redusert potensielle konfunderende faktorer og redusert sannsynligheten for uønskede hendelser. Det kan tenkes at metoden og designet som ble valgt i denne studien, kun har appellert til pasienter som er veldig interessert i trening i utgangspunktet. Dette kan begrense mulighetene til å generalisere våre funn til andre PK pasienter.

Antistoff for proteinene ble valgt på bakgrunn av det mesteparten av studiene innenfor fagfeltet har brukt (Cell Signaling Technology). For å «normalisere» fosforyleringsresponsen av styrketreningen ble det gjennomført to styrketreninger og en tilvenning før akuttdagen (Farnfield et al., 2011). En ulempe med western blot, som vil bli nevnt i mer detalj senere (5.1.6) er at protokoller for antistoff blir optimalisert på



hvert laboratorium. Dette kan redusere graden av sammenligning på tvers av studier (Taylor, Berkelman, Yadav, & Hammond, 2013).

### **5.1.5 Repeterbarhet og reproduserbarhet**

I testingen og analysearbeidet ble det brukt måleinstrumenter som aldri vil være helt presise. Dette kan medføre en variasjon som forstyrrer det man ønsker å undersøke, slik som effekten av ADT. Med repeterbarhet menes i hvilken grad resultatene er like ved gjentatte målinger. Med reproduserbarhet menes graden av variasjon når man endrer betingelsene rundt målingen, som for eksempel testleder (Laake et al., 2015). Kun målinger relevante for denne masteroppgaven vil bli gjennomgått.

Western blot har både utfordringer med repeterbarhet og reproduserbarhet (Taylor & Posch, 2014). Et tidlig steg i western blot innebærer å pipetere en bestemt mengde muskelvevsprøve ned i en gele bestående av små brønner. Hver gele ble pipettert med alle biopsitidspunkt for en PK pasient på ADT og en operert PK pasient. For å kontrollere at riktig mengde ble pipettert i hver brønn ble alt analysert med en duplikat-gele i samme elektroforeseboks. I tillegg ble det alltid pipettert to kontrollprøver i hver gele, både for å kontrollere pipetteringsmengden og hele prosessen. All rådata fra fosforyleringsproteinene ble først delt på kontrollprøven, deretter delt på total mengde av fosforyleringsproteinene. Kontrollprøven bestod av det samme muskelvevet, som var en blanding av flere restbiter fra biopsiene i prosjektet. Hensikten med kontrollprøvene var også å kunne sammenligne proteinene på tvers av duplikatene og sammenligne med andre duplikater. En metode for å kontrollere mengden som er pipettert i hver brønn er å benytte et «loading kontroll» protein, hvor antistoff mot et spesifikt protein blir brukt. En annen metode er å måle den totale mengden av alt protein pipettert i gelen. Western blot systemet brukt under analysearbeidet muliggjorde ikke måling av den totale mengden protein, og med manglende «loading kontroll» protein som virker stabile (Gilda & Gomes, 2013), ble det i stedet brukt kontrollprøver.

Der hvor forskjellene var for store (>20%) mellom duplikater ble enten verdien ekskludert eller hele gelen kjørt på nytt. På grunn av den godtatte variasjonen (<20%)

og sensitiviteten til western blot som analysemetode, er det vanskelig å detektere små forskjeller, på for eksempel 10%, som kan ha en fysiologisk betydning.

For at all trening og testing skulle bli gjennomført likt for alle forsøkspersonene (reproduserbarhet) ble alle styrketreningsøkter og tester gjennomført med begge testledere på de første fem forsøkspersonene. Til tross for dette, kan det ikke utelukkes at treningsintensiteten kan ha variert mellom forsøkspersonene med ulike testledere. Måltidene forsøkspersonene fikk på akuttdagen var standardisert slik at alle fikk like mye relativt til sin kroppsvekt. Begge måltider var nøyaktig lik mengde (nøyaktighet ned til 0,1 gram) av de ulike komponentene og ble servert på det samme tidspunktet i forhold til biopsitagning og trening.

### **5.1.6 Western blot**

Western blot er en etablert metode for å detektere spesifikke proteiner med antistoff for å kunne analysere enten mengde, fosforylering eller translokering av disse proteinene (Taylor & Posch, 2014). Til tross for at western blot er en mye brukt metode, er det mange muligheter for feilsteg underveis i prosedyrene som kan forstyrre og påvirke resultatet (Taylor et al., 2013). Videre vil tiltak og forberedelser som ble gjort for å redusere dette, samt hva som kunne vært gjort bedre, bli gjennomgått.

For alle antistoff ble det gjennomført ulike utprøvningsprosedyrer for å sikre best mulig og riktig resultat. Dette innebar utprøving av ulik varighet på elektroforesen og for blokkering av membraner, vasking med ulike buffere, stripping av membraner og ulike inkuberingsperioder for sekundært antistoff. Ulike buffere (Bovine serum alanine/ skummet melk) i primær- og sekundærløsning ble testet for hvert antistoff. To av antistoffene hadde en uspesifikk binding til vektmarkøren, dermed ble en ny vektmarkør innført for samtlige proteiner. Ulik konsentrasjon av antistoff, melkeløsning og protein per brønn ble også testet.

Ideelt ville total mengde foxO3a blitt målt i cellekjerne og cytosol, men et fraksjoneringssett som kunne muliggjort dette var ikke tilgjengelig hos leverandøren.

FoxO3a ser<sup>253</sup> ble derfor lagt til protokollen. Dette gjelder også REDD1 hvor undersøkelse av translokering til cellemembranen hadde vært interessant.

Av de tre isoformene til PKB, er det PKB $\alpha$  som var det mest interessante. Det ble derfor brukt ett antistoff til det spesifikke bindingsete PKB thr<sup>473</sup>. Det kan diskuteres om det burde vært immunopresipitert i tillegg for å være sikker på at det kun var endring i fosforyleringsgraden av PKB $\alpha$  thr473, og ikke de to andre isoformene som ble detektert (Schultze et al., 2011). Immunopresipitering er en metode for å separere ulike isoformer (Bonifacino, Dell'Angelica, & Springer, 1999).

REDD1 har en molekylvekt på 25 kilodalton (kDA), men observeres ofte rundt 35 kDA (Chang et al., 2009). Under testingen av REDD1 ble proteinet observert mellom vektmarkørene 25 og 37 (ca. 32 kDA), og det ble da tatt en vurdering på at det er REDD1 som ble detektert. Den vurderingen ble basert på at antistoffet som ble brukt var fra samme leverandør (Proteintech) som de fleste studier bruker. For å være helt sikker burde REDD1 knockout vev (vev uten REDD1) blitt testet.

### **5.1.7 Oppsummering**

Denne masteroppgaven har færre forsøkspersoner enn det som var beregnet til riktig utvalgsstørrelse, og de inkluderte forsøkspersonene er sannsynligvis blant de mest aktive i befolkning. Med kombinasjonen av få forsøkspersoner og western blot som analysemetode anbefales leseren å tolke resultatet med forsiktighet.

## **5.2 Intracellulær signalering**

### **5.2.1 Baseline**

Det var ingen forskjell i fosforyleringen av p70S6K, PKB og foxO3a i fastende hvile mellom ADT og opererte PK pasienter i studien vår, noe som var forventet i forhold til studiens hypoteser. Det var ingen forskjell i mengde REDD1 mellom gruppene, som motstrider vår hypotese.

I likhet med andre studier var fosforyleringen av p70S6K lav i fastende hvilende tilstand (Dickinson et al., 2014; Farnfield et al., 2011; Francaux et al., 2016). Våre funn samsvarer også med målinger gjort i tidligere prosjekter på vårt laboratorium som har målt fosforyleringen av p70S6K i hvile etter én natts faste. Francaux et al. (2016) rapporterte ingen forskjell mellom yngre og eldre mennesker i fosforylering av p70S6K. Også i samsvar med vår hypotese, var det heller ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av PKB ved baseline. Det var heller ingen forskjell i studien til Francaux et al. (2016) mellom yngre og eldre i fosforylering av PKB ved baseline (Francaux et al., 2016).

I samsvar med studiens hypotese var det ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av foxO3a ved baseline. Det er generelt akseptert at transkripsjonen av foxO3a økes i fastende tilstand (Stefanetti et al., 2018), men en studie på overvektige yngre menn rapporterte ingen endring i fosforylering eller transkripsjon av foxO3a ved kalori-restriksjonsdiæt (Hector et al., 2017). Studie på kvinner rapporterte at fosforyleringen av foxO3a var signifikant lavere hos eldre kvinner enn hos yngre ved baseline (Williamson et al., 2010). En svakhet i vår studie var at ikke total mengde foxO3a ble målt i cellekjernen, da dette hadde vært et bedre mål på foxO3a sin funksjon ved baseline.

Det er, så vidt forfatteren kjenner, ingen studier som har undersøkt disse proteinene hos kastrerte mennesker, men i dyremodeller fører kastrering til lavere fosforylering av p70S6K, PKB og foxO3a (White et al., 2013). En svakhet med å sammenligne med dyrestudier er at det ikke nødvendigvis er de samme begrensningene i stegene i MPS for dyr som for mennesker. For eksempel at det er initieringen og ikke translasjonen som virker som det begrensende steget hos rotter (Wolfe, 2017).

I motsetning til hypotesen, var det ingen forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte i mengde REDD1 i hvile. Faste hos rotter kan føre til økt mengde REDD1 (McGhee, Jefferson, & Kimball, 2009). Det var ingen forskjell i mengde REDD1 mellom yngre og eldre mennesker i fastende tilstand (Francaux et al., 2016). Det er

kjent at testosteron påvirker mengden REDD1 i dyrestudier (White et al., 2013). Selv om ikke testosteronnivået er målt i Francaux et al., (2016) kan det tenkes at nivåene vil være forskjellige mellom yngre og eldre mennesker, men da ikke tilstrekkelige til at mengden REDD1 blir påvirket. Det kan se ut som en tendens i datamaterialet mot noe høyere REDD1 hos PK pasienter på ADT. Det kan tenkes at med flere forsøkspersoner i vår studie kunne det blitt en signifikant forskjell, men med få forsøkspersoner er det feil å både konkludere at det kan være en forskjell (type 1-feil), og at det ikke er en forskjell mellom gruppene (type 2-feil) (Laake et al., 2015).

Hanson et al. (2017) rapporterte MPS på 39% i hvile hos ADT pasienter på ADT sammenlignet med friske menn (Hanson et al., 2017). Vi fant i midlertidig ingen forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter ved baseline på våre variabler. Det å sammenligne noen av regulatorene med syntesehastigheten til MPS direkte, er ikke uproblematisk. En studie på yngre og eldre menn rapporterte en signifikant sammenheng mellom MPS og fosforylering av p70S6K for de yngre, men det var ingen sammenheng for de eldre mennene (Kumar et al., 2009). En studie på rotter hadde samsvar mellom fosforylering og MPS ved første treningsstimuli, men 4 uker senere på treningsstimuli nr. 13 var det en signifikant respons i MPS og ikke i fosforyleringen (Ato et al., 2019). Andre studier finner samsvar mellom økt fosforylering og MPS (Atherton et al., 2017; Mitchell et al., 2014). Signaleringsen bak MPS er kompleks (Schiaffino et al., 2013), og vi har kun målt få av regulatorene. Derfor kan vi ikke direkte sammenligne resultatet vårt med Hanson et al. (2017).

### **5.2.2 Effekt av måltid**

PK pasienter på ADT hadde en tendens til økning av fosforylering av p70S6K og PKB, men det var ingen forskjell mellom gruppene som respons på måltidet. Det var ingen endring innad eller forskjell mellom gruppene i fosforylering av foxO3a. Det var derimot en tendens til forskjell mellom gruppene i mengde REDD1 etter måltidet, og PK pasienter på ADT hadde en tendens til reduksjon av REDD1 etter måltidet.

I kontrast til vår hypotese var det ingen forskjell mellom fosforylering av p70S6K mellom gruppene. Kun PK pasienter på ADT hadde en tendens til økt fosforylering av p70S6K. Det var forventet en respons på måltid i fosforyleringen av p70S6K. Datamaterialet kan tyde på at både PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter hadde en respons på måltidet, herunder en økning på 27 fold (antall ganger en verdi endres) for PK pasienter på ADT og 15 fold for opererte PK pasienter (data ikke presentert). Francaux et al. (2016) fant ingen endring hos de eldre i fosforylering av p70S6K etter et måltid, men en signifikant endring hos de yngre mennene. En mulig årsak kan ha vært at biopsitagningen var 30 min etter måltidet, noe som kan ha vært for kort tid for å se en endring i p70S6K.

I samsvar med studiens hypotese var det ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av PKB. Dette stemmer overens med Francaux et al. (2016) som ser en økning i fosforylert PKB i etterkant av ett måltid for både de yngre og eldre (Francaux et al., 2016). Til tross for ingen endring i gruppene, lener datamaterialet her også mot en respons på måltidet for begge grupper i fosforyleringen av PKB.

Det var verken endring innad i gruppene eller forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fosforylering av foxo3a som en respons på måltidet. Dette samsvarer med studiens hypotese. Teoretisk sett vil endringen fra katabol til anabol tilstand føre til endringer i foxO3a (Stefanetti et al., 2018), men det er ikke nødvendigvis dette som er tilfelle (Hector et al., 2017). Fraksjonerte prøver hadde muliggjort undersøkelse av total mengde foxO3a i cellekjerne og cytosol. Det er mulig at det har skjedd en respons i total mengde eller genuttrykk av foxO3a som respons på måltidet, men dette ble ikke målt i denne masteroppgaven.

I vår studie fant vi en tendens til forskjell mellom gruppene i REDD1 mengde, noe som motstrider med hypotesen om ingen forskjell. Tendensen til forskjell kan skyldes at PK pasienter på ADT hadde en tendens til reduksjon av mengden REDD1 etter måltidet. Francaux et al. (2016) fant ingen forskjell mellom yngre og eldre mennesker 30 minutter etter inntak av et proteinsupplement (Francaux et al., 2016). Det er begrenset

med studier som undersøker REDD1 hos mennesker (Gordon et al., 2016), men i en studie som undersøkte MPS hos vanlige mus og knockout REDD1 mus ved faste, rapporterte de at MPS ble redusert hos de vanlige musene. MPS ble ikke redusert hos knockout musene. To timer etter mating hadde REDD1 mengden sunket hos de vanlige musene og det var ingen forskjell i MPS mellom de vanlige og knockout musene (Gordon, Williamson, Lang, Jefferson, & Kimball, 2015). En forskjell mellom Francaux et al. (2016) og Gordon et al. (2015) er supplementet som ble gitt og biopsitidene, hvor musene fikk en kombinasjon av protein og karbohydrat. En forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i mengde REDD1 burde teoretisk sett kunne blitt detektert som forskjell mellom gruppene i fosforylering av p70S6K (Gordon et al., 2016), noe det ikke var.

Hanson et al. (2017) fant en forskjell mellom ADT- og kontrollgruppen i etterkant av et måltid, noe vi ikke fant for p70S6K, PKB og foxO3a. Disse pasientene fikk 40g protein, tilsvarende 0,46g protein/kroppsvekt/måltid. I vår studie fikk deltagerne 0,3g protein/kroppsvekt/måltid, men også 1 gram karbohydrat/ kroppsvekt/måltid. Det kan hende at våre forsøkspersoner ikke fikk en optimal respons da noen studier anbefaler høyere dose for eldre (Pennings et al., 2012). En annen studie på eldre menn rapporterte at en lavere dose på 20 gram protein var optimalt i hvile, men at behovet økte til 40 gram ved styrketrening (Yang et al., 2012). Det kan spekuleres i om det var optimal mengde protein som ble gitt i vår studie, da vi ikke målte MPS. Begge grupper fikk en respons, så mengden protein gitt i studien skal ha vært tilstrekkelig for å kunne finne en forskjell. En svakhet med Hanson et al. (2017) er at de to gruppene fikk ulikt proteinsupplement, noe som kan ha vært årsaken til forskjellen mellom gruppene (Hanson et al., 2017). Som tidligere nevnt er det problematisk å direkte sammenligne noen få regulatorer med studien til Hanson et al. (2017).

### **5.2.3 Effekt av trening**

Det var ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av p70S6K, PKB og foxO3a, samt mengde REDD1 etter styrketreningen. Dette stemmer ikke overens med studiens hypotese om forskjell mellom gruppene i PKB og foxO3a fosforylering etter

styrketrening kombinert med måltid, men støtter hypotesen om ingen forskjell i p70S6K fosforylering og mengde REDD1.

I samsvar med hypotesen var det ingen forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fosforyleringen av p70S6K. Vi hadde forventet en signifikant økning i p70S6K i begge grupper som respons på styrketreningen og nytt måltid. Farnfield et al. (2011) hadde en 28 fold økning i fosforylering av p70S6K i etterkant av styrketrening og måltid for utrente eldre (Farnfield et al., 2011). Dickinson et al. (2014) rapporterte en 12 folds økning som respons på styrketrening og proteinsupplement hos eldre menn (Dickinson et al., 2014). Francaux et al. (2016) fant ingen endring i p70S6K etter måltid, men etter trening hadde de eldre en signifikant økning (Francaux et al., 2016). Hvis resultatet i vår studie hadde vært regnet om til fold endring hadde PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter en lik fold endring som studiene nevnt ovenfor. Responsen i fold endring etter måltidet tyder på en solid respons på måltidet hos begge grupper, som kan ha ført til at responsen på styrketrening og ett nytt måltid ikke førte til ytterligere fosforylering av p70S6K.

Det var ingen signifikant forskjell i fosforyleringen av PKB mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette funnet motstrider hypotesen til studien. De eldre i Francaux et al. (2016) fikk heller ikke en signifikant endring mellom måltid og styrketrening med måltid. De yngre i studien fikk derimot en signifikant endring (Francaux et al., 2016). Farnfield et al. (2011) fant ingen endring i fosforylering av PKB, men dette kan skyldes at forsøkspersonene kun fikk proteinsupplement og at biopsitidspunktet to timer etter var for seint til å detektere endringen i PKB. En studie på yngre menn og kvinner rapporterte en signifikant økning i fosforylering av PKB en time etter trening og måltid, mens to timer etter treningen var det ikke lenger noen signifikant endring (Dreyer et al., 2006). Reitelseder et al. (2011) rapporterte også signifikant endring i PKB en time etter styrketrening og proteinsupplement hos yngre mennesker, men det var ikke lenger signifikant to timer etter baseline (Reitelseder et al., 2011). I vår studie var biopsitagningen to timer og 40 minutter etter at styrketreningen



på beinet var fullført. Dette kan ha ført til at biopsitidspunktet kom for seint til å treffe toppen av PKB fosforyleringen (Manning & Toker, 2017).

Det var ingen endring i fosforyleringsstatus av foxO3a innad i gruppene, eller forskjell mellom gruppene etter en styrketreningsøkt kombinert med måltid, som er i samsvar med hypotesen. Studier på yngre menn har vist en reduksjon i mRNA i etterkant av styrketrening (Reitelseder et al., 2014), men ingen endring i fosforylering av foxO3a (Stefanetti et al., 2015). Andre studier har også rapportert ingen endring i fosforylering av foxO3a etter styrketrening (Fry et al., 2010; Hector et al., 2017). Studien på kvinner rapporterte at det var en trend til forskjell mellom gruppene etter treningsintervensjonen, hvor de eldre hadde en høyere ratio i cellekjerne/cytosol foxO3a enn de yngre (Williamson et al., 2010). Det kan hende at det har vært en respons hos foxO3a på styrketreningen hos PK pasientene, men at den har skjedd i genuttrykket eller total mengde i cellekjernen i stedet.

I samsvar med hypotesen var det ingen forskjell mellom gruppene i mengde REDD1 i etterkant av styrketrening kombinert med måltid. Fry et al. (2010) rapporterte ingen endring i REDD1 mengde i etterkant av okklusjonstrening (trening med redusert blodtilførsel) for eldre menn (Fry et al., 2010). Et interessant funn av Francaux et al. (2016) var at de eldre i studien hadde en signifikant økning av mengde REDD1 fra hvile til etter styrketrening kombinert med måltid (Francaux et al., 2016). En forskjell mellom Francaux et al. (2016) og studien vår var biopsitidspunktene, hvor Francaux et al. (2016) tok biopsi 30 minutter etter styrketreningen. Mekanismene bak REDD1 og responsen på trening er enda ikke fullt forstått, og dermed kan hende at biopsitidspunktet i studien vår ikke var riktig for å treffe toppunktet til REDD1 (Gordon et al., 2016). Det var planlagt å måle translokering til cellemembranen, da det kan være en akutt endring som hindrer REDD1 sin inhiberende effekt på mTORC1 (Michel et al., 2014).

Hanson et al. (2017) fant ingen forskjell i MPS mellom gruppene etter styrketrening kombinert med måltid. Dette kan tyde på at PK pasienter på ADT kan oppnå en lik respons som friske jevnaldrende menn (Hanson et al., 2017). Det var heller ingen

signifikante forskjeller mellom gruppene i vår studie på regulatorene av MPS etter styrketrening kombinert med måltid i noen av fosforyleringsproteinene eller mengde REDD1. En vesentlig forskjell mellom Hanson et al. (2017) og vår studie var biopsitidspunktene, da de var to timer før i vår studie. Sammenhengen mellom fosforyleringen av regulatorene og MPS kan variere ved ulike tidspunkt (Atherton et al., 2010), noe som også gjør det problematisk å sammenligne studiene. Det er heller ikke alltid sammenheng mellom MPS i etterkant av en treningsøkt og økningen av muskelmasse over en periode (Damas, Phillips, Vechin, & Ugrinowitsch, 2015).

Noe overaskende var det at det ikke var noen endring innad i gruppene i fosforyleringsstatus som respons på styrketreningen. Som tidligere nevnt kan dette skyldes at fosforyleringsstatusen var allerede forhøyet etter første måltid. Analysene i prosjektet ble gjort på det ikke trente beinet på effekten av måltid og det trente beinet på effekten av styrketrening kombinert ved måltid. For å da sammenligne effekten av styrketrening kombinert med måltid med baseline, måtte vi da undersøkt på tvers av beinene. Dette kan være utfordrende med tanke på at deltagerne samme uke hadde to styrketreningsøkter på det trente beinet (Farnfield et al., 2011; Williamson et al., 2010).

Hanson et al., (2017) tar opp et godt poeng med viktigheten av å trene til utmattelse, noe de har hatt god effekt av tidligere for økning av LBM for PK pasienter på ADT (Hanson et al., 2012). Under akutt dagen i vår studie ble det fokusert på at alle de tre settene skulle tas til utmattelse. MVC testen viste en reduksjon i maksimal kraftutvikling for det trente beinet for begge grupper på gjennomsnittlig 13%, som er litt lavere enn det som forventes i etterkant av tung styrketrening (Truls Raastad, Risøy, Benestad, Fjeld, & Hallén, 2003). En årsak til litt lavere gjennomsnittlig reduksjon i maksimal kraftutvikling kan skyldes at MVC-testen ble gjennomført ca. 40 minutter etter at styrketreningen på beinet var gjennomført. Dette tyder på at PK pasientene gjennomførte en hard styrketreningsøkt. Med ett sterkt treningsstimuli kan det se ut som PK pasienter på ADT kan oppnå samme responsen på trening som opererte PK pasienter.

### **5.3 Oppsummering**

Kun PK pasienter på ADT hadde en tendens til respons på måltidet i fosforylering av p70S6K og PKB, men datamaterialet til begge grupper lener seg mot en anabol respons etter måltidet og etter styrketreningen. Det var ingen forskjell i fosforylering av foxO3a eller mengde REDD1, men uten fraksjonerte prøver kan vi ha gått glipp av akutte endringer.

Selv om PKB, p70S6K, foxO3a og REDD1 er viktige proteiner i reguleringen av proteinbalansen, ble ikke MPS og MPN analysert i denne masteroppgaven. Det er derfor viktig å bemerke at man kun har målt noen aktører i noen av signalveiene bak proteinbalansen over kort tid, og vi kan da ikke si med sikkerhet at responsen etter styrketrening er normal eller om den er begrenset hos PK på ADT. Kombinasjonen av få forsøkspersoner og individuell variasjon i western blot, kan gjøre det vanskelig å detektere forskjeller som kan ha fysiologisk betydning. Om et år vil sannsynligvis flere resultater foreligge både på regulatorene målt i denne masteroppgaven og data på MPS. Det vil da også kunne bli gjennomført fraksjonering av foxO3a og REDD1. Dette muliggjør å undersøke om fosforyleringen og translokasjonen av proteinene samsvarer med MPS hos PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter.

Det er behov for flere studier som undersøker mekanismene bak ADT sin påvirkning på anabole og katabole signalveier. For å se på ADT sin effekt på muskelsignaleren kan en studie som både måler aktivering av anabole og katabole signalveier, proteinbalansen og endring i muskelmasse, være mer klinisk relevant enn en tverrsnittstudie. For eksempel en intervensjonsstudie kombinert med akuttdag, hvor PK pasienter på ADT gjennomfører styrketrening.

## 6.0 Konklusjon

Hensikten med studien var å undersøke om det var forskjell i aktivering av anabole og katabole signalveier mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Dette ble studert ved å undersøke fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og mengde REDD1 mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid.

Hovedhypotese:

PK pasienter på ADT vil ha lavere aktivering av anabole signalveier og større aktivering av katabole signalveier i fastende hvile (baseline), etter måltid og etter styrketrening kombinert med måltid, sammenlignet med opererte PK pasienter.

Underhypoteser:

- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av p70S6K1 etter måltid, men lik i hvile og etter styrketrening, sammenlignet med opererte PK pasienter.
  - Det var ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av p70S6K etter måltid, dermed ble ikke hypotesen bekreftet.
- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av PKB etter styrketrening, men lik ved hvile og etter måltid, sammenlignet med opererte PK pasienter.
  - Det var ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av PKB etter styrketrening, dermed ble ikke hypotesen bekreftet.
- PK pasienter på ADT vil ha en større mengde REDD1 i hvile, men lik mengde etter måltid og trening, sammenlignet med opererte PK pasienter.
  - Det var ingen forskjell mellom gruppene i mengde REDD1 i fastende hvile, dermed ble ikke hypotesen bekreftet.

- PK pasienter på ADT vil ha lavere grad av fosforylering av foxO3a etter styrketrening, men lik i hvile og etter måltid.
  - Det var ingen forskjell mellom gruppene i fosforylering av foxO3a etter styrketrening, dermed ble ikke hypotesen bekreftet.

Ingen av underhypotesene om forskjell mellom PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter ble bekreftet. Dermed ble ikke hovedhypotesen om lavere anabol og høyere katabol aktivering for PK pasienter på ADT sammenlignet med opererte PK pasienter bekreftet. Få forsøkspersoner i hver gruppe gjør at dataene i bestefall kan brukes til å se tendenser, men det trengs flere forsøkspersoner før det er riktig å konkludere.

## Referanseliste

Agus, D. B., Cordon-Cardo, C., Fox, W., Drobnjak, M., Koff, A., Golde, D. W., & Scher, H. I. (1999). *Prostate cancer cell cycle regulators: response to androgen withdrawal and development of androgen independence*. Journal of the National Cancer Institute, 91(21), 1869-1876.

Alberga, A. S., Segal, R. J., Reid, R. D., Scott, C. G., Sigal, R. J., Khandwala, F., . . . Kenny, G. P. (2012). *Age and androgen-deprivation therapy on exercise outcomes in men with prostate cancer*. Supportive Care in Cancer, 20(5), 971-981.

Alberts, B., Bray, D., Hopkin, K., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., . . . Walter, P. (2014). *Fourth edition - Essential cell biology* New York, USA: Garland Science.

Alibhai, S. M., Breunis, H., Timilshina, N., Johnston, C., Tomlinson, G., Tannock, I., . . . Canning, S. D. (2010). *Impact of androgen-deprivation therapy on physical function and quality of life in men with nonmetastatic prostate cancer*. Journal of Clinical Oncology, 28(34), 5038-5045.

Apró, W., & Blomstrand, E. (2010). *Influence of supplementation with branched-chain amino acids in combination with resistance exercise on p70S6 kinase phosphorylation in resting and exercising human skeletal muscle*. Acta physiologica, 200(3), 237-248.

Atherton, P. J., Etheridge, T., Watt, P. W., Wilkinson, D., Selby, A., Rankin, D., . . . Rennie, M. J. (2010). *Muscle full effect after oral protein: time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and*

*mTORC1 signaling*. The American journal of clinical nutrition, 92(5), 1080-1088.

Atherton, P. J., Kumar, V., Selby, A. L., Rankin, D., Hildebrandt, W., Phillips, B. E., . . . Smith, K. (2017). *Enriching a protein drink with leucine augments muscle protein synthesis after resistance exercise in young and older men*. Clinical Nutrition, 36(3), 888-895.

Ato, S., Tsushima, D., Isono, Y., Suginoara, T., Maruyama, Y., Nakazato, K., & Ogasawara, R. (2019). *The effect of changing the contraction mode during resistance training on mTORC1 signaling and muscle protein synthesis*. Frontiers in physiology, 10, 406.

Baron, S., Manin, M., Beaudoin, C., Leotoing, L., Communal, Y., Veyssiere, G., & Morel, L. (2004). *Androgen receptor mediates non-genomic activation of phosphatidylinositol 3-OH kinase in androgen-sensitive epithelial cells*. Journal of Biological Chemistry, 279(15), 14579-14586.

Basaria, S., Lieb, J., Tang, A. M., DeWeese, T., Carducci, M., Eisenberger, M., & Dobs, A. S. (2002). *Long-term effects of androgen deprivation therapy in prostate cancer patients*. Clinical endocrinology, 56(6), 779-786.

Berruti, A., Dogliotti, L., Terrone, C., Cerutti, S., Isaia, G., Tarabuzzi, R., . . . De Luca, S. (2002). *Changes in bone mineral density, lean body mass and fat content as measured by dual energy x-ray absorptiometry in patients with prostate cancer without apparent bone metastases given androgen deprivation therapy*. The Journal of urology, 167(6), 2361-2367.

Bhasin, S., Calof, O. M., Storer, T. W., Lee, M. L., Mazer, N. A., Jasuja, R., . . . Dalton, J. T. (2006). *Drug Insight: testosterone and selective androgen receptor*

*modulators as anabolic therapies for chronic illness and aging.* Nature Reviews. Endocrinology, 2(3), 146.

Bhasin, S., Storer, T. W., Berman, N., Callegari, C., Clevenger, B., Phillips, J., . . . Casaburi, R. (1996). *The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men.* N Engl J Med, 335(1), 1-7.  
doi:10.1056/NEJM199607043350101

Bhasin, S., Woodhouse, L., & Storer, T. (2001). *Proof of the effect of testosterone on skeletal muscle.* Journal of endocrinology, 170(1), 27-38.

Bolla, M., Van Tienhoven, G., Warde, P., Dubois, J. B., Mirimanoff, R.-O., Storme, G., . . . Billiet, I. (2010). *External irradiation with or without long-term androgen suppression for prostate cancer with high metastatic risk: 10-year results of an EORTC randomised study.* The lancet oncology, 11(11), 1066-1073.

Bonifacino, J. S., Dell'Angelica, E. C., & Springer, T. A. (1999). *Immunoprecipitation.* Current protocols in protein science, 18(1), 9.8. 1-9.8. 28.

Boxer, R. S., Kenny, A., Dowsett, R., & Taxel, P. (2005). *The effect of 6 months of androgen deprivation therapy on muscle and fat mass in older men with localized prostate cancer.* The Aging Male, 8(3-4), 207-212.

Braga-Basaria, M., Dobs, A. S., Muller, D. C., Carducci, M. A., John, M., Egan, J., & Basaria, S. (2006). *Metabolic syndrome in men with prostate cancer undergoing long-term androgen-deprivation therapy.* Journal of Clinical Oncology, 24(24), 3979-3983.



- Burd, N. A., Tang, J. E., Moore, D. R., & Phillips, S. M. (2009). *Exercise training and protein metabolism: influences of contraction, protein intake, and sex-based differences*. *Journal of Applied Physiology*, 106(5), 1692-1701.
- Bylow, K., Mohile, S. G., Stadler, W. M., & Dale, W. (2007). *Does androgen-deprivation therapy accelerate the development of frailty in older men with prostate cancer?* *Cancer*, 110(12), 2604-2613.
- Cancer Registry of Norway. (2017). *Cancer in Norway 2016 - Cancer incidence, mortality, survival and prevalence in Norway* I. K. Larsen (Ed.) Retrieved from <https://www.kreftregisteret.no/globalassets/cancer-in-norway/2016/cin-2106.pdf>
- Cancer Registry of Norway. (2018). *Cancer in Norway 2017 - Cancer incidence, mortality, survival and prevalence in Norway* I. K. Larsen (Ed.)
- Chang, B., Liu, G., Yang, G., Mercado-Uribe, I., Huang, M., & Liu, J. (2009). *REDD1 is required for RAS-mediated transformation of human ovarian epithelial cells*. *Cell Cycle*, 8(5), 780-786.
- Coffey, V. G., & Hawley, J. A. (2007). *The molecular bases of training adaptation*. *Sports medicine*, 37(9), 737-763.
- Cormie, P., Galvão, D. A., Spry, N., Joseph, D., Chee, R., Taaffe, D. R., . . . Newton, R. U. (2015). *Can supervised exercise prevent treatment toxicity in patients with prostate cancer initiating androgen-deprivation therapy: a randomised controlled trial*. *BJU international*, 115(2), 256-266.

- Corradetti, M. N., Inoki, K., & Guan, K.-L. (2005). *The stress-induced proteins RTP801 and RTP801L are negative regulators of the mammalian target of rapamycin pathway*. *Journal of Biological Chemistry*, 280(11), 9769-9772.
- Creer, A., Gallagher, P., Slivka, D., Jemiolo, B., Fink, W., & Trappe, S. (2005). *Influence of muscle glycogen availability on ERK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle*. *Journal of Applied Physiology*, 99(3), 950-956.
- D'Souza, R. F., Markworth, J. F., Figueiredo, V. C., Della Gatta, P. A., Petersen, A. C., Mitchell, C. J., & Cameron-Smith, D. (2014). *Dose-dependent increases in p70S6K phosphorylation and intramuscular branched-chain amino acids in older men following resistance exercise and protein intake*. *Physiological reports*, 2(8), e12112.
- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C., & Ugrinowitsch, C. (2015). *A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy*. *Sports medicine*, 45(6), 801-807.
- de Rooy, C., Grossmann, M., Zajac, J. D., & Cheung, A. S. (2016). *Targeting muscle signaling pathways to minimize adverse effects of androgen deprivation*. *Endocrine-related cancer*, 23(1), R15-R26.
- Dennis, M. D., Coleman, C. S., Berg, A., Jefferson, L. S., & Kimball, S. R. (2014). *REDD1 enhances protein phosphatase 2A-mediated dephosphorylation of Akt to repress mTORC1 signaling*. *Science signaling*, 7(335), ra68.
- Dickinson, J. M., Fry, C. S., Drummond, M. J., Gundermann, D. M., Walker, D. K., Glynn, E. L., . . . Rasmussen, B. B. (2011). *Mammalian Target of Rapamycin Complex 1 Activation Is Required for the Stimulation of Human Skeletal Muscle*

*Protein Synthesis by Essential Amino Acids*–. The Journal of nutrition, 141(5), 856-862.

Dickinson, J. M., Gundermann, D. M., Walker, D. K., Reidy, P. T., Borack, M. S., Drummond, M. J., . . . Rasmussen, B. B. (2014). *Leucine-enriched amino acid ingestion after resistance exercise prolongs myofibrillar protein synthesis and amino acid transporter expression in older men*. The Journal of nutrition, 144(11), 1694-1702.

Dodd, K. M., & Tee, A. R. (2012). *Leucine and mTORC1: a complex relationship*. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 302(11), E1329-E1342.

Drageset, S., & Ellingsen, S. (2009). *Forståelse av kvantitativ helseforskning—en introduksjon og oversikt*. Nordisk Tidsskrift for Helseforskning, 5(2), 100-113.

Dreyer, H. C., Fujita, S., Cadenas, J. G., Chinkes, D. L., Volpi, E., & Rasmussen, B. B. (2006). *Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle*. The Journal of physiology, 576(2), 613-624.

Drummond, M. J., Dreyer, H. C., Pennings, B., Fry, C. S., Dhanani, S., Dillon, E. L., . . . Rasmussen, B. B. (2008). *Skeletal muscle protein anabolic response to resistance exercise and essential amino acids is delayed with aging*. Journal of Applied Physiology, 104(5), 1452-1461.

Dubois, V., Laurent, M., Boonen, S., Vanderschueren, D., & Claessens, F. (2012). *Androgens and skeletal muscle: cellular and molecular action mechanisms underlying the anabolic actions*. Cellular and Molecular Life Sciences, 69(10), 1651-1667.

- Eliasson, J., Elfegoun, T., Nilsson, J., Köhnke, R., Ekblom, B., & Blomstrand, E. (2006). *Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 291(6), E1197-E1205.
- Engdahl, B., Gjertsen, F., Grinde, B., Nes, B. R., Nielsen, C., Ranhoff, H. A., . . . Husabø, J. K. (2014). *Helse hos eldre i Norge. I: Folkehelse rapporten - Helsetilstanden i Norge*. Oslo: Folkehelseinstituttet Retrieved from <https://www.fhi.no/nettpub/hin/grupper/eldre/>
- Farnfield, M. M., Breen, L., Carey, K. A., Garnham, A., & Cameron-Smith, D. (2011). *Activation of mTOR signalling in young and old human skeletal muscle in response to combined resistance exercise and whey protein ingestion*. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 37(1), 21-30.
- Fenton, T. R., & Gout, I. T. (2011). *Functions and regulation of the 70kDa ribosomal S6 kinases*. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 43(1), 47-59.
- Ferrando, A. A., Sheffield-Moore, M., Yeckel, C. W., Gilkison, C., Jiang, J., Achacosa, A., . . . Urban, R. J. (2002). *Testosterone administration to older men improves muscle function: molecular and physiological mechanisms*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 282(3), E601-E607.
- Fode, M., & Sønksen, J. (2014). *Sexual function in elderly men receiving androgen deprivation therapy (ADT)*. *Sexual medicine reviews*, 2(1), 36-46.

- Fragala, M. S., Kenny, A. M., & Kuchel, G. A. (2015). *Muscle quality in aging: a multi-dimensional approach to muscle functioning with applications for treatment*. *Sports medicine*, 45(5), 641-658.
- Francaux, M., Demeulder, B., Naslain, D., Fortin, R., Lutz, O., Caty, G., & Deldicque, L. (2016). *Aging reduces the activation of the mTORC1 pathway after resistance exercise and protein intake in human skeletal muscle: potential role of REDD1 and impaired anabolic sensitivity*. *Nutrients*, 8(1), 47.
- Fry, C. S., Glynn, E. L., Drummond, M. J., Timmerman, K. L., Fujita, S., Abe, T., . . . Rasmussen, B. B. (2010). *Blood flow restriction exercise stimulates mTORC1 signaling and muscle protein synthesis in older men*. *Journal of Applied Physiology*, 108(5), 1199-1209.
- Galvao, D., Taaffe, D., Spry, N., & Newton, R. (2007). *Exercise can prevent and even reverse adverse effects of androgen suppression treatment in men with prostate cancer*. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 10(4), 340.
- Galvao, D. A., Nosaka, K., Taaffe, D. R., Spry, N., Kristjanson, L. J., McGuigan, M. R., . . . Newton, R. U. (2006). *Resistance training and reduction of treatment side effects in prostate cancer patients*. *Medicine & science in sports & exercise*, 38(12), 2045-2052.
- Galvão, D. A., Taaffe, D. R., Spry, N., Joseph, D., & Newton, R. U. (2009). *Combined resistance and aerobic exercise program reverses muscle loss in men undergoing androgen suppression therapy for prostate cancer without bone metastases: a randomized controlled trial*. *Journal of Clinical Oncology*, 28(2), 340-347.

- Gilda, J. E., & Gomes, A. V. (2013). *Stain-Free total protein staining is a superior loading control to  $\beta$ -actin for Western blots*. *Analytical biochemistry*, 440(2), 186-188.
- Gingras, A. C., Kennedy, S. G., O'Leary, M. A., Sonenberg, N., & Hay, N. (1998). *4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway*. *Genes Dev*, 12(4), 502-513.
- Glass, D. J. (2005). *Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways*. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(10), 1974-1984.
- Gobinet, J., Poujol, N., & Sultan, C. (2002). *Molecular action of androgens*. *Molecular and cellular endocrinology*, 198(1), 15-24.
- Godin, G., Jobin, J., & Bouillon, J. (1986). *Assessment of Leisure Time Exercise Behavior by Self-Report: A Concurrent Validity Study*. *Canadian Journal of Public Health*, 77(5), 359-362.
- Gonzalez, B. D., Jim, H. S., Small, B. J., Sutton, S. K., Fishman, M. N., Zachariah, B., . . . Jacobsen, P. B. (2016). *Changes in physical functioning and muscle strength in men receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer: a controlled comparison*. *Supportive Care in Cancer*, 24(5), 2201-2207.
- Gordon, B. S., Steiner, J. L., Williamson, D. L., Lang, C. H., & Kimball, S. R. (2016). *Emerging role for regulated in development and DNA damage 1 (REDD1) in the regulation of skeletal muscle metabolism*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 311(1), E157-E174.

- Gordon, B. S., Williamson, D. L., Lang, C. H., Jefferson, L. S., & Kimball, S. R. (2015). *Nutrient-Induced Stimulation of Protein Synthesis in Mouse Skeletal Muscle Is Limited by the mTORC1 Repressor REDD1–3*. *The Journal of nutrition*, 145(4), 708-713.
- Greig, C., Gray, C., Rankin, D., Young, A., Mann, V., Noble, B., & Atherton, P. (2011). *Blunting of adaptive responses to resistance exercise training in women over 75 y*. *Experimental gerontology*, 46(11), 884-890.
- Grossmann, M., Cheung, A. S., & Zajac, J. D. (2013). *Androgens and prostate cancer; pathogenesis and deprivation therapy*. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 27(4), 603-616.
- Grossmann, M., & Zajac, J. D. (2012). *Hematological changes during androgen deprivation therapy*. *Asian journal of andrology*, 14(2), 187.
- Hamarsland, H. (2017). *Effects of strength training and supplementation with different milk proteins on regulation of muscle mass in young and elderly (PHD)*, Norwegian school of sports science, Norway, Oslo.
- Hamilton, E., Ghasem-Zadeh, A., Gianatti, E., Lim-Joon, D., Bolton, D., Zebaze, R., . . . Grossmann, M. (2010). *Structural decay of bone microarchitecture in men with prostate cancer treated with androgen deprivation therapy*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(12), E456-E463.
- Hanson, E. D., Nelson, A. R., West, D., Violet, J. A., O'Keefe, L., Phillips, S. M., & Hayes, A. (2017). *Attenuation of Resting but Not Load-Mediated Protein Synthesis in Prostate Cancer Patients on Androgen Deprivation*. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 102(3), 1076.

- Hanson, E. D., Sheaff, A. K., Sood, S., Ma, L., Francis, J. D., Goldberg, A. P., & Hurley, B. F. (2012). *Strength training induces muscle hypertrophy and functional gains in black prostate cancer patients despite androgen deprivation therapy*. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, gls206.
- Harman, S. M., Metter, E. J., Tobin, J. D., Pearson, J., & Blackman, M. R. (2001). *Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 86(2), 724-731.
- Hector, A. J., McGlory, C., Damas, F., Mazara, N., Baker, S. K., & Phillips, S. M. (2017). *Pronounced energy restriction with elevated protein intake results in no change in proteolysis and reductions in skeletal muscle protein synthesis that are mitigated by resistance exercise*. The FASEB Journal, 32(1), 265-275.
- Hooper, D. R., Kraemer, W. J., Focht, B. C., Volek, J. S., DuPont, W. H., Caldwell, L. K., & Maresh, C. M. (2017). *Endocrinological roles for testosterone in resistance exercise responses and adaptations*. Sports medicine, 47(9), 1709-1720.
- Hornberger, T. A., Armstrong, D. D., Koh, T. J., Burkholder, T. J., & Esser, K. A. (2005). *Intracellular signaling specificity in response to uniaxial vs. multi-axial stretch: implications for mechanotransduction*. American journal of physiology-Cell physiology, 288(1), C185-C194.
- Horstman, A. M., Dillon, E. L., Urban, R. J., & Sheffield-Moore, M. (2012). *The role of androgens and estrogens on healthy aging and longevity*. The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences, gls068.



- Janssen, I., Heymsfield, S. B., & Ross, R. (2002). *Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability*. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50(5), 889-896.
- Jones, A., Hwang, D.-J., Narayanan, R., Miller, D. D., & Dalton, J. T. (2010). *Effects of a novel selective androgen receptor modulator on dexamethasone-induced and hypogonadism-induced muscle atrophy*. *Endocrinology*, 151(8), 3706-3719.
- Jones, T. E., Stephenson, K. W., King, J. G., Knight, K. R., Marshall, T. L., & Scott, W. B. (2009). *Sarcopenia-mechanisms and treatments*. *Journal of geriatric physical therapy*, 32(2), 39-45.
- Kakigi, R., Yoshihara, T., Ozaki, H., Ogura, Y., Ichinoseki-Sekine, N., Kobayashi, H., & Naito, H. (2014). *Whey protein intake after resistance exercise activates mTOR signaling in a dose-dependent manner in human skeletal muscle*. *European journal of applied physiology*, 114(4), 735-742.
- Kamanga-Sollo, E., Pampusch, M., Xi, G., White, M., Hathaway, M., & Dayton, W. (2004). *IGF-I mRNA levels in bovine satellite cell cultures: Effects of fusion and anabolic steroid treatment*. *Journal of cellular physiology*, 201(2), 181-189.
- Karanicolas, P. J., Farrokhyar, F., & Bhandari, M. (2010). *Blinding: Who, what, when, why, how?* *Canadian Journal of Surgery*, 53(5), 345.
- Keilani, M., Hasenoehrl, T., Baumann, L., Ristl, R., Schwarz, M., Marhold, M., . . . Crevenna, R. (2017). *Effects of resistance exercise in prostate cancer patients: a meta-analysis*. *Supportive Care in Cancer*, 1-16.

- Kreftregisteret. (2017). *Årsrapport 2016 med resultater og forbedringstiltak fra Nasjonalt kvalitetsregister for prostatakref*
- Kreftregisteret. (2018). *Årsrapport 2017 med resultater og forbedringstiltak fra Nasjonalt kvalitetsregister for prostatakref*
- Kumar, V., Selby, A., Rankin, D., Patel, R., Atherton, P., Hildebrandt, W., . . . Hiscock, N. (2009). *Age-related differences in the dose–response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men*. *The Journal of physiology*, 587(1), 211-217.
- Kvorning, T., Andersen, M., Brixen, K., & Madsen, K. (2006). *Suppression of endogenous testosterone production attenuates the response to strength training: a randomized, placebo-controlled, and blinded intervention study*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 291(6), E1325-E1332.
- Kåresen, R., & Wist, E. (2012). *Kreftsykdommer- en basisbok for helsepersonell* (Vol. 4). Oslo: Gyldendal Akademisk AS.
- Laake, P., Olsen, R. B., & Benestad (red.), B. H. (2015). *Forskning i medisin og biofag* (2 ed.). Oslo: Gyldendal akademisk.
- Lee, H., McGovern, K., Finkelstein, J. S., & Smith, M. R. (2005). *Changes in bone mineral density and body composition during initial and long-term gonadotropin-releasing hormone agonist treatment for prostate carcinoma*. *Cancer*, 104(8), 1633-1637.

- Liu, C. j., & Latham, N. K. (2009). *Progressive resistance strength training for improving physical function in older adults*. The Cochrane Library.
- M Vicencio, J., Estrada, M., Galvis, D., Bravo, R., E Contreras, A., Rotter, D., . . . Jaimovich, E. (2011). *Anabolic androgenic steroids and intracellular calcium signaling: a mini review on mechanisms and physiological implications*. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 11(5), 390-398.
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2007). *AKT/PKB signaling: navigating downstream*. *Cell*, 129(7), 1261-1274.
- Manning, B. D., & Toker, A. (2017). *AKT/PKB signaling: navigating the network*. *Cell*, 169(3), 381-405.
- Martins, R., Lithgow, G. J., & Link, W. (2016). *Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity*. *Aging cell*, 15(2), 196-207.
- Mason, M. D., Parulekar, W. R., Sydes, M. R., Brundage, M., Kirkbride, P., Gospodarowicz, M., . . . Swanson, G. (2015). *Final report of the intergroup randomized study of combined androgen-deprivation therapy plus radiotherapy versus androgen-deprivation therapy alone in locally advanced prostate cancer*. *Journal of Clinical Oncology*, 33(19), 2143.
- McGhee, N. K., Jefferson, L. S., & Kimball, S. R. (2009). *Elevated corticosterone associated with food deprivation upregulates expression in rat skeletal muscle of the mTORC1 repressor, REDD1*. *The Journal of nutrition*, 139(5), 828-834.

- Meyuhas, O. (2015). *Chapter Two-Ribosomal Protein S6 Phosphorylation: Four Decades of Research*. International review of cell and molecular biology, 320, 41-73.
- Michel, G., Matthes, H. W., Hachet-Haas, M., El Baghdadi, K., de Mey, J., Pepperkok, R., . . . Lecat, S. (2014). *Plasma membrane translocation of REDD1 governed by GPCRs contributes to mTORC1 activation*. J Cell Sci, 127(4), 773-787.
- Mitchell, C. J., Churchward-Venne, T. A., Parise, G., Bellamy, L., Baker, S. K., Smith, K., . . . Phillips, S. M. (2014). *Acute post-exercise myofibrillar protein synthesis is not correlated with resistance training-induced muscle hypertrophy in young men*. PloS one, 9(2), e89431.
- Morita, M., Gravel, S.-P., Hulea, L., Larsson, O., Pollak, M., St-Pierre, J., & Topisirovic, I. (2015). *mTOR coordinates protein synthesis, mitochondrial activity and proliferation*. Cell Cycle, 14(4), 473-480.
- Morton, R. W., Murphy, K. T., McKellar, S. R., Schoenfeld, B. J., Henselmans, M., Helms, E., . . . Krieger, J. W. (2018). *A systematic review, meta-analysis and meta-regression of the effect of protein supplementation on resistance training-induced gains in muscle mass and strength in healthy adults*. Br J Sports Med, 52(6), 376-384.
- Nilsen, T. S. (2015b). *Effects of strength training for prostate cancer patients during androgen deprivation therapy*. (PHD), Norwegian school of sports sciences, Norway, Oslo.
- Nilsen, T. S., Raastad, T., Skovlund, E., Courneya, K. S., Langberg, C. W., Lilleby, W., . . . Thorsen, L. (2015a). *Effects of strength training on body composition,*

*physical functioning, and quality of life in prostate cancer patients during androgen deprivation therapy. Acta Oncologica, 54(10), 1805-1813.*

Park, I.-H., Erbay, E., Nuzzi, P., & Chen, J. (2005). *Skeletal myocyte hypertrophy requires mTOR kinase activity and S6K1*. *Experimental cell research, 309(1), 211-219.*

Pennings, B., Groen, B., de Lange, A., Gijzen, A. P., Zorenc, A. H., Senden, J. M., & Van Loon, L. J. (2012). *Amino acid absorption and subsequent muscle protein accretion following graded intakes of whey protein in elderly men*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 302(8), E992-E999.*

Peterson, M. D., Sen, A., & Gordon, P. M. (2011). *Influence of resistance exercise on lean body mass in aging adults: a meta-analysis*. *Medicine and science in sports and exercise, 43(2), 249.*

Phillips, S. M., Tipton, K., Ferrando, A. A., & Wolfe, R. R. (1999). *Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 276(1), E118-E124.*

Phillips, S. M., Tipton, K. D., Aarsland, A., Wolf, S. E., & Wolfe, R. R. (1997). *Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 273(1), E99-E107.*

Raastad, T., Paulsen, G., Refsnes, P. E., Rønnestad, B. R., & Wisnes, A. R. (2010). *Styrketrening - i teori og praksis (Vol. 1): Gyldendal Undervisning.*

- Raastad, T., Risøy, B. A., Benestad, H. B., Fjeld, J. G., & Hallén, J. (2003). *Temporal relation between leukocyte accumulation in muscles and halted recovery 10–20 h after strength exercise*. *Journal of Applied Physiology*, 95(6), 2503-2509.
- Raught, B., Peiretti, F., Gingras, A. C., Livingstone, M., Shahbazian, D., Mayeur, G. L., . . . Hershey, J. W. (2004). *Phosphorylation of eucaryotic translation initiation factor 4B Ser422 is modulated by S6 kinases*. *The EMBO journal*, 23(8), 1761-1769.
- Reitelseder, S., Agergaard, J., Doessing, S., Helmark, I. C., Lund, P., Kristensen, N. B., . . . van Hall, G. (2011). *Whey and casein labeled with L-[1-13C] leucine and muscle protein synthesis: effect of resistance exercise and protein ingestion*. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 300(1), E231-E242.
- Reitelseder, S., Agergaard, J., Doessing, S., Helmark, I. C., Schjerling, P., van Hall, G., . . . Holm, L. (2014). *Positive muscle protein net balance and differential regulation of atrogene expression after resistance exercise and milk protein supplementation*. *European journal of nutrition*, 53(1), 321-333.
- Rennie, M. J., Bohé, J., & Wolfe, R. R. (2002). *Latency, duration and dose response relationships of amino acid effects on human muscle protein synthesis*. *The Journal of nutrition*, 132(10), 3225S-3227S.
- 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.
- Rogol, A. D., Clark, P. A., & Roemmich, J. N. (2000). *Growth and pubertal development in children and adolescents: effects of diet and physical activity*. *The American journal of clinical nutrition*, 72(2), 521s-528s.

- Rommel, C., Bodine, S. C., Clarke, B. A., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, T. N., . . . Glass, D. J. (2001). *Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI (3) K/Akt/mTOR and PI (3) K/Akt/GSK3 pathways*. *Nature cell biology*, 3(11), 1009.
- Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skurk, C., Calabria, E., Picard, A., . . . Goldberg, A. L. (2004). *Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy*. *Cell*, 117(3), 399-412.
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., & Sandri, M. (2013). *Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy*. *FEBS Journal*, 280(17), 4294-4314.
- Schoenfeld, B. J. (2013). *Potential mechanisms for a role of metabolic stress in hypertrophic adaptations to resistance training*. *Sports medicine*, 43(3), 179-194.
- Schultze, S. M., Jensen, J., Hemmings, B. A., Tschopp, O., & Niessen, M. (2011). *Promiscuous affairs of PKB/AKT isoforms in metabolism*. *Archives of physiology and biochemistry*, 117(2), 70-77.
- Selmer-Andressen, I. (2018). Over halvparten av oss blir over 80 år, og stadig sprekere. Retrieved from <https://www.ssb.no/helse/artikler-og-publikasjoner/over-halvparten-av-oss-blir-over-80-ar-og-stadig-sprekere>
- Serra, C., Sandor, N. L., Jang, H., Lee, D., Toraldo, G., Guarneri, T., . . . Jasuja, R. (2013). *The effects of testosterone deprivation and supplementation on proteasomal and autophagy activity in the skeletal muscle of the male mouse: differential effects on high-androgen responder and low-androgen responder muscle groups*. *Endocrinology*, 154(12), 4594-4606.

- Smith, M. R. (2004). *Changes in fat and lean body mass during androgen-deprivation therapy for prostate cancer*. *Urology*, 63(4), 742-745.
- Smith, M. R., Finkelstein, J. S., McGovern, F. J., Zietman, A. L., Fallon, M. A., Schoenfeld, D. A., & Kantoff, P. W. (2002). *Changes in body composition during androgen deprivation therapy for prostate cancer*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(2), 599-603.
- Smith, M. R., Saad, F., Egerdie, B., Sieber, P. R., Tammela, T. L., Ke, C., . . . Goessl, C. (2012). *Sarcopenia during androgen-deprivation therapy for prostate cancer*. *Journal of Clinical Oncology*, 30(26), 3271-3276.
- Solberg, A., Angelesen, A., Berge, V., Lilleby, W., Iversen, J. R., Kleppe, O., . . . Kvåle, R. (2015). *Nasjonalt handlingsprogram med retningslinjer for diagnostikk, behandling og oppfølging av prostatakraft* (pp. 76). Retrieved from <https://helsedirektoratet.no/Lists/Publikasjoner/Attachments/981/Prostatahandlingsprogram%20IS-2358.pdf>
- Spry, N., Kristjanson, L., Hooton, B., Hayden, L., Neerhut, G., Gurney, H., . . . McCaul, K. (2006). *Adverse effects to quality of life arising from treatment can recover with intermittent androgen suppression in men with prostate cancer*. *European Journal of Cancer*, 42(8), 1083-1092.
- Stefanetti, R. J., Lamon, S., Wallace, M., Vendelbo, M. H., Russell, A. P., & Vissing, K. (2015). *Regulation of ubiquitin proteasome pathway molecular markers in response to endurance and resistance exercise and training*. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 467(7), 1523-1537.
- Stefanetti, R. J., Voisin, S., Russell, A., & Lamon, S. (2018). *Recent advances in understanding the role of FOXO3*. *F1000Research*, 7.



- Stone, P., Hardy, J., Huddart, R., A'hern, R., & Richards, M. (2000). *Fatigue in patients with prostate cancer receiving hormone therapy*. *European Journal of Cancer*, 36(9), 1134-1141.
- Storer, T. W., Miciek, R., & Trivison, T. G. (2012). *Muscle function, physical performance and body composition changes in men with prostate cancer undergoing androgen deprivation therapy*. *Asian journal of andrology*, 14(2), 204.
- Tang, J. E., Moore, D. R., Kujbida, G. W., Tarnopolsky, M. A., & Phillips, S. M. (2009). *Ingestion of whey hydrolysate, casein, or soy protein isolate: effects on mixed muscle protein synthesis at rest and following resistance exercise in young men*. *Journal of Applied Physiology*, 107(3), 987-992.
- Taylor, S. C., Berkelman, T., Yadav, G., & Hammond, M. (2013). *A defined methodology for reliable quantification of Western blot data*. *Molecular biotechnology*, 55(3), 217-226.
- Taylor, S. C., & Posch, A. (2014). *The design of a quantitative western blot experiment*. *BioMed research international*, 2014.
- Terzis, G., Georgiadis, G., Stratakos, G., Vogiatzis, I., Kavouras, S., Manta, P., . . . Blomstrand, E. (2008). *Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects*. *European journal of applied physiology*, 102(2), 145-152.
- Terzis, G., Spengos, K., Mascher, H., Georgiadis, G., Manta, P., & Blomstrand, E. (2010). *The degree of p70S6k and S6 phosphorylation in human skeletal muscle in response to resistance exercise depends on the training volume*. *European journal of applied physiology*, 110(4), 835-843.

- Torimoto, K., Samma, S., Kagebayashi, Y., Chihara, Y., Tanaka, N., Hirayama, A., . . . Hirao, Y. (2011). *The effects of androgen deprivation therapy on lipid metabolism and body composition in Japanese patients with prostate cancer*. Japanese journal of clinical oncology, 41(4), 577-581.
- Trost, L. W., Serefoglu, E., Gokce, A., Linder, B. J., Sartor, A. O., & Hellstrom, W. J. (2013). *Androgen deprivation therapy impact on quality of life and cardiovascular health, monitoring therapeutic replacement*. The journal of sexual medicine, 10(S1), 84-101.
- Urban, R. J., Bodenbun, Y. H., Gilkison, C., Foxworth, J., Coggan, A. R., Wolfe, R. R., & Ferrando, A. (1995). *Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis*. American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism, 269(5), E820-E826.
- van Londen, G. J., Levy, M. E., Perera, S., Nelson, J. B., & Greenspan, S. L. (2008). *Body composition changes during androgen deprivation therapy for prostate cancer: a 2-year prospective study*. Critical reviews in oncology/hematology, 68(2), 172-177.
- Villareal, D. T., Capri, M., Franceschi, C., Zhang, Y., Becker, K., Sabatini, D. M., . . . Fontana, L. (2013). *Calorie restriction in humans inhibits the PI3K/AKT pathway and induces a younger transcription profile*.
- Wang, X., Li, W., Williams, M., Terada, N., Alessi, D. R., & Proud, C. G. (2001). *Regulation of elongation factor 2 kinase by p90 RSK1 and p70 S6 kinase*. The EMBO journal, 20(16), 4370-4379.
- Wang, X., & Proud, C. G. (2006). *The mTOR pathway in the control of protein synthesis*. Physiology, 21(5), 362-369.

- White, J. P., Gao, S., Puppa, M. J., Sato, S., Welle, S. L., & Carson, J. A. (2013). *Testosterone regulation of Akt/mTORC1/FoxO3a signaling in skeletal muscle*. *Molecular and cellular endocrinology*, 365(2), 174-186.
- Williamson, D. L., Raue, U., Slivka, D. R., & Trappe, S. (2010). *Resistance exercise, skeletal muscle FOXO3A, and 85-year-old women*. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 65(4), 335-343.
- Winters-Stone, K. M., Dieckmann, N., Maddalozzo, G. F., Bennett, J. A., Ryan, C. W., & Beer, T. M. (2015). *Resistance Exercise Reduces Body Fat and Insulin During Androgen-Deprivation Therapy for Prostate Cancer*. Paper presented at the Oncology nursing forum.
- Wolfe, R. R. (2017). *Branched-chain amino acids and muscle protein synthesis in humans: myth or reality?* *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(1), 30.
- Yang, Y., Breen, L., Burd, N. A., Hector, A. J., Churchward-Venne, T. A., Josse, A. R., . . . Phillips, S. M. (2012). *Resistance exercise enhances myofibrillar protein synthesis with graded intakes of whey protein in older men*. *British Journal of nutrition*, 108(10), 1780-1788.

## Tabelloversikt

**Tabell 2.1.5:** Studier som har undersøkt effekten av ADT behandling på muskelmasse (Fettfri masse) .....S.13

**Tabell 2.2.3:** Studier som har undersøkt effekten av styrketrening kombinert med proteininntak på p70S6K fosforylering på bindingssetet thr389 hos eldre menn .....S.25

**Tabell 2.3.1:** Studier som har undersøkt effekten av styrketrening på fettfrimasse hos prostatakreftpasienter under androgen deprivasjons terapi (ADT) .....S.28

**Tabell 3.1:** Inklusjonskriterier og eksklusjonskriterier for deltagelse i prosjektet.....S.32

**Tabell 3.2.1:** Treningsprogram for treningsøkt 1, treningsøkt 2 og akuttdag .....S.34

**Tabell 3.3.3:** Primær- og sekundær- antistoff brukt under western blot .....S.39

**Tabell 4.1:** Antropometriske data for PK pasientene .....S.41

## Figuroversikt

- Figur 2.2.1:** Forenklet virkningsmekanisme for transkripsjon og translasjon (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007).....S.15
- Figur 2.2.2:** Forenklet illustrasjon av PI3-K/PKB signalveien for proteinsyntese. Proteinene analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; Gordon et al., 2016).....S.18
- Figur 2.2.3:** Forenklet illustrasjon av mulig virkningsmekanisme bak testosteronets påvirkning for økt fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og redusert mengde REDD1. Proteiner analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; Dubois et al., 2012; Gordon et al., 2016).....S.21
- Figur 2.2.4:** Forenklet illustrasjon av mulig virkningsmekanisme bak testosteronets, styrketrening og proteininntaks påvirkning for økt fosforylering av p70S6K, PKB, foxO3a og redusert mengde REDD1. Proteiner analysert i denne masteroppgaven er markert med gul sirkel. Illustrasjonen er basert på flere artikler (Alberts et al., 2014; Coffey & Hawley, 2007; de Rooy et al., 2016; Dubois et al., 2012; Gordon et al., 2016).....S.23
- Figur 2.3:** Teoretisk modell som illustrerer fallet i muskelstyrke gjennom aldriingsprosessen. ADT; Androgen deprivasjonsterapi. Basert på figuren til Galvão et al., (2007).....S.27
- Figur 3.2.1:** Oversikt over studien. Tiden fra tilvenningsdag (Dag 1) til treningsøkt 1 (Dag 2) varierte fra 3 til 14 dager.....S.33
- Figure 3.2.2:** Oversikt over akutt dag. MVC; Maksimal viljestyrt kontraksjon.....S.35
- Figur 4.2:** Endring i maksimal viljestyrt kontraksjon (MVC) i kneekstensjon for det trente beinet fra før til etter treningsøkten for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Stiplet linje viser verdien før trening (100%). # Indikerer tendens til endring fra før trening ( $p < 0,09$ ). Verdiene er gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik av de to høyeste målingene.....S.42
- Figur 4.3.1:** Fosforylering av p70S6k (thr389, A), PKB (ser473, B), foxO3a (ser253, C) og total mengde REDD1 (D) på baseline for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. Resultatet er presentert med individuelle verdier med gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik for hver gruppe.....S.43

**Figur 4.3.2:** Endring i fosforyleringsstatus av p70S6K (thr473, A), PKB (ser473, B), foxO3a (ser253, C) og mengde REDD1 (D) fra baseline til etter et måltid for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter. # indikerer tendens til endring innad i gruppen ( $p < 0,09$ ). (#) indikerer tendens til forskjell mellom gruppene ( $p < 0,09$ ). Resultatet er presentert med individuelle verdier med gjennomsnitt (heltrukken linje)  $\pm$  standardavvik for hver gruppe .....S.44

**Figur 4.3.3:** Fosforylering av p70S6K (thr389, A), PKB (thr473, B), foxO3a (ser253, C) og mengde REDD1 (D) etter styrketrening kombinert med måltid for PK pasienter på ADT og opererte PK pasienter etter trening. Verdiene er gjennomsnitt (heltrukken linje)  $\pm$  standardavvik. En jevnaldrende forsøksperson fra ett tidligere prosjekt ble lagt til gruppen opererte PK pasienter og økte antallet til fem .....S.45

**Figur 4.3.4:** Representative western blot bånd for proteinene som ble analysert. (V) er ikke-trent venstrebein. (H) er trent høyrebein .....S.45

## Forkortelser

4E-BP1	eIF4E-binding proteins
ADT	Androgen deprivasjonsterapi
AR	Androgen reseptor
BIA	Elektrisk impedans analyse
BMI	Body mass index
DNA	Deoksyribonukleinsyre
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry
EA	Essensielle aminosyrer
eEF2	Eukaryot elongeringsfaktor 2
eEF2	Eukaryot elongeringsfaktor 2 kinase
foxO3a	forkhead box O3a
GPCR	G protein- coupled reseptor
IGF-1	Insulin-like growth factor 1
LBM	Lean bodymass
MPN	Muskelproteinnedbrytning
MPS	Muskelproteinsyntese
MR	Magnetresonanstomografi
mRNA	messenger ribonucleic acid
mTOR	Mammalian target of rapamycin

mTORC1	Mammalian target of rapamycin complex 1
mTORC2	Mammalian target of rapamycin complex 2
MURF1	Muscle RING finger 1
MVC	Maksimal viljestyrt kontraksjon
NS	Ikke signifikant
NIH	Norges idrettshøyskole
p70S6K	70 kDa ribosomalt S6 kinase
PDPK1	3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1
PI3-K	Fosfatidylinositol 3-kinase
PKB	Protein kinase B
PK	Prostatakraft
PROFO	Prostatakraftforeningen
PSA	Prostata spesifikt antigen
R	Repetisjon
REDD1	Regulated in development and DNA damage 1
Rheb	Ras homolog enriched in brain
RM	Repetisjon maksimum
RTK	Tyrosin kinase reseptor
S	Serie
TSC1/2	Tuberous sclerosis complex 1/2



# Vedlegg

## Western blott protokoll for invitrogen

Kristoffer R. Kokvik 10.9.2018

### Dag 0

#### *Blanding av buffere*

Running buffer: 1 L (2 geler)

- 100 ml MES SDS running buffer + 900 ml dH<sub>2</sub>O (*Kjøleskap*).

Transferbuffer: 1 L (2 geler)

- 50 ml transferbuffer + 100 ml metanol + 850 ml dH<sub>2</sub>O + 1 ml antioksidant (rett før bruk) (*Kjøleskap*).

TBS: 1 L

- 100ml TBS + 900 ml dH<sub>2</sub>O (*Avtrekkskap*)

TBS-T: 1 L

100ml TBS + 899 ml dH<sub>2</sub>O + 1ml Tween 20 (*Avtrekkskap*)

dH<sub>2</sub>O: 2 L i kjøleskap

#### **Klargjøre rør med riktig mengde vann dagen før**

- Start med å beregne mengden som skal tilsettes (Sample preparation Invitrogen) basert på proteinkonsentrasjonsmålingene. NB! Legg til 5-10 ekstra på totalvolum.

## Dag 1

### *Prøvebehandling*

- Start med å beregne mengden som skal tilsettes (Sample preparation Invitrogen) basert på proteinkonsentrasjonsmålingene. NB! Legg til 5-10 ekstra på totalvolum.
- Skru på varmeblokken på 59,5 grader (70 grader er korrekt temperatur).
- Tilsett reducing agent og sample buffer iht Sample preparation skjema.
- Blande med vortexer og mini- sentrifuge prøvene.
- Tilsettes dH<sub>2</sub>O i tilpasset mengde slik at proteinkonsentrasjonen blir lik mellom prøvene.
- Når prøven er ferdig blandet, varmes den på varmeblokk på 70 grader i 10 minutter.
- Blande + sentrifugere prøvene når de er ferdig varmet.

### *Elektroforese*

#### *Før:*

- Finn frem geler, elektroforesekar, running buffer og vektmarkør.
- Tilsett 0,5 ml antioksidant i 200 ml running buffer (Blande i målsylinder).
- Klipp/riv opp posen med gelen.
- Fjern teip på undersiden.
- Forsiktig fjern kammen fra gelen.
- Sjekk at brønnene er intakte, eventuelt utbedre.
- Bruk en pasteur for å skylle brønnene med running buffer.
- Plasser gel i beholderen med brønnesiden vendt innad.
- Tilsett running buffer med antioksidant (200ml) i indre elektroforesekammer.
- Tilsett markør (5 ul) og prøver (loading volum) forsiktig ned i brønnene (lange spisser) til man får en luftboble. Vektmarkør brukes i brønn 1 og 10 av typen

Protein Ladder PS 11 (Cat. No. 310005, GeneON) uforynnet og skal ikke varmes på varmeblokk.

- Sjekk at metallbiten er riktig plassert i cellen.
- Fyll så ytterkammeret med running buffer uten antioksidant.

*Under:*

- Sett på lokk til Invitrogen- systemet.
- Plugg inn kontaktene (rød-rød, sort-sort).
- Slå på strømmen. Sett volt til 200 og trykk på «run».
- Kontroller at begynner å boble og noter strømstyrken (ampere, A). Følg med på vektmarkørene underveis.
- Elektroforesen kjøres til bromfenolfronten (Blå linje) har gått ut av gelen og eventuelt markører er i nedre del (25-45 minutter).
- Slå av strømmen og koble fra hverandre systemet ved endt elektroforese. Noter strømstyrken.

*Etter:*

- Bryt av plasten rundt gelen med passende verktøy.
- Fjern gelen mellom brønnene og under vektmarkøren med passende verktøy.
- Fjern venstre øvre hjørne (ovenfor brønn 1).
- Overfør gelen med bruk av ett filterpapir.

**Blotting**

*Før:*

- Tilsett 1 ml antioksidant til i L transfer buffer.
- PVDF benyttes som blotting membran. Klipp gjerne et hakk i et hjørne og nummerering med BIC kulepenn.

- Aktivere membran i metanol i 30 sekunder, skylle med ultrarent vann 30 sek og deretter 2-3 minutter (vanskeligheter med å få membranen til å synke kan tyde på at den ikke er aktivert).
- Legg membranen i transfer buffer i 15 minutter.
- Fukt fiberputene i 15 minutter transfer buffer. Bruk rulle for å fjerne luftbobler.

Blottesandwich med 1 gel:

- Pad x 2
- Filterpapir
- Gel
- Membran
- Filterpapir
- Pad x 2

Blottesandwich med 2 geler:

- Pad
  - Filterpapir
  - Gel
  - Membran
  - Filterpapir
  - Pad
  - Filterpapir
  - Gel
  - Membran
  - Filterpapir
  - Pad
- Når man pakker sandwichen er det viktig at man har kontroll på hvor brønn 1 er. Ideelt så havner brønn 1 på gelen på høyre side. Bruk fuktet rulle for å fjerne luftbobler.

- Det er plass til 2 membraner per blottekar.
- Lukk kassett og plasser rød mot rød i blotteapparat
- Tilsett transferbuffer i det indre kammeret slik at det dekker pad/membran/gel (Pass på at transferbufferen er kald).
- Fyll det ytre kammeret 2/3 med kaldt dH<sub>2</sub>O

*Under:*

- Sett på strøm på 30 volt og blott i 90 minutter.
- Noter strømstyrken (Amper, a) ved oppstart og slutt.
- Skru av strøm på blotteapparatet.

Blanding av melkeløsning/BSA: 100ml TBS-T + 1/5g melkeprotein/BSA (Bovine serum albumin)

*Etter:*

- Åpne kassett
- Legg membran i blokkeringsløsning (5% skummet melk/BSA i TBS-T).
- Settes til forsiktig rysting i 2 timer ved romtemperatur eller i 4 grader over natten.

***Inkubering av primært og sekundært antistoff***

*Primært antistoff:*

- Etter blokkering skylles membranene raskt 2 ganger i TBS-T før 2x 2 minutter på bordvipper med TBS-T.
- Kutt opp membran etter hvilke bånd/protein en skal se på og merk med navn med BIC pen. La membranene stå i TBS mens kuttingen pågår.
- Vaskebuffer må være romtempererte og membran skal alltid være fuktet.
- Lag 1% skummet melkeløsning i TBS-T.

- Fortynn primært antistoff i 1% skummet melkeløsning. Fortynningen varierer for hvert antistoff (Bland i stort rør).
- Inkuber membranene over natten i 4 grader med kontinuerlig svak rysting.

## **Dag 2**

- Ta ut 1%- melkeløsningen eller lage ny.
- Ta ut membranene av kjøleskapet.
- Etter inkubering skylles membranene raskt 2x TBS-T før 15 min bordvipping med TBS-T.
- Membranene skylles så videre 3x 5 minutter med TBS på bordvippe.

### *Sekundært antistoff:*

- Fortynn sekundært antistoff i 1% skummet melkeløsning. Fortynningen varierer for hvert antistoff. Husk vertsdyr.
- Blandes i rør.
- Inkuber i 1 time ved svak rysting.
- Når inkuberingen er ferdig skylles membranene rask med TBS-T 2 ganger og deretter 15 minutter på bordvippe. Skylles så 3x5 minutter i TBS på bordvippe.

### ***Deteksjon***

- Bland reagens A og B (5ml + 5 ml blandingsforhold) i et lystett rør.
- Hold membran med teflonbelegget pinsett slik at mest mulig vaskebuffer forsvinner før de plasserer på glassplaten på ChemiDoc Imaging System.
- Legges med proteinsiden opp (Se merking) og unngå luftbobler.
- Velg i program måling av membran for å tilpasse zooming.
- Husk å måle samme protein ved bilde.
- Legg på en hinne av Super Signal Substrate (A+B) og lukk skuff.
- Vent i 5 minutter.

- For bilde velges det automatiske funksjonen ved 1 membran, egne innstillinger ved mer enn 1.
- Lagre bildene uten bokser.
- For måling av styrken på bånd brukes Image Lab 4.1 software (BioRad).
- Videre lages det forkanter rundt båndene som kan analyseres i «Analysis table» før resultatene kopieres til eget Excel ark.

### ***1.7 Stripping***

- Etter bilde vaskes membranene i Stripping buffer (Restore western blot, Thermo scientific, USA) i 10 minutter på bordvippemottemperatur (PKB og Foxo 30 minutter på 50 grader).
- Skyll 5 x TBS raskt, og deretter 3x5min i TBS.
- Blokker i 5% melkeløsning i 1 time i romtemperatur.
- Skyll raskt i 2x TBS, og deretter 2x2 min i TBS.
- Inkuber i primærantistoff over natten i kjøleskap.

### **Dag 3**

- Lag ny 1%-melkeløsning eller ta gammel ut av kjøleskapet.
- Ta ut membranene av kjøleskapet.
- Etter inkubering skylles membranene raskt 2x TBS-T før 15 min bordvipping med TBS-T.
- Membranene skylles så videre 3x 5 minutter med TBS på bordvippe.

#### *Sekundært antistoff:*

- Fortynn sekundært antistoff i 1% skummet melkeløsning. Fortynningen varierer for hvert antistoff. Husk samme vertsdyr.
- Inkuber i 1 time ved svak rysting.
- Når inkuberingen er ferdig skylles membranene rask med TBS-T 2 ganger og deretter 15 minutter på bordvippe. Skylles så 3x5 minutter i TBS på bordvippe.

## Deteksjon

- Bland reagens A og B (5ml + 5 ml blandingsforhold) i et lystett rør.
- Hold membran med teflonbelegget pinsett slik at mest mulig vaskebuffer forsvinner før de plasseres på glassplaten på ChemiDoc Imaging System.
- Legges med proteinsiden opp (Se merking) og unngå luftbobler.
- Velg i program måling av membran for å tilpasse zooming.
- Husk å måle samme protein ved bilde.
- Legg på en hinne av Super Signal Substrate (A+B) og lukk skuff.
- Vent i 5 minutter.
- For bilde velges det automatiske funksjonen ved 1 membran, egne innstillinger ved mer enn 1.
- Lagre bildene uten bokser.
- For måling av styrken på bånd brukes Image Lab 4.1 software (BioRad).
- Videre lages det forkanter rundt båndene som kan analyseres i «Analysis table» før resultatene kopieres til eget Excel ark.

## Optimalisering antistoff:

Redd1:

- 5% melk blokkering
- 5% melk primærantistoff
- 5% melk sekundært i 2 timer
- Annen vektmarkør (Precision blue)
- Kutte membran mellom 37 og 50 kda

P70S6K:

- 3/5% BSA primær og sekundært



**PKB:**

- 3/5% BSA primær og sekundært
- Lengre vasking hvis mye støy

**Foxo3a:**

- 3/5% BSA primær og sekundært
- Kutte membran under 150 kda

---

<b>Region:</b>	<b>Saksbehandler:</b>	<b>Telefon:</b>	<b>Vår dato:</b>	<b>Vår referanse:</b>
REK sør-øst	Anne Schiøtz Kavli	22845512	21.09.2016	2016/640/REK sør-øst A
			<b>Deres dato:</b>	<b>Deres referanse:</b>
			08.06.2016	

Vår referanse må oppgis ved alle henvendelser

Truls Raastad  
Norges idrettshøgskole

## **2016/640 Hvordan påvirker hormonbehandling for prostatakreft muskelrespons på trening og mat?**

Vi viser til søknad om forhåndsgodkjenning av ovennevnte forskningsprosjekt. Søknaden ble behandlet av Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK sør-øst) i møtene 28.04.2016 og 25.08.2016. Vurderingen er gjort med hjemmel i helseforskningsloven § 10, jf. forskningsetikkloven § 4.

Forskningsansvarlig: Norges idrettshøgskole

Prosjektleder: Truls Raastad

### **Opprinnelig prosjektbeskrivelse (redigert av REK)**

Formålet med prosjektet er å undersøke om hormonbehandling ved prostatakreft påvirker den normale stimuleringen av muskelproteinsyntese etter måltid og trening samt hvordan hormonbehandling påvirker muskulatur og videre hvordan styrketrening kan tilrettelegges for å motvirke potensielt negative effektene av hormonbehandling.

En vanlig bivirkning av hormonbehandling er tap av muskelmasse og økning i fettmasse. Særlig kan endringen i kroppssammensetning påvirke muskulaturens sensitivitet for insulin, som igjen kan påvirke blodsukkerregulering. Normalt stimuleres muskulaturen etter inntak av mat og etter styrketrening, men tidligere studier tyder på at denne responsen er hemmet under hormonbehandling. I denne studien vil prostatakreftpasienter på hormonbehandling sammenlignes med pasienter som ikke får hormonbehandling.

Det planlegges å inkludere 40 pasienter med prostatakreft fra Oslo universitetssykehus, 20 som gjennomgår hormonbehandling og 20 pasienter som ikke mottar hormonbehandling.

Pasientene vil informeres om prosjektet ved poliklinikken, og interesserte vil få utfyllende informasjon om prosjektet av prosjektmedarbeidere.

Deltakelse i prosjektet medfører at man må møte to ganger på Norges idrettshøgskole. Den første dagen vil deltakerne få informasjon om hva som skjer dag 2, og muskelstyrke i ben og kroppssammensetning måles. Det antas at dette tar omtrent to timer.

Dag 2 må pasientene møte fastende klokken 07.00. Det skal gjennomføres styrketreningsøkter og målinger av muskelstyrke på ulike tidspunkt i løpet av dagen. Det skal settes inn to venekateter. I løpet av dagen blir det tatt blodprøver på en rekke ulike tidspunkt samt infusjon av stabile isotoper. Det skal videre tas muskel biopsi på fire ulike tidspunkt. Deltakerne vil bli servert to standardiserte måltider og proteintilskudd i løpet av dagen.

## Saksbehandling

Søknad om forhåndsgodkjenning ble behandlet av komiteen i møte den 28.04.2016, der søknaden ble avslått med hjemmel i helseforskningsloven § 10, jf. § 5.

Følgende inngikk i komiteens vurdering, jf. brev av 19.05.2016:

*«I prosjektet skal problemstillingen knyttet til hvorvidt trening kan påvirke tap av muskelmasse undersøkes. I så måte anser komiteen at forskningsspørsmålene som reises er høyst relevante.*

*Imidlertid er det en rekke forhold ved prosjektet som medfører at komiteen ikke kan godkjenne prosjektet slik det er planlagt gjennomført.*

*Komiteen vil innledningsvis bemerke at dette er forskning på en sårbar gruppe pasienter, kreftpasienter i aktiv behandling. Komiteen anser, på prinsipielt grunnlag, at det må stilles strenge krav til forskning på sårbare grupper av pasienter. Slik komiteen forstår prosjektet er belastningen kreftpasientene utsettes for i prosjektet relativt stor.*

*Prøvetakingen i seg selv ansees som omfattende og forbundet med stort ubehag for pasientene. Det vises her til innsetting av venekateter, infusjon av isotoper og spesielt gjennomføring av fire muskelbiopsier. Etter komiteens syn er det ikke redegjort for det vitenskapelige grunnlaget for den omfattende prøvetakingen i prosjektet eller hvordan nytteverdien ved innhenting av et så stort antall prøver kan veie opp for den ulempe det må være for deltakerne å gjennomføre disse.*

*Videre er det ikke redegjort for hvorvidt undersøkelsene som skal gjennomføres kan forenkles. Etter komiteens syn er det til stor belastning for deltakerne å måtte møte fastende ved et såpass tidlig tidspunkt for deretter å gjennomføre en lang dag med prøvetaking og treningsintervensjon. Det planlegges ikke for å dekke reiseutgifter eller gi deltakerne annen kompensasjon for å delta i prosjektet. Selv for friske, unge mennesker vil deltakelse være utfordrende, og man kan stille spørsmålsteget ved om ikke mange av deltakerne i denne pasientgruppen vil oppleve undersøkelsesdagen som utmattende.*

*Det fremgår hverken av søknad eller protokoll hvorfor man ønsker å undersøke problemstillingen rundt hvordan hormonbehandling påvirker proteinsyntese i muskel hos menn med prostatakreft. Det antas at deltakere ikke vil ha noen direkte nytte av å være med i prosjektet. Det er videre uklart for komiteen i hvilken grad resultatene av prosjektet vil ha nytte for pasientgruppen, og heller ikke om det vil være mulig å gjennomføre prosjektet på mindre sårbare personer. Andre grupper, som må ansees som friske og dermed mindre sårbare, mottar hormonbehandling for ulike tilstander, og det bør redegjøres for hvorvidt prosjektet kan gjennomføres i andre grupper av personer. Dette omfatter fore eksempel kvinner i overgangsalder.*

*Etter en samlet vurdering har komiteen kommet til at prosjektet av disse grunner ikke kan godkjennes slik det er beskrevet i søknad og protokoll.»*

Prosjektleder har klaget på komiteens vedtak, i klage mottatt 08.06.2016. Supplerende informasjon om revisjon av informasjonsskrivet er mottatt i e-post av 24.08.2016, der det informeres om at setningen «samtykke til bruk av data i andre prosjekter» er slettet, at man ønsker å oppbevare biologisk materiale til 2025 samt at forventet prosjektslutt er i 2020.

## Om klagen

Prosjektleder redegjør i klagen utfyllende om hvorfor man ønsker å undersøke problemstillingen. Det argumenteres for at prostatakreftpasienter på Androgen Deprivasjons terapi (ADT) opplever store negative endringer i kroppssammensetning som medfører redusert muskelmasse og økt fettmasse. Disse endringene er direkte relatert til bortfall av testosteron og gir redusert funksjonsnivå og en betydelig økt risiko for en rekke

følgesykdommer. Forskning som kan fremskaffe kunnskap om hvordan man best kan motvirke bivirkningene av ADT vil potensielt ha stor betydning for pasientenes funksjonsnivå, risiko for følgesykdommer og livskvalitet.

Det begrunnes hvorfor denne problemstillingen ikke kan undersøkes hos mindre sårbare grupper, og hvorfor antall tester og biopsier ikke kan reduseres uten å redusere nytten av prosjektet. Testdagen legges opp slik at den skal oppleves som minst mulig slitsom for deltakerne. De vil få rikelig tid til å slappe av og gjøre andre ting mellom testene og biopsiene. Blodprøver tas der de befinner seg slik at det er mulig å lese, se på TV eller prate med andre deltakere mens blodprøvene tas. De kan fritt bevege seg rundt i lokalet under infusjon av isotoper.

Man forventer at de prostatakreftpasienter som melder seg som deltakere til prosjektet vil være i relativt god form, og man understreker at man vil gi god informasjon om hva testdagen innebærer.

### **Vurdering av klagen**

Klagen ble behandlet av komiteen i møtet 25.08.2016.

Komiteen har vurdert klagen og finner at søker har gitt nye opplysninger knyttet til relevans av forskningen for pasientgruppen. Belastningen pasientene utsettes for i prosjektet vurderes etter prosjektleders tilbakemelding som akseptabel.

Komiteen har imidlertid enkelte kommentarer til informasjonsskrivet som må etterkommes.

Det er kun vedlagt ett informasjonsskriv. Dersom man planlegger å bruke dette til pasienter både med og uten hormonbehandling må det settes inn en setning om at det skal inkluderes pasienter som mottar hormonbehandling og pasienter som ikke har fått hormonbehandling i prosjektet slik at det er klart for begge grupper hvorfor de forespørres om å delta i prosjektet.

Det søkes om opprettelse av en ny spesifikk biobank, «AXASP-Study» med ansvarshavende Truls Raastad ved Norges idrettshøgskole. Det er oppgitt ulik dato for prosjektslutt og biobank. Det gjøres oppmerksom på at en prosjektspesifikk biobank ikke kan ha varighet utover prosjektets slutt dato. Komiteen antar at dette betyr at man ønsker en prosjektperiode med varighet til 2025.

I informasjonsskrivet er dato for sletting av kodeliste/koblingsnøkkel oppgitt til 2036. Av dokumentasjonshensyn skal opplysningene oppbevares i 5 år etter prosjektslutt. Opplysningene skal oppbevares avidentifisert, dvs. atskilt i en nøkkel- og en datafil. Opplysningene skal deretter slettes eller anonymiseres. Årstallet for sletting av kodeliste må derfor endres til 2030.

I søknadsskjemaet oppgis det at blodprøver og muskelvev er planlagt analysert i Danmark, USA, Storbritannia og New Zealand. I informasjonsskrivet står det imidlertid kun at prøvene vil bli analysert i USA og Norge. Dersom det planlegges å analysere prøver i andre land enn Norge og USA må dette tydelig fremkomme av informasjonsskrivet.

Prosjektet godkjennes på vilkår av at informasjonsskrivet revideres i henhold til komiteens merknader.

### **Vedtak:**

Prosjektet godkjennes med hjemmel i helseforskningsloven §§ 9 og 33 under forutsetning av at ovennevnte vilkår om revisjon av informasjonsskriv oppfylles.

Det bes om at revidert informasjonsskriv innsendes til vårt arkiv.

Komiteen godkjenner opprettelse av en spesifikk forskningsbiobank, «AXASP-Study» med ansvarshavende Truls Raastad ved Norges idrettshøgskole. Biobankregisteret ved Nasjonalt Folkehelseinstitutt vil få kopi av dette brev.

Det innsamlede biologiske materialet skal oppbevares aidentifisert og destrueres ved prosjektperiodens utløp.

Med hjemmel i helseforskningsloven § 29 tillater komiteen at humant biologisk materiale utføres til utlandet.

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

Godkjenningen gjelder til 31.12.2025.

Komiteens avgjørelse var enstemmig.

Forskningsprosjektets data skal oppbevares forsvarlig, se personopplysningsforskriften kapittel 2, og Helsedirektoratets veileder for «Personvern og informasjonssikkerhet i forskningsprosjekter innenfor helse- og omsorgssektoren».

Av dokumentasjonshensyn skal opplysningene oppbevares i 5 år etter prosjektslutt. Det skal i denne perioden ikke forskes på opplysningene. De skal oppbevares aidentifisert, dvs. atskilt i en nøkkel- og en datafil. Opplysningene skal deretter slettes eller anonymiseres.

Dersom det skal gjøres endringer i prosjektet i forhold til de opplysninger som er gitt i søknaden, må prosjektleder sende endringsmelding til REK, jf. helseforskningsloven § 11.

Prosjektet skal sende sluttmelding på eget skjema, jf. helseforskningsloven § 12, senest et halvt år etter prosjektslutt.

#### *Klageadgang*

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

Med vennlig hilsen

Knut Engedal  
Professor dr. med.  
Leder

Anne Schiøtz Kavli  
Seniorkonsulent

**Kopi** turid.sjostedt@nih.no; Norges idrettshøgskole ved øverste administrative ledelse:  
**til:** postmottak@nih.no; Biobankregisteret: biobankregisteret@fhi.no

Norwegian School of Sport Sciences  
PB 4014, Ullevål Stadion  
0806 OSLO

Unntatt offentlighet jf.  
Offl §13 første ledd, jf. fvl. §13 første  
ledd nr2, jf. lml. §30

<b>Deres ref.:</b>	<b>Dato:</b>	<b>Vår ref.:</b>	<b>Saksbehandler:</b>
	31.01.2018	17/17101-11	Anette Solli Karlsen

### **ZOLADEX – KLINISK UTPRØVNING - EUDRACT NO. 2016-005209-38**

Vi viser til korrespondanse i ovenfor nevnte sak, senest vårt brev, datert 2018-01-09 og deres brev, datert 2018-01-23.

Vurdering av studien er gjort med hjemmel i § 1-4 og kapittel 4 i *Forskrift om klinisk utprøving av legemidler til mennesker av 30 oktober 2009*.

Våre spørsmål er tilfredsstillende besvart og vi har ingen ytterligere kommentarer.

Legemiddelverket har ingen innvendinger mot at studien starter.

**Konklusjon:** Studien er godkjent.

Vi ønsker lykke til med prosjektet og ser frem til å motta årsrapport og/eller sluttrapport når disse foreligger.

Vi gjør oppmerksom på at godkjenningen ikke omfatter eventuelle tillatelser til tilvirkning og/eller innførsel til Norge.

Legemiddelverkets vedtak kan påklages, jf. forvaltningsloven § 28. En eventuell klage sendes til Legemiddelverket. Klagefristen er tre uker fra mottak av dette brevet, jf. forvaltningsloven § 29. Mer informasjon om klageadgang, samt skjema finnes [her](#).

Vennlig hilsen  
Statens legemiddelverk

Anette Solli Karlsen  
Ph D, Seniorrådgiver



*Dokumentet er elektronisk godkjent og har derfor ikke håndskrevne signaturer.*

Kopi:

REK Sør-Øst Regional Komité for medisinsk forskningsetikk

Mottaker:

Norwegian School of Sport Sciences, PB 4014, Ullevål Stadion, 0806 OSLO

Postadresse:  
Postboks 95  
1478 Lørenskog

Sentralbord:  
02900

Org.nr:  
NO 983 971 636 MVA

[www.ahus.no](http://www.ahus.no)

## PERSONVERNOMBUDETS UTTALELSE

Til: Kjell Magne Russnes, Onkologisk avdeling

Kopi: Anita Berg Petersen, avdelingsleder Onkologisk avdeling

Fra: Personvernombudet ved Akershus universitetssykehus

Saksbehandler: Ingrid Ursin

Dato: 09. februar 2018

Offentlighet: Ikke unntatt offentlighet

Sak: Personvernombudets uttalelse til innsamling og behandling av personopplysninger

Saksnummer/  
Personvernnummer: 17-189

Personvernombudets uttalelse til innsamling og behandling av personopplysninger for forskning i prosjektet **«Effekt av hormonbehandling på tilpasninger til styrketrening og blodsukkerregulering»**

Prosjektbeskrivelse:

*En kjent bivirkning av hormonbehandling for prostatakraft er tap av muskelmasse, og dermed er trening generelt og styrketrening spesielt, å anbefale i tiden man står på slik behandling. Eksisterende litteratur og erfaringer fra pasientsamtaler, peker imidlertid på at responsen til styrketrening er mindre når man behandles med hormonbehandling for prostatakraft. I og med at muskelmassen er viktig for blodsukkerreguleringen er det indikasjoner i litteraturen på at denne også forringes som følge av hormonbehandling for prostatakraft.*

*I dag er det kun to studier som direkte har sammenlignet treningseffekt mellom menn som får hormonbehandling med personer som ikke mottar slik behandling, og det er metodiske svakheter knyttet til begge studiene. Vi ønsker derfor å sammenligne den basale proteinmetabolismen, samt effekt av styrketrening på proteinmetabolismen og blodsukkerreguleringen hos prostatakraftpasienter på eller uten hormonbehandling.*

Viser til innsendt melding om behandling av personopplysninger / helseopplysninger. Det følgende er et formelt svar på meldingen. Forutsetningene nedenfor må være oppfylt før rekruttering av pasienter til prosjektet kan starte.

Med hjemmel i Personopplysningsforskriftens § 7-12 jf. Personopplysningsloven § 31, har Datatilsynet, ved oppnevning av personvernombud, fritatt sykehuset fra meldeplikten til Datatilsynet. Forskningsprosjekter (studier) som omfatter høsting, lagring og tilgjengeliggjøring samt behandling av person-/helseopplysninger, meldes derfor til sykehusets personvernombud, se særlig personopplysningsforskriften § 7-27 første ledd om forskningsprosjekter, som lyder slik:



*Behandling av personopplysninger i forbindelse med et forskningsprosjekt er unntatt fra konsesjonsplikt etter personopplysningslovens § 33 første ledd dersom prosjektet er tilrådd av personvernombud. Omfatter prosjektet medisinsk og helsefaglig forskning, skal det i tillegg være tilrådd av en regional forskningsetisk komité.*

Personvernombudet har vurdert det til at den planlagte databehandlingen av personopplysninger / helseopplysninger tilfredsstillende de krav som stilles i helseforsknings- og personvernlovgivningen. Personvernombudet har ingen innvendinger til at den planlagte databehandlingen av personopplysninger / helseopplysninger kan igangsettes under forutsetning av følgende:

1. Forskningsansvarlig / databehandlingsansvarlig er Norges Idrettshøgskole.
2. Forskningsprosjektet er organisert under Norges Idrettshøgskole
3. Avdelingsleder og forskningsansvarlig i divisjonen/klinikken ved Ahus har godkjent gjennomføringen av prosjektet.
4. Prosjektet er vurdert og godkjent av REK og retter seg etter vilkår/forutsetninger gitt av REK.
5. Behandling av personopplysningene / helseopplysninger (sensitive opplysninger) i prosjektet skjer i samsvar med og innenfor det formål som er oppgitt i meldingen.
6. REK har godkjent forskningsbiobanken med Truls Raastad som ansvarshavende.
7. All utføring av biologisk materiale er godkjent av REK og innenfor det pasientene samtykker til.
8. Prosjektleder påser nødvendige avtaleinnngåelser forut for prosjektstart, med tanke på samarbeid og utlevering/utføring av opplysninger/biologisk materiale.
9. Prosjektleder påser at alle medarbeidere i forskningsprosjektet undertegner bruker- og taushetserklæring/ sikkerhetsinstruks
10. Prosjektleder påser å følge gjeldende prosedyrer for tilgangsstyring til forskningsdataene, slik at kun autoriserte får tilgang.
11. Informasjons- og samtykkeskjema som benyttes er godkjent av REK.
12. Data lagres som oppgitt i meldingen. Det forutsettes at valgt løsning har tilfredsstillende informasjonssikkerhet, dvs, er risikovurdert og godkjent.
13. Kodeliste som kobler aidentifiserte data (*indirekte identifiserbare helseopplysninger*) med personopplysninger lagres som angitt i meldingen og oppbevares separat nedlåst på adgangsbegrenset rom på sykehuset.
14. Prosjektslutt er 31.12.2025. Av dokumentasjonshensyn skal opplysningene likevel bevares inntil 31.12.2030, da skal data slettes eller anonymiseres ved at kodelisten slettes og eventuelle andre identifikasjonsmuligheter i databasen fjernes (senest 6 mnd etter sluttdato).
15. Dersom formålet, utvalget av inkluderte eller databehandlingen endres må personvernombudet gis forhåndsinformasjon om dette i likhet med REK.

Prosjektet er registrert i sykehusets offentlig tilgjengelig database over forsknings- og kvalitetsprosjekter.

Lykke til med studien!

Med vennlig hilsen  
for Personvernombudet

Ingrid Ursin



Akershus universitetssykehus HF

Epost: [personvern@ahus.no](mailto:personvern@ahus.no)

Web: [www.ahus.no](http://www.ahus.no)

***Dokumentet er signert elektronisk***



## FORESPØRSEL OM DELTAKELSE I FORSKNINGSPROSJEKTET

# HVORDAN VIRKER HORMONBEHANDLING PÅ EFFEKT AV STYRKETRENING?

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt for å undersøke om hormonbehandling for prostatakreft påvirker effekten av styrketrening. En vanlig bivirkning av hormonbehandling er tap av muskelmasse og økning i fettmasse som kan ha konsekvenser for helsen til pasienten. Særlig kan endringen i kroppssammensetning påvirke muskulaturens sensitivitet for insulin, som igjen kan påvirke blodsukkerreguleringen. Det er vist at styrketrening kan motvirke tap av muskelmasse, men effekten av treningen synes å være mindre enn om man ikke går på hormonbehandling. En undersøkelse gjennomført ved Norges idrettshøgskole i samarbeid med Oslo universitetssykehus viste at prostatakreftpasienter som ble behandlet med hormonbehandling oppnådde omtrent 1/3 av økningen i muskelmasse som man ser hos friske eldre menn. Vi ønsker derfor å invitere prostatakreftpasienter som enten står på hormonbehandling, eller som aldri har mottatt slik behandling, til deltakelse i en studie. Hensikten med studien er å undersøke om hormonbehandlingen påvirker muskelmassen og eventuelle tilpasninger til styrketrening. Ny kunnskap rundt dette kan bidra til å forstå hvordan hormonbehandlingen påvirker muskulaturen, og hvordan trening kan planlegges for å motvirke tap av muskelmasse. Det er professor Truls Raastad ved Norges idrettshøgskole som er ansvarlig for forskningsprosjektet.

## HVA INNEBÆRER PROSJEKTET?

Dersom du ønsker å delta må du møte opp på Norges idrettshøgskole ved fire anledninger: Ved første oppmøte vil du få prøve de fysiske testene og få informasjon alle målinger i prosjektet, i tillegg til at vi måler kroppssammensetningen din med en DXA-scan, dette tar omtrent to timer. Ved andre oppmøte skal du gjennomføre en treningsøkt og drikke deuterium-beriket vann (tungtvann) som skal benyttes for å måle oppbygning av muskelprotein, dette tar omtrent 4 timer. Ved tredje oppmøte skal du bare gjennomføre en treningsøkt, dette tar i overkant av én time. Det fjerde oppmøtet er en forsøksdag som tar en hel dag (ca. 7-8 timer). På forsøksdagen planlegges det flere blodprøver, som tas gjennom et venekateter, og fire vevsprøver fra en muskel (muskelbiopsi) på yttersiden av låret. På grunn av at vi måler oppbygning av muskelprotein, må de tre siste oppmøtene finne sted samme uke.

Mer utfyllende informasjon om alle målingene som gjøres i prosjektet finner du i vedlegg A.

Ved det fjerde oppmøtet, som er forsøksdagen, er det viktig at du møter fastende. Du vil møte på idrettshøgskolen kl. 08:00 om morgenen, og du må sette av hele dagen dersom du ønsker å delta. For å måle størrelsen på oppbygningen av muskelproteiner gjennom perioden fra du inntok deuterium-vannet til denne dagen, vil vi starte med en blodprøve gjennom et venekateter og en muskelbiopsi fra en muskel på det ene låret ditt. Venekateteret vil bli brukt til å ta flere blodprøver for å se på hvordan blodsukkeret og insulin responderer på matinntak og trening. Det er ingen kjent risiko med å innta deuterium-vann.

Etter muskelbiopsien og blodprøven, vil du få servert en frokost som består av cornflakes med melk og et proteintilskudd. Cornflakes inneholder mye karbohydrater og er godt egnet til å studere blodsukkerrespons. Etter frokosten vil vi derfor ta flere blodprøver for å undersøke blodsukker- og insulinresponsen etter måltidet. Omtrent to timer etter måltidet vil vi ta en ny muskelbiopsi fra begge lårene dine, før muskelstyrken blir målt og så gjennomfører du en ny treningsøkt. Etter treningsøkten du få servert et nytt cornflakes måltid samt et

proteintilskudd, og så vil vi ta flere blodprøver. Omtrent to timer etter treningsøkten vil vi ta de siste muskelbiopsiene, fra begge lårene også denne gangen, og det er siste du gjør på forsøksdagen.

I prosjektet vil vi innhente og registrere opplysninger om deg. Opplysningene du oppgir i spørreskjemaet på tilvenningsdagen, samt resultatene fra de ulike målingene vil bli lagret i henhold til gjellende regelverk. Opplysningene og resultatene dine vil bare bli delt med personer som er tilknyttet studien. Alle som er tilknyttet studien har taushetsplikt.

#### MULIGE FORDELER OG ULEMPER

Dersom du ønsker å delta i prosjektet, vil du få mer oppfølging enn det som er standard, i form av individuell tilbakemelding på de fysiske testene, DXA scan og treningsanbefalinger basert på disse. Du vil også få muligheten til å benytte treningssenteret ved Norges idrettshøgskole gratis i inntil 5 måneder etter deltakelse.

Du må imidlertid påregne noe tidsbruk og noen kostnader i forbindelse med reise til Norges idrettshøgskole. Venekateter og muskelbiopsier kan medføre en liten infeksjonsfare og du kan oppleve ubehag under inngrepet. Du kan også oppleve moderate smerter i ett til to døgn etter muskelbiopsien (omtrent som en lårhøne). Muskelbiopsiene etterlater små arr, som vil bli mindre tydelige med tiden. Enkelte opplever fortykninger av huden i arrområdet.

#### 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. Dette vil ikke få konsekvenser for din videre behandling. 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 Tormod S. Nilsen på epost [t.s.nilsen@nih.no](mailto:t.s.nilsen@nih.no), eller på telefon 95069857.

#### HVA SKJER MED OPPLYSNINGENE OM DEG?

Opplysningene som registreres om deg skal kun brukes slik som beskrevet i hensikten med prosjektet. 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. Du har også rett til å få innsyn i sikkerhetstiltakene ved behandling av opplysningene.

Alle opplysningene vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjennerende opplysninger. En kode knytter deg til dine opplysninger gjennom en navneliste. Det er kun Tormod S. Nilsen som har tilgang til denne listen.

Opplysningene om deg vil bli anonymisert eller slettet senest fem år etter prosjektslutt.

#### DELING AV DATA OG OVERFØRINGER TIL UTLANDET

Ved å delta i prosjektet, samtykker du også til at blodprøver og kan overføres til utlandet som ledd i forskningssamarbeid og publisering. Prosjektleder vil sikre at dine opplysninger blir ivaretatt på en trygg måte.

Koden som knytter deg til dine personidentifiserbare opplysninger vil ikke bli utlevert.

#### HVA SKJER MED PRØVER SOM BLIR TATT AV DEG?

Prøvene som tas av deg skal oppbevares i en forskningsbiobank tilknyttet prosjektet. Blodprøver og muskelbiopsier vil bli fryst ned og vil bli oppbevart i en forskningsbiobank uten kommersielle interesser (vurdert av regional etisk komité). Professor Truls Raastad er ansvarlig for biobanken.

Biobanken opphører ved prosjektslutt.

I tillegg skal blodprøver vil bli analysert ved Universitet i Oslo, Universitetet i København (Danmark) og ved Fürst i Oslo. Muskelbiopsiene vil bli analysert ved NIH, Kings College (London, U.K.)

#### 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.

#### ØKONOMI

Prosjektet er fullfinansiert av Aktiv mot kreft. Det er ingen utfordringer knyttet til etiske eller praktiske sider ved økonomien i prosjektet. Det finnes ingen interessekonflikter mellom sponsorer og studien.

#### GODKJENNING

Regional komité for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk har vurdert prosjektet, og har gitt forhåndsgodkjenning (2016/ 640/REK sør-øst)

Etter ny personopplysningslov har dataansvarlig Tormod S. Nilsen og prosjektleder Truls Raastad et selvstendig ansvar for å sikre at behandlingen av dine opplysninger har et lovlig grunnlag. Dette prosjektet har rettslig grunnlag i EUs personvernforordning artikkel 6a og artikkel 9 nr. 2 og ditt samtykke.

Du har rett til å klage på behandlingen av dine opplysninger til Datatilsynet.

#### KONTAKTOPPLYSNINGER

Dersom du har spørsmål til prosjektet kan du ta kontakt med Tormod S. Nilsen, prosjektkoordinator, på epost: t.s.nilsen@nih.no eller på telefon 95069857.

Personvernombud ved institusjonen er Karine Justad, e-post: karine.justad@nih.no.

## VEDLEGG A: UTFYLLENDE INFORMASJON METODENE I STUDIEN

Hensikten med studien er å undersøke hvordan hormonbehandling for prostatakreft påvirker responsen til et måltid og styrketrening. Responsen til måltidet og treningsøkten vil bli evaluert med fysiske tester og med analyser av blodprøver og muskelbiopsier på ulike tidspunkt. Du behøver bare å møte opp ved Norges idrettshøgskole, men enkelte analyser av muskelbiopsiene vil bli gjennomført ved laboratorier som vi har samarbeidsavtaler med. Ved å signere på samtykket bakerst i dokumentet, samtykker du samtidig på at noen av blodprøvene og muskelbiopsiene kan analyseres ved andre laboratorier enn på Norges idrettshøgskole.

### STYRKETESTER

Muskelstyrken i låret vil bli målt på ulike måter. I øvelsen kneekstensjon vil din statiske muskelstyrke bli målt ved at du presser alt du kan mot en motstand og kraften vil bli registrert av en sensor, og din dynamiske muskelstyrke målt ved at du gjennomfører øvelsen flere ganger med stadig økende motstand. Den høyeste motstanden (antall kilo) du klarer å gjennomfører hele øvelsen med blir registrert som din maksimale dynamiske muskelstyrke. I øvelsene **beinpress, brystpress og sittende roing** vil din dynamiske muskelstyrke bli målt, ved at du gjennomfører øvelsene flere ganger med stadig økende motstand. Den høyeste motstanden (antall kilo) du klarer å gjennomfører hele øvelsen med blir registrert som din maksimale dynamiske muskelstyrke.

### DXA-SCAN

Kroppssammensetningen din (vekt av muskelmasse, fettmasse og beinmasse) vil bli målt ved hjelp av et røntgenbasert instrument som kalles dual-energy x-ray absorptiometry (DXA). Undersøkelsen gjennomføres på Norges idrettshøgskole, og medfører bare en marginal strålebelastning. I dette forskningsprosjektet vil resultatet av undersøkelsen kun bli vurdert i forskningsøyemed.

### BLODPRØVER

Det tas egne blodprøver i dette forskningsprosjektet. Blodprøvene tas gjennom et venekateter for å begrense antall stikk i huden. Du vil få tilbakemelding dersom noen av prøvene dine viser verdier utenfor referanseområdet.

### MUSKELBIOPSIER

I dette forskningsprosjektet er det planlagt fire muskelbiopsier. To og to muskelbiopsier kan tas gjennom den samme åpningen i huden, slik at det bare blir ett snitt som etterlater arr på det ene låret ditt og to på det andre.

Muskelbiopsiene tas ut på følgende måte:

- Huden og bindevevet rundt muskelen lokalbedøves der biopsien skal tas.
- Et snitt på ca. 1-2 cm gjøres gjennom huden og bindevevet.
- En prøvetakningsnål med diameter på 6mm føres inn og 1-3 små biter av muskelen tas ut (totalt 2-300 milligram).
- Snittet lukkes med sårstrips. Du må derfor være forsiktig med å få vann på sårområdet den første tiden etter inngrepet. Du vil få mer informasjon om dette, samt et eget informasjonsskriv, etter at biopsiene er tatt.

## SPØRRESKJEMA

I tillegg til de fysiske testene og biologiske prøvene vil vi be deg fylle ut et spørreskjema som inneholder spørsmål knyttet til demografiske forhold, arbeid, andre sykdommer, medisinbruk og livsstil.

## TRENINGSØKTENE

Hvis du sier ja til å delta i prosjektet skal du gjennomføre tre styrketreningsøkter på Norges idrettshøgskole. Treningsøkten består av øvelser for beina og for overkroppen. Det er viktig at du er motivert til å gjennomføre treningen, og at du ikke har skader eller sykdommer som gjør det vanskelig å gjennomføre treningsøkten uten tillempinger i treningsøvelsene.

JEG SAMTYKKER TIL Å DELTA I PROSJEKTET OG TIL AT MINE PERSONOPPLYSNINGER OG MITT BIOLOGISKE MATERIALE BRUKES SLIK DET ER BESKREVET

---

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



Id nr.:

## Instruksjoner for utfylling av spørreskjema

Vi ber deg om å svare på dette spørreskjema så godt du kan ved å krysse av for det svaret som passer best for deg. Bruk blå eller sort kulepenn.

Dato for utfylling:   2019  
Dag Måned År

### Bakgrunnsopplysninger

#### Hva er din nåværende sivilstatus?

Aldri vært gift     Gift/samboende     Enkemann/enke     Separert/skilt

#### Hvilken utdanning er den høyeste du har fullført?

Grunnskolen 7-10 år     Universitet/høyskole (mindre enn 4 år)  
 Artium, videregående skole     Universitet/høyskole (4 år eller mer)

#### Hva er din nåværende arbeidssituasjon (sett ett kryss)

I fullt eller delvis arbeid, uten sykemelding/trygdeytelser  
 Gradert sykemelding i kombinasjon med lønnet arbeid  
 Fullt sykemeldt  
 Mottar arbeidsavklaringspenger  
 Mottar uføretrygd  
 Arbeidsledig/permittert  
 Pensjonist  
 Annet, beskriv \_\_\_\_\_

Hvis du er gradert sykemeldt, hvor mange prosent sykemeldt er du?

Hvis du mottar arbeidsavklaringspenger, hvor mange prosent er du arbeidsufør?

Hvis du mottar uføretrygd, hvor mange prosent er du uføretrygdet?

#### Hvor mange poeng vil du gi din nåværende arbeidsevne?

La oss gå ut i fra at arbeidsevnen din på sitt beste i ditt arbeidsliv ville fått 10 poeng.

0 poeng innebærer at du ikke er i stand til å arbeide i det hele tatt. Sett kun ett kryss ved det tallet som du mener best tilsvarer din nåværende arbeidsevne:

0    1    2    3    4    5    6    7    8    9    10

## **Fysisk aktivitet**

Når du skal svare på de neste spørsmålene ber vi deg tenke på din gjennomsnittlige ukentlige trening i løpet av den siste måneden. Når du svarer på disse spørsmålene skal du merke deg følgende:

- Ta bare med treningsøkter som varte 10 minutter eller lenger
- Ta bare med trening du har gjort i løpet av fritiden (altså ikke i arbeidstiden eller husarbeid)
- Merk deg at hovedforskjellen mellom de tre første kategoriene (a, b og c) er intensiteten av kondisjonstrening og at siste kategori (d) gjelder styrketrening. NB: ikke overlapp minutter i de ulike kategoriene

Skriv ned hvor mange ganger per uke i gjennomsnitt du gjorde en aktivitet i første kolonne, og hvor lenge du holdt på per gang i gjennomsnitt på andre kolonne. Skriv inn "0" dersom du ikke utførte noe aktivitet i en av kategoriene

**Tenk tilbake på din gjennomsnittlige ukentlige trening DEN SISTE MÅNEDEN. Hvor mange ganger i løpet av en vanlig 7-dagersuke gjennomførte du følgende trening?**

	Ganger per uke i gjennomsnitt	Hvor lenge per gang i gjennomsnitt (antall minutter)
a. <u>HARD</u> KONDISJONSTRENING (VELDIG ANSTRENGENDE, HJERTET SLÅR FORT, BLIR SVETT) (f.eks. løping, aerobic timer, skigåing, fotball, squash, rask svømming, rask sykling)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
b. <u>MODERAT</u> KONDISJONSTRENING (MODERAT, BLIR LITT SVETT) (f.eks. rask gange, lett sykling, rolig svømming, tennis, volleyball, badminton, slalåm, folkedans)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
c. <u>LETT</u> KONDISJONSTRENING (MINIMALT ANSTRENGENDE, BLIR IKKE SVETT) (f.eks. lett gange, golf, yoga, fiske, bowling)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
d. <u>STYRKETRENING</u> (MODERAT TIL HARD ANSTRENGELSE) (f.eks. trene med vekter, styrkeapparater, sit-ups, push-ups (armhevinger), trene med strikk)	<input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>

**Har du vanligvis minst 30 minutter fysisk aktivitet daglig på arbeid og/eller i fritiden?**

Ja                       Nei

**Omtrent hvor mange timer sitter du i ro på en vanlig hverdag?**

Regn med både jobb og fritid. Antall timer:

## **Kosthold**

(Ta utgangspunkt i hva du har spist den siste måneden når du svarer på spørsmålene under)

### **Hvor ofte spiser du grønnsaker (ferske, frosne eller tillagede)?**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> To ganger per dag eller oftere | <input type="checkbox"/> Noen ganger i uken          |
| <input type="checkbox"/> En gang per dag                | <input type="checkbox"/> En gang i uken eller mindre |

### **Hvor ofte spiser du frukt eller bær (ferske, frosne, konserverte, juice etc)?**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> To ganger per dag eller oftere | <input type="checkbox"/> Noen ganger i uken          |
| <input type="checkbox"/> En gang per dag                | <input type="checkbox"/> En gang i uken eller mindre |

### **Hvor ofte spiser du fisk eller skalldyr (som hovedrett, i salat eller som pålegg)?**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tre ganger i uken eller mer | <input type="checkbox"/> En gang i uken                     |
| <input type="checkbox"/> To ganger i uken            | <input type="checkbox"/> Noen ganger i måneden eller mindre |

### **Hvor ofte spiser du kaker, sjokolade, godteri, potetgull eller drikker brus/saft med sukker?**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> To ganger per dag eller oftere | <input type="checkbox"/> Noen ganger i uken          |
| <input type="checkbox"/> En gang per dag                | <input type="checkbox"/> En gang i uken eller mindre |

### **Hvor ofte spiser du bearbejdede kjøttprodukter til middag/varm lunsj (kjøttdeig, pølse, hamburger, kjøttboller o.l.) ?**

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Fem ganger i uken eller mer | <input type="checkbox"/> To til tre ganger i uken    |
| <input type="checkbox"/> Fire ganger i uken          | <input type="checkbox"/> En gang i uken eller mindre |



### **Hvilken type smør/margarin bruker du oftest på brødskiven?**

- Bruker ikke
- Hardt smør/margarin (meierismør, Bremykt, Melange, kokosfett, o.l.)
- Margarin (Vita, Soft Flora, Brelett o.l.)

### **Hvilken type smør/margarin/olje bruker du oftest til matlaging?**

- Bruker ikke
- Smør, hardt fra kjøleskapet (meierismør, Bremykt, Melange, kokosfett, o.l.)
- Margarin, mykt fra kjøleskapet (Vita, Soft Flora, Brelett o.l.)
- Flytende margarin og oljer (flytende melange, raps, soya, olivenolje o.l.)

### **Hvis du spiser brød/knekkebrød, hva spiser du mest av i løpet av uken?**

- |  |   |   |
|--|---|---|
| <input type="checkbox"/> Fint/halvgrovt brød (under 50% sammalt mel) | → |  |
| <input type="checkbox"/> Grovt brød (50% eller mer sammalt mel)      | → |  |

### **Tar du noe kost-tilskudd?**

- Ja     Nei

Hvis ja, hva tar du?

- Tran, trankapsler/fiskeoljekapsler, omega-3 tilskudd,
- Multivitamin tilskudd (spesifiser gjerne under)
- Helsekosttilskudd (spesifiser gjerne under)

## Røyk/alkohol

### Røyker du? (sett ett kryss)

- Nei, jeg har aldri røykt  Ja, røyker av og til (fest/ferie, ikke daglig)  
 Nei, jeg har sluttet å røyke  Ja, røyker daglig

### Hvor ofte drikker du 5 glass eller mer av øl, vin eller brennevin ved samme anledning?

- Aldri  Ukentlig  Månedlig  Daglig

### Omtrent hvor ofte har du i løpet av de siste 12 månedene drukket alkohol (ikke regn med lettøl)?

- 6-7 ganger per uke  Ca. 1 gang per uke  Noen få ganger i året   
4-5 ganger per uke  2-3 ganger per måned  Ingen ganger siste året   
2-3 ganger per uke  Ca. 1 gang per måned  Aldri drukket alkohol

### Har du, eller har du noen gang hatt, noen av disse sykdommene/plagene?

	Har du eller har du hatt denne plagen/sykdommen?		Hvis ja; Begrenser plagen/sykdommen deg i aktiviteter i dag?	
	Ja	Nei	Ja	Nei
a. Hjertesykdom (f. eks hjerteinfarkt, hjertesvikt, hjertekrampe (angina pectoris))	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. Høyt blodtrykk	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. Kronisk lungesykdom (f. eks astma, kronisk bronkitt eller kols)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. Diabetes (sukkersyke)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. Nyresykdom	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. Leversykdom	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. Magesår eller tarmsykdom (f. eks Crohns sykdom, ulcerøs kolitt)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. Reumatisk sykdom (f. eks leddgikt, Bekhterevs sykdom)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. Slitasjegikt (artrose)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. Andre muskel-/skjelettplager	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. Epilepsi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
k. Hjerneslag/hjerneblødning/blodpropp i hjernen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
l. Depresjon	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
m. Andre psykiske plager som du har søkt hjelp for	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
n. Anemi (lav blodprosent).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
o. Lavt stoffskifte (hypothyreose)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
p. Høyt stoffskifte (hyperthyreose)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

**Bruker du noe form for medisiner?**

For hva? \_\_\_\_\_

Hvilke? \_\_\_\_\_