

# **IDR4000 MAPPEEKSAMEN**

Kandidatnummer: 411

2023-11-17

# Table of contents

<b>Forord</b>	<b>4</b>
<b>1 Reliabilitet</b>	<b>5</b>
<b>2 Vitenskapsfilosofi</b>	<b>6</b>
2.1 Induksjon . . . . .	6
2.2 Falsifikasjonisme . . . . .	7
<b>3 Study Design</b>	<b>8</b>
3.1 Introduction . . . . .	8
3.2 Methods . . . . .	8
3.3 Results . . . . .	8
3.4 Discussion . . . . .	9
3.5 Conclusion . . . . .	10
<b>4 The effect of different resistance training volumes on muscle strength and muscle mass in untrained individuals</b>	<b>11</b>
4.1 Introduction . . . . .	11
4.2 Methods . . . . .	12
4.2.1 Participants . . . . .	12
4.2.2 Study overview . . . . .	12
4.2.3 Protocol . . . . .	13
4.2.4 Muscle strength assessment . . . . .	13
4.2.5 Lean muscle mass measurement . . . . .	13
4.2.6 Data analysis . . . . .	13
4.3 Results . . . . .	14
4.4 Discussion . . . . .	14
4.5 Conclusion . . . . .	15
<b>5 Introduksjon</b>	<b>16</b>
<b>6 Metode</b>	<b>17</b>
6.1 qPCR . . . . .	17
6.2 RNA-ekstraksjon . . . . .	18
6.3 Fortynningsrekke . . . . .	18

<b>7</b>	<b>Resultat</b>	<b>19</b>
<b>8</b>	<b>Diskusjon</b>	<b>21</b>
<b>9</b>	<b>Konklusjon</b>	<b>22</b>
	<b>Referanseliste</b>	<b>23</b>

# Forord

Dette er mappeeksamen i IDR4000 - Kvantitativ metode og statistikk. Alle filer som denne boken bygger på kan finnes i <https://github.com/Rauan0/idr4000-eksamen.git>.

# 1 Reliabilitet

The purpose of this assignment is to present estimates of reliability of measures collected in the physiology lab. A second purpose is to use tools for reproducible data science. The report that you are expected to hand in therefore has some strict requirements in its format (see below). The assignment is a group assignment and at least three students are expected to contribute to each report.

## 2 Vitenskapsfilosofi

### 2.1 Induksjon

Innenfor vitenskapsfilosofi er induksjon «en vitenskapelig metode som på grunnlag av enkelte, individuelle utsagn eller erfaringer søker å komme frem til mer omfattende generelle utsagn eller lover» (Tranøy 2021). En skeptiker av denne metoden var David Hume. Hume argumenterte med at det ofte ble brukt induksjon for å trekke generelle slutninger basert på tidligere erfaringer (Dagfinn Døhl Dybvig 2019). Humes skepsis til induksjon blir ofte kalt induksjonsproblemet (Holmen 2023). Dette er knyttet til at slutninger og argumenter ofte kan være sanne uten at konklusjonen nødvendigvis må være sann. Et induktivt argument kunne vært at solen kom opp i morges, solen kom opp i går, solen kom opp dagen før i går. Dermed vil solen komme opp i morgen. Hume mente at naturen ikke har noen uniformitet. Det vil derfor ikke nødvendigvis være noen forbindelse mellom tidligere hendelser og fremtidige hendelser, og at selv om solen har stått opp hver dag så lenge man kan huske er det ikke gitt at den vil stå opp en million år. Hume mente dermed at induktive slutninger ikke er noe som vil vise oss hva som vil skjer, det viser hva som sannsynligvis vil skje. Hume argumenterte også med at det ikke er mulig å gi en rasjonell begrunnelse for bruk av induksjon uten å anta det en prøver å bevise – at naturen vil være uniform i fremtiden. Det vil dermed ikke være mulig å bevise induksjonens gyldighet uten å bruke induksjon. Et annet argument Hume brukte var at menneskers tro på kausalitet – en grunnleggende faktor for induksjon – er basert på en vane, og ikke en nødvendig forbindelse. Om man ser at en hendelse følger en annen, antar man kausalitet. Dette er ifølge Hume ikke en logisk begrunnelse for å anta at årsak og virkning alltid vil være forbundet. Flere har presentert «løsninger» til induksjonsproblemet. Karl Popper forkastet induktive slutninger med begrunnelsen om at det ikke var «logisk mulig å slutte seg fra enkeltobservasjoner til allmenne lover på en logisk gyldig måte» (Dagfinn Døhl Dybvig 2019). Popper mente at vitenskapen ikke hadde noe behov for å rettferdiggjøre bruken av induksjon. Nelson Goodman lanserte det nye induksjonsproblemet i et forsøk på å analysere Humes induksjonsproblem. Goodman mente at svaret på Humes induksjonsproblem var at «induktive slutninger har en egen form for gyldighet som gjør noen av dem legitime. Det vi må gjøre er derfor å definere eller skille ut hvilke slutninger som er induktivt gyldige fra de som ikke er det» [Holmen (2023)]. Goodman mente at oppgaven kan ikke løses ved å «henvise til formallogiske eller syntaktiske trekk ved induktive slutninger. Konsekvensen av dette er at det ikke er mulig å gi et formallogisk system for induktive slutningsformer». Jeg vil ikke si at hverken Popper eller Goodman sine «løsninger» løser induksjonsproblemet, de prøver heller i en grad å unngå bruken av induksjon. Jeg tror induksjonsproblemet teknisk sett ikke kan

løses. Hume kommer med gode argumenter som underbygger problemet med bruken av induksjon og mangelen på logikk ved bruken av den. Jeg mener at det derimot fortsatt er en plass til induksjon i vitenskapen, så lenge det blir brukt på riktig måte. Induksjon er en effektiv metode å benytte seg av og det blir allerede benyttet mye både i vitenskapen og i hverdagen. Skal man tenke at solen kanskje ikke står opp i morgen fordi naturen ikke er uniform vil man låse seg helt til Humes tankegang. Man må rett og slett heller bare akseptere at induksjon er en metode som som regel er bra nok.

## 2.2 Falsifikasjonisme

Falsifikasjonisme er en filosofi som ble utviklet av Karl Popper. Den går ut på at «det er umulig å verifisere (bekrefte) en hypotese helt og holdent, men at det er desto viktigere å forsøke å falsifisere (avkrefte) den» (Dagfinn Døhl Dybvig 2019). Det er ifølge Popper dette som skiller vitenskap fra pseudovitenskap eller ikke-vitenskapelige påstander, og han mente at dersom en hypotese var falsifiserbar var den vitenskapelig. Vitenskapen er ikke i stand til å bevise en teori eller en hypotese som absolutt sanne, men den kan falsifisere teorier som ikke stemmer. Dette gjør at vitenskapelige teorier forbedres ved å erstatte gamle teorier som har blitt bevist feil. Falsifikasjonisme forutsetter at hypotesen dreier seg om noe generelt. Et klassisk eksempel på falsifikasjonisme som også Popper brukte er teorien om at alle svaner er hvite. Dette er en generell påstand om fargen til svaner. Denne teorien må ifølge falsifikasjonismen kunne være falsifiserbar dersom den skal være vitenskapelig. Er det dermed slik at hvis en observerer 1000 hvite svaner har verifisert teorien? Nei, for det er nemlig ingenting som tilsier at ikke en svart svane plutselig kan dukke opp et sted i verden. Dersom en observerer en svart svane er teorien bevist feil, men inntil da kan den ikke bevises at den er riktig. Problemet med falsifikasjonisme er at det er vanskelig å avgjøre når en teori er falsifisert. Dersom en person lanserer en teori kan denne ofte tilpasses eller beskyttes mot falsifisering ved å benytte seg av. Det kan for eksempel argumenteres med at falsifiseringen skyldes feil i eksperimentet eller andre variabler som påvirker resultatet. Vitenskapelige teorier er ofte komplekse og kan dermed være vanskelig å falsifisere. Problemet med falsifikasjon kan løses til en viss grad, men det avhenger av teorien som skal falsifiseres. Teorien om at alle svaner er hvite er lite kompleks, og er enkel å falsifisere. En dokumentert observasjon av en svart svane er alt som skal til for å falsifisere teorien. En teori som er vanskeligere å falsifisere er teorien om at global oppvarming påvirkes av mennesker. Det er mye som tyder på at denne teorien stemmer, men dette er ikke et bevis for at den er sann eller verifisert. Det er derimot vanskelig å avvise teorien. Det er mange faktorer som er involvert i global oppvarming, og det er dermed ikke mulig med en enkel test eller en observasjon for å komme frem til et endelig svar på dette. Ved komplekse teorier som er vanskelig å falsifisere kan en helhetlig vurdering gjøre forståelsen i det vitenskapelige miljøet bedre. Vitenskap er sjelden «enten eller», og temaet global oppvarming finnes det mye forskning på. Denne forskningen kan dermed brukes til å si at global oppvarming sannsynligvis er påvirket av mennesker. Å bruke absolutte begreper som verifisert og falsifisert er sjeldent enkelt, da for mange faktorer kan påvirke forskjellige studier.

## 3 Study Design

### 3.1 Introduction

The purpose of this paper is to investigate different study designs. Studies included should investigate BP (block periodization) on VO2max development in endurance athletes. The paper will focus on the design of studies and selection of statistical tests to answer study aims, as well as discussing strengths and weaknesses of said studies. This will lead to a recommendation for how future studies on the topic should be designed.

### 3.2 Methods

A literature search was conducted in databases PubMed and Google Scholar. The search term used was “block periodization effect vo2max endurance athletes”. This is a heavily researched subject, so for the sake of keeping this paper short, five articles were included.

### 3.3 Results

Study	Participants	Statistical test
Roennestad et al. (2012)	n=19 trained male cyclists	Effect size, unpaired
Bakken (2013)	n=19 trained males and females	Effect size, unpaired
Ing (2019)	n=25 healthy trained/well-trained cyclists	Shapiro-Wilke
Thyli (2013)	n=19 trained male and female cross-country skiers and biathletes	Unpaired student
Solli et al. (2019)	n=1 cross-country skier	Paired sample

ANOVA = analysis of variance, HSD = honest significance test, BP = block periodization, HIT = high-intensity aerobic training, LIT = low-intensity training, MIT = moderate-intensity training

Four out of five of the included studies (Rønnestad et al. (2012), Bakken (2013), Ing (2019) and Thyli (2013)) split the subjects in two groups: one performing BP and one performing a



more traditional training plan. Solli et al. (2019) studied the training of the most successful cross-country skier of all time and based the study on this. The number of statistical tests used to determine factors related to the study results varied from two (Solli et al. (2019)) to seven (Rønnestad et al. (2012)). Some of the statistical tests are used in multiple studies, such as effect size and different t-tests.

### 3.4 Discussion

The purpose of this paper was to investigate different study designs in studies related to block periodization on VO2max development. Five studies were included. Four of the studies included two different groups of endurance athletes, where one group performed HIT block periodization, while the other group performed a more traditional training plan. Effect size was used in four of the five included studies. This is a tool used to compare the practical significance of the performance improvements among the two groups (Rønnestad et al., 2012, p. 4). Paired and unpaired student's t-test were used in most studies. Unpaired student's t-test is used to check for differences between the two groups at baseline and after the training period. Paired student's t-test is used to compare each group at baseline and after the training period. How many statistical tests one should include in a study will vary how large its scope is. Rønnestad et al. (2012) had seven different tests, and while this may give more reliable results, it is not necessarily the correct way to do it for smaller studies as you could end up spending too much time performing and analyzing these tests. Most of the studies have a study sample of around 20, excluding Solli et al. (2019). All studies have used a trained population. This could be both useful and less useful, depending on how you put it. Trained athletes have a better understanding of their training and how LIT, MIT and HIT training works than the general population. This will lead to more precise results as this population will be more precise in their training. It would, however, make it harder to generalize a different population. These studies showing BP having an effect for a well-trained population does not mean it would necessarily have an effect for the average person who trains 3 times a week. Another problem with the population of these studies is the lack of women represented. All but one study (Rønnestad et al. (2012)) included women, but men are greatly overrepresented. According to Cowley et al. (2021), females are significantly underrepresented in exercise and sport research. BP influencing VO2max in men does not necessarily mean it will have an effect on women, as the male and female body are different from each other and may also respond differently to training. Women make up half of the world's population, so including them more in research should be a given. All studies included except Solli et al. (2019) split subjects into two groups, where one group performed BP, while the other performed a more traditional training plan. This is likely the way to go for these kinds of studies. It would be interesting to see the results if the subjects were not split in two groups, but rather performed BP to see VO2max improvements of that, and then performed traditional training to see VO2max improvements of that. This could potentially lead to less reliable results, as time of year could influence VO2max. Solli et al. (2019) did this, though with just one participant and BP and

traditional training being performed with 10 years between them. This study did show that both training methods have been utilized with great success, with the obvious limitation of the subject being the most successful cross-country skier of all time, which is an extremely narrow population.

### 3.5 Conclusion

While the included studies do share many similarities, there are also differences between them. Some are master's theses, which are written by less experienced researchers. Thus, they may not be familiar with every statistical test that are used in some of the other studies. I would not say the goal is to include the most tests you can, but rather use a reasonable number of tests that will give you the answer you are looking for. The study population is around 20 in most of the studies, and a higher study population will usually give more reliable results. Future research should thrive to include more women, as they are severely underrepresented in both the articles presented in this paper, but also in sports science in general. Most studies in this paper split subjects in two groups, and this is likely recommended also for future research, even though it poses the problem of different athletes responding differently to different training, it is likely that having one group performing both training methods would be difficult to get reliable results from.

References Bakken, T.A. (2013). Effects of block periodization training versus traditional periodization training in trained cross country skiers [Master's thesis]. The Swedish School of Sport and Health Sciences Cowley, E. S., Olenick, A. A., McNulty, K. L., & Ross, E. Z. (2021). "Invisible Sportswomen": The Sex Data Gap in Sport and Exercise Science Research. *Women in Sport and Physical Activity Journal*, 29(2), 146–151. <https://doi.org/10.1123/wspaj.2021-0028> Ing, S.A. (2019). The effects of systematic block versus traditional periodization on physiological and performance indicators of well-trained cyclists [Master's thesis]. Norwegian University of Science and Technology Rønnestad, B.R., Hansen, J. and Ellefsen, S. (2014), Block periodization vs traditional training. *Scand J Med Sci Sports*, 24: 34-42. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2012.01485.x> Solli, G. S., Tønnessen, E., & Sandbakk, Ø. (2019). Block vs. Traditional Periodization of HIT: Two Different Paths to Success for the World's Best Cross-Country Skier [Original Research]. *Frontiers in Physiology*, 10. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00375>

Thyli, V (2013). Block periodization versus traditional periodization in trained cross-country skiers and biathletes [Master's thesis]. The Swedish School of Sport and Health Sciences

## **4 The effect of different resistance training volumes on muscle strength and muscle mass in untrained individuals**

### **4.1 Introduction**

Resistance training volume, muscle strength and muscle mass are heavily researched topics in the field of resistance training. A search for muscle mass on PubMed gives 97,000 results, while searches for resistance training volume and muscle strength gives respectively 3,000 results and 89,000 results. It is well documented that resistance training is an effective way to increase both muscle strength and muscle mass (De Souza et al. 2018; Kennis et al. 2013; Cadore et al. 2018). Resistance training has been found to have a positive impact on various aspects of health, including enhancing physical performance, improving movement control, increasing walking speed, promoting functional independence, boosting cognitive abilities, and enhancing self-esteem (Westcott 2012). Resistance training can also aid in improving mental health. A meta-analysis found that anxiety symptoms in both healthy participants and participants with a physical or mental illness significantly improved (Gordon et al. 2017).

There are different definitions of resistance training volume, but Vandr  Casagrande Figueiredo describes it as “the product of the number of repetitions x number of sets x intensity load” (Figueiredo and Trajano 2018). People who participate in resistance training use different volumes based on their goals. Lower volume and heavy loads is generally used to stimulate muscle strength, while higher volume and lower loads is more often used to stimulate muscle growth and increase muscle mass (ACSM 2009). For the average individual who does not care to optimize muscle strength or muscle growth, but rather works out purely for their health, it may be difficult to know which volume should be used in their training. They may not want to spend more time in the gym than necessary and therefore want to know how little volume they would have to do to still be able to see results and progression. Studies investigating this on trained men have already been conducted (Schoenfeld et al. 2019). It is likely more important to conduct studies for those who already struggle with getting to the gym to know which volume they should settle for, as they likely lack both experience and knowledge.

With this in mind, the purpose of this study is to investigate developments in muscle strength and muscle mass in untrained individuals with different resistance training volume.

## 4.2 Methods

### 4.2.1 Participants

The study had a total of 41 participants recruited, both male and female. Inclusion criteria for the participants was non-smoking and aged between 18 and 40 years old. Participants who were unable to tolerate local anaesthetic, had a prior training history of more than one weekly resistance-exercise session within the last year leading up to the intervention, had impaired muscle strength due to previous or ongoing injury, or were taking prescribed medication that could impact adaptations to training were excluded from the study. During the data analysis, seven participants were excluded. The reasons for their exclusion were: five participants experienced discomfort or pain in their lower extremities during exercise, one participant had an unrelated injury, and one participant did not follow the study protocol. All of the participants included in the study reported having previous experience with sporting activities such as team sports, cross-country skiing and gymnastics. At the time of enrollment, twenty participants reported being engaged in physical training. The median number of sessions per week was two, with a range of 0.5 to 4. Out of these participants, ten performed occasional resistance-type training, but none of them did it more than once per week.

Table 4.1: Participant characteristics

	Female		Male	
	Included	Excluded	Included	Excluded
n	18	4	16	3
Age	22 (1.3)	22.9 (1.6)	23.6 (4.1)	24.3 (1.5)
Weight (kg)	64.4 (10)	64.6 (9.7)	75.8 (11)	88.2 (22)
Height (cm)	168 (6.9)	166 (7.6)	183 (5.9)	189 (4.6)

Data is presented as mean  $\pm$  standard deviation.

### 4.2.2 Study overview

The intervention took place over a 12-week period from September to November and involved full-body resistance training. To differentiate training volume within each participant, leg exercises were performed unilaterally (each participant had one leg randomly assigned to perform a single set of exercises, while the other leg performed three sets of exercises). This meant each participant was able to undergo both training protocols during the study. Muscle strength was evaluated before and after the intervention, and muscle biopsies were taken from the vastus lateralis muscle in both legs at the beginning and end of the study.

### **4.2.3 Protocol**

Before each training session, participants followed a structured warm-up routine: They began with a 5-minute session on an ergometer, cycling at a moderate level of perceived exertion. Next, they performed 10 repetitions of various bodyweight exercises, which included customized difficulty levels for push-ups, sit-ups, back-extensions, and squats. Then, participants completed a set of 10 repetitions at approximately 50% of their one-repetition maximum (1RM) for each exercise. For leg exercises, each participant's legs were randomly assigned to either a single-set or multiple-set (three sets) protocol. Single-set leg exercises were integrated between the second and third set of the three multiple-set leg exercises. During the intervention, training intensity increased progressively. The first two weeks participants used a weight corresponding to 10RM, followed by three weeks at 8RM, and the remaining seven weeks at 7RM. Some training sessions were unsupervised due to the participants' schedules. On average, 91% of the sessions were supervised. Participants were required to maintain detailed records for unsupervised sessions to be able to monitor their progress. From training session nine, one of the three weekly sessions involved reduced loads, equivalent to 90% of the weight used in the previous session but with the same target number of repetitions.

### **4.2.4 Muscle strength assessment**

To assess muscle strength, a 1RM test was conducted using a leg press machine. Before each testing session, participants performed a warm-up which involved performing sets of ten, six, and three repetitions at respectively 50%, 75% and 85% of their expected max. After the warm-up, 1RM was determined by gradually increasing the resistance until the participants were not able to complete a full range of motion lift. The heaviest weight that they successfully lifted was recorded as their 1RM. Each participant had the opportunity to make between four and six attempts to increase their 1RM.

### **4.2.5 Lean muscle mass measurement**

Lean muscle mass was assessed before and after the 12-week intervention using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) (Lunar Prodigy, GE Healthcare, Oslo, Norway). The assessments followed a standard protocol.

### **4.2.6 Data analysis**

Data analysis was performed in RStudio. To compare changes in MM and MS, a paired t-test was utilized. Significance level was set to  $p < 0.05$ .

### 4.3 Results

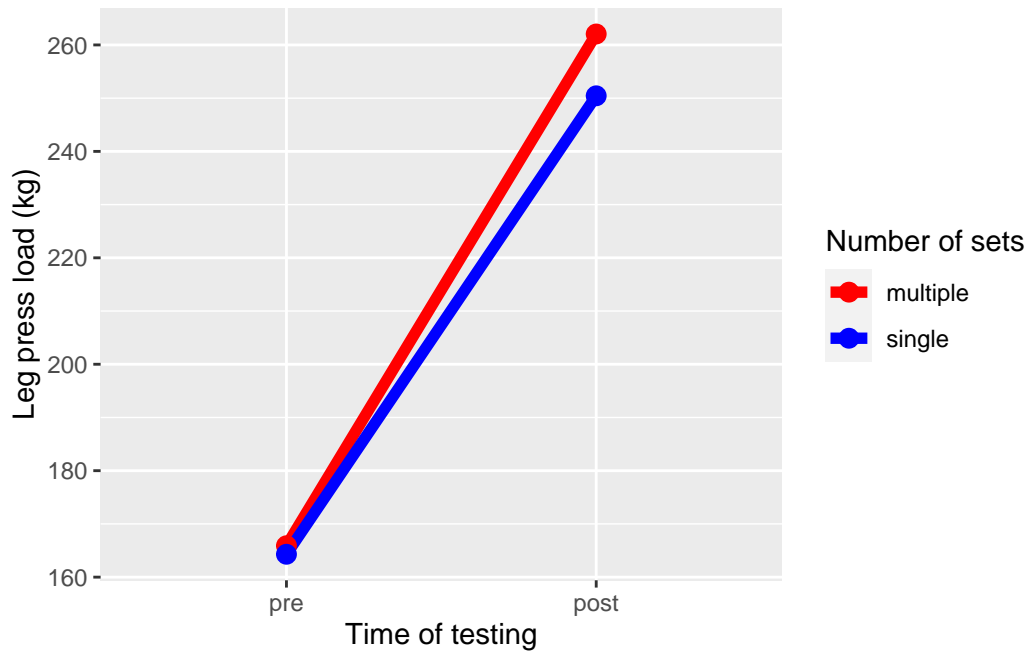


Figure 4.1: Mean change in muscle strength

Figure 1 shows the differences in 1RM in leg press between single-set and multiple-set. The average difference in 1RM between sets were 7.2 kg, 95% CI: [0.9, 13.5],  $p = 0.026$ . Both legs have increased in muscle strength, but the legs that did three sets have increased significantly more than the legs that did one set.

Figure 2 shows the differences in lean mass between single-set and multiple-set. The average difference in lean mass changes between sets were 122.8 g, 95% CI: [8.6, 237],  $p = 0.036$ . Both legs have increased muscle mass but the legs that did three sets have increased significantly more than the legs that did one set.

### 4.4 Discussion

The purpose of this study was to investigate the development in muscle strength and muscle mass in untrained individuals with different resistance training volume. A significant difference in both muscle strength and muscle mass could be seen in favor of the legs that did three sets as opposed to one set.

The results supports finds from previous studies (Schoenfeld et al. 2019). Schoenfeld's study was conducted on trained men, and it was unknown if the same would apply to beginners as well.

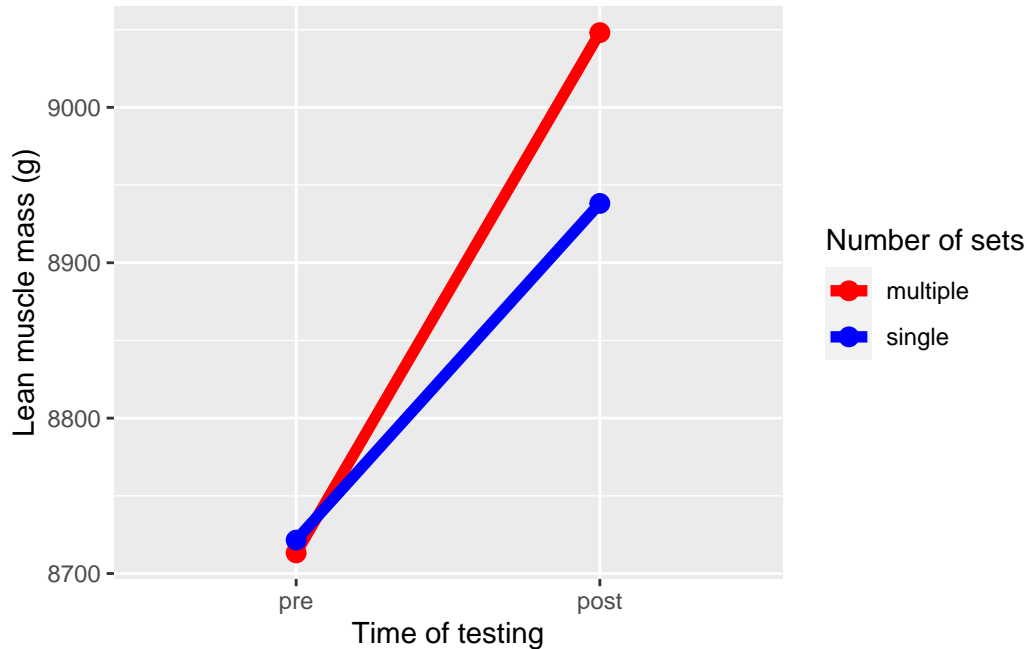


Figure 4.2: Mean change in muscle mass

Beginners usually has few problems seeing progression when starting with a resistance training program. In figure 1 and figure 2 we can observe the subjects gaining respectively muscle strength and muscle mass from both the single-set protocol and the multiple-set protocol. It is fair to assume that if the intervention had lasted longer, the single-set would at some point have stagnated more than the multiple-set as the subjects increased in muscle strength and muscle mass.

## 4.5 Conclusion

For untrained individuals who works out to enjoy the health benefits of resistance training, a single-set workout will be adequate up to a certain point. If resistance training is found to be enjoyable and the individuals want to see more progression, a higher volume is preferable and will yield a significantly higher level of muscle strength and muscle mass. This may even be required after a certain point in time to see any progression, but research over a longer period of time is needed to say this with certainty.

## 5 Introduksjon

RNA, ribonucleic acid, finnes i alle celler og har viktige oppgaver når det kommer til både produksjon av proteiner og genregulering (Kukurba & Montgomery, 2015). RNA skiller seg fra DNA på flere områder, men en karakteristisk forskjell er RNA-ets utseende og oppbygning. Der DNA består av to tråder i en dobbelheliks, er RNA en tråd med en annen oppbygning. RNA er bygget opp av nukleotider, som videre består av blant annet en nitrogenbase. Disse basene danner basepar AU og GC, og skiller seg fra DNA som danner AT og GC (Haugen, 2023). Gjennom en prosess kalt transkripsjon skapes en RNA-sekvens som er en kopi av et bestemt gen i DNA-et. Denne RNA-sekvensen kalles mRNA, og inneholder oppskriften for å lage et bestemt protein (Kukurba & Montgomery, 2015). Det er rekkefølgen på nitrogenbasene som avgjør proteinet og dets funksjon. Siden mRNA gir oss et genuttrykk, kan molekylet gi mye informasjon om proteiner og gener i kroppen vår. Det kan blant annet fortelle oss hvilke fibertyper vi finner i skjelettmuskulatur, basert på deres uttrykk for en av de tre MHC-isoformene. Gjennom ulike prosesser kan man kvantifisere mRNA ved bruk av DNA-baserte metoder, som f.eks qPCR og RNA sequencing.



## 6 Metode

### 6.1 qPCR

qPCR er en metode som brukes til å kvantitativt bestemme mengden av et gen i en prøve (Taylor et al., 2019). For å kunne gjennomføre metoden kreves cDNA (complementary DNA), noe vi kan omdanne RNA til gjennom reversert transkripsjon. Dermed blir cDNA en kopi av RNA-uttrykket, og man får muligheten til å kvantifisere mengden av et bestemt gen. I vårt forsøk var det uttrykket av myosin heavy chain I (MHC I), myosin heavy chain IIa (MHC IIa) og myosin heavy chain IIx (MHC IIx) før og etter en to ukers treningsperiode som var aktuell å se på. I qPCR reaksjonen lages det kopier av disse genuttrykkene, og det blir bruk en fluorescens for å finne ut hvor mange sykluser som trengs for å nå terskelen for en eksponentiell økning i fluorescensen. Ut ifra terskelen kan man derfor beregne konsentrasjonen av målgenet (Livak & Schmittgen, 2001). Antall sykluser som er nødvendig kalles Ct-verdi. Lav Ct-verdi er videre et resultat av høy konsentrasjon av RNA i prøven, og vice versa. For å hente ut disse Ct-verdiene brukte vi Delta-Delta-Ct-metoden, og vi kan dermed analysere endringen i MHC-uttrykket fra prøvene før og etter treningsperioden (Livak & Schmittgen, 2001).

Det som trengs for denne protokollen er en real-time PCR-maskin, QuantStudio 5 og en qPCR reaksjonsplate. For å utføre eksperimentet trenger du også ultrarent vann, pipeteringsutstyr og SYBR-green Master mix. For å klargjøre til en qPCR-reaksjon måtte vi sette sammen master-mixen, som inneholder 5 l av Sybr-green 2X master-mix per reaksjon, 1 l av primermix for både Forward og Reverse (5 M hver), og 2 l H<sub>2</sub>O. Denne master-mixen er viktig for å forberede reaksjonen. Deretter tilsatte vi 8 l av master-mixen vi lagde i 30 ulike brønner på qPCR-platen, før vi tilsatte 2 l av cDNA i hver av de samme brønnene. Det er viktig å merke seg at mengden her kan justeres etter behov, men at 10 l er et godt utgangspunkt. Det er også en fotnote som påpeker at konsentrasjonen av primere kan kreve ytterligere optimalisering. Dette er en viktig del av protokollen for å sikre nøyaktige og pålitelige resultater. Etter at brønnene er fylt settes platen inn i real-time qPCR maskinen, QuantStudio 5 (Applied Biosystems, i.d.). Her utsettes platen for en rekke temperatursykluser, og maskinen analyserer kontinuerlig data om fluorescensen. Det første stedet i temperatursyklus er en økning på 1.99 grader/sek til temperaturen nådde 50 grader, der den holdt varmen konstant i 2 min. Etter de to minuttene økte temperaturen med 1.99 grader/sek til den nådde 95 grader som ble holdt i 2 min. Etter de to minuttene startet det en syklus som ble repetert 40 ganger. Syklusen består av et sekund på 95 grader, før den synger med 1.77 grader/sek til 60 grader. 60 grader ble holdt konstant i 30 sekunder før det ble tatt et bilde av brønnens fluorescens. Etter det økte temperaturen med 1.99 grader/sek til 95 grader, der den ble holdt konstant i 15 sekunder. Syklusen ble deretter

repetert. Deretter sank temperaturen med 1.77 grader/sek til 60 grader og ble holdt i 1 minutt. Etter det økte temperaturen med 0.15 grader/sek opp til 95 grader, der den ble holdt konstant i 15 sekunder. Etter denne temperatursyklusen ble resultatene presentert som Ct-verdier, og vi kan lese og analysere konsentrasjonen av de ulike genuttrykkene fra brønnene.

## 6.2 RNA-ekstraksjon

RNA-ekstraksjon er en metode som brukes for å undersøke kvantiteten og sekvensene i RNA. Første steg i metoden er å senke RNA i TRIzol. Dette gjøres for å hemme RNA-spesifikke nedbrytende enzymer og forstyrrende cellulære komponenter. Deretter ble det lagt til kloroform. Blandingen ble deretter sentrifugert (kloroform og sentrifugering blir til løselig RNA). Etter sentrifugeringen ble den vandige fasen fjernet. Denne inneholder RNA. For å utfelle RNA fra løsningen la vi til isopropanol. Etter dette ble blandingen sentrifugert og vi fikk en pellet som inneholdt RNA. For å fjerne kjemikalier fra tidligere steg ble RNA-pelleten vasket med etanol. RNA-pelleten er ustabil og ble oppbevart i fryser for å opprettholde egenskapene dens. Til slutt kunne vi kvantifisere og sjekke kvaliteten på RNA.

## 6.3 Fortynningsrekke

Prøvene ble fortynnet sammen med ultrarent vann. Fortynningen ble doblet for hver gang. Det vil si at i “brønn” nummer en var det lik fordeling mellom ultrarent vann og prøve. I “brønn” nummer to var det halvparten så mye prøve som i “brønn” nummer 1. Dette fortsetter i seks rekker (1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 og 0,03125). Ut fra qPCR-fortynningsrekken vil vi kunne lese hvor valide resultatene er. Resultatene kan ses som en lineær modell i figur 1.

## 7 Resultat

Resultat fra qPCR er vist i Tabell 1. Fortynningsrekke 1, 1/10 og 1/1000 hadde lite varians mellom Ct1, Ct2 og Ct3 med en variasjonskoeffisient (CV) på 1%. Fortynningsrekke 1/100 viste også lite variasjon mellom Ct1, Ct2 og Ct3 med CV på 2%. I fortynningsrekke 1/10000 ser vi derimot at Ct3 skilte seg betydelig fra Ct1 og Ct2 (34,927 vs 30,0 og 30,2). Dette resulterte i en relativt høy CV på 9%. Resultatene fra Tabell 1 ga en primereffektivitet på 86,54% og R2 på 0,91.

Table 7.1: Resultat fra qPCR

Fortynningsrekke	Ct1	Ct2	Ct3	Ct_gj_snitt	Sample_quant	Log_sample_quant	SD	CV_I
1	26.09	25.68	25.86	25.88	1.00	0.00	0.21	
1/10	27.16	27.76	27.27	27.40	0.50	-0.30	0.32	
1/100	28.42	28.95	27.64	28.34	0.25	-0.60	0.65	
1/1000	28.85	29.36	29.16	29.13	0.12	-0.90	0.25	
1/10000	30.00	30.22	34.92	31.71	0.06	-1.20	2.78	
1/100000	30.87	30.68	31.19	30.91	0.03	-1.50	0.25	

Prosentvis andel MHC I, -IIa og -IIx før og etter de fem treningsøktene er vist i Tabell 2. Genuttrykket for MHC I gikk opp fra 18,16% før treningsintervensjonen til 45,54% etter treningsintervensjonen, og fra 57,84% til 85,77% for MHC IIa. Genuttrykket for MHC IIx gikk derimot ned, fra 24,01% til 3,53%.

Table 7.2: Prosentvis andel genuttrykk for MHC I, IIa og IIx før og etter fem treningsøkter

Tidspunkt	Genuttrykk		
	MHC_I	MHC_IIa	MHC_IIx
W0	18.16	57.84	24.01
W2	45.54	85.77	3.53

	Tidspunkt	MHC_I	MHC_IIa	MHC_IIx
1	W0	18.16	57.84	24.01
2	W2	45.54	85.77	3.53

Det ble regnet ut CV for triplikatene MHC I, IIa og IIx for W0 og W2. Tabell 3 viser lav varians i målingene, med unntak av MHC 1 for W2 som hadde en CV på 23,52.

Table 7.3: Gjennomsnittsverdier og CV for MHC I, IIa og IIx ved W0 og W2

Time	MHC_I_mean	MHC_IIa_mean	MHC_IIx_mean	MHC_I_CV	MHC_IIa_CV	MHC_IIx_CV
W0	18.25	16.58	17.85	5.80	11.77	2.00
W2	20.61	17.61	22.21	23.52	3.93	3.00

Mean = gjennomsnitt, CV = variasjonskoeffesient

## 8 Diskusjon

Resultatene fra qPCR'en viste relativt lav CV for de fleste fortynningrekker. Unntaket var fortynningsrekke 1/1000, med en CV på 9%. Dette skyldes at verdien ved Ct3 var betydelig høyere enn verdiene for Ct1 og Ct2. Denne utliggeren kan for eksempel skyldes feil eller unøyaktighet ved pipettering, eller kontaminering av prøven. Outlieren førte i sin tur til en noe lav R2 på 0,91, sammenlignet med gjeldende anbefalinger på  $>0,98$  (Taylor et al., 2010). Utliggeren kan også ha påvirket primereffektiviteten vår på 86,54%, noe som også er lavere enn det aksepterte intervallet på 90-110% (Hays et al., 2022). Det kan tenkes at dersom denne utliggeren lå nærmere de to andre verdiene i fortynningrekken, ville primereffektiviteten og R2 havnet innenfor anbefalingene. Dersom vi fjerner denne utliggeren, får vi en mye lavere CV på 1%. Samtidig endres R2 til 0,99 og primereffektivitet til 103,71, hvorav begge disse verdiene er innenfor deres respektive anbefalinger. I tabell 2 kan vi se en økning i MHCIIA, hvor prosentandelen gikk fra 57,84% til 85,77%. Samtidig ser vi en reduksjon av MHCIIX, som gikk fra en prosentandel på 24,01% til 3,53%. Dette er i tråd med observasjonene til Andersen og Aagaard (2000), som undersøkte forandringer i muskelfibertype etter tre måneder med tung styrketrening. Vi kan også observere en stor økning i MHCI, som gikk fra en prosentandel på 18,16% til 45,54%. Widrick et al. (2002) fant hverken økning eller redusering av MHC I etter styrketrening i sin 12-ukers studie, så det er dermed usikkert hva grunnen til denne store økningen er. Grunnet disse store forskjellene i muskelfibersammensetning etter kun fem treningsøkter kan man anta at testpersonen er utrent, og at en trent person ville hatt betraktelig mindre endringer i sammensetning. Den store økningen i MHC I uttrykk fra W0 til W2 kan også skyldes feil i pipettering. MHC I for W2 hadde en CV på 23,52 som viser til store variasjoner mellom de tre målingene. Det er ikke notert avvik knyttet til pipettering i rapporten, noe som gjør det vanskelig å forklare eksakt hva som er årsaken til variasjonen.

## 9 Konklusjon

Det ser ut som at en to ukers treningsperiode øker genuttrykket for MHC IIa og reduserer uttrykket for MHC IIx. Dette er i tråd med tidligere forskning (Andersen & Aagaard, 2000). Det ser også ut som at uttrykket for MHC I øker etter en treningsperiode, men dette er noe usikkert ettersom denne økningen kan ha vært et resultat av målefeil. Det er også viktig å tolke resultatene med forsiktighet ettersom det kun er undersøkt en person.

# Referanseliste

- ACSM. 2009. “American College of Sports Medicine Position Stand. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults.” Journal Article. *Med Sci Sports Exerc* 41 (3): 687–708. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181915670>.
- Cadore, Eduardo Lusa, Erik Menger, Juliana Lopes Teodoro, Larissa Xavier Neves da Silva, Francesco Pinto Boeno, Daniel Umpierre, Cíntia Ehlers Botton, et al. 2018. “Functional and Physiological Adaptations Following Concurrent Training Using Sets with and Without Concentric Failure in Elderly Men: A Randomized Clinical Trial.” Journal Article. *Experimental Gerontology* 110: 182–90. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.06.011>.
- Dagfinn Døhl Dybvig, Truls Wyller, Magne Dybvig. 2019. *Tanke Og Handling: Filosofi, Vitenskap Og Samfunn*. Book. 1st ed. Bergen: Fagbokforlaget.
- De Souza, Eduardo O., Valmor Tricoli, Jacob Rauch, Michael R. Alvarez, Gilberto Laurentino, André Y. Aihara, Fabiano N. Cardoso, Hamilton Roschel, and Carlos Ugrinowitsch. 2018. “Different Patterns in Muscular Strength and Hypertrophy Adaptations in Untrained Individuals Undergoing Nonperiodized and Periodized Strength Regimens.” Journal Article. *The Journal of Strength & Conditioning Research* 32 (5). [https://journals.lww.com/nsca-jscr/fulltext/2018/05000/different\\_patterns\\_in\\_muscular\\_strength\\_and.7.aspx](https://journals.lww.com/nsca-jscr/fulltext/2018/05000/different_patterns_in_muscular_strength_and.7.aspx).
- Figueiredo, de Salles, V. C., and G. S. Trajano. 2018. “Volume for Muscle Hypertrophy and Health Outcomes: The Most Effective Variable in Resistance Training.” *Sports Medicine* 48 (6): 499–505. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s40279-017-0793-0>.
- Gordon, B. R., C. P. McDowell, M. Lyons, and M. P. Herring. 2017. “The Effects of Resistance Exercise Training on Anxiety: A Meta-Analysis and Meta-Regression Analysis of Randomized Controlled Trials.” Journal Article. *Sports Med* 47 (12): 2521–32. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0769-0>.
- Holmen, Heine Alexander. 2023. “Induksjonsproblemet.” Encyclopedia. <https://snl.no/induksjonsproblemet>.
- Kennis, Eva, Sabine M. Verschueren, An Bogaerts, Evelien Van Roie, Steven Boonen, and Christophe Delecluse. 2013. “Long-Term Impact of Strength Training on Muscle Strength Characteristics in Older Adults.” Journal Article. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation* 94 (11): 2054–60. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.apmr.2013.06.018>.
- Schoenfeld, B. J., B. Contreras, J. Krieger, J. Grgic, K. Delcastillo, R. Belliard, and A. Alto. 2019. “Resistance Training Volume Enhances Muscle Hypertrophy but Not Strength in Trained Men.” Journal Article. *Med Sci Sports Exerc* 51 (1): 94–103. <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000001764>.

- Tranøy, Knut Erik. 2021. “Induksjon (Filosofi).” Encyclopedia. [https://snl.no/induksjon\\_-\\_filosofi](https://snl.no/induksjon_-_filosofi).
- Westcott, W. L. 2012. “Resistance Training Is Medicine: Effects of Strength Training on Health.” Journal Article. *Curr Sports Med Rep* 11 (4): 209–16. <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31825dabb8>.