

Institutt for folkehelse- og idrettsvitenskap

Tomas Varpestuen

Masteroppgave

Effekter av 7 uker styrketrening med høyt og moderat volum på muskelstyrke, muskeltykkelse og total-RNA i vastus lateralis hos unge voksne

Master i idrettsvitenskap

2020

Forord

Først og fremst vil jeg takke mine veiledere Håvard Hamarsland, Daniel Hammarström og Stian Ellefsen. Dere har vært viktige i prosessen med å få denne masteroppgaven i havn.

Håvard: Takk for den enorme hjelpen du har gitt meg gjennom denne prosessen, både for at jeg fikk være med i ditt ambisiøse prosjekt og hjelpen gjennom skriveprosessen.

Ansvar og tilliten jeg har fått i gjennomføringen av prosjektet har gitt meg erfaringer som jeg aldri ville vært foruten. Tilbakemeldinger og veiledning av noen med din kunnskap har vært uvurderlig både for meg og for gjennomføringen av denne oppgaven. En veileder med ditt engasjement og iver etter å hjelpe til ved alle døgnets tider er unikt og noe som ikke er alle forunt.

Daniel: Takk for all hjelpen både i laboratoriet og når det gjelder de statistiske analysene. Jeg er ekstremt imponert over din kunnskap både når det gjelder statistikk og lab-arbeid, uten deg hadde ikke de statistiske analysen blitt like omfattende. I tillegg er jeg veldig takknemlig for all tilliten og tålmodigheten jeg fikk i laboratoriet, en slik erfaring er det ikke mange som får. Det å takle alle spørsmål om statistiske og molekylære analyser krever virkelig en tålmodig og kunnskapsrik person som deg!

Stian: Takk for hjelpen både på lab og med skriving av oppgaven. Hjelp av en med din kunnskap og iver har gitt meg ett ekstra push! Du har vært en stor inspirasjon gjennom denne dannelsesreisen.

Jeg ønsker også å takke alle forsøkspersonene for at de tok seg tid til å delta i studien. Jeg er takknemlig for deres innsats, positive holdninger og smittende humør.

Takk til alle mine medstudenter gjennom disse to årene. Det siste året har krevd mye, men jeg kunne ikke tenkt meg å gjennomføre det med noen andre. Selv om de siste månedene har blitt spesielle med tanke på omstendigheten rundt Covid-19.

Til slutt ønsker jeg å takke til alle menneskene ved instituttet for idrettsvitenskap for å ha gjort disse fem årene ved Høgskolen i Innlandet til lærerike og minneverdige år. Jeg tror du skal lete lenge etter en så åpen og inkluderende idrettsseksjon. Dette er fem år jeg vil se tilbake på med glede og jeg kommer definitivt ikke til å glemme det.

Tomas Varpestuen

Lillehammer, juni 2020



Ulemper i forhold til Covid-19

Med bakgrunn i Covid-19 måtte vi avbryte intervensjonsperioden for tre av deltagerne.

Pandemien var også en medvirkende årsak til at vi ikke fikk kjørt PCR-analyser før laben ble nedstengt.

Sammendrag

Introduksjon: Styrketreningsvolum er en determinator for treningsrespons. Tidlig akkumulering av total-RNA er forslått som regulator for dose-responsammenhengen mellom treningsvolum og muskelvekst på gruppenivå. Oppgavens mål var å undersøke effekten av treningsvolum på muskelstyrke, muskelvekst og total-RNA hos utrente.

Metode: Trettiåtte friske utrente individer ble inkludert og randomisert til fem ulike eksperimentelle grupper, fire treningsgrupper (G1, n=11; G2, n=9; G3, n=10; G4, n=8) og en negativ kontrollgruppe (KON, n=8). Deltagerne i kontrollgruppen gikk etter denne perioden over i G4. Det ble gjennomført et styrketreingsprogram med et kontralateralt design, hvor treningsgruppene gjennomgikk 3 uker (9 økter) tilvenning etterfulgt av 7 uker (21 økter) med ulikt volum på beina: G1 (3/0 sett), G2 (6/0 sett), G3 (3/6 sett), G4 (3/3 sett), KON (0/0 sett) og 3 sett for overkroppsovelsene, med 10 repetisjoner maksimum for alle øvelser. Fire 1RM, isokinetisk (60 og 240° sek⁻¹) og isometriske tester ble gjennomført mellom uke 1-4 (T1-T2), i uke 7 (T3) og 2 ganger i uke 11-13 (T4). DXA, ultralyd og biopsi ble gjennomført i uke 1, 4, 7, 11. I analysene ble beina delt opp i 0, 3 og 6 sett.

Resultat: Styrketrening førte ikke til forskjell mellom 3 og 6 sett i muskelstyrke (3,0 -7,5% forskjell, alle $P > 0.05$), mens 6 sett førte til større økning enn 3 sett i muskeltykkelse ved T4 (4,4%, $P < 0.05$). Både 3 og 6 sett førte til akkumuleringen av total-RNA fra T1 til T3 ($20,0 \pm 29,0\%$ versus $27.6 \pm 9,1\%$, $P > 0.05$) og T4 ($25,0 \pm 30,4\%$ versus $22,7 \pm 23,0\%$, $P > 0.05$). Endring i muskelstyrke og muskeltykkelse korrelerte ved T4 ($R = 0,26$, $P = 0.035$). Det var ingen korrelasjoner mellom muskeltykkelse og RNA.

Konklusjon: Syv uker med høyt treningsvolum ga større muskelvekst enn moderat volum, uten forskjeller i muskelstyrke og akkumulering av total-RNA hos unge voksne.

Innholdsfortegnelse

Innholdsfortegnelse	4
1. Teori	5
1.1 Treningsvolums effekt på muskelvekst og muskelstyrke.....	6
1.2 Sammenhengen mellom muskelvekst og muskelstyrke.....	7
1.3 Muskelvekst og proteinsyntese	8
1.4 Ribosomal biogenese.....	9
1.5 Ribosombiogenese ved styrketrening.....	11
2. Introduksjon.....	13
3. Materiell og metode.....	14
3.1 Deltagere	14
3.2 Eksperimentelt design	16
3.3 Tilvenning og styrketreningsprotokoll.....	17
3.4 Styrketester.....	18
3.5 Kroppssammensetning	19
3.6 Muskelprøvetakning og prosessering.....	19
3.7 Homogenisering og fase separering	20
3.8 Total-RNA ekstraksjon.....	20
3.9 Dataanalyser og statistikk.....	21
4. Resultat.....	22
5. Diskusjon.....	26
Svakheter og styrker ved studien.....	29
Praktisk tilnærming og videre forskning	30
6. Konklusjon	30
Supplerende informasjon.....	30
Referanseliste	31
Vedlegg	40
Vedlegg 1 – Vil du delta i forskningsprosjektet.....	40
Vedlegg 2 - Tabell V1. Prosent endring fra baseline i m. vastus lateralis tykkelse, muskelstyrke og total-RNA.....	47

1. Teori

Styrketrening har historisk sett blitt utøvd av idrettsutøvere for å forbedre fysisk prestasjonsevne, men har i nyere tid fått mer oppmerksomhet fra den allmenne befolkning grunnet sin preventive effekt på en rekke morbiditeter assosiert med ulike livsstilssykdommer. Regelmessig styrketrening fører til muskelvekst, økt maksimal styrke, hurtigere kraftutvikling, økt ganghastighet, forbedret koordinasjon, balanse og kroppskomposisjon – i tillegg til gevinster som økt hvilemetabolisme og beinmineralitetthet (Kraemer & Ratamess, 2004; Westcott, 2012). Det tradisjonelle synet er at det i initieringsfasen hovedsakelig vil være de nevrale adaptasjonene (Sale, 1988; Schoenfeld, 2010) som forbedret muskelaktivering og koordinasjon (Rutherford & Jones, 1986), som igjen fører til økt styrke. Etter 6-7 uker ser det ut til at man får en signifikant økning i muskelvekst (Phillips, 2000), og dette blir en mer dominerende faktor i bidraget til økt styrke. Videre vil det være samspillet mellom muskelvekst og de nevrale faktorene som bestemmer økningen i muskelstyrke (Ratamess et al., 2009). I nyere studier har det blitt rapportert om muskelvekst allerede etter 3-4 uker (Baroni et al., 2013; Brook et al., 2015; DeFreitas, Beck, Stock, Dillon & Kasishke, 2011; Seynnes, de Boer & Narici, 2007), noe som antyder at muskelvekst spiller en rolle tidligere enn først antatt. For å opprettholde progresjon både når det gjelder styrke og muskelvekst krever kroppen en gradvis økning av stress, dette kan manipuleres ved å endre, intensitet, volum, pauselengde, antall sett, valg av øvelser, hastigheten på repetisjonene og treningsfrekvensen (Ratamess et al., 2009). Denne manipulasjonen, sammen med genetiske, epigenetiske og miljømessige faktorer vil spille inn på resultatene styrketreningen gir (Kraemer et al., 2002; Morton et al., 2018; Seaborne et al., 2018; Timmons, 2011) – nettopp dette har forskningen viet mye oppmerksomhet til.

Det er gjennomført en rekke ulike styrketreningsintervensjoner med ulike protokoller, hovedsakelig med et lavt eller moderat treningsvolum, og disse har vist sprikende resultater både når det gjelder effekten på styrke, muskelvekst og total-RNA (Brook et al., 2015; V. C. Figueiredo et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Krieger, 2009, 2010; Mitchell et al., 2012; Rhea, Alvar, Burkett & Ball, 2003; Ronnestad et al., 2007; Schoenfeld, Ogborn & Krieger, 2017; Stec, Mayhew & Bamman, 2015). Per dags dato vet vi lite om forskjellen på effekten mellom et moderat og høyt styrketreningsvolum for utrente, og derfor er det viktig å danne seg et klarere bilde av dette.

1.1 Treningsvolums effekt på muskelvekst og muskelstyrke

For utrente individer som er ute etter muskelvekst er det anbefalt å trene 2-3 dager i uken, 8-12 repetisjoner maksimum (RM), 1-3 sett per øvelse og 1-2 minutter pause mellom hvert sett (Ratamess et al., 2009). En slik belastning av skjelettmuskulaturen har vist seg å føre til muskelvekst ved en økning i fiberstørrelse som et resultat av flere myofibriler og sarkomerer i parallell (Paul & Rosenthal, 2002; Schoenfeld, 2010; Toigo & Boutellier, 2006). Dette til tross for at vi fortsatt har begrenset kunnskap om volums betydning for muskelvekst og muskelstyrke.

En rekke studier har sett på forholdet mellom treningsvolum på endring i muskelvekst og muskelstyrke for utrente, uten at det ser ut til å være noen konsensus i litteraturen. Noen studier observerer signifikante fordeler ved å gjennomføre et moderat treningsvolum (Hammarstrom et al., 2019; Ronnestad et al., 2007), mens andre ikke finner noen volumavhengige forskjeller (Cannon & Marino, 2010; Mitchell et al., 2012; Ribeiro et al., 2015). Det kan se ut til å være metodologiske grunner til dette. Alle studiene gjennomførte styrketrening med ulik treningsintensitet (Cannon & Marino, 2010; Hammarstrom et al., 2019; Mitchell et al., 2012; Radaelli et al., 2014; Ribeiro et al., 2015; Ronnestad et al., 2007), ulikt antall øvelser for den målte muskelgruppe (Hammarstrom et al., 2019; Radaelli et al., 2014; Ribeiro et al., 2015; Ronnestad et al., 2007) i tillegg til bruk av ulike målemetoder som DXA (Ribeiro et al., 2015), ultralyd (Radaelli et al., 2014) og MRI (Cannon & Marino, 2010; Hammarstrom et al., 2019; Mitchell et al., 2012; Ronnestad et al., 2007). Dette har vist seg å ha innvirkning på resultatene (Schoenfeld et al., 2017). De samme studiene har også sett på endring i muskelstyrke, her viser kun to av studiene forskjeller mellom gruppene (Hammarstrom et al., 2019; Ronnestad et al., 2007). Det er trolig at de nevnte metodiske utfordringene med treningsintensitet og øvelsesutvalget også spiller en viktig rolle her.

Metaanalyser som har sett på sammenhengen mellom volum og muskelvekst har hatt ulike framtoninger. Krieger (2010) så på antall sett per økt og fant en signifikant forskjell mellom 1 og 2-3 sett, uten forskjell mellom 2-3 og 4-6 sett. Den mangelfulle forskjell mellom 2-3 og 4-6 kan ha bakgrunn i mangel på data, siden analysen kun inkluderte to studier som inneholdt > 4 sett per øvelse. I tillegg tok de ikke hensyn til treningsfrekvensen. Schoenfeld et al. (2017) så på antall sett for hver muskelgruppe per uke og fant en gradvis dose-responssammenheng mellom styrketreningsvolum og muskelvekst der de anbefaler minimum 10 sett per muskelgruppe per uke for optimal muskelvekst. Det ser altså ut som styrketreningsvolum spiller en viktig rolle når gjelder muskelvekst opp til et visst nivå, uten at

det er gjennomført tilstrekkelig med studier til å trekke en klar konklusjon angående størrelsen på dette treningsvolumet. Det samme gjelder metaanalyser som har sett på muskelstyrke: her blir det rapportert om 46% større økning i styrke for 2-3 sett per øvelse opp imot 1 sett, uten at det er noen forskjell mellom 2-3 og 4-6 sett (Krieger, 2009). Dette står i kontrast til analysen til Rhea et al. (2003) som anbefaler å trene tre ganger i uka med 4 sett per muskelgruppe. Det er heller ikke her grunnlag for å trekke noen klar konklusjon angående effekten av 5 og 6 sett. Dette viser at det er flere hull i litteraturen når det gjelder å detektere effekten av ulike treningsvolum på muskelstyrke og muskelvekst. En av grunnene til at dette er av allmenn interesse er at tid blir nevnt som en begrensende faktor for fysisk aktivitet (Choi, Lee, Lee, Kang & Choi, 2017), og man ønsker dermed å kunne se hvilke volum som både er optimalt og mest tidseffektivt. I tillegg er det av interesse å se om det samme treningsvolumet er å anbefale både for muskelvekst og muskelstyrke.

1.2 Sammenhengen mellom muskelvekst og muskelstyrke

Sammenhengen mellom muskelvekst og muskelstyrke for utrente er en diskusjon som har skapt stor debatt. Flere mener muskelvekst og muskelstyrke er to separate fenomener uten en kausal sammenheng (Buckner et al., 2016; Dankel et al., 2018). Argumentene imot en sammenheng er svake studiedesign, svak korrelasjon mellom endring i muskelstørrelse og styrke etter en treningsintervensjon, at man beholder styrke selv om man mister muskelmasse ved en de-treningsperiode og at man kan oppnå samme øking i muskelmasse ved trening med både lav og tung motstand, men da med ulike styrkeadaptasjoner (Buckner et al., 2016; Dankel et al., 2018; Loenneke et al., 2019). Argumentene for at det er en sammenheng er at en økning av aktin og myosinfilamenter i parallell vil øke muskelens evne til å produsere kraft. Studier med kort varighet finner derfor ikke alltid en sammenheng, grunnet muskelvekst med bakgrunn i andre faktorer enn flere myofibriller i parallell, treghet i utviklingen av komplementære adaptasjon som muskelfibre og vev. Dette gjør at vi ikke klarer å utnytte den nye kapasitet som en større muskel gir; man måler altså styrke før effekten av muskelveksten rekker å blir uttrykt (Taber, Vigotsky, Nuckols & Haun, 2019). I tillegg kan styrke økes ved bedre teknikk, nevralt faktorer sammen med mekaniske og morfologiske endringer (Taber et al., 2019). Dette støttes av studier med lengre varighet der man blant annet ser at den maksimale agonistaktiveringen hos utrente personer oppstår i løpet av de første 12 ukene, og at en videre økning hovedsakelig skyldes muskelvekst og forbedret intramuskulær koordinasjon som laver antagonistaktivering (Balshaw, Massey, Maden-Wilkinson, Lanza &

Folland, 2019). Vekst vil føre til økt styrke. Dog er det ikke nødvendigvis slik at det kreves vekst for at en økning i styrke skal oppstå (Dankel et al., 2017; Taber et al., 2019).

1.3 Muskelvekst og proteinsyntese

Prosessen som bestemmer graden av muskelvekst er muskelproteinsyntesen, altså forholdet mellom proteinsyntese og proteinnedbryting – dette vil si at dersom netto proteinsyntesen over tid er høyere en netto degradering vil man få en akkumulering av cellulært protein som vil føre til muskelvekst (Damas, Phillips, Vechin & Ugrinowitsch, 2015; Phillips, 2014; Phillips, Tipton, Aarsland, Wolf & Wolfe, 1997). Etter en periode med styrketrening ser det ut som den akutte økningen i proteinsyntese etter en økt blir redusert (Damas et al., 2015; Damas, Phillips, Libardi, et al., 2016), noe som har ført til mer interesse for om det er den akutte eller den basale proteinsyntesen som har størst innvirkning på muskelvekst i løpet av en treningsintervensjon (Brook et al., 2015; Damas, Phillips, Libardi, et al., 2016; Reidy et al., 2017).

To faktorer som er med på å bestemme graden av proteinsyntese er translasjonskapasitet og translasjonseffektivitet (V. C. Figueiredo & McCarthy, 2019). Translasjonskapasiteten er hovedsakelig bestemt av antallet ribosomer i cellen (Chaillou, Kirby & McCarthy, 2014). Ribosomet er et makromolekylært maskineri som katalyserer proteinsyntese i alle celler (de la Cruz, Karbstein & Woolford, 2015). Det modne ribosomet i eukaryote celler (80S) består av to subenheter: en liten (40S) og en stor (60S). Hver subenhet har ulikt ribosomalt RNA (rRNA) innhold, og antall ribosomale proteiner (r-proteiner); den store 60S subenhet er dannet av 28S, 5.8S, 5S rRNA og 47 r-proteiner, mens den lille 40S-subenheten er sammensatt av 18S rRNA og 33 r-proteiner (Khatter, Myasnikov, Natchiar & Klaholz, 2015). rRNA er hovedkomponenten i total-RNA og det representerer ~ 85 % av det cellulære innholdet (O'Neil, Glowatz & Schlumpberger, 2013; Sugden & Fuller, 1991; Warner, 1999). Det vil si at en endring i rRNA som et resultat av ribosomal biogenese vil føre til en økning i total-RNA. En økning i ribosomer representerer en investering i nye anlegg, som gir mulighet for raskere vekst (Warner, 1999), altså økt translasjonskapasitet. I den sammenheng har det blitt tatt interesse for den ribosomale kapasiteten, da det ribosomale innholdet fungerer som et tak for proteinsyntesen i hver enkelt celle (Iadevaia, Liu & Proud, 2014). Translasjonseffektiviteten henviser til proteinsyntese per ribosom og det er sammenhengen mellom kapasiteten og effektiviteten som bestemmer hastigheten på proteinsyntese (Chaillou et al., 2014). Det er foreslått at endringen i translasjonseffektiviteten

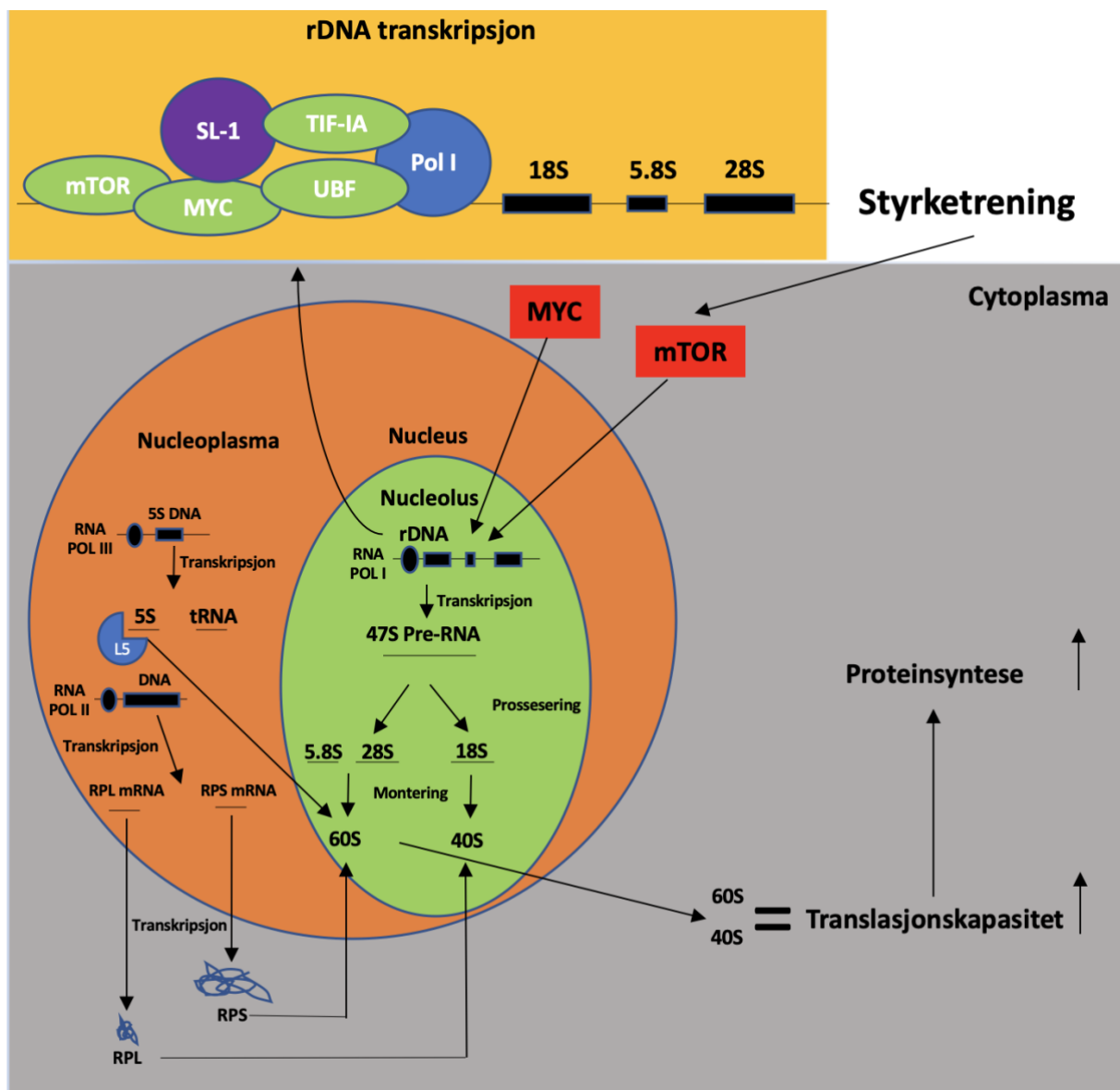
er hovedårsaken til den økte proteinsyntesen som oppstår de første minuttene og timene i etterkant av en styrketreningsøkt, mens økningen de neste timene og dagene kommer av økt ribosomale kapasitet (Kimball, Farrell & Jefferson, 2002). Ergo, en økning i antall ribosomer indikerer at den ribosomale biogenesen er en viktig brikke i prosessen som fører til muskelhypertrofi.

1.4 Ribosomal biogenese

Translasjonskapasiteten kan økes via den ribosomale biogenesen, en kompleks flerstegsprosess som involverer de novo syntetisering av ribosomer. Dette forekommer hovedsakelig i en understruktur av nucleus, nucleolus; her blir rRNA syntetisert, prosessert, modifisert og montert til ribosomale subenheter (Drygin, Rice & Grummt, 2010). For å syntetisere ribosomer kreves det koordinert aktivitet fra tre ulike RNA-polymeraser (Pol I, II, III). Pol I driver utelukkende med syntetisering av rRNA, Pol II har ansvaret for mRNA og r-protein, mens Pol III transkriberer 5S rRNA og små uoversatte RNA som tRNA (Mayer & Grummt, 2006; Vannini & Cramer, 2012).

Styrketrening er et potent stimuli for å øke den ribosomale biogenesen, dette skjer ved at det blant annet påvirker mTORC1 og Wnt/ β -catenin/c-myc, som er foreslått som hovedsignalveiene når det gjelder regulering av RNA polymerasene (Chaillou et al., 2014; Mayer & Grummt, 2006). Initiering av rDNA-transkripsjonen blir ledet av et multiproteinkompleks som inneholder Pol I og minst tre andre basale initieringsfaktorer. Pre-initieringskomplekset (PIC) består av oppstrømsbindingsfaktor (UBF), selektiv faktor 1 (SL-1) som er et proteinkompleks som inneholder TATA-bindene proteiner (TBP) og tre Pol I-spesifikke TBP-assosierte faktorer (TAFs), transkripsjonsinitierende faktor (TIF-IA) og Pol I (Grummt, 2003). Etter at transkripsjonen er satt i gang vil fortsatt PIC-komponentene sammen med UBF og SL-1-komplekset være koblet til promotorelementet, helt til Pol I møter rDNAets terminatorelement (V. C. Figueiredo & McCarthy, 2019). Basert på denne transkripsjonen sitter vi igjen med et 47S pre-RNA-transkript som inneholder 18S, 5.8S og 28S rRNA. Disse rRNAene er separert av de interne transkriberte avstandsstykkene 1 (ITS1) og 2 (ITS2), mens det i 5' og 3' ligger eksternt transkriberte avstandsstykker (5'-ETS og 3'-ETS). I løpet av prosesseringen blir avstandsstykkene fjernet ved hjelp av en rekke endonukleolytiske og eksonukleolytiske kløyvinger (Henras, Plisson-Chastang, O'Donohue, Chakraborty & Gleizes, 2015), og vi sitter igjen med modent 18S, 5.8S og 28S rRNA.

Vi har også et fjerde essensielt rRNA, produsert utenfor nucleolus: 5S rRNA. 5S rRNA blir dannet ved transkripsjon av 5S rDNA. Siden den blir dannet utenfor nucleolus blir den fraktet inn i nucleolus ved at den binder seg til målproteinene L5 (Ciganda & Williams, 2011). rRNAene og r-proteinene blir så montert sammen til henholdsvis 60S (28S, 5S, 5.8S og 47 r-proteiner) og 40S (18S og 33 r-proteiner), noe som hovedsakelig skjer i nucleolus. Deretter gjennomgår ribosomene en modningsprosess i nucleoplasma, før de blir aktivt transportert ut i cytoplasma hvor den siste prosesseringen tar plass og vi står igjen med de to modne ribosomale subenhetene (Henras et al., 2015; Moss, Langlois, Gagnon-Kugler & Stefanovsky, 2007). For en skjematisk framstilling av det cellulære transkripsjonsmaskineriet, se Figur 1.



Figur 1: Skjematisk framstilling av det cellulære transkripsjonsmaskineriet.

Styrketrening fører til et anabolt signal som aktiverer mTORC1 (mechanical target of rapamycin complex 1) og c-myc (c-myelocytomatosis oncogene); de jobber sammen med alle de tre RNA- polymerasene (RNA Pol I, II, III) når det gjelder regulering av den ribosomale biogenesen. mTORC1 og c-myc ser ut til å initiere 47S pre RNA transkripsjon i nucleolus ved aktivering av oppstrømsbindingsfaktor (UBF), selektiv faktor 1 (SL-1), transkripsjon initierende faktor (TIF-1A) og Pol I. 47S pre RNA blir så prosessert til modent 18S, 5.8S og 28S rRNA (ribosomalt RNA). I nucleoplasma sørger Pol III for transkribering av 5S DNA til 5S rRNA og tRNA, mens og pol II sørger for transkripsjon av mRNA og RPL (ribosomale proteiner liten) og RPS (ribosomale proteiner stor). 5.8S, 28S, 5S og RPL monteres sammen til en 60S subenhet og 18S og RPS monteres sammen til en 40S subenhet i nucleolus. Ribosomale 60S og 40S subenheter blir videre fraktet ut i cytoplasma der de bindes sammen med mRNA og former funksjonelle ribosomer, noe som øker translasjonskapasiteten. Denne skjematiske fremstillingen er tilpasset fra Boisvert, van Koningsbruggen, Navascues og Lamond (2007), Chaillou et al. (2014) og V. C. Figueiredo og McCarthy (2019).

1.5 Ribosombiogenese ved styrketrening

Sammenhengen mellom skjelettmuskelvekst og ribosom biogenese hos mennesker er et relativt nytt fokusområde innenfor forskning. Transkripsjon av rDNA til 47S rRNA er det første hastighetsbegrensende trinnet i ribosombiogenesen (Panov, Friedrich & Zomerdijsk, 2001). Studier har sett på både den akutte og kroniske effekten styrketrening har på uttrykket av 45S-pre RNA nivåer (V. C. Figueiredo et al., 2015; Vandre Casagrande Figueiredo & McCarthy, 2017; V. C. Figueiredo et al., 2016; V. C. Figueiredo et al., 2018; Fyfe et al., 2018; Nader et al., 2014; Reidy et al., 2017; Stec et al., 2015). De finner ingen signifikante endringer i ekspresjonen av 45S pre-RNA de første 3 timene etter en treningsøkt (V. C. Figueiredo et al., 2015; V. C. Figueiredo et al., 2018; Fyfe et al., 2018). Grunnen til dette kan være at fosforylering av TIF-1A sammen med Pol I fremmer PIC dannelse og at rRNA-syntesen ikke rekker å øke ekspresjonen signifikant på så kort tid (V. C. Figueiredo et al., 2015; V. C. Figueiredo et al., 2016; Fyfe et al., 2018). Dette samsvarer med resultatene som viser at ekspresjonen av 45S pre-RNA øker fra 4 til 24 timer og holder seg konstant etter 48 timer (V. C. Figueiredo et al., 2016; Nader et al., 2014; Stec et al., 2015). Likevel ser det ikke ut til at denne økningen i 45S pre-RNA fører til signifikant økning av modne rRNA (28S, 18S og 5.8S) (V. C. Figueiredo et al., 2016). Dette viser begrensingene ved akutte studier: her ser man kun den akutte effekten av et stimuli. Dog vet man ikke hva dette vil føre til over tid.

Flere studier med lengre styrketreningsintervensjoner viser at en akkumulering av modent rRNA har sammenheng med en økning i totalt-RNA (Brook et al., 2015; V. C. Figueiredo et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Reidy et al., 2017; Stec et al., 2016), som igjen ser ut til å korrelere med muskelvekst (Brook et al., 2016; V. C. Figueiredo et al., 2015;

Mobley et al., 2018; Reidy et al., 2017). Sett i sammenheng med studier som viser korrelasjon mellom totalt-RNA-innhold og hastighet på proteinsyntesen både in vitro og vivo (Millward, Garlick, James, Nnanyelugo & Ryatt, 1973; West et al., 2016), kan det virke som translaskapasiteten spiller en essensiell rolle for hastigheten på proteinsyntesen og dermed graden av muskelvekst. Reidy et al. (2017) fant nylig korrelasjon mellom endring i basalhastigheten på proteinsyntesen og graden av muskelvekst, noe som tyder på at den treningsinduserte økningen i muskelproteinsyntesen er et resultat av økt translaskapasitet, snarere enn økt translaseffektivitet.

De siste årene har det kommet studier på utrente som viser at det oppstår en økning i total-RNA de 2-3 første ukene av en styrketreningsintervensjon (Brook et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019) før det oppstår det en utflating, men med fortsatt forhøyede nivåer etter 12 uker (V. C. Figueiredo et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Mobley et al., 2018). I den sammenheng er studien til Hammarstrom et al. (2019) av spesielt interesse, da den antyder at den ribosomale biogenesen er veldig volumsensitiv og at akkumuleringen de første to ukene regulerer dose-responssammenhengen mellom treningsvolum og muskelvekst. Den dag i dag vet vi lite om hvordan total-RNA reagerer på et enda høyere volum, men det er plausibelt at det vil spille en sentral rolle også der.

Hovedmålet med studien som denne oppgaven er en del av var å undersøke ulike aspekter ved bruken av kontralaterale design i treningsintervensjoner. Målet med oppgaven er å undersøke effekten av ulikt treningsvolum (0, 3 og 6 sett) på muskelstyrke, muskelvekst og sammenhengen med mellom den tidlige akkumuleringen av total-RNA og muskelvekst hos utrente individer.

- 1) Styrketrening vil føre til en akkumulering av totalt-RNA, der 6 sett gir en større akkumulering enn 3 sett etter 3 uker av intervensjonen.
- 2) Akkumulering av totalt-RNA etter 3 uker av intervensjonen korrelerer med økning i *m. vastus lateralis* tykkelse ved 10 uker.
- 3) Seks sett vil føre til større grad av muskelvekst og muskelstyrke enn 3 sett etter 10 uker med styrketrening.

2. Introduksjon

Styrketrening har historisk sett blitt utøvd av idrettsutøvere for å forbedre fysisk prestasjonsevne, men har i nyere tid fått mer oppmerksomhet fra den allmenne befolkning, grunnet sin preventive effekt på en rekke faktorer assosiert med ulike livsstilssykdommer. Det er også vist at regelmessig styrketrening fører til muskelvekst, økt maksimal styrke, hurtigere kraftutvikling, økt ganghastighet, forbedret koordinasjon, balanse og kroppskomposisjon – i tillegg til økt hvilemetabolisme og beinmineralitet (Kraemer & Ratamess, 2004; Westcott, 2012). En viktig variabel innen styrketrening er styrketreningsvolum, og en justering av volumet kan oppnås ved å endre på antall øvelser per økt, antall repetisjoner per sett eller antall sett per øvelse (Ratamess et al., 2009). Denne manipulasjonen, sammen med intensitet, frekvens, hastighet for hver repetisjon, genetiske, epigenetiske og miljømessige faktorer vil ha innvirkning på tilpasningen vi får av styrketreningen (Kraemer et al., 2002; Morton et al., 2018; Ratamess et al., 2009; Seaborne et al., 2018; Timmons, 2011). Det er gjennomført en rekke studier som har sett på tilpasningene ved et lavt og moderat treningsvolum, allikevel er litteraturen sprikende (Cannon & Marino, 2010; Hammarstrom et al., 2019; Mitchell et al., 2012; Paulsen, Myklestad & Raastad, 2003; Radaelli et al., 2014; Ronnestad et al., 2007). I tillegg vet vi lite om hvilke cellulære mekanismer som er med å skape økt effekt ved et høyere volum (Hammarstrom et al., 2019). Noe av det som trolig bidrar til de sprikende funnene er bruken av parallelle grupper; en kontralateral protokoll kan være med å fjerne effekten av biologiske variasjoner og øke antallet sammenligninger, noe som i teoriene bedrer den statistiske styrken (MacInnis, McGlory, Gibala & Phillips, 2017).

Metaanalysene på feltet konkluderer med en trinnvis dose-responsammenheng der en gradvis økning i volum fører til større muskelvekst og muskelstyrke opp til et moderat treningsvolum (Krieger, 2009, 2010; Rhea et al., 2003; Schoenfeld et al., 2017). Det ser altså ut som styrketreningsvolum spiller en sentral rolle for muskelvekst og muskelstyrke opp til et visst nivå, uten at det er gjennomført tilstrekkelig med studier til å trekke en klar konklusjon angående et høyt treningsvolum. Denne sammenhengen er av interesse med bakgrunn i at tid blir nevnt som en begrensende faktor for fysisk aktivitet (Choi et al., 2017); det er dermed viktig å detektere hvilke volum som gir optimal effekt, samt er mest tidseffektivt.

De to faktorer som er med på å bestemme graden av proteinsyntese er translasjonskapasitet og translasjonseffektivitet (V. C. Figueiredo & McCarthy, 2019). Et høyere treningsvolum har blitt assosiert med større produksjon av ribosomer (Hammarstrom et al., 2019). rRNA er hovedkomponenten i total-RNA og det representerer ~ 85 % av det

cellulære innholdet (O'Neil et al., 2013; Sugden & Fuller, 1991; Warner, 1999). Det vil si at en endring i rRNA som et resultat av ribosomal biogenese vil føre til en økning i total-RNA, som er en proxy markør for ribosomalt innhold. En økning i ribosomer representerer en investering i nye anlegg, som gir mulighet for raskere vekst (Warner, 1999), altså økt translasjonskapasitet. Reidy et al. (2017) fant nylig korrelasjon mellom endring i basalhastigheten på proteinsyntesen og graden av muskelvekst, noe som tyder på at den treningsinduserte økningen i muskelproteinsyntesen er et resultat av økt translasjonskapasitet, snarere enn økt translasjonseffektivitet. Dette funnet får støtte i tidligere observasjoner som viser korrelasjon mellom total-RNA og muskelvekst etter en styrketreningsintervensjon (Brook et al., 2016; V. C. Figueiredo et al., 2015; Mobley et al., 2018; Reidy et al., 2017). Det ser også ut til at individuelle variasjoner spiller en viktig rolle: økningen i total-RNA ser ut til være høyere hos personer som defineres som høy-respondere i forhold til lav-respondere med tanke på muskelvekst (Hammarstrom et al., 2019; Mobley et al., 2018; Stec et al., 2016).

Etter 2 og 3 uker med styrketrening har det blitt funnet signifikant økning i total-RNA, mens det etter 6 og 12 uker tenderer til en normalisering uten å nå baselineverdier (Brook et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019). Nylig ble akkumuleringen av totalt-RNA de første to ukene foreslått som en determinant for regulering av dose-responssammenhengen mellom treningsvolum og muskelvekst på gruppenivå (Hammarstrom et al., 2019). I tillegg så det ut til at individene som hadde en fordelaktig respons av høyere volum var assosiert med økt ribosomal biogenese. Det ser altså ut som den tidlige økningen i total-RNA kan være med å determinere langtidsresponsen i styrke og masse. Hensikten med denne studien var å bygge videre på disse funnene og å se på effekten av ulike treningsvolum (3 vs 6 sett) på muskelstyrke, muskelvekst og akkumulering av total-RNA med et kontralateralt treningsdesign. Med bakgrunn i dette, var hypotesene: 1) Styrketrening vil lede til en akkumulering av total-RNA, der 6 sett leder til en større akkumulering enn 3 sett etter 3 uker av treningsintervensjonen; 2) Økningen i total-RNA etter 3 uker av intervensjonen vil korrelere med graden av muskelvekst ved 10 uker; 3) 6 sett vil lede til større grad av muskelvekst og muskelstyrke enn 3 sett etter 10 uker med styrketrening.

3. Materiell og metode

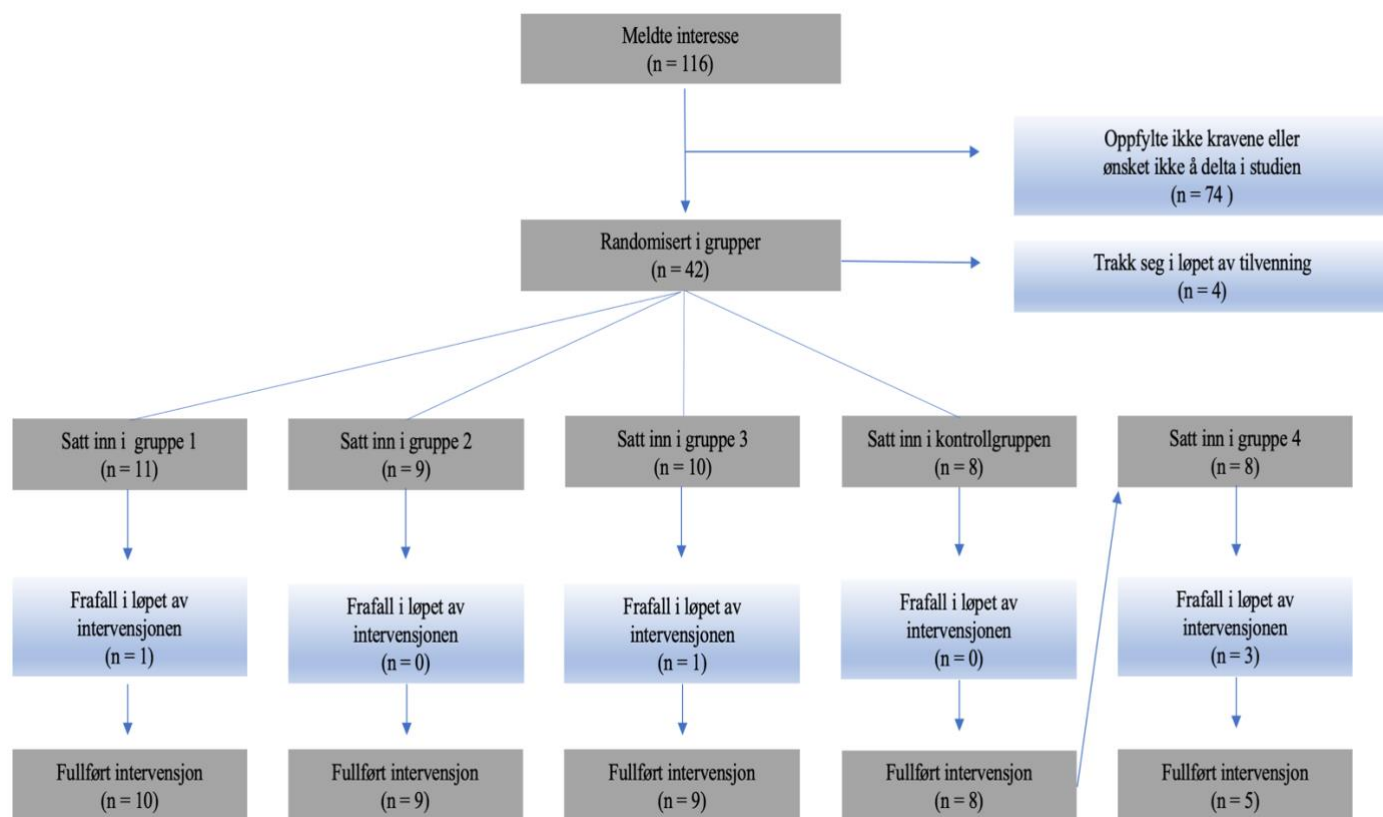
3.1 Deltagere

Totalt ble 46 friske, utrente menn og kvinner (alder, 24.9 ± 4 år; vekt, 77.8 ± 16 kg; høyde, $174,1 \pm 7.4$ cm) inkludert i studien, rekruttert gjennom sosiale medier, plakater og jungeltelegraf. Kriteriene var at deltagerne måtte være utrente, gjennomført maksimalt en styrkeøkt per 14 dag de siste 6 månedene og maksimalt 3 timer med utholdenhetstrening per uke de siste 6 månedene. I tillegg måtte de være ikke-røykere i aldersgruppen 18 til 35 år. I løpet av datainnsamlingen var det ni deltagere som ikke fullførte, hvorav årsakene var følgende: ikke tid ($n = 1$), smerte etter biopsi ($n = 1$), møtte aldri opp ($n = 1$), skade ikke relatert til studien ($n = 1$), personlige årsaker ($n = 2$) og nedstenging av treningsfasilitetene grunnet Covid-19 ($n = 3$) (Figur 2). Én deltager frastod fra DXA og ultralyd. Studien var godkjent av lokal etisk komite, registrert hos NSD og ble gjennomført i henhold til Helsinkideklarasjonen. Samtlige deltagere signerte et informert samtykkeskjema før deltagelse i studien (Vedlegg 1).

Tabell 1: Gruppekarakteristikk

	Gruppe 1 (n = 11)	Gruppe 2 (n = 9)	Gruppe 3 (n = 10)	Kontroll (n = 8)	Gruppe 4 (n = 5)
Alder (år)	23.1 (3.3)	25 (3.9)	25.1 (4.1)	26.1 (4.2) ^a	27.4 (4.2) ^a
Vekt (kg)	77.5 (14.2)	81.3 (25.3)	75 (15.6)	76.6 (9.5)	79.2 (10.6)
Fettprosent (kg)	34.9 (8.9)	38.6 (9.5)	36.7 (8.4)	33.1 (8.1)	36.3 (7.7)
Mager masse (kg)	48.2 (8.9)	46.5 (9.4)	45.1 (7.5)	49.1 (7.7)	48.6 (9.3)
Høyde (cm)	174.8 (7.5) ^b	173.3 (4.6)	170 (7.7)	177.7 (7.2) ^b	172.8 (3.3)

Verdier er gjennomsnitt \pm standardavvik. En Tukey post-hoc test ble brukt for å se på forskjellen mellom gruppene. ^a forskjell fra Gruppe 1, ^b forskjell fra Gruppe 3, $P = <0.05$.

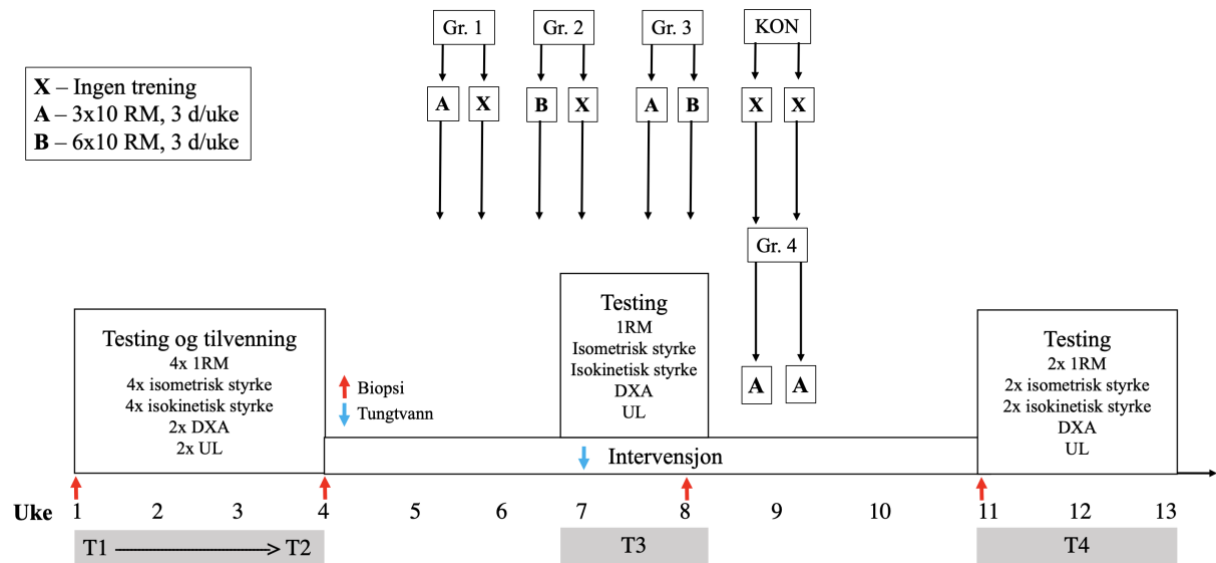


Figur 2. Flytskjema over inkludering til intervensjonen, grupperandomisering og antall deltagere som har falt fra eller fullført studien.

3.2 Eksperimentelt design

Deltagerne ble randomisert til fem ulike eksperimentelle grupper, fire treningsgrupper, gruppe 1 (G1, n = 11), gruppe 2 (G2, n = 9), gruppe 3 (G3, n = 10), gruppe 4 (G4, n = 5) og en negativ kontrollgruppe (KON, n = 8). Deltagerne som var med i kontrollgruppen gikk etter kontrollperioden over i G4, for gruppekarakteristikk, se Tabell 1. De eksperimentelle gruppene gjennomførte ni tilvenningsøkter de første tre ukene. Deretter var det en sju uker lang treningsintervensjon med styrketreningsøkter (STR) på tre ikke-påfølgende dager (typisk mandag, onsdag, fredag). KON-gruppen gjennomførte alle tester, men tok ikke del i styrketreningsintervensjonen og ble instruert til å leve som vanlig. De eksperimentelle gruppene gjennomførte unilateral styrketrening med ulikt volum på beinene i øvelsene beinpress og kneekstensjon (Figur 3). Ved å gjennomføre beinpress og kneekstensjon unilateralt kan vi undersøke effekten av ulikt volum innad i forsøkspersonen, i tillegg til å bruke det beinet som ikke trener som egen kontroll. Dette gjør det mulig å studere både inter- (mellom individer) og intra- (innad i individer) individuell variasjon. Biopsi fra begge bein ble tatt sammen med kroppssammensetningsmålinger (Dual-energy X-ray absorptiometry,

DXA; ultralyd UL) den første dagen (uke 1), i etterkant av tilvenning og pre-tester (uke 4), halvveis ut i intervensjonsperioden ble det tatt DXA, UL og biopsi (uke 8). Siden ble de tatt sammen igjen i etterkant av intervensjonsperioden (uke 11). 1RM, isometrisk og isokinetiske styrketester ble gjennomført fire ganger i forkant av intervensjonen (uke 1-4), midtveis (uke 7) og to ganger i etterkant av intervensjonsperioden (uke 11-13). For en oversikt over studieprotokollen, se (Figur 3).



Figur 3. Studieoversikt. G1, gruppe 1; G2, gruppe 2; G3, gruppe 3; KON, kontrollgruppe og G4, gruppe 4; DXA, Dual-energy X-ray absorptiometry; 1RM, en repetisjon maksimum; UL, ultralyd; 3d/uke, tre dager i uken; T1, baseline (uke 1); T2, test i etterkant av tilvenning (uke 4); T3, test midtveis i intervensjon (uke 7-8); T4, test i etterkant av intervensjon (uke 11-13). Boksene under G1, G2, G3, KON og G4 representerer treningsvolumet for hvert enkelt bein, dette ble randomisert med bakgrunn i dominant og ikke dominant bein.

3.3 Tilvenning og styrketreningsprotokoll

Tilvenningsøktene bestod av to oppvarmingssett og to serier av 10 repetisjoner (reps) for beinpress, to serier av 10 reps for kneekstensjon, mens det var et oppvarmingssett og to serier av 10 reps for benkpress og benketrekk. For underkroppen ble det kun gjennomført tilvenning av det beinet/de beina som skulle trenes under intervensjonsperioden.

I forkant av alle styrketreningsøktene gjennomførte forsøkspersonene en standardisert oppvarming som besto av fem minutter med lav intensitet på ergometersykkel.

Treningsprogrammet besto av unilateral beinpress og kneekstensjon i tillegg til overkroppspøvelsene benkpress og benketrekk. I forkant av beinpress, ble det gjennomført to oppvarmingssett av 10 reps, og for overkroppspøvelsen bestod oppvarmingen av ett sett av 10

reps. Underkroppsoøvelsene ble utført med 3 eller 6 serier, mens overkroppsoøvelsen inneholdt 3 serier. Alle seriene ble utført med en intensitet som tilsvarte 10 repetisjoner maksimum (RM) og med to minutter pause mellom hvert sett. Alle øvelsene ble gjennomført på en eksplosiv måte i den konsentriske fasen, mens den eksentriske fasen hadde en lavere hastighet. Beinpress og kneekstensjon ble gjennomført med ulikt antall sett både innad og mellom gruppene (Figur 2). Motstanden ble modifisert på en progressiv måte for å forsikre tilstrekkelig stimuli og alle økter ble overvåket av idrettsstudenter og ansatte fra idrettsseksjonen ved Høgskolen i Innlandet, avdeling Lillehammer.

3.4 Styrketester

Treningsintervensjonens effekt på muskelstyrke ble målt ved endring i isokinetisk og isometrisk styrke i tillegg til 1RM i beinpress, kneekstensjon, benkpress og benketrekk. Alle testene ble gjennomført på en unilateral måte, med standardiserte innstillinger for hver enkelt forsøksperson. I forkant av den første 1RM-testen gjennomførte deltagerne en tilvenningsøkt for å gjøre seg kjent med løfteteknikk og testprosedyre. Testen startet med 5 minutter lav intensitet på ergometersykkel i forkant av en spesifikk oppvarming som inneholdt 4 sett med gradvis økende vekt (50, 70, 80, 100% av forventet 1RM) og en gradvis reduksjon av antall repetisjoner (10 → 6 → 3 → 1). Dersom 1 RM-løftet var godkjent økte vekten med minimum 2,5 kg i beinpress, 1,25 kg kneekstensjon, 1 kg i benkpress og benketrekk. Deltagerne fikk 2 minutters pause mellom forsøkene og testen ble ikke avsluttet før deltagerne fikk ett løft underkjent på 2,5 kg i beinpress, 1,25 kg kneekstensjon, 1 kg i benkpress og benketrekk over siste vellykkete løft. Alle testene ble utført ved bruk av det samme utstyret og minimum 48 timer i etterkant av forrige tilvenning eller styrketreningsøkt.

Isokinetisk og isometrisk unilateral kneekstensjonsstyrke ble testet ved bruk av HUMAC Norm dynamometer (CSMi, Stoughton, Massachusetts, USA). Deltagerne ble satt i stolen og festet med 4-punkts sele, omdreiningssaksen og kneleddet ble plassert på linje med rotasjonsaksen til dynamometeret. Deretter ble låret festet fast med moderat kraft og beinet ble stroppet fast to fingre i overkant av ankelleddet. Alle innstillinger ble notert ved første test og brukt på alle etterfølgende tester. Maksimalt isokinetisk dreiemoment ble målt ved 60° sek-1 og 240° sek-1. Tre submaksimale forsøk ble brukt som tilvenning til hver vinkelhastighet, deretter fikk de tre forsøk umiddelbart etter hverandre. Deltagerne fikk 30 sekunder pause mellom de submaksimale forsøkene og testen, mens de fikk 60 sekunder pause mellom test og tilvenning til ny vinkelhastighet. Den høyeste verdien ved hver

vinkelhastighet ble brukt i analysen. Etter de isokinetiske testene ble isometrisk styrke testet og målt som maksimal voluntær kontraksjon (MVC) ved en knevinkel på 60°. Hver deltager fikk ett tilvenningsforsøk og to forsøk der de utøvde maksimal kraft i 3-4 sekunder med 60 sekunders hvile mellom hvert forsøk. Høyeste målte verdi ble brukt for videre analyser.

3.5 Kroppssammensetning

Kroppssammensetning, målt som mager masse (MM, kg) og fettmasse (FM, kg) ble målt ved hjelp av DXA (Prodigy Advance PA+302047, Lunar, San Francisco, CA, USA) i henhold til produsentens protokoll. M. vastus lateralis tykkelse (VLT) ble målt ved bruk av en B-Mode ultralyd med en 50-mm lineær matrise transduser (L12-5, Philips, Bothell, WA, USA), ultralydssystemet (HD11XE (Philips, Bothell, WA, USA) med programmet echo wave II (2.7.1, Lithuania). En vannløselig transmisjonsgel ble påført på en transduser og ble plassert vinkelrett på målepunktet som var 50% av distansen mellom leddspalten i kneleddet og trochanter major. Deltageren ble bedt om å stramme låret og målingen ble så tatt på de mest prominente delene av M. vastus lateralis (VL). Det ble tatt tre bilder ved hver test. Disse bildene ble analysert i etterkant av studien med en plugin fra imagej som tidligere beskrevet (Seynnes & Cronin, 2020). Ved første test ble målepunktet og andre kjennemerker (føflekker) merket på en plastmappe som lå over deltagerens VL. Denne plastmappen ble brukt for å finne tilbake til samme målepunkt ved de påfølgende testene. Dette for å sikre at målingene ble så reliable som mulig. Ultralyd har blitt vist å være en reliabel og valid målemetode for muskelarkitektur (Kwah, Pinto, Diong & Herbert, 2013).

Deltagerne ble bedt om å unngå trening de siste 48 timene i forkant av testene, i tillegg til å ikke innta næring de siste 12 timene. Det ble også tatt urinprøve av morgenuinen for å sjekke hydreringsstatus i forkant av DXA-skannen.

3.6 Muskelprøvetakning og prosessering

Muskelbiopsiene ble tatt bilateralt fra VL, ved bruk av lokal bedøvelse (Lidokain 3ml, Mylan Hospital A/S, Oslo, Norway) under antiseptiske forhold. Det ble brukt en veletablert mikrobiopsi-teknikk (Hayot et al., 2005) for det invasive inngrepet. Her ble det brukt en fjærbelastet biopsipistol (Bard Magnum, Bard Medical, New Jersey, USA), montert med en 12 g nål (Universal Plus, Mermaid Medical A/S, Stenløse, Denmark). Alle deltagerne tok prøvene på morgenen etter minimum 12 timer faste og 48 timer uten trening eller intensiv fysisk aktivitet.

Prøver ble tatt i løpet av 20 minutter fra begge bein for alle deltagerne. Den første biopsien ble tatt på et område $\sim 1/3$ av femurs lengde, relatert til det distale slutt punktet i kneet. Påfølgende biopsier ble tatt 1-2 cm proksimalt for den forrige prøven. Muskelbiopsien til RNA (~ 10 mg vev) ble umiddelbart vasket i en iskald steril saltvannsløsning (NaCl 0,9%) før blod, eventuelt bindevev og fett ble dissekert bort. Prøver for immunohistokjemi ble overført til en 4% formalinløsning for 24 timers fiksering, før videre behandling. Prøver for protein og RNA analyser ble fryst i -80 °C isopentane og lagret i ultrafryser -80 °C for videre analyser.

3.7 Homogenisering og fase separering

Mens prøvene lå på is ble en spatel med 0,5 mm RNase fri (Next Advanced, Averill Park, NY, USA) og 300 μ l TRIzol reagent (Invitrogen, Life technologies AS, Oslo, Norway) tilsatt til hver prøve. Deretter ble hver prøve homogenisert i en bullet blender (BB) (Next Advanced, Averill Park, NY, USA) i 1 minutt med 10 i hastighet, før den ble satt tilbake på is i 1 min og deretter 1 min på hastighet 12. Dersom prøven ikke var fullstendig homogenisert ble de spunnet en ekstra runde i bullet blenderen i 1 min ved hastighet 12 før ytterligere inspeksjon. 700 μ l TRIzol ble tilsatt prøvene for å gi et totalt volum på 1000 μ l. Deretter ble prøvene ristet i 1 min etterfulgt av 5 min inkubering ved romtemperatur. Videre ble 200 μ l kloroform (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) tilsatt prøvene, ristet i 15 sekunder, før nye 2-3 min inkubering ved romtemperatur. Prøvene ble så spunnet i Heraeus™ Fresco™ 21 Microcentrifuge (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) ved 1200g i 15 min ved 4 °C – dette separerte rørrinnholdet i tre faser (vandig, inter og organisk fase). Deretter ble 450 μ l av den øvre vandige fasen overført til et nytt rør uten å forstyrre hverken interfasen eller den organiske fasen. I det nye røret ble det tilsatt 500 μ l isopropanol (VWR International, Pennsylvania, USA) for å påskynde fellingen av RNA. Før RNA-ekstraksjon ble prøvene inkubert i 10 min ved romtemperatur. Interfasen og den organiske fasen ble lagret ved -20 °C før videre prosessering (proteinekstraksjon).

3.8 Total-RNA ekstraksjon

Her ble isopropanol/vandigefasen fra TRIzol-ekstraksjonen spunnet ved 12000g i 10 min ved 4 °C, noe som formet en pellet som inneholdt RNA. Deretter ble RNA-pelleten vasket med 1000 μ l 75% etanol (-20 °C) og sentrifugert ved 7500g i 5 min ved 4 °C. Denne prosessen ble gjennomført to ganger, før etanolen ble fjernet og pelleten ble lufttørket i 10

min (eller inntil væsken var fordampet), med røret snudd på hodet. RNA-pelleten ble så eluert i 30 μ l TE buffer og inkubert ved 55 °C i 10 min, før det til slutt ble laget en 1:3 fortykning med 8 μ l TE buffer og 4 μ l av RNA-fortynningen. RNA-mengde og -renhet ble evaluert ved bruk av spectrophotometer, og alle prøvene hadde en 260 til 280 ratio >1.95 . RNA ble lagret ved – 80 °C inntil videre behandling.

3.9 Dataanalyser og statistikk

All rådata ble importert og analysert i R (R Core Team, 2018). Videre ble alle beina sammenfattet til tre grupper (sett 0, sett 3 og sett 6) med bakgrunn i antall sett de gjennomførte. Alle deskriptive data er presentert som gjennomsnitt \pm standardavvik dersom annet ikke er opplyst. En Welch's t-test ble brukt for å spesifisere signifikante forskjeller mellom treningsvolum og tilstedeværelse.

I analysen av styrketestene er den høyeste verdien av de fire første testene brukt som baseline, før de videre er samlet og normalisert. Det vil si at alle fikk ett tall mellom 0 og 1, noe som gir alle øvelsene like stor betydning og gir mulighet for en samlet analyse. For å måle effekten av ulikt volum for muskelvekst og muskelstyrke ble det brukt en ancova-modell spesifisert med relative endringer som den avhengige variabelen, spesifisert med tid og tid til treningsvolum-interaksjon som den fikserte effekten. Gjennomsnittssentrert baseline og kjønn ble brukt som kovariater (Senn, 2006). For å måle effekten av treningen på total-RNA ble den samme modellen brukt, men her var det kun gjennomsnittssentrert baseline som ble brukt som kovariat. Alle modellene ble spesifisert med tilfeldige skjæringspunkt for forsøkspersonene, noe som tillater at hver enkelt forsøksperson får sitt eget skjæringspunkt. Når det var nødvendig ble det også inkludert forskjellig residual varians per gruppe og egne tilfeldig skjæringspunkt for hvert enkelt bein. Alle modellene inneholdt altså gjennomsnittssentrert baseline som en kovariat; dette for å korrigere for regresjon mot gjennomsnittseffekten det vil si at de som måler en veldig høy verdi ved pre-test vil bli forskjøvet nedover og målinger av veldig lave verdier blir skjøvet oppover. For å finne modellen som passet best ble det brukt en sannsynlighetskvotetest. Deretter ble det laget to plott med avviket mellom modellen og våre verdier, altså residualene. Disse ble visuelt undersøkt for å se om dataen var normalfordelt og homoskedastisk. Dersom det ble oppdaget avvik i dataen ble den logtransformert og koblet sammen på nytt.

Tester mot nullhypotesen, altså ingen forskjell mellom volum og ingen effekt av tid ble utført på grunnlag av estimerte resultater fra ancovaene ved hjelp av summary og intervals funksjonene.

Korrelasjonsanalysene ble gjennomført ved hjelp av spearman's korrelasjonskoeffesient. Grensen for statistisk signifikant ble satt som $\alpha = 0.05$.

4. Resultat

Gruppe 4 og kontrollgruppen hadde signifikant høyere alder enn gruppe 1. I tillegg var gruppe 3 lavere enn gruppe 1 og kontrollgruppen, uten forskjell i noen av de andre gruppene (Tabell 1). Tilstedeværelsen under treningsintervensjonen var 21.0 ± 0.2 økter for 3 sett og 20.8 ± 0.5 økter for 6 sett uten forskjell mellom gruppene (95% konfidensintervall (KI): [-0.13 – 0.40]). Gjennomsnittlig treningsvolum per økt under tilvenning var 2489 ± 249 kg for 3 sett og 2095 ± 226 kg for 6 sett (mellom gruppene, [254 – 535]) og 4994 ± 333 kg for 3 sett og 8684 ± 807 kg for 6 sett i løpet av treningsintervensjonen, henholdsvis (mellom gruppene, [-3932 – 3447]).

Tabell 2 viser baseline verdiene for alle hovedvariablene for 0, 3 og 6 sett gruppene. Det ble ikke foretatt statistiske analyser for forskjeller ved baseline med bakgrunn i at disse er tatt med som en kovariat i modellene, noe som kontrollerer for eventuelle forskjeller ved baseline. De gjennomsnittlige endringene innen alle hovedvariablene for alle gruppene er presentert i Tabell V1 (Supplerende informasjon).

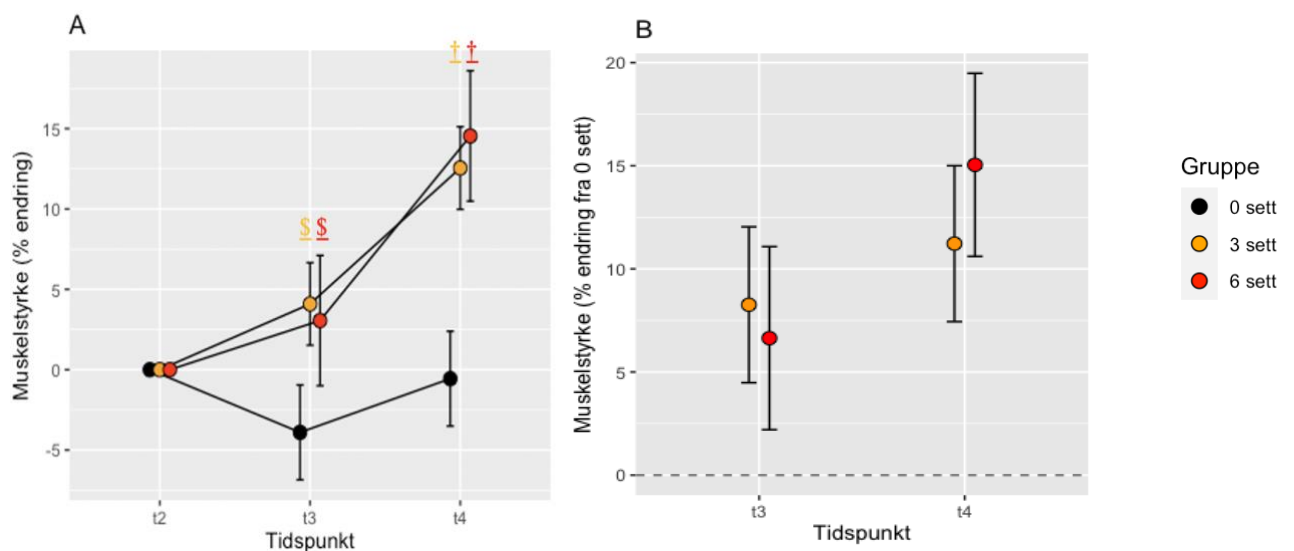
Tabell 2: Deskriptiv statistikk for hovedvariablene ved baseline.

Variabler	Sett 0	Sett 3	Sett 6
Kneekstensjon (kg)	30.3 (10.1)	32.3 (11)	27.5 (8.4)
Isokinetisk Kneekstensjon 60° sec⁻¹ (Nm)	181.9 (49.2)	182.4 (48.3)	167.6 (49.2)

Isokinetisk Kneekstensjon 240° sec⁻¹ (Nm)	98.2 (32.8)	101.1 (31.0)	89.8 (30.2)
Isometrisk kneekstensjon (Nm)	248.5 (59.3)	252.6 (67.8)	231.5 (60.3)
Vastus lateralis tykkelse (VLT:cm)	2.0 (0.5)	2.2 (0.4)	2.1 (0.5)
Total-RNA per vevsvekt (ng x mg⁻¹)	446.3 (43.9)	471.2 (116.9)	454.4 (94.2)

Data er gjennomsnitt ± standardavvik. N, muskelstyrke (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), vastus lateralis tykkelse (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), total-RNA (sett 0, n = 35; sett 3, n = 32; sett 6, n = 20).

Styrketreningsintervensjonen førte til en økning i muskelstyrke for 3 og 6 sett gruppen ved T3 ($P < 0.05$, figur 3A) og T4 ($P < 0.001$, figur 3A), uten at det oppstod noen endring i 0 sett gruppen ($P > 0.05$, figur 3A). Dette resulterte i en større økning for begge treningsgruppene i forhold til 0 sett gruppen ved T3 og T4 ($P < 0.001$, figur 3B), uten forskjell mellom treningsgruppene ved noen av tidspunktene ($P > 0.05$, figur 3B).

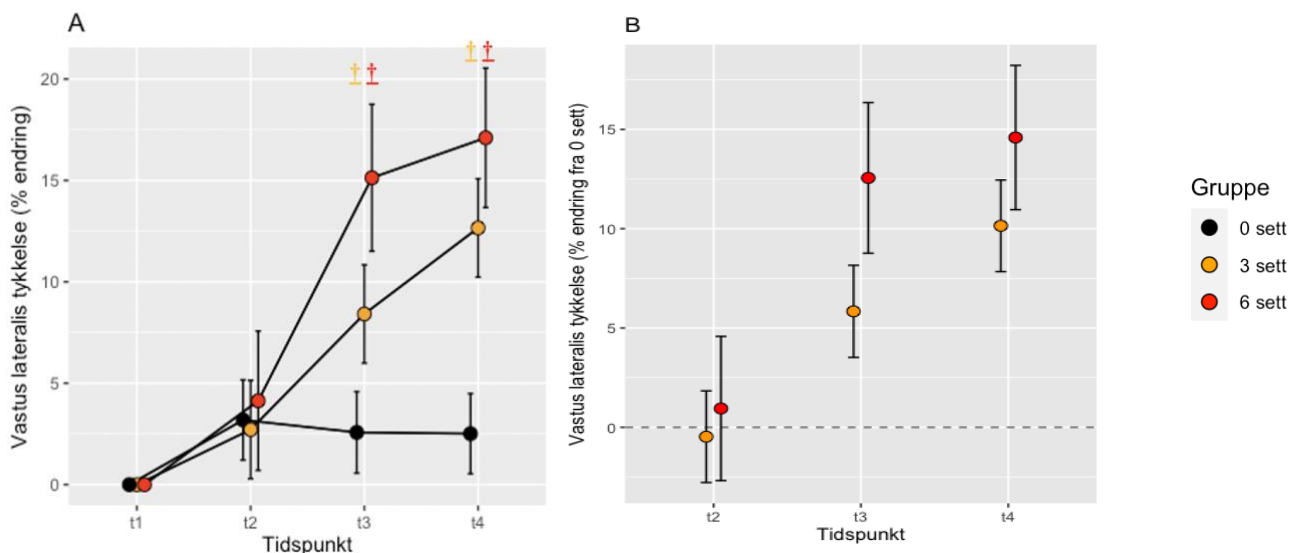


Figur 3. Volumavhengig effekt på muskelstyrke

(A) Relativ endring i muskelstyrke. (B) Relativ forskjell i gjennomsnittlig endring i muskelstyrke for henholdsvis 3 og 6 i forhold til 0 sett (0 sett er representert av den stiplede linjen). T2 representerer baseline med bakgrunn i at kun den høyeste verdien av de 4 pre-testene er tatt med i analysen (uke 1-4), T3 er midtveis ut i intervensjonen (uke 7) og T4 er i etterkant av intervensjonen (11-12 uker). Gjennomsnittsverdien (sirklene) er

estimerte gjennomsnitt \pm 95% konfidensintervall. N, muskelstyrke, T2, T3 og T4 (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18). Forskjell fra T1 representert av \$, P < 0.01; †, P < 0.001. 3 sett = \$ og †; 6 sett = \$ og †.

Det var ingen betydelig økning i VLT for 0 sett (T1:0.05 \pm 0.10; T2:0.03 \pm 0.15; T3: 0.05 \pm 0.08 cm, P > 0.05, figur 4A), mens treningsgruppene økte henholdsvis (3 sett: 0.16 \pm 0.16; 6 sett: 0.27 \pm 0.23 cm, P < 0.001 begge grupper) ved T3 og (3 sett: 0.26 \pm 0.15, 6 sett: 0.32 \pm 0.17 cm, P < 0.001 begge grupper) ved T4 (Figur 4A). Dette resulterer i forskjell mellom treningsgruppene opp imot 0 sett gruppen både ved T3 og T4 (P < 0.001 begge grupper, figur 4B), i tillegg til forskjell mellom treningsgruppene i favør av 6 sett både ved T3 og T4 (henholdsvis, P = 0.001 og 0.025, figur 4B). Det var ingen forskjell mellom gruppene ved T2 (P > 0.05, figur 4B).

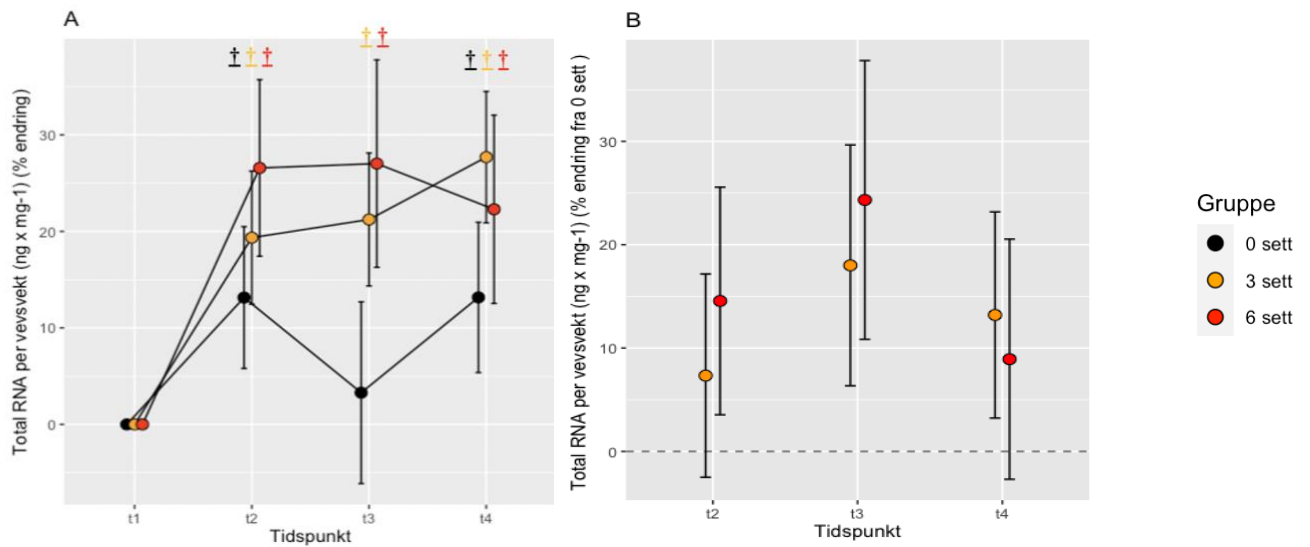


Figur 4. Volumavhengig.

(A) Relativ endring i vastus lateralis tykkelse. (B) Relativ forskjell i gjennomsnittlig endring i vastus lateralis tykkelse for henholdsvis 3 og 6 i forhold til 0 sett (0 sett er representert av den stiplede linjen). T1 representerer baseline, T2 er testen i etterkant av tilvenning (4 uker), T3 er midtveis ut i intervensjonen (uke 7) og T4 er i etterkant av intervensjonen (uke 11). Gjennomsnittsverdien (sirklene) er estimerte gjennomsnitt \pm 95% konfidensintervall. Vastus lateralis tykkelse T1, T2, T4 (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), T3 (sett 0, n = 31; sett 3, n = 29; sett 6, n = 16). † representerer forskjell fra T1, P < 0.001. 3 sett = †; 6 sett = †.

Det oppstod en akkumulering av total-RNA for alle gruppene allerede ved T2 (0 sett: 59.4 \pm 99.7; 3 sett: 72.1 \pm 86.3; 6 sett: 104.0 \pm 135 ng, P < 0.001 alle grupper, figur 5A), deretter holder økningen seg relativt stabilt ved T3 (3 sett: 74.1 \pm 124.0; 6 sett: 116.0 \pm 105.0 ng) og T4 (3 sett: 90.7 \pm 127.0; 6 sett: 89.8 \pm 103.0 ng) for begge treningsgruppene (T3 og T4: P < 0.001 begge grupper, figur 5A), mens 0 sett gruppen får en nedgang til T3 (-43.3 \pm

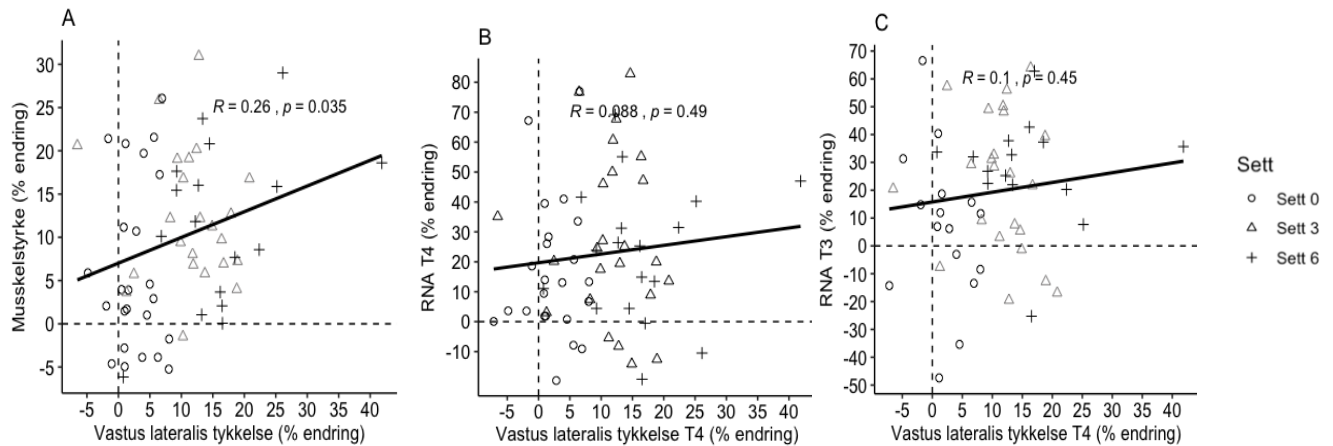
91.2, $P > 0.05$, figur 5A) før det øker igjen ved T4 (49.1 ± 109.0 , $P < 0.001$, figur 5A). Opp imot 0 sett oppsto det en høyere akkumulering i 6 sett gruppen ved T2 ($P < 0.01$, figur 5B), i favør av begge treningsgruppene ved T3 (3 sett: $P < 0.05$; 6 sett: $P < 0.01$, figur 5B) og i favør av 3 sett gruppen ved T4 ($P < 0.01$, figur 5B).



Figur 5. Volumavhengig effekt på total-RNA.

(A) Relativ endring i total-RNA. (B) Relativ forskjell i gjennomsnittlig endring i total-RNA for henholdsvis 3 og 6 i forhold til 0 sett (0 sett er representert av den stiplede linjen). T1 representerer baseline, T2 er testen i etterkant av tilvenning (4 uker), T3 er midtveis ut i intervensjonen (uke 7) og T4 er i etterkant av intervensjonen (uke 11). Gjennomsnittsverdien (sirklene) er estimerte gjennomsnitt \pm 95% konfidensintervall. Total-RNA T1 (sett 0, $n = 35$; sett 3, $n = 32$; sett 6, $n = 20$), T2 (sett 0, $n = 36$; sett 3, $n = 28$; sett 6, $n = 20$), T3 (sett 0, $n = 19$; sett 3, $n = 28$; sett 6, $n = 15$) og T4 (sett 0, $n = 32$; sett 3, $n = 29$; sett 6, $n = 18$). † representerer forskjell fra T1, $P < 0.001$. 0 sett = †; 3 sett = †; 6 sett = †.

Prosentvis endring i muskelstyrke i det samlede datasettet korrelerte med prosentvis endring VLT i etterkant av styrketreningsintervensjonen (Figur 6A). Vi fant ingen korrelasjon mellom prosentvis endring i total-RNA ved T3 og T4 mot VLT på T4 (Figur 6B og C).



Figur 6. Korrelasjonsanalyser

Korrelasjon mellom prosent endring i A) muskelstyrke og m. vastus lateralis tykkelse ved T4, B) total-RNA per mg vevsvekt og vastus lateralis tykkelse ved T4, C) total-RNA ved T3 og m. vastus lateralis tykkelse etter ved T4. representert av den stiplede linjen. T3 er midtveis ut i intervensjonen (uke 7) og T4 er i etterkant av intervensjonen (uke 11-12). N, figur A (Sett 3, n = 23, Sett 0, n = 24, Sett 6, n = 17), B (Sett 3, n = 24, Sett 0, n = 26, Sett 6, n = 18), C (Sett 3, n = 23, Sett 0, n = 16, Sett 6, n = 15).

5. Diskusjon

Målet med studien var å undersøke om ulike styrketreningsvolum ville lede til ulik økning i muskelstyrke, muskelvekst og akkumulering av total-RNA gjennom 7 uker med styrketrening hos utrente individer. Hovedfunnene i studien var: 1) Muskelstyrke økte mer med 3 og 6 sett enn 0 sett, men det var ingen forskjell mellom 3 og 6 sett; 2) Det var en volumeffekt for VLT hvor 6 sett ga størst vekst og begge treningsgrupper økte mer enn 0 sett; 3) Akkumuleringen av total-RNA var større med 3 og 6 sett enn 0 sett ved T3, uten forskjeller mellom 3 og 6 sett.

Våre resultater viser at 7 uker med høyt og moderat styrketreningsvolum fører til en robust treningseffekt i muskelstyrke for både 3 og 6 sett gruppen. De metaanalysene som har sett på dose-responssammenheng mellom volum og muskelstyrke finner følgende: sammenhengten blir svakere jo høyere volumet blir, og det ser ut som det oppstår ett plata ved 4-6 sett (Krieger, 2009; Rhea et al., 2003). Disse observasjonene samsvarer med våre resultater som ikke finner forskjeller mellom 3 og 6 sett i etterkant av intervensjonsperioden. Allikevel ser vi at et høyt treingsvolum ser ut til å føre til en gradvis større økning også i muskelstyrke i forhold til et moderat volum (henholdsvis, ~0,5 % og ~5,3 %) ved T3 og T4. Denne gradvise økningen i forskjell mellom volum stemmer overens med studien til Ronnestad et al. (2007) som ser en gradvis endring i favør av høyere volum med signifikante forskjeller først etter 12 uker. Den lange tilvenningsperioden og antallet tester gjennomført i

den presenterte studien gjør det plausibelt å tro at brorparten av de nevrale adaptasjonene forekommer i denne perioden (Hakkinen et al., 1998) og at vi finner ett mer riktig styrkeresultat med bakgrunn i antallet styrketester gjennomført (Ritti-Dias, Avelar, Salvador & Cyrino, 2011). Det kan dermed tenkes at vår studieprotokoll fører til at muskelmasse har en større betydning for endringen vi finner i muskelmasse og at intervensjonen ikke er lang nok til å detektere forskjellen mellom volumene i muskelstyrke.

I henhold til vår hypotese observerte vi en fordel av å gjennomføre 6 sett i forhold til 3 når det gjelder VLT ved både T3 og T4. Dette er i tråd med de metaanalysene som har sett på sammenhengen mellom volum og muskelvekst; de finner en dose-responsammenheng mellom volum og muskelvekst, men med en lavere respons per sett som blir gjennomført (Krieger, 2010; Schoenfeld et al., 2017). Krieger (2010) antyder at det kan oppstå et platå ved 4-6 sett per økt uten at han har ett tilstrekkelig grunnlag for å trekke en definitiv konklusjon. Våre resultater står i kontrast til denne antagelsen, uten at det er mulig å trekke noen slutninger angående om det oppstår ett platå mellom 4-5 og 6 sett per øvelse eller mellom 18 og 36 sett per muskelgruppe per uke. En annen interessant observasjon er økningen i VLT for 3 og 6 sett gruppene tidlig i intervensjonsperioden opp imot forskjellen i etterkant. Ved T3 ser vi ~ 6.7 % forskjell i muskeltykkelse i favør av 6 sett gruppen, mens ved T4 reduseres denne forskjellen til ~ 4.3 %. Med bakgrunn i den foreslåtte muskelsvelling de første ukene av med styrketrening (Damas, Phillips, Lixandrão, et al., 2016) kan det tenkes at den store forskjellen ved T3 kan skyldes muskelsvelling grunnet volumøkningen som 6 sett gjennomfører i etterkant av tilvenningen og at forskjellen ved T4 er den reelle forskjellen mellom volumene.

Vår studie bidrar med ytterligere informasjon i debatten angående sammenhengen mellom muskelstyrke og muskelvekst (Balshaw et al., 2019; Buckner et al., 2016; Dankel et al., 2018; Loenneke et al., 2019; Taber et al., 2019). Vi observerer en korrelasjon mellom muskelstyrke og muskelvekst, noe som samsvarer med tidligere observasjoner (Ahtiainen et al., 2016; Erskine, Fletcher & Folland, 2014) som viser en svak korrelasjon mellom muskelstyrke og muskelvekst. Det er mulig at tilvenning og antallet styrketester gjennomført de 3 første ukene ikke er tilstrekkelig for å fjerne effekten av de nevrale adaptasjonene. Observasjoner viser at styrke er den mest dominerende faktoren de første ukene av treningsintervensjonen (Seynnes et al., 2007), før muskelvekst får en enda mer fremtredende rolle etterhvert (Balshaw et al., 2019). Dette viser viktigheten av å ta de nevrale faktorene med i beregningen når man ser på sammenhengen mellom muskelstyrke og muskelvekst.

Økningen vi observerer i total-RNA for 3 og 6 sett gruppen i etterkant av intervensjonen samsvarer med tidligere studier som viser signifikant økning i total-RNA etter en styrketreningsintervensjon (Brook et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Mobley et al., 2018; Reidy et al., 2017; Stec et al., 2016), uten at det tidligere er undersøkt på et så stort volum som 6 sett. Det som er overaskende er økningen til 0 sett gruppen i etterkant av intervensjonsperioden, noe som er vanskelig å forklare. Flere studier har vist korrelasjon mellom økning i total-RNA og muskelvekst i etterkant av en styrketreningsintervensjon (V. C. Figueiredo et al., 2015; Mobley et al., 2018; Stec et al., 2016); dette står i kontrast til våre resultater som ikke finner noen korrelasjon (Figur 6B). Årsaken til dette er utfordrende å fastslå: det kan tenkes at det er vanskelig å sammenligne våre resultater opp imot andre med bakgrunn i ulikt volum og intervensjon, i tillegg til ulik alder (Stec et al., 2016) og treningsstatus (V. C. Figueiredo et al., 2015). Det skal også nevnes at Mobley et al. (2018) finner at total-RNA kun forklarer ~ 8% av endringen i VLT, noe som antyder at total-RNA ikke er en så sterk prediktor for muskelvekst. Dette kan være årsaken til at vi heller ikke observerer forskjell mellom 3 og 6 sett gruppen i etterkant av intervensjonen. Det kan også spekuleres i at det oppstår et tak i akkumuleringen av total-RNA mellom 3 og 6 sett, selv om dette ikke er undersøkt tidligere og trenger mer forskning for å bli verifisert.

En annen årsak til den svake linken mellom det ribosomale innholdet og økning i muskelmasse i etterkant av styrketreningsintervensjoner kan være at total-RNA ikke øker progressivt med treningsvolumet. Tidligere studier har observert en akkumulering av total-RNA etter to og tre uker ut i styrketreningsintervensjonen (Brook et al., 2016; Hammarstrom et al., 2019), før det oppstår en gradvis utflating med fortsatt forhøyde verdier etter både 6 (Brook et al., 2015) og 12 uker (Hammarstrom et al., 2019; Mobley et al., 2018; Reidy et al., 2017). Studien til Hammarstrom et al. (2019) fant signifikant forskjell i favør av tre i forhold til ett sett i akkumulering av total-RNA etter to uker og foreslo at denne tidlige akkumuleringen kunne regulere dose-responsammenhengen mellom treningsvolum og muskelvekst på gruppenivå. En forklaring på at vi ikke finner den samme forskjellen mellom de ulike volumene er den lange tilvenningsperioden; deltagerne oppnår altså den tidlige akkumuleringen i tilvenningsperioden fra baseline til T2, der 3 og 6 sett gruppen trener likt. Dersom vi ser på den gjennomsnittlige økningen for 3 og 6 sett opp imot 0 sett finner vi ~ 8.3 % forskjell mellom gruppene, noe som samsvarer med resultatene til Hammarstrom et al. (2019) som finner 8.8 % forskjell mellom 1 og 3 sett etter 2 uker. Dette gir oss en pekepinn på at den tidlige akkumuleringen av total-RNA oppstår i løpet av de 2-3 første ukene av en

treningsintervensjon. Det er dermed plausibelt å anta at volumøkningen som forekommer mellom T2 og T3 ikke vil gi like store utslag, og at akkumuleringen kan bli undergravd av utflatingen som tidligere er observert etter 6 og 12 uker (Brook et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019). Nettopp dette viser også resultatene: 3 og 6 sett holder seg relativt stabile mellom T2 og T3, mens vi observerer en kraftig nedgang i 0 sett som ikke lenger gjennomfører noen form for testing. Det er også viktig å ta med i betraktning at 6 sett gruppen gjennomfører mye høyere treningsvolum enn i de tidligere studiene. Vi har dermed ikke et godt sammenligningsgrunnlag med tanke på endring i total-RNA, men det kan være rimelig å anta at forskjellen mellom 3 og 6 sett er lavere enn 1 og 3 sett dersom dose-responskurven er sammenlignbar med den vi observerer for muskelvekst. Vi ser i så fall på forskjeller på en mye flatere del av kurven. I tillegg blir det observert store individuelle variasjoner i både våre data og dataen i tidligere studier (V. C. Figueiredo et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Stec et al., 2016) noe som kan tyde på at det er vanskelig å detektere mindre endringer på gruppenivå. I den sammenheng er det viktig å ta med at Hammarstrom et al. (2019) gjennomførte et kontralateralt design der man kan undersøke forskjellen innad i hvert enkelt individ, noe som fører til en mye sterkere statistisk analyse.

Et generelt problem når man sammenligner resultater fra ulike studier, både når det gjelder muskelstyrke, muskelvekst og total-RNA, er variabiliteten i de ulike protokollene. Det er rimelig å anta at resultatene man finner vil bli påvirket av intensitet, volum, pauselengde, antall sett, valg av øvelser, hastigheten på repetisjonene og treningsfrekvens – i tillegg til tidspunkt for biopsier, målemetoder, genetiske, epigenetiske og miljømessige faktorer. Dette vil si at våre resultater kun er valide dersom protokollen blir gjennomført på en identisk måte, og det samme gjelder også sammenligninger med andre studier.

Svakheter og styrker ved studien

En svakhet med studien er at det ikke ble foretatt kostholdsregistrering. Tidligere studier har funnet at en økning i rDNA transkripsjon, en viktig del av den ribosomale biogenesen, blir påvirket av proteininntaket (V. C. Figueiredo et al., 2018), noe som også tidligere har vist seg å kunne se ut til påvirke treningsresponsen (Morton et al., 2018). I tillegg er det foreslått at dersom proteinmålet er nådd, er det totale energiinntaket en viktig faktor for økning i fettfri masse (Rozenek, Ward, Long & Garhammer, 2002). Vi kan dermed ikke avdekke disse faktorenes påvirkning på resultatene. En annen faktor som kan ha påvirket resultatene er størrelsen og variasjonen på muskelbiopsiene (~10 mg, 2.9 – 22.9 mg); disse var mindre enn

de som ble brukt i foregående studien (Brook et al., 2015; V. C. Figueiredo et al., 2015; Hammarstrom et al., 2019; Reidy et al., 2017) og dette kan ha påvirket resultatet selv om analysene er gjennomført på total-RNA per vevsvekt. Det som er problemet med veldig små vevsprøver er at RNA-pelleten tørker veldig fort, noe som kan føre til at den blir overtørket og vanskelig å oppløse.

En spesielt stor styrke ved studien er det kontralaterale designet, dette er med på å fjerne store deler av den biologiske variasjoner, øke antallet sammenligninger noe som i teoriene bedrer den statistiske styrken (MacInnis et al., 2017) – dette fører til at svakheten ved at det ikke ble foretatt kostholdsregistrering får mindre betydning. I tillegg er tilvenningsperioden og den hyppige testingen også styrkende.

Praktisk tilnærming og videre forskning

Til tross for enkelte svakheter viser vår studie at styrketrening med 6 sett samlet sett er bedre enn 3. Allikevel er det viktig å ta med i betraktningen at alle som fikk knesmerter trente 6 sett og de forholdsvis små fordelene med et dobbelt treningsvolum må vurderes opp mot skaderisiko, tidsbruk og total treningsbelastning. Det trengs mer forskning som ser på effekten av ulike treningsvolum, især høyere volum, i ulike populasjoner.

6. Konklusjon

Den presenterte studien viser en klar treningseffekt for muskelstyrke, uten forskjell mellom 3 og 6 sett. Det var en tydelig trenings- og volumeffekt for muskelvekst hvor 6 sett resulterte i større økning enn 3 sett. Dette sammenfalt ikke med økningen i total-RNA som ikke viste forskjell mellom 3 og 6 sett. Samvariasjonen mellom muskelstyrke og vekst var lav, tilsvarende tidligere studier. Vi observerte ingen korrelasjon mellom endring i muskelvekst og total-RNA.

Supplerende informasjon

Tabell V1. Prosent endring fra baseline i m. vastus lateralis tykkelse, muskelstyrke og total-RNA. (Vedlegg 2)

Referanseliste

- Ahtiainen, J. P., Walker, S., Peltonen, H., Holviala, J., Sillanpää, E., Karavirta, L., ... Häkkinen, K. (2016). Heterogeneity in resistance training-induced muscle strength and mass responses in men and women of different ages. *Age (Dordr)*, 38(1), 10. <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9870-1>
- Balshaw, T. G., Massey, G. J., Maden-Wilkinson, T. M., Lanza, M. B. & Folland, J. P. (2019). Neural adaptations after 4 years vs 12 weeks of resistance training vs untrained. *Scand J Med Sci Sports*, 29(3), 348-359. <https://doi.org/10.1111/sms.13331>
- Baroni, B. M., Geremia, J. M., Rodrigues, R., De Azevedo Franke, R., Karamanidis, K. & Vaz, M. A. (2013). Muscle architecture adaptations to knee extensor eccentric training: rectus femoris vs. vastus lateralis. *Muscle Nerve*, 48(4), 498-506. <https://doi.org/10.1002/mus.23785>
- Boisvert, F. M., van Koningsbruggen, S., Navascues, J. & Lamond, A. I. (2007). The multifunctional nucleolus. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8(7), 574-585. <https://doi.org/10.1038/nrm2184>
- Brook, M. S., Wilkinson, D. J., Mitchell, W. K., Lund, J. N., Phillips, B. E., Szewczyk, N. J., ... Atherton, P. J. (2016). Synchronous deficits in cumulative muscle protein synthesis and ribosomal biogenesis underlie age-related anabolic resistance to exercise in humans. *J Physiol*, 594(24), 7399-7417. <https://doi.org/10.1113/jp272857>
- Brook, M. S., Wilkinson, D. J., Mitchell, W. K., Lund, J. N., Szewczyk, N. J., Greenhaff, P. L., ... Atherton, P. J. (2015). Skeletal muscle hypertrophy adaptations predominate in the early stages of resistance exercise training, matching deuterium oxide-derived measures of muscle protein synthesis and mechanistic target of rapamycin complex 1 signaling. *Faseb j*, 29(11), 4485-4496. <https://doi.org/10.1096/fj.15-273755>
- Buckner, S. L., Dankel, S. J., Mattocks, K. T., Jessee, M. B., Mouser, J. G., Counts, B. R. & Loenneke, J. P. (2016). The problem Of muscle hypertrophy: Revisited. *Muscle Nerve*, 54(6), 1012-1014. <https://doi.org/10.1002/mus.25420>
- Cannon, J. & Marino, F. E. (2010). Early-phase neuromuscular adaptations to high- and low-volume resistance training in untrained young and older women. *J Sports Sci*, 28(14), 1505-1514. <https://doi.org/10.1080/02640414.2010.517544>
- Chaillou, T., Kirby, T. J. & McCarthy, J. J. (2014). Ribosome biogenesis: emerging evidence for a central role in the regulation of skeletal muscle mass. *J Cell Physiol*, 229(11), 1584-1594. <https://doi.org/10.1002/jcp.24604>

- Choi, J., Lee, M., Lee, J. K., Kang, D. & Choi, J. Y. (2017). Correlates associated with participation in physical activity among adults: a systematic review of reviews and update. *BMC Public Health*, 17(1), 356. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4255-2>
- Ciganda, M. & Williams, N. (2011). Eukaryotic 5S rRNA biogenesis. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2(4), 523-533. <https://doi.org/10.1002/wrna.74>
- Damas, F., Phillips, S., Vechin, F. C. & Ugrinowitsch, C. (2015). A review of resistance training-induced changes in skeletal muscle protein synthesis and their contribution to hypertrophy. *Sports Med*, 45(6), 801-807. <https://doi.org/10.1007/s40279-015-0320-0>
- Damas, F., Phillips, S. M., Libardi, C. A., Vechin, F. C., Lixandrao, M. E., Jannig, P. R., ... Ugrinowitsch, C. (2016). Resistance training-induced changes in integrated myofibrillar protein synthesis are related to hypertrophy only after attenuation of muscle damage. *J Physiol*, 594(18), 5209-5222. <https://doi.org/10.1113/jp272472>
- Damas, F., Phillips, S. M., Lixandrão, M. E., Vechin, F. C., Libardi, C. A., Roschel, H., ... Ugrinowitsch, C. (2016). Early resistance training-induced increases in muscle cross-sectional area are concomitant with edema-induced muscle swelling. *Eur J Appl Physiol*, 116(1), 49-56. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3243-4>
- Dankel, S. J., Buckner, S. L., Jessee, M. B., Grant Mouser, J., Mattocks, K. T., Abe, T. & Loenneke, J. P. (2018). Correlations Do Not Show Cause and Effect: Not Even for Changes in Muscle Size and Strength. *Sports Med*, 48(1), 1-6. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0774-3>
- Dankel, S. J., Counts, B. R., Barnett, B. E., Buckner, S. L., Abe, T. & Loenneke, J. P. (2017). Muscle adaptations following 21 consecutive days of strength test familiarization compared with traditional training. *Muscle Nerve*, 56(2), 307-314. <https://doi.org/10.1002/mus.25488>
- de la Cruz, J., Karbstein, K. & Woolford, J. L., Jr. (2015). Functions of ribosomal proteins in assembly of eukaryotic ribosomes in vivo. *Annu Rev Biochem*, 84, 93-129. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-033917>
- DeFreitas, J. M., Beck, T. W., Stock, M. S., Dillon, M. A. & Kasishke, P. R., 2nd. (2011). An examination of the time course of training-induced skeletal muscle hypertrophy. *Eur J Appl Physiol*, 111(11), 2785-2790. <https://doi.org/10.1007/s00421-011-1905-4>
- Drygin, D., Rice, W. G. & Grummt, I. (2010). The RNA polymerase I transcription machinery: an emerging target for the treatment of cancer. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 50, 131-156. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.010909.105844>

- Erskine, R. M., Fletcher, G. & Folland, J. P. (2014). The contribution of muscle hypertrophy to strength changes following resistance training. *Eur J Appl Physiol*, 114(6), 1239-1249. <https://doi.org/10.1007/s00421-014-2855-4>
- Figueiredo, V. C., Caldw, M. K., Massie, V., Markworth, J. F., Cameron-Smith, D. & Blazeovich, A. J. (2015). Ribosome biogenesis adaptation in resistance training-induced human skeletal muscle hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 309(1), E72-83. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00050.2015>
- Figueiredo, V. C. & McCarthy, J. J. (2017). The role of ribosome biogenesis in skeletal muscle hypertrophy. I *The Plasticity of Skeletal Muscle* (s. 141-153). Springer.
- Figueiredo, V. C. & McCarthy, J. J. (2019). Regulation of Ribosome Biogenesis in Skeletal Muscle Hypertrophy. *Physiology (Bethesda)*, 34(1), 30-42. <https://doi.org/10.1152/physiol.00034.2018>
- Figueiredo, V. C., Roberts, L. A., Markworth, J. F., Barnett, M. P., Coombes, J. S., Raastad, T., ... Cameron-Smith, D. (2016). Impact of resistance exercise on ribosome biogenesis is acutely regulated by post-exercise recovery strategies. *Physiol Rep*, 4(2). <https://doi.org/10.14814/phy2.12670>
- Figueiredo, V. C., Zeng, N., D'Souza, R. F., Markworth, J. F., Della Gatta, P. A., Petersen, A., ... Cameron-Smith, D. (2018). High dose of whey protein after resistance exercise promotes 45 S preribosomal RNA synthesis in older men. *Nutrition*, 50, 105-107. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.11.018>
- Fyfe, J. J., Bishop, D. J., Bartlett, J. D., Hanson, E. D., Anderson, M. J., Garnham, A. P. & Stepto, N. K. (2018). Enhanced skeletal muscle ribosome biogenesis, yet attenuated mTORC1 and ribosome biogenesis-related signalling, following short-term concurrent versus single-mode resistance training. *Sci Rep*, 8(1), 560. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-18887-6>
- Grummt, I. (2003). Life on a planet of its own: regulation of RNA polymerase I transcription in the nucleolus. *Genes Dev*, 17(14), 1691-1702. <https://doi.org/10.1101/gad.1098503R>
- Hakkinen, K., Newton, R. U., Gordon, S. E., McCormick, M., Volek, J. S., Nindl, B. C., ... Kraemer, W. J. (1998). Changes in muscle morphology, electromyographic activity, and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 53(6), B415-423. <https://doi.org/10.1093/gerona/53a.6.b415>

- Hammarstrom, D., Ofsteng, S., Koll, L., Hanestadhaugen, M., Hollan, I., Apro, W., ... Ellefsen, S. (2019). Benefits of higher resistance-training volume are related to ribosome biogenesis. *J Physiol*. <https://doi.org/10.1113/jp278455>
- Henras, A. K., Plisson-Chastang, C., O'Donohue, M. F., Chakraborty, A. & Gleizes, P. E. (2015). An overview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 6(2), 225-242. <https://doi.org/10.1002/wrna.1269>
- Iadevaia, V., Liu, R. & Proud, C. G. (2014). mTORC1 signaling controls multiple steps in ribosome biogenesis. *Semin Cell Dev Biol*, 36, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2014.08.004>
- Khatter, H., Myasnikov, A. G., Natchiar, S. K. & Klaholz, B. P. (2015). Structure of the human 80S ribosome. *Nature*, 520(7549), 640-645. <https://doi.org/10.1038/nature14427>
- Kimball, S. R., Farrell, P. A. & Jefferson, L. S. (2002). Invited Review: Role of insulin in translational control of protein synthesis in skeletal muscle by amino acids or exercise. *J Appl Physiol (1985)*, 93(3), 1168-1180. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00221.2002>
- Kraemer, W. J., Adams, K., Cafarelli, E., Dudley, G. A., Dooly, C., Feigenbaum, M. S., ... Triplett-McBride, T. (2002). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc*, 34(2), 364-380. <https://doi.org/10.1097/00005768-200202000-00027>
- Kraemer, W. J. & Ratamess, N. A. (2004). Fundamentals of resistance training: progression and exercise prescription. *Med Sci Sports Exerc*, 36(4), 674-688. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000121945.36635.61>
- Krieger, J. W. (2009). Single versus multiple sets of resistance exercise: a meta-regression. *J Strength Cond Res*, 23(6), 1890-1901. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181b370be>
- Krieger, J. W. (2010). Single vs. multiple sets of resistance exercise for muscle hypertrophy: a meta-analysis. *J Strength Cond Res*, 24(4), 1150-1159. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d4d436>
- Kwah, L. K., Pinto, R. Z., Diong, J. & Herbert, R. D. (2013). Reliability and validity of ultrasound measurements of muscle fascicle length and pennation in humans: a systematic review. *J Appl Physiol (1985)*, 114(6), 761-769. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01430.2011>

- Loenneke, J. P., Dankel, S. J., Bell, Z. W., Buckner, S. L., Mattocks, K. T., Jessee, M. B. & Abe, T. (2019). Is muscle growth a mechanism for increasing strength? *Med Hypotheses*, 125, 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.02.030>
- MacInnis, M. J., McGlory, C., Gibala, M. J. & Phillips, S. M. (2017). Investigating human skeletal muscle physiology with unilateral exercise models: when one limb is more powerful than two. *Appl Physiol Nutr Metab*, 42(6), 563-570. <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0645>
- Mayer, C. & Grummt, I. (2006). Ribosome biogenesis and cell growth: mTOR coordinates transcription by all three classes of nuclear RNA polymerases. *Oncogene*, 25(48), 6384-6391. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209883>
- Millward, D. J., Garlick, P. J., James, W. P., Nnanyelugo, D. O. & Ryatt, J. S. (1973). Relationship between protein synthesis and RNA content in skeletal muscle. *Nature*, 241(5386), 204-205.
- Mitchell, C. J., Churchward-Venne, T. A., West, D. W., Burd, N. A., Breen, L., Baker, S. K. & Phillips, S. M. (2012). Resistance exercise load does not determine training-mediated hypertrophic gains in young men. *J Appl Physiol (1985)*, 113(1), 71-77. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00307.2012>
- Mobley, C. B., Haun, C. T., Roberson, P. A., Mumford, P. W., Kephart, W. C., Romero, M. A., ... Roberts, M. D. (2018). Biomarkers associated with low, moderate, and high vastus lateralis muscle hypertrophy following 12 weeks of resistance training. *PLoS One*, 13(4), e0195203. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195203>
- Morton, R. W., Murphy, K. T., McKellar, S. R., Schoenfeld, B. J., Henselmans, M., Helms, E., ... Phillips, S. M. (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. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2017-097608>
- Moss, T., Langlois, F., Gagnon-Kugler, T. & Stefanovsky, V. (2007). A housekeeper with power of attorney: the rRNA genes in ribosome biogenesis. *Cell Mol Life Sci*, 64(1), 29-49. <https://doi.org/10.1007/s00018-006-6278-1>
- Nader, G. A., von Walden, F., Liu, C., Lindvall, J., Gutmann, L., Pistilli, E. E. & Gordon, P. M. (2014). Resistance exercise training modulates acute gene expression during human skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol (1985)*, 116(6), 693-702. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01366.2013>

- O'Neil, D., Glowatz, H. & Schlumpberger, M. (2013). Ribosomal RNA depletion for efficient use of RNA-seq capacity. *Curr Protoc Mol Biol, Chapter 4*, Unit 4.19.
<https://doi.org/10.1002/0471142727.mb0419s103>
- Panov, K. I., Friedrich, J. K. & Zomerdijk, J. C. (2001). A step subsequent to preinitiation complex assembly at the ribosomal RNA gene promoter is rate limiting for human RNA polymerase I-dependent transcription. *Mol Cell Biol, 21*(8), 2641-2649.
<https://doi.org/10.1128/mcb.21.8.2641-2649.2001>
- Paul, A. C. & Rosenthal, N. (2002). Different modes of hypertrophy in skeletal muscle fibers. *J Cell Biol, 156*(4), 751-760. <https://doi.org/10.1083/jcb.200105147>
- Paulsen, G., Myklestad, D. & Raastad, T. (2003). The influence of volume of exercise on early adaptations to strength training. *J Strength Cond Res, 17*(1), 115-120.
[https://doi.org/10.1519/1533-4287\(2003\)017<0115:tiovoe>2.0.co;2](https://doi.org/10.1519/1533-4287(2003)017<0115:tiovoe>2.0.co;2)
- Phillips, S. M. (2000). Short-term training: when do repeated bouts of resistance exercise become training? *Can J Appl Physiol, 25*(3), 185-193.
- Phillips, S. M. (2014). A brief review of critical processes in exercise-induced muscular hypertrophy. *Sports Med, 44 Suppl 1*, S71-77. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0152-3>
- Phillips, S. M., Tipton, K. D., Aarsland, A., Wolf, S. E. & Wolfe, R. R. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *Am J Physiol, 273*(1 Pt 1), E99-107. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1997.273.1.E99>
- Radaelli, R., Botton, C. E., Wilhelm, E. N., Bottaro, M., Brown, L. E., Lacerda, F., ... Pinto, R. S. (2014). Time course of low- and high-volume strength training on neuromuscular adaptations and muscle quality in older women. *Age (Dordr), 36*(2), 881-892. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9611-2>
- Ratamess et al. (2009). American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. *Med Sci Sports Exerc, 41*(3), 687-708.
<https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181915670>
- Reidy, P. T., Borack, M. S., Markofski, M. M., Dickinson, J. M., Fry, C. S., Deer, R. R., ... Rasmussen, B. B. (2017). Post-absorptive muscle protein turnover affects resistance training hypertrophy. *Eur J Appl Physiol, 117*(5), 853-866.
<https://doi.org/10.1007/s00421-017-3566-4>

- Rhea, M. R., Alvar, B. A., Burkett, L. N. & Ball, S. D. (2003). A meta-analysis to determine the dose response for strength development. *Med Sci Sports Exerc*, 35(3), 456-464. <https://doi.org/10.1249/01.Mss.0000053727.63505.D4>
- Ribeiro, A. S., Schoenfeld, B. J., Pina, F. L. C., Souza, M. F., Nascimento, M. A., dos Santos, L., ... Cyrino, E. S. (2015). *Resistance training in older women: Comparison of single vs. multiple sets on muscle strength and body composition*. [Amsterdam] :.
- Ritti-Dias, R. M., Avelar, A., Salvador, E. P. & Cyrino, E. S. (2011). Influence of previous experience on resistance training on reliability of one-repetition maximum test. *J Strength Cond Res*, 25(5), 1418-1422. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d67c4b>
- Rønnestad, B. R., Egeland, W., Kvamme, N. H., Refsnes, P. E., Kadi, F. & Raastad, T. (2007). Dissimilar effects of one- and three-set strength training on strength and muscle mass gains in upper and lower body in untrained subjects. *J Strength Cond Res*, 21(1), 157-163. <https://doi.org/10.1519/00124278-200702000-00028>
- Rozenek, R., Ward, P., Long, S. & Garhammer, J. (2002). Effects of high-calorie supplements on body composition and muscular strength following resistance training. *J Sports Med Phys Fitness*, 42(3), 340-347.
- Rutherford, O. M. & Jones, D. A. (1986). The role of learning and coordination in strength training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 55(1), 100-105. <https://doi.org/10.1007/bf00422902>
- Sale, D. G. (1988). Neural adaptation to resistance training. *Med Sci Sports Exerc*, 20(5 Suppl), S135-145. <https://doi.org/10.1249/00005768-198810001-00009>
- Schoenfeld, B. J. (2010). The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *J Strength Cond Res*, 24(10), 2857-2872. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181e840f3>
- Schoenfeld, B. J., Ogborn, D. & Krieger, J. W. (2017). Dose-response relationship between weekly resistance training volume and increases in muscle mass: A systematic review and meta-analysis. *J Sports Sci*, 35(11), 1073-1082. <https://doi.org/10.1080/02640414.2016.1210197>
- Seaborne, R. A., Strauss, J., Cocks, M., Shepherd, S., O'Brien, T. D., van Someren, K. A., ... Sharples, A. P. (2018). Human Skeletal Muscle Possesses an Epigenetic Memory of Hypertrophy. *Sci Rep*, 8(1), 1898. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20287-3>
- Senn, S. (2006). Change from baseline and analysis of covariance revisited. *Stat Med*, 25(24), 4334-4344. <https://doi.org/10.1002/sim.2682>

- Seynnes, O. R. & Cronin, N. J. (2020). Simple Muscle Architecture Analysis (SMA): An ImageJ macro tool to automate measurements in B-mode ultrasound scans. *PLoS One*, *15*(2), e0229034. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229034>
- Seynnes, O. R., de Boer, M. & Narici, M. V. (2007). Early skeletal muscle hypertrophy and architectural changes in response to high-intensity resistance training. *J Appl Physiol* (1985), *102*(1), 368-373. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00789.2006>
- Stec, M. J., Kelly, N. A., Many, G. M., Windham, S. T., Tuggle, S. C. & Bamman, M. M. (2016). Ribosome biogenesis may augment resistance training-induced myofiber hypertrophy and is required for myotube growth in vitro. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, *310*(8), E652-e661. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00486.2015>
- Stec, M. J., Mayhew, D. L. & Bamman, M. M. (2015). The effects of age and resistance loading on skeletal muscle ribosome biogenesis. *J Appl Physiol* (1985), *119*(8), 851-857. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00489.2015>
- Sugden, P. H. & Fuller, S. J. (1991). Regulation of protein turnover in skeletal and cardiac muscle. *Biochem J*, *273*(Pt 1), 21-37. <https://doi.org/10.1042/bj2730021>
- Taber, C. B., Vigotsky, A., Nuckols, G. & Haun, C. T. (2019). Exercise-Induced Myofibrillar Hypertrophy is a Contributory Cause of Gains in Muscle Strength. *Sports Med*, *49*(7), 993-997. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01107-8>
- Timmons, J. A. (2011). Variability in training-induced skeletal muscle adaptation. *J Appl Physiol* (1985), *110*(3), 846-853. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00934.2010>
- Toigo, M. & Boutellier, U. (2006). New fundamental resistance exercise determinants of molecular and cellular muscle adaptations. *Eur J Appl Physiol*, *97*(6), 643-663. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0238-1>
- Vannini, A. & Cramer, P. (2012). Conservation between the RNA polymerase I, II, and III transcription initiation machineries. *Mol Cell*, *45*(4), 439-446. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.01.023>
- Warner, J. R. (1999). The economics of ribosome biosynthesis in yeast. *Trends Biochem Sci*, *24*(11), 437-440. [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(99\)01460-7](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(99)01460-7)
- West, D. W., Baehr, L. M., Marcotte, G. R., Chason, C. M., Tolento, L., Gomes, A. V., ... Baar, K. (2016). Acute resistance exercise activates rapamycin-sensitive and -insensitive mechanisms that control translational activity and capacity in skeletal muscle. *J Physiol*, *594*(2), 453-468. <https://doi.org/10.1113/jp271365>

Westcott, W. L. (2012). Resistance training is medicine: effects of strength training on health.
Curr Sports Med Rep, 11(4), 209-216.
<https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31825dabb8>

Vedlegg

Vedlegg 1 – Vil du delta i forskningsprosjektet

”ContraTRAIN – en valideringsstudie av kontralaterale treningsdesign”?

Dette er et spørsmål til deg om å delta i et forskningsprosjekt hvor formålet er å skaffe ny kunnskap om hvordan vi kan optimalisere designet på treningsstudier for å best mulig kunne undersøke effekten av trening. I dette skrivet gir vi deg informasjon om målene for prosjektet og hva deltakelse vil innebære for deg.

Formål

Fysisk aktivitet har en rekke positive effekter på menneskekroppens funksjoner og er et av våre viktigste virkemidler for å fremme folkehelsen. Ikke nok med at det gir forebygging av livsstilssykdommer som for eksempel hjerte-karsykdom, respiratoriske sykdommer og metabolske sykdommer, det gir også styrke og utholdenhet til å beherske dagliglivets utfordringer. For å forstå mekanismene bak de positive effektene av fysisk aktivitet er gode studiedesign helt sentrale. Vi ønsker i denne studien å øke kunnskapen om anvendelse av kontralaterale treningsprotokoller: trening av ett bein om gangen, med ulik type trening på de to beina.

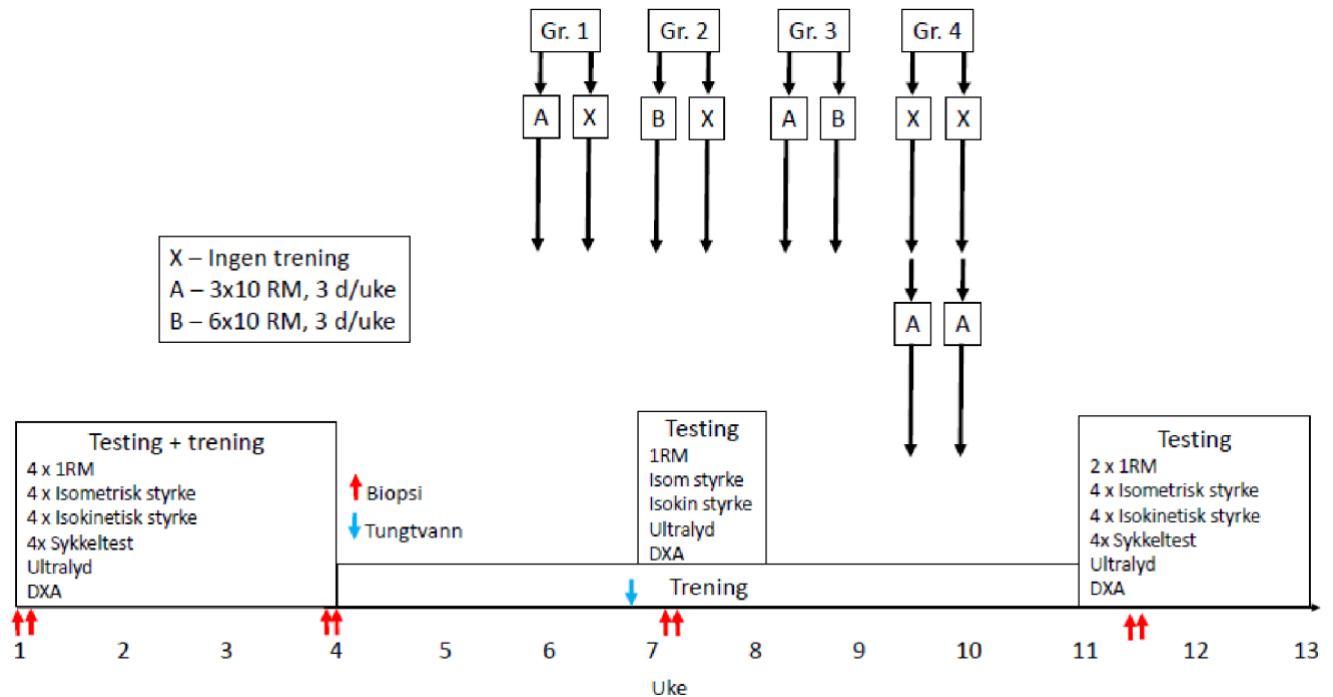
Vanligvis sammenlignes to ulike treningsprotokoller ved at de utføres av to ulike grupper individer. Ulike individer responderer imidlertid ulikt på trening. I slike studier ser vi derfor stor variasjon i treningsresponser. Denne variasjonen gjør det vanskelig å sammenligne effektene av treningsprotokollene. Den vanligste måten å løse denne utfordringen på er å inkludere mange forsøkspersoner. I denne studien skal vi imidlertid se på hvordan vi kan gjøre sammenligningen innad i ett individ. Når samme individ gjennomfører begge treningsprotokoller forsvinner mye av variasjonen. Dette reduserer behovet for antall forsøkspersoner og styrker studiene betraktelig.

I denne studien skal vi anvende et kontralateralt studiedesign for å studere hvordan muskelstyrke, muskelvekst og relaterte cellulære mekanismer påvirkes av ulikt treningsvolum. Samtidig skal vi kartlegge hvordan slike studiedesign kan brukes i videre forskning. Økt forståelse for unilateral trening og individuelle responsmønstre vil være viktig for å utvikle individuelt tilpassede treningsprogrammer og derigjennom øke effekten av trening for den enkelte.

Dette skal undersøkes ved å studere effektene av de to treningsprotokollene på muskelstyrke, muskelmasse, samt cellebiologiske trekk som for eksempel cellers form og utseende, arvematerialets sammensetning (inkludert DNA-sekvens og epigenetisk modifisering), proteinsyntese (ved hjelp av deuterium), proteinforekomst og -funksjon, RNA-uttrykk i beinmuskulatur til tidligere utrente individer. Vi skal også undersøke hvordan muskulaturens og blodets sammensetning forut for treningsperioden påvirker treningseffektene.

Deltakerne skal deles inn i fire grupper som skal trene som skissert i figur 1. Avhengig av hvilken gruppe du trekkes til, vil du trene ett eller begge bein i en periode på 11 uker. Du vil også trene overkroppsmuskulaturen (på ordinær måte: to armer). Treningsprogrammet vil gjennomføres som 3 eller 6 sett med styrketrening for hver øvelse, med 10 repetisjoner maksimum i hvert sett. Totalt vil studien vare i ca 13 uker. De tre første ukene i studien vil være en kombinasjon av tilvenning til trening og testing. Fra uke 4 til 11 gjennomføres

treningsintervensjonen. Testbatteriet gjentas midtveis i treningsintervensjonen (uke 7) og etter avsluttet trening (i uke 11-12). Figur 1 viser tidsplanen for studien. Gruppe 4 vil i første halvdel gjennomføre testing på samme måte som de andre gruppene, men uten trening. Etter at de andre gruppene er ferdig med sin trening gjennomfører gruppe 4 sin treningsperiode, med tilhørende testing. Studien vil derfor ha en varighet på 26 uker for deltakere i gruppe 4. Figur 1



Deltakere må møte for testing og trening tre ganger i uken gjennom hele studien, med unntak av gruppe 4 som i sin første periode bare må møte til testing. Deltakere i grupper som bare trener ett bein vil få tilbud om å trene en ny periode med begge bein etter intervensjonen. All trening og testing vil foregå under veiledning på Høgskolen i Innlandet, Campus Lillehammer. Studien er et forskningsprosjekt som involverer både master- og bachelorstudenter som vil skrive sine oppgaver basert på resultatene. *Detaljert informasjon om innhold og tidsforløp vil bli gitt i informasjonsmøte hvor det og vil være mulig å stille spørsmål.*

Hvem er ansvarlig for forskningsprosjektet?

Høgskolen Innlandet er ansvarlig for prosjektet og Håvard Hamarsland er prosjektansvarlig.

Hvorfor får du spørsmål om å delta?

Du får dette informasjonsskrivet fordi du har vist interesse for å delta i forskningsprosjektet ContraTRAIN og oppfyller inklusjonskriteriene:

- Mellom 18 og 35 år
- Utrent (ikke har trent systematisk styrketrening mer enn to ganger per måned og ikke har trent utholdenhetstrening mer enn 3 timer per uke det sist halvåret)
- Ikke røyke
- Ikke være på medisiner som kan påvirke tilpasning til trening
- Ikke ha skader i muskel eller skjelett som hindrer deltagelse i tung styrketrening

Hva innebærer det for deg å delta?

Deltakere trekkes til 4 ulike grupper som skal trene ulike kombinasjoner av tung styrketrening på bein og overkropp (se figur 1). Deltakerne i tre av gruppene må over 13 uker møte 3 ganger per uke på Høgskolen Innlandet Campus Lillehammer for testing og trening. Deltakere i den fjerde gruppen vil først fungere som en kontrollgruppe som gjennomfører testing, men ikke trening. Etter perioden som kontrollgruppe gjennomfører også denne gruppen en treningsintervensjon med testing. For denne gruppen vil intervensjonen være 26 uker. All testing og trening vil foregå under veiledning.

Testingen vil involvere:

- Blodprøve før og etter treningsperioden.
- Måling av kroppssammensetning ved DXA. Denne testen gjennomføres fastende på morgenen før, midtveis og etter treningsperioden.
- Måling av tykkelsen av lårmuskulaturen med ultralyd.
- Maksimale styrketester i beinpress, kneekstensjon, benkpress og sittende roing, før og etter treningsperioden.
- Statisk styrke i kneekstensjon (MVC) og isokinetiske tester før, midtveis og etter treningsperioden.
- Sykkeltest med ettbeinssykling.
- Vevsprøver tatt ved mikrobiopsier. Totalt vil det tas 4 mikrobiopsier fra hvert bein for deltakere i tre av gruppene, mens det i den fjerde gruppen (kontrollgruppen) vil tas 7 mikrobiopsier fra hvert bein. Noen synes vevsprøvetaking er ubehagelig. Man vil typisk bli litt støl i muskelen 1-2 dager i etterkant. I svært få tilfeller vil biopsitaking kunne føre til at følelsen i huden forsvinner for en lengre periode, eller gi tydelig arrdannelse. Biopsitaking er også forbundet med en viss infeksjonsfare. Risikoen for disse komplikasjonene er svært liten ved bruk av prosedyrene som benyttes i dette prosjektet. Du vil få klare instruksjoner om hvordan du skal behandle såret i etterkant av prøvetagningen.
- For å kunne måle hvor raskt nye proteiner bygges inn i muskulaturen må du i uke 7 av prosjektet innta en dose tungtvann. Det er ingen kjente helsekonsekvenser ved inntak av de dosene som anvendes i studien, men lett svimmelhet kan forekomme. For å unngå dette vil dosen fordeles over flere inntak og du vil følges opp av testpersonalet i perioden hvor svimmelhet kan inntreffe.

Det er frivillig å delta

Det er frivillig å delta i prosjektet. Hvis du velger å delta, kan du når som helst trekke samtykke tilbake uten å oppgi noen grunn. Alle opplysninger om deg vil da bli anonymisert. Det vil ikke ha noen negative konsekvenser for deg hvis du ikke vil delta eller senere velger å trekke deg.

Ditt personvern – hvordan vi oppbevarer og bruker dine opplysninger

Vi vil bare bruke opplysningene om deg til formålene vi har fortalt om i dette skrivet. Vi behandler opplysningene konfidensielt og i samsvar med personvernregelverket.

Det er bare studenter og forskere involvert i studien som vil ha tilgang til resultatene dine. Resultatene dine vil bli lagret digitalt på en sikker forskningsserver og eventuelt i papirformat innelåst i en safe. I disse dokumentene vil ditt navn og dine kontaktopplysninger erstattes med en kode. Kodenøkkelen som binder ditt navn til resultatene vil være innelåst i en safe, adskilt fra øvrige data. Dine data vil ikke kunne gjenkjennes i de vitenskapelige publikasjonene som vil publiseres.

Hva skjer med opplysningene dine når vi avslutter forskningsprosjektet?

Prosjektet skal etter planen avsluttes 31.12.2023. Etter at studien er avsluttet vil testresultater og innsamlet biologisk materiale innlemmes i en biobank (se eget delkapittel om biobank) og destruert innen 31.12.2038. Det vil ikke være mulig å spore dine resultater eller prøver tilbake til deg fra denne biobanken. Dataene i biobanken vil danne grunnlaget for doktorgrader og vitenskapelige publikasjoner.

Biobank

Alle blod- og vevsprøver, samt øvrig informasjon som innhentes i prosjektet, inklusiv informasjon som blir utledet fra det biologiske materialet, vil bli lagret i kodet tilstand i en forskningsbiobank tilknyttet prosjektet og vil etterhvert bli overført til den generelle biobanken «The TrainOME – humane cellers tilpasning til trening og miljø» (REK-id: 213483), situert ved Høgskolen i Innlandet/Sykehuset Innlandet. TrainOME-prosjektet er igangsatt for å avdekke sammenhenger mellom individers tilpasningsevne til trening, også kalt trenbarhet, og kroppslige/cellulære særtrekk. Gjennom den generelle biobanken skal prøvene analyseres sammen med prøver fra en rekke andre prosjekter, hvor den overordnede målsettingen er å studere faktorer som er bestemmende for generell trenbarhet. Dette innebærer generell analyse av cellebiologiske og genetiske trekk som for eksempel cellers form og utseende, arvematerialets sammensetning (inkludert DNA-sekvens og epigenetisk modifisering), proteinsyntese, proteinforekomst og -funksjon, RNA-uttrykk og -regulering, hormonforekomst, kroppens indre miljø (metabolomet), og mange flere mål. Det biologiske materialet vil bli anonymisert innen 31.12.2038, hvorpå det vil bli destruert innen fem år. Forskningsdata som har blitt utledet av materialet vil deretter bli oppbevart i anonymisert tilstand på sikker server på ubestemt tid, sammen med øvrige data innhentet i prosjektet. Professor Stian Ellefsen er hovedansvarshavende for forskningsbiobanken.

Dine rettigheter

Så lenge du kan identifiseres i datamaterialet, har du rett til:

- Innsyn i hvilke personopplysninger som er registrert om deg
- Å få rettet personopplysninger om deg
- Få slettet personopplysninger om deg
- Få utlevert en kopi av dine personopplysninger (dataportabilitet)
- Å sende klage til personvernombudet eller Datatilsynet om behandlingen av dine personopplysninger.

Hva gir oss rett til å behandle personopplysninger om deg?

Vi behandler opplysninger om deg basert på ditt samtykke.

På oppdrag fra Høgskolen Innlandet har NSD – Norsk senter for forskningsdata AS vurdert at behandlingen av personopplysninger i dette prosjektet er i samsvar med personvernregelverket.

Hvor kan jeg finne ut mer?

Hvis du har spørsmål til studien, eller ønsker å benytte deg av dine rettigheter, ta kontakt med:

- Høgskolen Innlandet ved Håvard Hamarsland (tlf: 93445916, epost: havard.hamarsland@inn.no, eller Stian Ellefsen (tlf: 61288103, epost: stian.ellefsen@inn.no)
- NSD – Personvernombudet, på epost (personvernombudet@nsd.no) eller telefon: 55 58 21 17.
- Vår lokale kontaktperson for personvern i forskning: Anne Sofie Lofthus, forskningsrådgiver, Høgskolen i Innlandet, anne.lofthus@inn.no, telefon: 61288277 .

Med vennlig hilsen

Håvard Hamarsland
Prosjektansvarlig

Stian Ellefsen
(Hovedansvarshavende Biobank)

Samtykkeerklæring ContraTRAIN

Jeg har mottatt og forstått informasjon om prosjektet (*ContraTRAIN*), og har fått anledning til å stille spørsmål. Jeg samtykker til å delta i treningsintervensjonen med tilhørende testing, herunder

- Blodprøver
- DXA
- Maksimale styrke- og utholdenhetstester
- Testing av statisk styrke i kneekstensjon med elektrisk stimulering av lårmuskulaturen
- Vevsprøver tatt ved mikrobiopsier. Inntak av tungtvann.

Jeg samtykker til at mine opplysninger behandles frem til prosjektet er avsluttet, ca. 31.12.2023.

(Signert av prosjektdeltaker, dato)

FORESPØRSEL OM AVGIVELSE AV VEVS-OG BLODPRØVER TIL EN GENERELL FORSKNINGSBIOBANK

The TrainOme – humane cellers tilpasning til trening og miljø

Dette er en forespørsel til deg om du ønsker å bidra med vevs-og blodprøver i den generelle forskningsbiobanken the TrainOME.

Hva er The TrainOME?

The TrainOME er en generell forskningsbiobank som er godkjent av regional etisk komité (REK) og som legger til rette for oppbevaring av biologisk materiale som skal benyttes til forskning og kartlegging av sammenhengen mellom trenbarhet og cellulære egenskaper. Biobanken inkluderer vevs- og blodprøver fra en rekke enkeltstående forskningsprosjekt, som hver og en har blitt vurdert av regional etisk komite. Hvilke analyser som vil bli gjort på dine prøver vil i sin helhet være definert i den prosjektspesifikke prosjektprotokollen. For ytterligere informasjon, ta kontakt med hovedansvarshavende for forskningsbiobanken, Stian Ellefsen (epost: stian.ellefsen@inn.no; tlf: 61288103).

Hva skjer med prøvene og informasjonen om deg?

Prøvematerialet vil bli oppbevart i låsbar fryser på låst lagerrom, situert ved Høgskolen i Lillehammer/Sykehuset Innlandet. Alle opplysninger og prøver vil bli behandlet uten navn og fødselsnummer eller andre direkte gjenkjennende opplysninger. En kode knytter deg til dine opplysninger og prøver gjennom en navneliste. Denne vil bli oppbevart adskilt fra øvrige data, enten i låst skap lokalisert til låsbart kontor eller på sikker server tilhørende Høgskolen i Lillehammer og vil kun være tilgjengelig for autorisert personell. Det vil ikke være mulig å identifisere deg i resultatene som kommer ut av biobanken når disse publiseres. Deler av materialet vil kunne bli sendt til utlandet for analyse. Merking vil i slike tilfeller være begrenset til identifikasjonsnummer; dvs. de vil bli sendt i kodet tilstand. Ubenyttet materiale vil bli returnert til Lillehammer i etterkant av analysene. Det biologiske materialet vil bli anonymisert innen 31.12.2038, hvorpå det vil bli destruert innen fem år. Høgskolen i Lillehammer ved administrerende direktør er databehandlingsansvarlig.

Dine rettigheter

Det er frivillig om du vil la ditt biologiske materiale inngå i The TrainOME-biobanken og du kan når som helst trekke tilbake ditt samtykke uten at du trenger oppgi grunn for dette. Hvis du sier ja til innlemmelse i biobanken, har du rett til å få innsyn i opplysninger som er registrert på deg og også rett til å få korrigert eventuelle feil som oppdages. Du vil etter loven ha krav på jevnlig informasjon om hvordan materialet blir benyttet. Om du trekker ditt samtykke, vil ditt biologiske materiale samt utledete data bli slettet, med mindre opplysningene allerede inngår i analyser eller har blitt brukt i vitenskapelige publikasjoner.

Prosjektkoordinator eller øvrige prosjektmedarbeidere kan kontaktes når som helst i arbeidstiden:

Stian Ellefsen (hovedansvarshavende), tlf: 61288103, epost: stian.ellefsen@inn.no

Bent Rønnestad (prosjektkoordinator), tlf: 61288193, epost: bent.ronnestad@inn.no

Gunnar Slettaløkken (prosjektkoordinator), tlf: 61288182, epost: gunnar.slettalokken@inn.no



Samtykke til deltakelse i den generelle forskningsbiobanken

Jeg bekrefter med dette å ha lest informasjonsskrivet knyttet til den generelle biobanken «The TrainOME – humane cellers tilpasning til trening og miljø» og samtykker til at mine vevs- og blodprøver kan inngå i biobanken:

Sted:.....

Underskrift:

Dato:/..... 20.....

Vedlegg 2 - Tabell V1. Prosent endring fra baseline i m. vastus lateralis tykkelse, muskelstyrke og total-RNA.

Variabler	T2	T3	T4
Vastus lateralis tykkelse (% endring)			
Sett 0	2.72 (5.58)	1.75 (6.53)	2.60 (4.17)
Sett 3	1.63 (6.42)	7.40 (6.80)	11.9 (6.17)
Sett 6	3.16 (6.63)	14.1 (10.9)	16.2 (8.92)
Kneekstensjon (% endring)			
Sett 0		-0.32 (8.45)	6.47 (12.5)
Sett 3		9.43 (10.0)	21.9 (13.4)
Sett 6		12.6 (9.23)	29.4 (14.6)
Isokinetisk Kneekstensjon 60° sec⁻¹ (% endring)			
Sett 0		-4.74 (8.25)	-1.71 (11.3)
Sett 3		2.46 (9.83)	8.47 (9.46)
Sett 6		2.72 (5.13)	12.1 (11.6)
Isokinetisk Kneekstensjon 240° sec⁻¹ (% endring)			
Sett 0		-2.1 (9.0)	-0.6(10.3)

Sett 3		5.02 (8.7)	10.6 (13.5)
Sett 6		6.5 (10.4)	17.7 (13.6)
Isometrisk kneekstensjon			
(% endring)			
Sett 0		-3.4 (7.6)	-0.55 (9.5)
Sett 3		2.01 (6.7)	7.73 (8.4)
Sett 6		-0.7 (9.3)	10.7 (8.7)
Total muskelstyrke			
(% endring)			
Sett 0		-2.60 (8.4)	0.90 (11.3)
Sett 3		4.8 (9.3)	12.2 (12.7)
Sett 6		5.3 (9.9)	17.5 (14.2)
Total-RNA per vevsvekt (ng mg-1)			
(% endring)			
Sett 0	14.1 (21.7)	6.46 (26.2)	16.9 (23.3)
Sett 3	18.0 (19.5)	20.0 (29.0)	25.0 (30.4)
Sett 6	26.7 (28.3)	27.6 (9.1)	22.7 (23.0)

Data er gjennomsnitt ± standardavvik. Vastus lateralis tykkelse T2 (sett 0, n = 33; sett 3, n =

29; sett 6, n = 18), T3 (sett 0, n = 31; sett 3, n = 29; sett 6, n = 16), T4 (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), kneekstensjon T2 (sett 0, n = 32; sett 3, n = 29; sett 6, n = 17), T3 (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), isokinetisk og isometrisk T2 (sett 0, n = 31; sett 3, n = 28; sett 6, n = 17) T3 (sett 0, n = 33; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18), total-RNA T2 (sett 0, n = 36; sett 3, n = 28; sett 6, n = 20), T3 (sett 0, n = 19; sett 3, n = 28; sett 6, n = 15), T4 (sett 0, n = 32; sett 3, n = 29; sett 6, n = 18).