

J. C. Bruusgaard, Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining /J. C. Bruusgaard, I. B. Johansen, I. M. Egner, Z. A. Rana, and K. Gundersen// PNAS, V104/–N34.– 2010.– P.15111-15116

Миоядра приобретенные после силовой тренировки предшествуют гипертрофии и не теряются после прекращения тренировки

РЕЗЮМЕ

Эффект от предыдущих силовых тренировок может быть достаточно длительным, даже после большого перерыва в тренировках, что значительно облегчает последующую тренировку. Традиционно «мышечная память» была отнесена к нейронным факторам из-за отсутствия любых выявленных механизмов локальной памяти в мышечной ткани. Мы использовали методы визуализации для того, чтобы «вживую» изучать миоядра (ядра мышечных волокон), принадлежащие различным мышечным волокнам и заметили, что появление новых миоядер предшествует любому увеличению размеров мышц вследствие силовой тренировки с большими отягощениями. Старые и вновь приобретенные ядра сохраняются даже при сильной атрофии, возникающей при денервации в течение значительного периода жизни животного. Кажется, что миоядра защищены от апоптоза, возникающего в неактивной мышечной ткани. Гипертрофия, ведет к существенному повышению числа миоядер и тормозит проявления атрофии, а ядра могут служить в качестве субстрата для длительной биологической памяти клеток. В связи с тем, что способность увеличивать количество миоядер нарушается в пожилом возрасте, люди могут извлечь выгоду из силовых тренировок в раннем возрасте, и анаболические стероиды способствуют большему количеству миоядер, поэтому постоянство количества ядер может иметь последствия для исключения периодов после принятия допинга.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

атрофия мышц, мышечная память, ядра мышечных волокон, гипертрофия мышц, апоптоз

ВВЕДЕНИЕ

Люди, занимающиеся силовой тренировкой очень быстро наращивают силу после ее прекращения и последующего возобновления (1, 2). Это явление уже окрестили «мышечной памятью». Так как до настоящего времени не был известен механизм памяти в мышечных волокнах, то на сегодняшний день этот феномен был отнесен к последствиям предыдущего моторного обучения в центральной нервной системе (3). Тем не менее, было сообщено, что мышцы могут оставаться гипертрофированными после нескольких месяцев прекращения тренировки (1, 4-8). В одном из исследований на пожилых людях, которые ранее тренировались, сила была еще на 9-14 % выше, даже после 2 лет отсутствия тренировок (7). Во время 30-32 недель отсутствия тренировок, группа женщин потеряла значительную часть дополнительной силы, полученной за 20 недель предыдущей тренировки, но восстановила уровень силы уже после 6 недель последующей тренировки (1). Это говорит о наличии локального механизма памяти в мышцах. Полученные данные объясняют этот феномен за счет изменения citoархитектурных особенностей мышц после тренировки и гипертрофии, даже после последующего длительного бездействия.

Более чем 100 лет назад было высказано предположение, что ядро может поддерживать только определенный объем цитоплазмы (9-19). Мышечные клетки могут быть на пять порядков больше, чем одноядерные клетки и мышечные волокна являются одним из очень немногих типов многоядерных клеток у позвоночных (18). Когда мышечные волокна увеличиваются в размерах, предполагается, что увеличение количества ядер происходит за счет

митоза и последующего слияния мышечных стволовых клеток и мышечных волокон, а при атрофии «избыток» миоядер удаляется селективным апоптозом некоторых ядер (20, 21). Такие механизмы должны были бы поддерживать постоянство размера цитоплазматического мионуклеарного домена. Последние данные с использованием методов покадровой визуализации в естественных условиях поставили под сомнение эту простую модель, потому что было показано, что во время атрофии сохраняется количество миоядер, соответствующее норме (22). Это становится возможным потому, что в гипертрофированных мышцах ядра, которые претерпели митоз, при бездействии склонны к апоптозу (23). Полученные данные показывают, что новые миоядра появившиеся после тренировок с большими отягощениями сохраняются не менее трех месяцев после денервации мышцы. Это изменение количества миоядер может быть основой «мышечной памяти».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Появление новых миоядер предшествует гипертрофии

Мышца *extensor digitorum longus* (EDL) была перегружена за счет частичной ампутации основных синергистов (день 0), а ядра отдельных мышечных волокон были визуализированы у интактного животного путем введения меченых нуклеотидов на 1-21 дней после ампутации (рис. 1А). Количество ядер и площадь поперечного сечения (CSA) были определены при наблюдении в микроскоп дистальной части каждого волокна. Во время 21 - дневного периода , CSA увеличился на 35 % по сравнению с началом тренировок с 1474 ± 93 мкм² до 1991 ± 150 мкм², в то время как количество миоядер повысилось на 54% (с $41 \pm 1,5$ ядер/мм длины волокна до $63 \pm 2,3$ ядер/мм длина волокна), рис.1А. Количество ядер начало расти после шести дней и стабилизировалось после 11 дней. Это предшествовало увеличению

поперечного сечения мышцы, которое начало увеличиваться только через девять дней и стабилизировалось через 14 дней (рис. 1В). Эта последовательность была подтверждена на отдельных волокнах путем расчета цитоплазматического объема, приходящегося на одно ядро для каждого волокна. Этот объем снизился на 16 % с $33749 \pm 1457 \text{ мкм}^3$ в первые три дня (0-3 дней) после перегрузки до $28360 \pm 956 \text{ мкм}^3$ на 6-10 день после перегрузки ($P \leq 0,01$). Средний объем ($31235 \pm 1476 \text{ мкм}^3$) оказался ниже, но не было статистически значимых отличий от контрольной группы на 12-21 день после перегрузки.

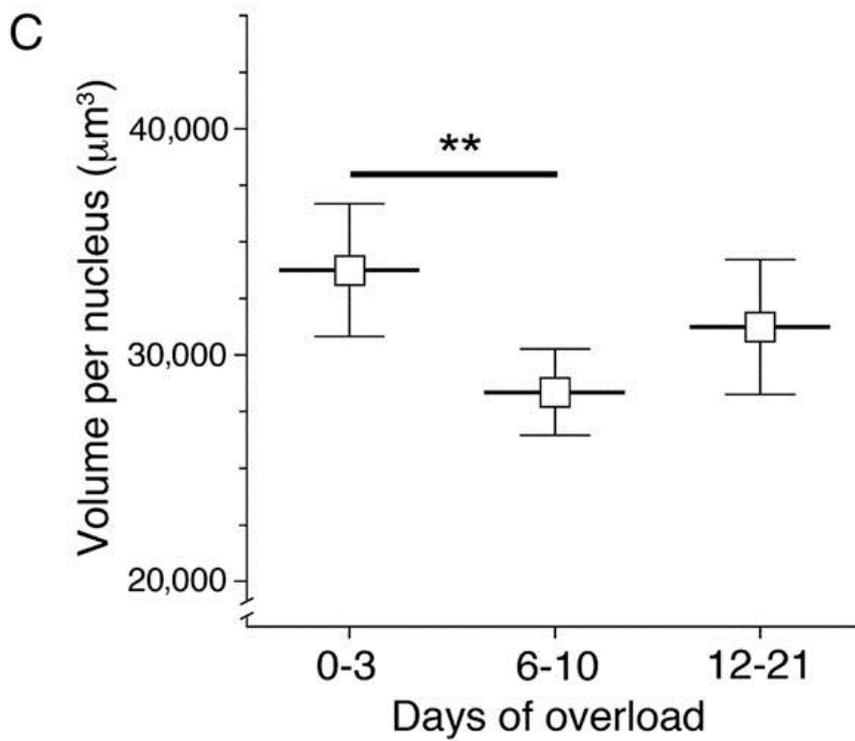
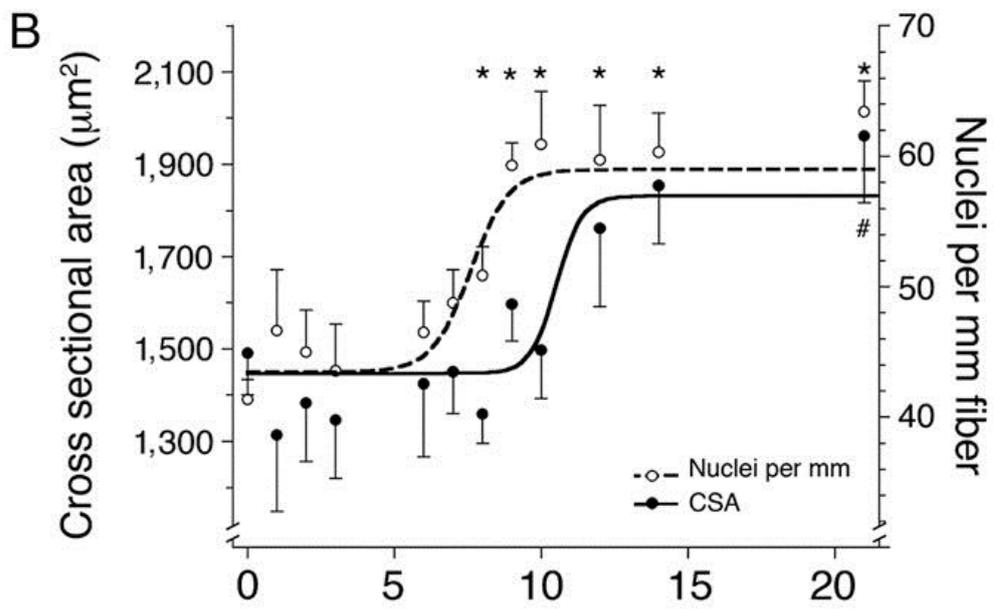
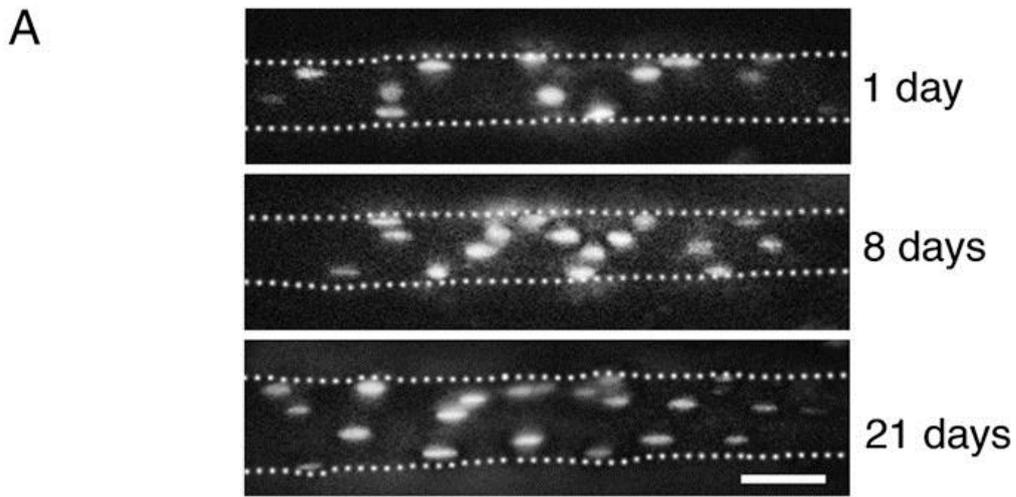


Рис 1. Влияние перегрузки на объем мышечного волокна и количество мио ядер изученное в естественных условиях.

(А) Фотография мышечных волокон после перегрузки. Ядра помечены флуоресцентными олигонуклеотидами. Иллюстрации объединены в стеки изображений из различных фокальных плоскостей (Шкала:– 50 мкм).

*(В) Кол-во ядер на миллиметр и площадь поперечного сечения (CSA). Каждая точка данных представляет 5-24 волокон от 36 животных. Символы представляют собой $M \pm m$. Нелинейная зависимость в виде сигмовидной кривой, описывающей «доза-реакция» была использована для описания увеличения поперечного сечения (CSA) и количества ядер на миллиметр, в результате чего $R^2 = 0,13$ и $R^2 = 0,29$, соответственно. * Количество ядер на миллиметр CSA значительно отличается от начала эксперимента (день 0), $P < 0,05$.*

*(С) Миоядерные домены. Каждый символ представляет собой время группы и рассчитывается от установленных в В данных **– статистические различия между измеренным временем групп ($P < 0,01$).*

Повышенное количество ядер сохранялось во время последующего отдыха.

В отдельной серии экспериментов перегрузка сохранялась в течение 14 дней. При этом количество ядер увеличилось на 37% с $49 \pm 1,8$ ядер/мм до $67 \pm 2,4$ ядер/мм, площадь поперечного сечения мышцы (CSA) увеличилась на 35 % с 1018 ± 73 мкм² до 1379 ± 78 мкм² (рис. 2). В параллельной группе животных, мышца была денервирована течение 14 дней. В течение этого периода, площадь поперечного сечения мышцы уменьшилась на 555 ± 48 мкм², то есть на 40% от наибольшего значения. Несмотря на атрофию, число ядер существенно не понизилось (рис. 2). Небольшое незначительное снижение количества ядер в денервированных мышцах было похоже на тенденцию в

мышцах, которые не были задействованы вследствие удаления синергиста в течение 35 дней (рис. 2, б, ▲).

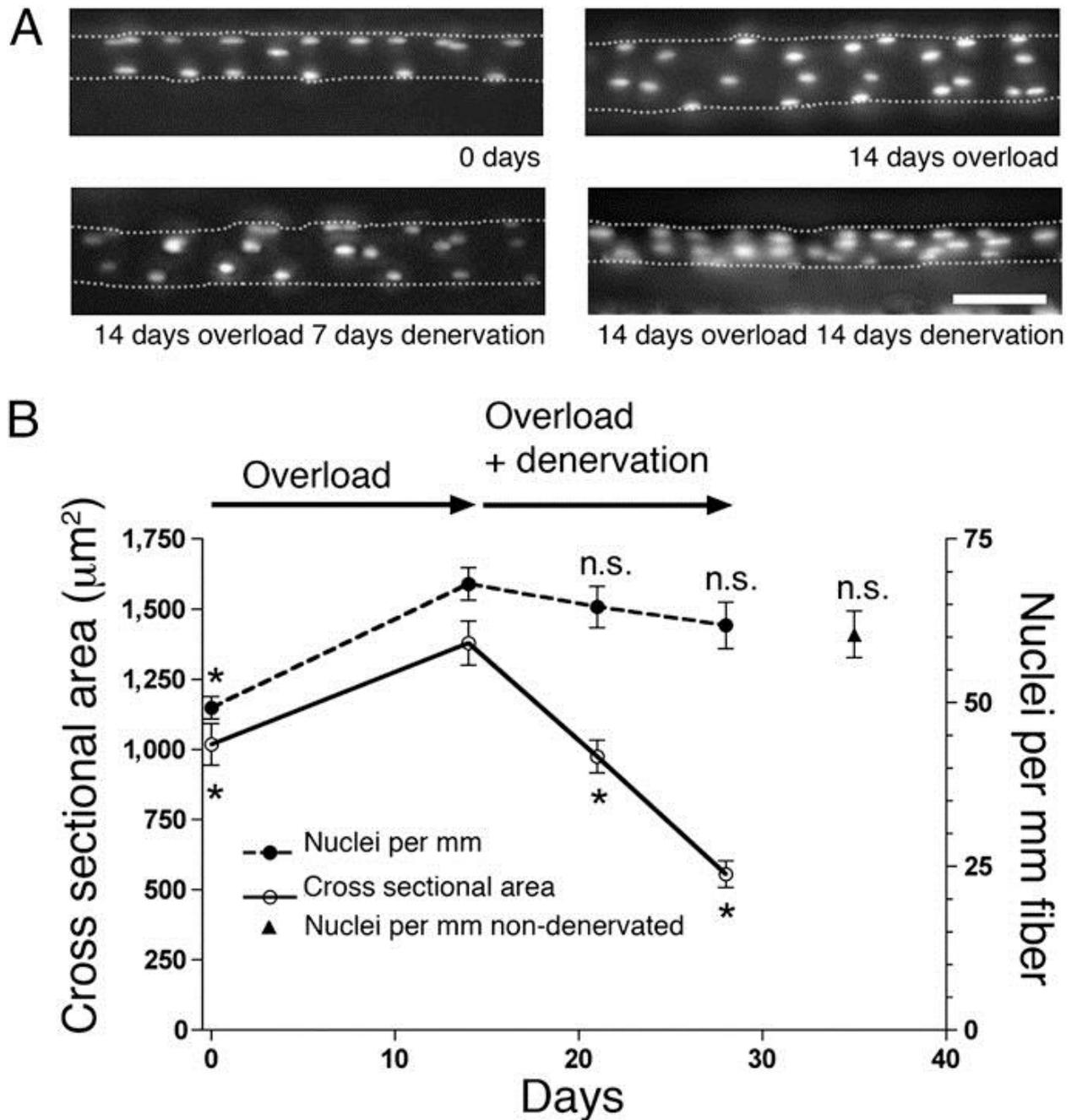


Рисунок 2 .Изучение в естественных условиях влияния денервации перегруженных мышц.

(А) Микрофотографии волокон после перегрузки и последующей денервации. Ядра помечены флуоресцентными олигонуклеотидами. Представленные иллюстрации объединены в стеки изображений из различных координатных плоскостей (шкала 50 мкм).

*(B) Количественный анализ ядер на миллиметр длины волокна и CSA одиночных волокон после денервации гипертрофированной мышцы. Каждая точка данных представляет собой среднее \pm SEM ($n = 23-35$ волокон от шести до восьми животных). Был удален синергист, денервированных мышц не было в течение 35 дней (\blacktriangle). * Различия статистически значимы ($p < 0,05$). нс – незначительное отличие после 14 дней перегрузки.*

Небольшой диаметр волокон, которые были денервированны, в долгосрочной перспективе исключает внутриклеточные инъекции, и мы вынуждены были прибегнуть к модели естественных условий в третьей серии экспериментов. Мышцы также были перегружены в течение 14 дней, а затем денервированны в течение 3 мес. Мышцы были зафиксированы и были подсчитано количество ядер, которые были механически и химически изолированы. Как и в естественных условиях, перегрузка привела к увеличению числа ядер (рис. 3а) и поперечного сечения CSA (рис. 3В). Количество ядер, наблюдаемых после 3 месяцев денервации, незначительно отличалось от такового значения в перегруженных мышцах до денервации, но было значительно выше, чем в денервированных мышцах, не подвергшихся перегрузке ($P \leq 0,001$). Количество ядер не уменьшилось, несмотря на то, что значение медианы (почти то же, что среднее значение) CSA снизилось на 23 % от значений после перегрузки. Таким образом, мы приходим к выводу, что перегрузка приводит к прочному увеличению числа ядер, и их количество не уменьшается, несмотря на последующее неиспользование, продолжающееся на большую часть жизни мышцы ≈ 2 года. Обнаружено небольшое увеличение количества ядер после денервации, но это может приводить к снижению длины волокна после длительной денервации.

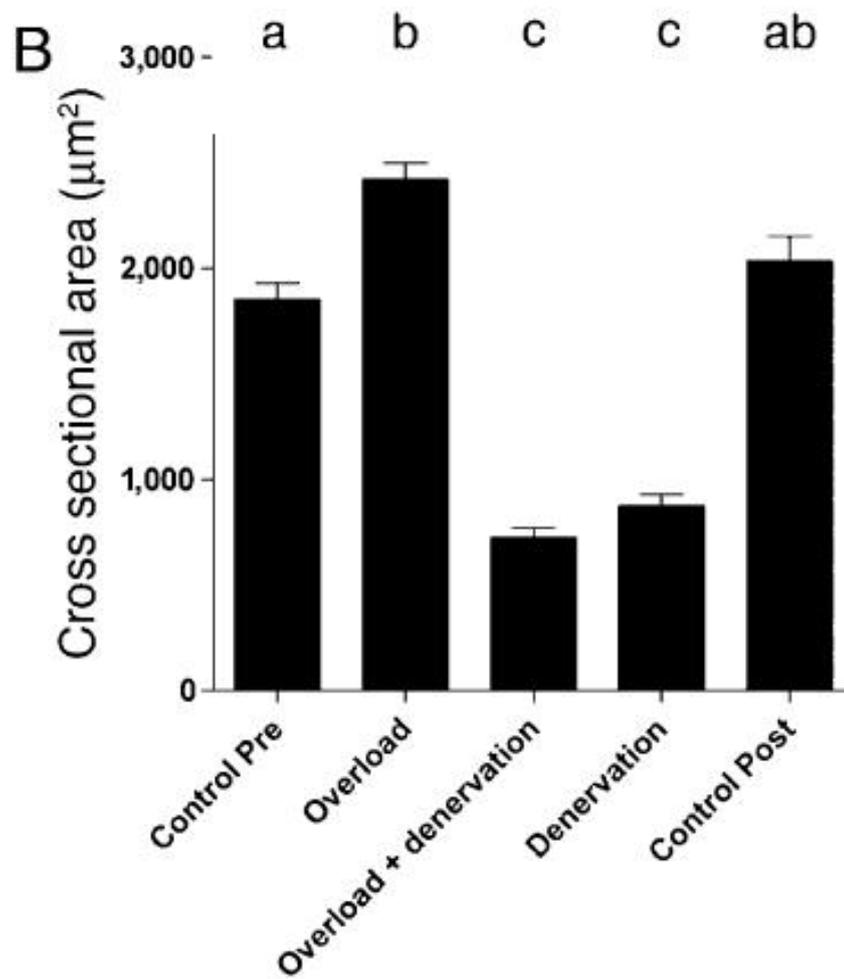
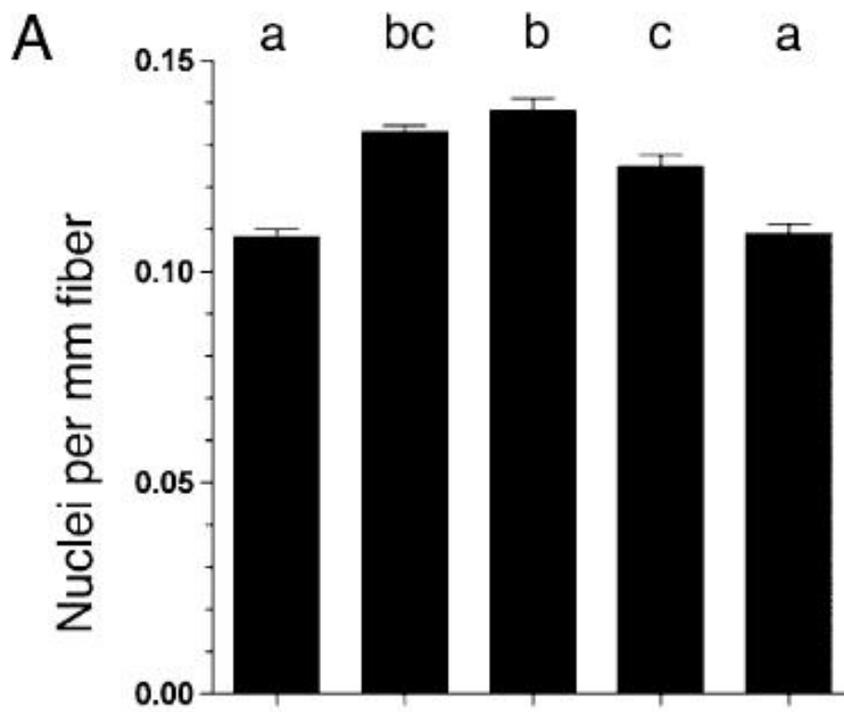


Рис 3. Влияние долгосрочной денервации на перегруженные мышцы, изученные в естественных условиях. Количество подсчитанных ядер (А) и CSA, измеренных на изолированных EDL мышечных волокнах (В); взятых из мышцы до наступления перегрузки (предварительный контроль), после 14 дней перегрузки (перегрузка), после 14 дней перегрузки и последующих 2 месяцев денервации (перегрузка + денервация), после 3 месяцев денервации (денервация), и от обычных мышц из той же партии животных, которые не были подвергнуты эксперименты (контрольная группа). Каждый столбец соответствует средней \pm SEM из 134-378 волокон. Столбцы, которые были статистически неразличимы ($P > 0,05$) отмечены на ту же букву.

Денервация мышцы индуцирует апоптоз не только старых, но и вновь приобретенных миоядер.

Ранее предполагалось, что вновь приобретенные ядра в гипертрофированных мышцах особенно подвержены апоптозу (23). Поэтому мы исследовали апоптоз на участках денервированной мышцы с использованием строгих критериев для идентификации миоядер. Мы окрасили участки мышцы для выявления дистрофина, и считали только те ядра, которые имели в их геометрическом центре внутри дистрофиновое кольцо. Эти ядра считались миоядрами.

На участках произошло восьмикратное увеличение количества TUNEL - положительных ядер на 14 день после денервации (от $1,3 \pm 0,4$ до $11,8 \pm 2,7$ ядер на участок. рис 4). Тем не менее, хотя около 15000 миоядер были показаны в 7 и 14 дней денервации, только по одному критерию классифицировался апоптоз миоядер. Таким образом, хотя и было резкое увеличение апоптоза в связи с денервацией этих мышц, старые и вновь приобретенные миоядра, казалось, были исключены из этого процесса. Это соответствует нашим наблюдениям, что миоядра, приобретенные в ходе гипертрофии не исчезали из-за неупотребления.

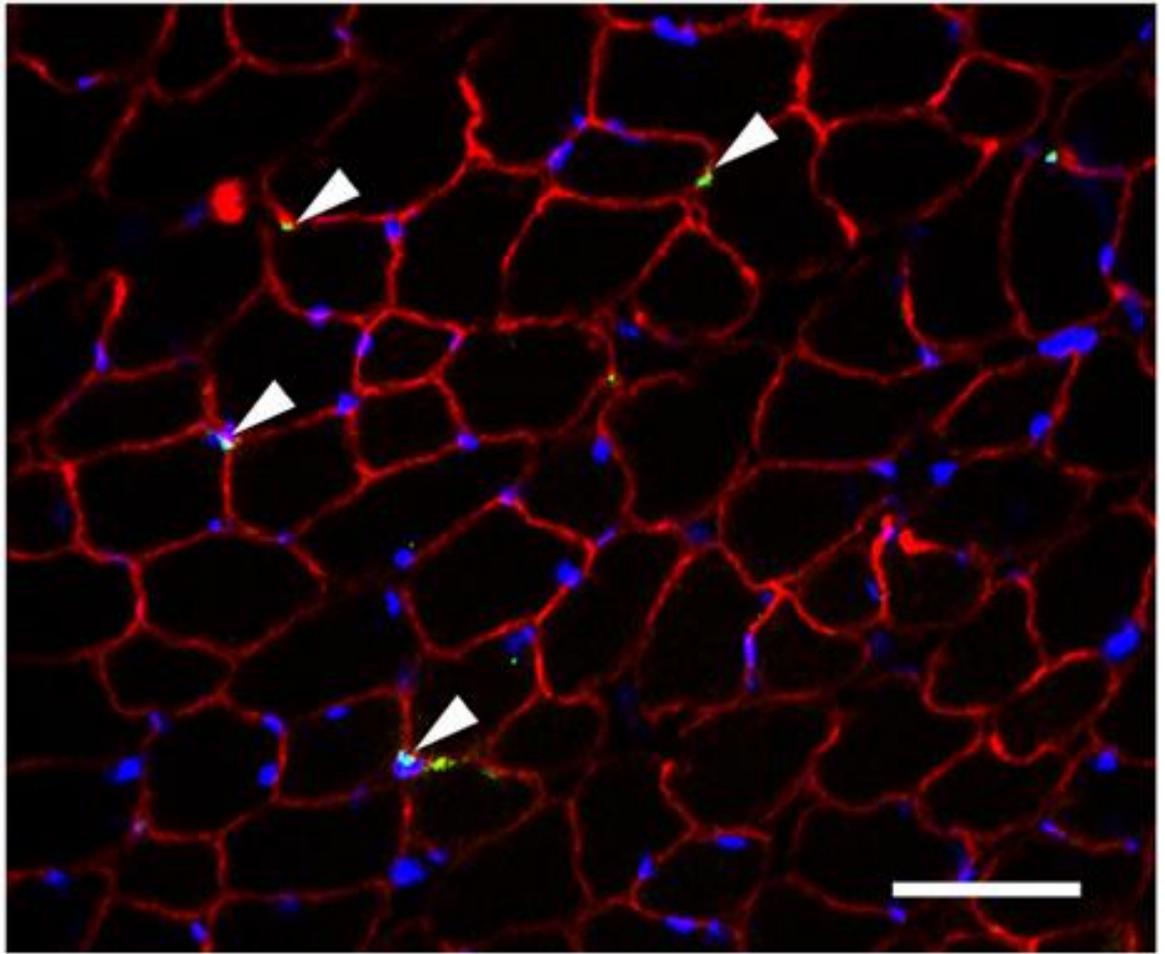
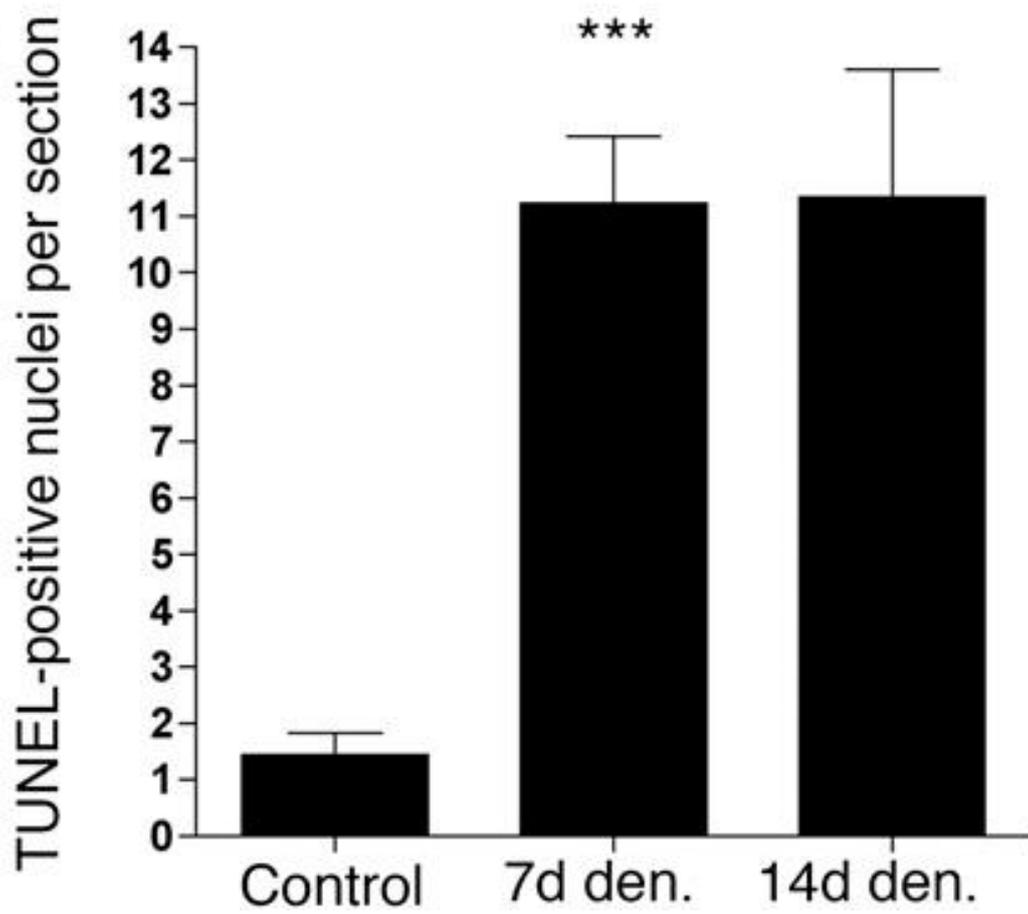
A**B**

Рис 4. Апоптоз в гипертрофированной мышце после денервации (Den.). (А) – трехкратное окрашивание Hoechst 33342 (голубой, TUNEL (зеленый) и антителами против дистрофина (красный). Обратите внимание, что все ядра, подвергшиеся апоптозу (стрелки) находятся за пределами мышечных клеток, поэтому, это или клетки-сателлиты или клетки стромы. (Шкала: 50 мкм)

*(В) Количество TUNEL -позитивных ядер на участке. Каждая точка столбца соответствует средней \pm SEM ($n = 5-8$ участков из четырех мышц). *** Статистическая значимость ($p < 0,0001$).*

Оценивая окрашивание TUNEL, следует иметь в виду, что время, в течение которого могли бы быть обнаружены ядра, составляет 2 часа (24). Таким образом, в апоптозной ткани в любой данный момент времени, только несколько ядер может находиться в таком состоянии, что могут быть помечены TUNEL. Если одно (0,007%) из 15000 миоядер, подвергнутых апоптозу, принимается как значимое, то это означало бы, что из накопленных в течение 14 дней миоядер, только 1% от будет потерян в результате апоптоза (метод расчета, описан в ссылка 22).

Предыдущая гипертрофия противодействует атрофии неиспользования.

Если гипертрофическая тренировка приводит к большему количеству миоядер, это может быть условием для долгосрочного преимущества, даже если гипертрофический стимул исчезает. Это преимущество может проявляться как устойчивость к отсутствию тренировки и связанной с ней атрофией и эффективный отклик на последующую тренировку. Мы воспользовались моделью перегрузки на крысах. Исследования облучения показывают, что активация клеток-сателлитов является необходимым условием для гипертро-

фии (25) и гипертрофия развивается весьма медленно, так что добавление ядер и увеличение волокна можно отделить друг от друга (25, 26). Чтобы исключить влияние типа волокон изучались только мышечные волокна IIb типа (рис. 5a). После 14 дней перегрузки количество миоядер на одно волокно было увеличено на 30% ($P < 0,0001$; рис 5B). В то время как в среднем, площадь поперечного сечения увеличилась недостоверно на 16 % (рис. 5C). Впоследствии оба типа: контрольные и перегруженные мышцы были денервированы. После двух недель неиспользования мышцы в обеих группах были атрофированы, но в группе, где мышцы были ранее перегружены, атрофия была меньше. К концу эксперимента площадь поперечного сечения у перегруженных мышц была на 33% больше, чем у мышц, не испытывающих перегрузки (рис. 5C).

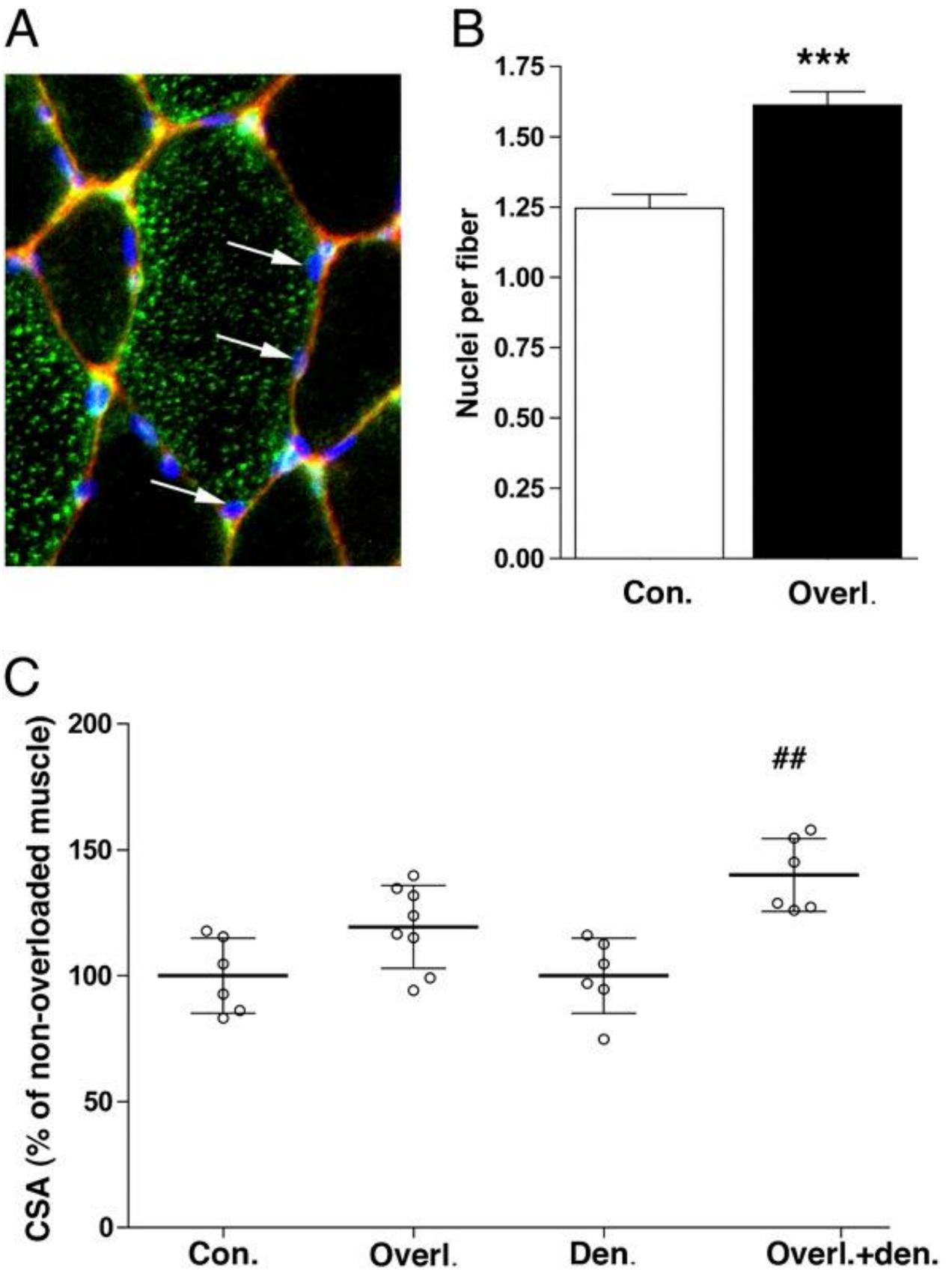


Рисунок 5. Предыдущая гипертрофическая тренировка замедляет атрофию, возникающую при денервации мышцы

(A) Микрофотография окрашенного волокна, миозин тяжелой цепи IIb (зеленый), дистрофин (красный), и ядра (синий). Стрелками указаны миоядра, которые определяются наличием в центре пятна Hoechst в пределах дистрофинового кольца.

*(B) количество ядер в мышечных волокнах IIb типа в нормальной (Con.) и перегруженной (Overl) мышцах. *** Статистическая значимость ($p < 0,0001$).*

(C) размер мышечного волокна в перегруженных мышцах в течение 14 дней (Overl.), в мышцах контрольной группы (Con.) и в перегруженных 14 дней мышцах, которые были затем денервированы в течение 14 дней (Overl. + ден.) относительно мышц денервированных в течение 14 дней (Den.). # # Статистическая значимость от денервированных мышц ($P < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы показали, что увеличению размера волокон при гипертрофии перегрузкой предшествует увеличение количества ядер, таким образом, что увеличение размера мышечных волокон может быть причинно связано с более высокой общей мощностью синтеза белка от большего количества миоядер. Увеличение ядер, кажется, достаточно устойчивое и не зависит от существующей гипертрофии, потому что даже в сильно атрофированных волокнах поддерживалось повышенное количество миоядер после трех месяцев денервации.

Наши данные не подтверждают простую парадигму о постоянном объеме мионуклеарного домена, в котором ядра приобретаются посредством гипертрофии, а затем теряются во время атрофии. Таким образом, мы хотели бы предложить другую модель (рис. 6), в котором мышечные волокна, не подвергшиеся тренировке, приобретают новые ядра при «первом тренировочном маршруте». Эти вновь приобретенные ядра причинно связаны с последующим увеличением волокна, например, потому что ограничения в син-

тетической способности для каждого ядра может быть слишком мало, чтобы поддерживать большой домен без увеличения их количества. При последующем отсутствии тренировки мышечные волокна поддерживают повышенное число ядер, которые могут предоставлять сопротивление атрофии. При последующей тренировке прирост размера волокон может возрастать из-за умеренной скорости синтеза белка каждого из этих многих ядер, пропуская стадию добавления вновь образованных ядер. Это может способствовать относительной легкости переподготовки одним индивидуумам по сравнению с другими индивидуумами, которые начинают тренировку впервые.

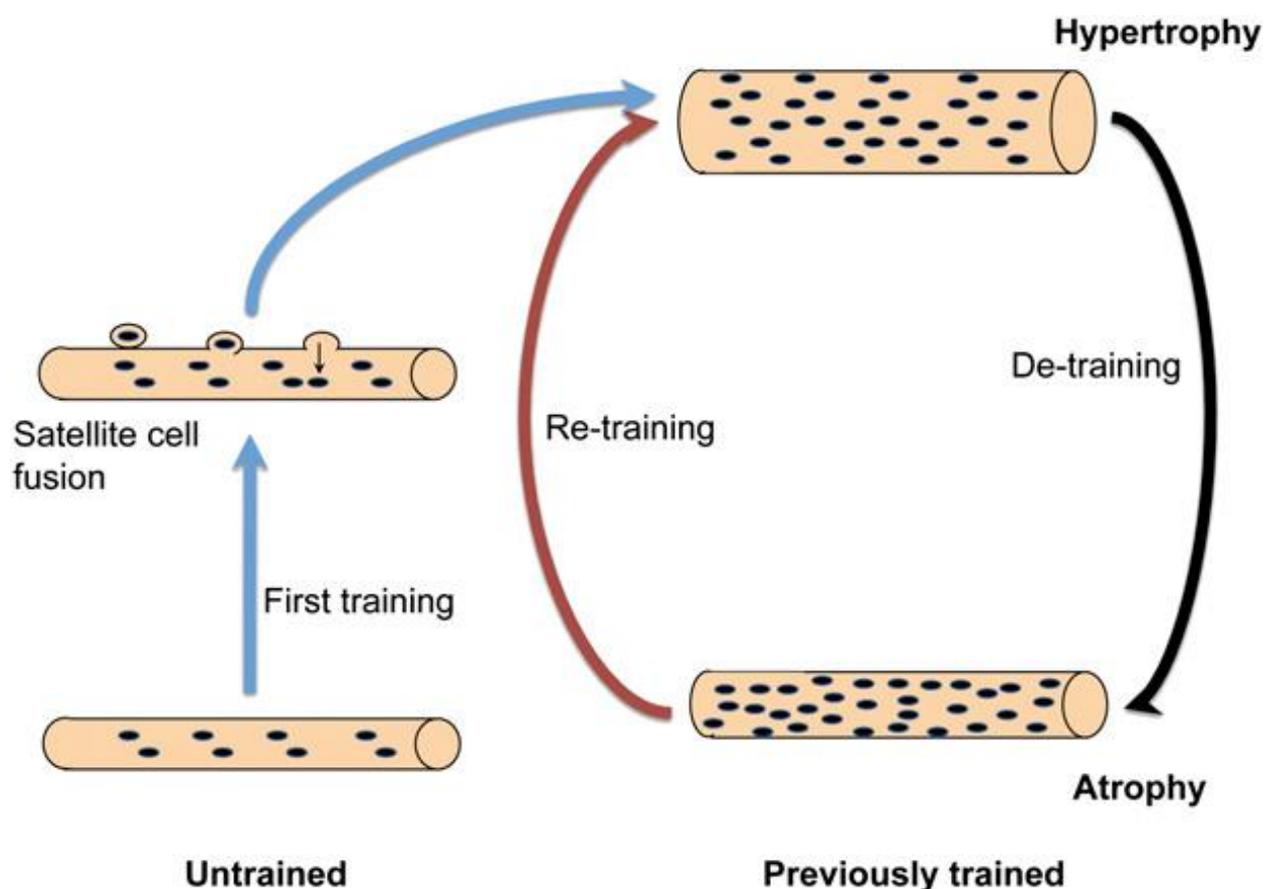


Рисунок 6. Модель, объясняющая зависимость между размером мышц и количеством миоядер. В этой модели, миоядра являются постоянными. Ранее нетренированные мышцы приобретают вновь образованные ядра путем слияния клеток-сателлитов, предшествующих гипертрофии. После прекращения тренировки возникает атрофия, но миоядра не теряются. Увеличение количества ядер в мышечных волокнах, предшествующих гипер-

трофии является механизмом мышечной памяти, объясняя длительные последствия тренировки и легкость, с которой ранее тренированные лица легко снова достигают успехов в тренировке.

Гипотеза о том, что количество миоядер может устойчиво увеличиваться после эпизодической силовой тренировки может иметь последствия для населения, которое использует силовую тренировку для увеличения продолжительности жизни. Мышечная слабость у пожилых людей является серьезной проблемой здравоохранения (27, 28), и гипертрофия, индуцируемая перегрузкой значительно ослабляется у старых животных (29, 30). Количество миоядер может быть ограничивающим фактором (19). Показано, что активация клеток-сателлитов нарушается у пожилых людей (31). Вероятно, это связано с сокращением Notch-сигнализации между клетками (32, 33). Наши результаты показывают, что может быть выгодно «завалить» мышечные волокна ядрами посредством упражнений перед старением. Как было показано, анаболические стероиды увеличивают количество ядер (34, 35), таким образом, выгода от использования стероидов может быть постоянной, если, однако, не считать это как допинг-преступление.

Источником вновь приобретенных ядер во время «начала тренировки» скорее всего, являются клетки-сателлиты (36-38). Наш подход позволил выяснить, что наиболее интенсивный прирост происходит в течение 6-9 дней после введения перегрузки, и это согласуется с предыдущими наблюдениями о том, что гипертрофические стимулы инициируют митоз клеток-сателлитов до этого периода времени (39-41). Увеличение общего белкового синтеза (как и деградации белка) уже было обнаружено через несколько часов после введения гипертрофических стимулов (42-45), в том числе путем моделей гипертрофии, подобных нашей (46, 47). Именно это привело к предположению, что увеличение объема связано с увеличением синтетической способности ядер. И это предшествует появлению дополнительных ядер. В наших экспе-

риментах, размер миоядерного домена был снижен во время фазы роста и остается пониженным, по крайней мере, в течение 12 дней. Даже если предположить, что синтез белка в ядре повышается во время ранней гипертрофии, этот механизм не является основным фактором увеличения размера мышечного волокна. Наши результаты показывают, что увеличение количества ядер является основной причиной гипертрофии.

Они, однако, не исключают, что гипертрофия, может возникать без добавления вновь образованных ядер, например, в экспериментальных условиях, в которых клетки-сателлиты уничтожаются, то есть в таких, как обсуждались недавно (48-59).

Alway с коллегами (23) проведен эксперимент, аналогичный нашему, когда они изучали влияние разгрузки на ранее перегруженные мышцы перепелов. Объединив BrdU окрашивание и окрашивание TUNEL, они показали, что ядра мышечной ткани, перенесшие митоз во время гипертрофии были особенно склонны к апоптозу. На основе этого наблюдения они предположили, что гипертрофия вызывает другую и менее стабильную популяцию миоядер. Этот вывод, кажется, находится в противоречии с нашими выводами, но в большинстве их экспериментов, не было сделано никаких различий между миоядрами и другими ядрами в мышечных тканях. Был приведен только один пример апоптоза ядра внутри коркового слоя дистрофина, не сообщалось также о частоте апоптоза в идентифицированных более доступных миоядрах. В дополнении к настоящему исследованию по отсутствию тренировки, несколько исследований по атрофии теперь не смогут продемонстрировать потерю ядер или миоядерного апоптоз (22 , 60, 61). Учитывая методологические ограничения результатов, полученных посредством обычных гистологических методов (61), в настоящее время нет убедительных доказательств того, что из интактных мышечных волокон никогда не были потеряны ядра.

Материалы и методы

Эксперименты на животных. Исследования проводились в Морском медицинском научно-исследовательском институте (NMRI). Были исследованы самки мышей весом 20-30 г. Эти данные представлены на рисунке 5. В остальных случаях изучались самцы крыс весом 270-370 г. Эксперименты на животных были утверждены были проведены в соответствии с Норвежским законом о защите животных от 20 декабря 1975 года.

Далее идет подробное описание всех экспериментальных методик: обезболивания, перегрузки, денервации, окрашивания и т.д).

Статистика. Эффекты отсутствия тренировки на популяцию ядер были протестированы ANOVA и теста Бонферрони для множественных сравнений. Числа даны как среднее \pm SEM, если не указано иное.

Благодарности Мы благодарны членам нашей группы за ценные замечания по рукописи и Т.К. Larsen по оказанию технической помощи. Это исследование было поддержано Норвежскими грантами 191730 и 182 717 исследований Совета и антидопинговой Норвегии.

Электронная почта: kgunder@imbv.uio.no

Эта статья представляет собой PNAS прямого подчинения. Свободно доступна в Интернете через опцию открытого доступа PNAS .

REFERENCES

1. Staron RS, et al. (1991) Strength and skeletal muscle adaptations in heavy-resistance-trained women after detraining and retraining. *J Appl. Physiol* 70:631–640. Abstract/FREE Full Text
2. Taaffe DR, Marcus R (1997) Dynamic muscle strength alterations to detraining and retraining in elderly men. *Clin Physiol* 17:311–324. Medline Web of Science
3. Rutherford OM, Jones DA (1986) The role of learning and coordination in strength training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55:100–105. Medline Web of Science
4. MacDougall JD, Elder GC, Sale DG, Moroz JR, Sutton JR (1980) Effects of strength training and immobilization on human muscle fibres. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 43:25–34. CrossRef Medline Web of Science
5. Houston ME, Froese EA, Valeriote SP, Green HJ, Ranney DA (1983) Muscle performance, morphology and metabolic capacity during strength training

and detraining: A one leg model. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 51:25–35. CrossRef Medline Web of Science

6. Ivey FM, et al. (2000) Effects of strength training and detraining on muscle quality: Age and gender comparisons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 55:B152–B157, discussion B158–B159. Abstract/FREE Full Text

7. Smith K, Winegard K, Hicks AL, McCartney N (2003) Two years of resistance training in older men and women: The effects of three years of detraining on the retention of dynamic strength. *Can J Appl Physiol* 28:462–474. Medline Web of Science

8. Harris C, DeBeliso M, Adams KJ, Irmischer BS, Spitzer Gibson TA (2007) Detraining in the older adult: Effects of prior training intensity on strength retention. *J Strength Cond Res* 21:813–818. CrossRef Medline Web of Science

9. Strassburger E (1893) Über die Wirkungssphäre der Kerne und die Zellgröße. *Histologische Beiträge* 5:97–124. Search Google Scholar

10. Cavalier-Smith T (1978) Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *J Cell Sci* 34:247–278. Abstract

11. Cavalier-Smith T (1980) How selfish is DNA? *Nature* 285:617–618. CrossRef Medline

12. Merlie JP, Sanes JR (1985) Concentration of acetylcholine receptor mRNA in synaptic regions of adult muscle fibres. *Nature* 317:66–68. CrossRef Medline

13. Hall ZW, Ralston E (1989) Nuclear domains in muscle cells. *Cell* 59:771–772. CrossRef Medline Web of Science

14. Sanes JR, et al. (1991) Selective expression of an acetylcholine receptor-lacZ transgene in synaptic nuclei of adult muscle fibres. *Development* 113:1181–1191. Abstract

15. Ralston E, Hall ZW (1992) Restricted distribution of mRNA produced from a single nucleus in hybrid myotubes. *J Cell Biol* 119:1063–1068. Abstract/FREE Full Text

16. Gundersen K, Sanes JR, Merlie JP (1993) Neural regulation of muscle acetylcholine receptor epsilon- and alpha-subunit gene promoters in transgenic mice. *J Cell Biol* 123:1535–1544. Abstract/FREE Full Text

17. Gregory TR (2001) Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma. *Biol Rev Camb Philos Soc* 76:65–101. Medline

18. Bruusgaard JC, Liestøl K, Ekmark M, Kollstad K, Gundersen K (2003) Number and spatial distribution of nuclei in the muscle fibres of normal mice studied in vivo. *J Physiol* 551:467–478. Abstract/FREE Full Text

19. Bruusgaard JC, Liestøl K, Gundersen K (2006) Distribution of myonuclei and microtubules in live muscle fibers of young, middle-aged, and old mice. *J Appl Physiol* 100:2024–2030. Abstract/FREE Full Text

20. Alway SE, Siu PM (2008) Nuclear apoptosis contributes to sarcopenia. *Exerc Sport Sci Rev* 36:51–57. Medline Web of Science
21. Siu PM, Alway SE (2009) Response and adaptation of skeletal muscle to denervation stress: The role of apoptosis in muscle loss. *Front Biosci* 14:432–452. Medline Web of Science
22. Bruusgaard JC, Gundersen K (2008) In vivo time-lapse microscopy reveals no loss of murine myonuclei during weeks of muscle atrophy. *J Clin Invest* 118:1450–1457. CrossRef Medline Web of Science
23. Siu PM, Pistilli EE, Butler DC, Alway SE (2005) Aging influences cellular and molecular responses of apoptosis to skeletal muscle unloading. *Am J Physiol Cell Physiol* 288:C338–C349. Abstract/FREE Full Text
24. Saraste A, Pulkki K (2000) Morphologic and biochemical hallmarks of apoptosis. *Cardiovasc Res* 45:528–537. Abstract/FREE Full Text
25. Rosenblatt JD, Parry DJ (1992) Gamma irradiation prevents compensatory hypertrophy of overloaded mouse extensor digitorum longus muscle. *J Appl Physiol* 73:2538–2543. Abstract/FREE Full Text
26. Seiden D (1976) Quantitative analysis of muscle cell changes in compensatory hypertrophy and work-induced hypertrophy. *Am J Anat* 145:459–465. CrossRef Medline Web of Science
27. Hughes SM, Schiaffino S (1999) Control of muscle fibre size: A crucial factor in ageing. *Acta Physiol Scand* 167:307–312. CrossRef Medline Web of Science
28. Dutta C, Hadley EC (1995) The significance of sarcopenia in old age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 50(Spec No):1–4. Web of Science
29. Carson JA, Yamaguchi M, Alway SE (1995) Hypertrophy and proliferation of skeletal muscle fibers from aged quail. *J Appl Physiol* 78:293–299. Abstract/FREE Full Text
30. Alway SE, Degens H, Krishnamurthy G, Smith CA (2002) Potential role for Id myogenic repressors in apoptosis and attenuation of hypertrophy in muscles of aged rats. *Am J Physiol Cell Physiol* 283:C66–C76. Abstract/FREE Full Text
31. Schultz E, Lipton BH (1982) Skeletal muscle satellite cells: Changes in proliferation potential as a function of age. *Mech Ageing Dev* 20:377–383. CrossRef Medline Web of Science
32. Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM, Rando TA (2003) Notch-mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science* 302:1575–1577. Abstract/FREE Full Text
33. Conboy IM, Rando TA (2005) Aging, stem cells and tissue regeneration: Lessons from muscle. *Cell Cycle* 4:407–410. Medline Web of Science
34. Kadi F, Eriksson A, Holmner S, Thornell LE (1999) Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. *Med Sci Sports Exerc* 31:1528–1534. Medline Web of Science

35. Sinha-Hikim I, et al. (2002) Testosterone-induced increase in muscle size in healthy young men is associated with muscle fiber hypertrophy. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:E154–E164. Abstract/FREE Full Text
36. Moss FP, Leblond CP (1970) Nature of dividing nuclei in skeletal muscle of growing rats. *J Cell Biol* 44:459–462. FREE Full Text
37. Lipton BH, Schultz E (1979) Developmental fate of skeletal muscle satellite cells. *Science* 205:1292–1294. Abstract/FREE Full Text
38. Schiaffino S, Bormioli SP, Aloisi M (1976) The fate of newly formed satellite cells during compensatory muscle hypertrophy. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 21:113–118. Medline Web of Science
39. Schiaffino S, Bormioli SP, Aloisi M (1972) Cell proliferation in rat skeletal muscle during early stages of compensatory hypertrophy. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* 11:268–273. Medline
40. Winchester PK, Davis ME, Alway SE, Gonyea WJ (1991) Satellite cell activation in the stretch-enlarged anterior latissimus dorsi muscle of the adult quail. *Am J Physiol* 260:C206–C212. Medline Web of Science
41. Snow MH (1990) Satellite cell response in rat soleus muscle undergoing hypertrophy due to surgical ablation of synergists. *Anat Rec* 227:437–446. CrossRef Medline
42. Smith RH, Palmer RM, Reeds PJ (1983) Protein synthesis in isolated rabbit forelimb muscles. The possible role of metabolites of arachidonic acid in the response to intermittent stretching. *Biochem J* 214:153–161. Medline Web of Science
43. MacDougall JD, et al. (1995) The time course for elevated muscle protein synthesis following heavy resistance exercise. *Can J Appl Physiol* 20:480–486. Medline
44. Goldspink DF, et al. (1995) Muscle growth in response to mechanical stimuli. *Am J Physiol* 268:E288–E297. Medline Web of Science
45. Chen YW, et al. (2002) Response of rat muscle to acute resistance exercise defined by transcriptional and translational profiling. *J Physiol* 545:27–41. Abstract/FREE Full Text
46. Laurent GJ, Sparrow MP, Millward DJ (1978) Turnover of muscle protein in the fowl. Changes in rates of protein synthesis and breakdown during hypertrophy of the anterior and posterior latissimus dorsi muscles. *Biochem J* 176:407–417. Medline Web of Science
47. Goldspink DF, Garlick PJ, McNurlan MA (1983) Protein turnover measured in vivo and in vitro in muscles undergoing compensatory growth and subsequent denervation atrophy. *Biochem J* 210:89–98. Medline Web of Science
48. O'Connor RS, Pavlath GK (2007) Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1099–1100. FREE Full Text

49. McCarthy JJ, Esser KA (2007) Counterpoint: Satellite cell addition is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1100–1102, discussion 1102–1103. FREE Full Text
50. O'Connor RS, Pavlath GK (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1102. FREE Full Text
51. McCarthy JJ, Esser KA (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1103. FREE Full Text
52. Mantilla CB, Sieck GC (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1104, (lett). FREE Full Text
53. Rehfeldt C (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1104, (lett). FREE Full Text
54. Hikida RS (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1104–1105, (lett). FREE Full Text
55. Booth FW (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1105, (lett). Medline Web of Science
56. Kadi F (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1105, (lett). Medline Web of Science
57. Bodine SC (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1105–1106, (lett). Medline Web of Science
58. Lowe DA (2007) In response to Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1106, (lett). Medline Web of Science
59. O'Connor RS, Pavlath GK, McCarthy JJ, Esser KA (2007) Last Word on Point:Counterpoint: Satellite cell addition is/is not obligatory for skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol* 103:1107, (lett). FREE Full Text
60. Wada KI, Takahashi H, Katsuta S, Soya H (2002) No decrease in myonuclear number after long-term denervation in mature mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 283:C484–C488. Abstract/FREE Full Text
61. Gundersen K, Bruusgaard JC (2008) Nuclear domains during muscle atrophy: Nuclei lost or paradigm lost? *J Physiol* 586:2675–2681. Abstract/FREE Full Text
62. Lichtman JW, Magrassi L, Purves D (1987) Visualization of neuromuscular junctions over periods of several months in living mice. *J Neurosci* 7:1215–1222. Abstract

63. Utvik JK, Njå A, Gundersen K (1999) DNA injection into single cells of intact mice. *Hum Gene Ther* 10:291–300. CrossRef Medline Web of Science
64. Wada KI, Katsuta S, Soya H (2003) Natural occurrence of myofiber cytoplasmic enlargement accompanied by decrease in myonuclear number. *Jpn J Physiol* 53:145–150. CrossRef Medline Web of Science

Перевод А.В.Самсоновой