

**PERIMÄN JA LIKUNTAHARJOITTELUN  
VAIKUTUS ULOMMAN REISILIHAKSEN  
LIHASSOLUTYYPPEIHIN JA  
KAPILLARISAATIOON**

Tanja Laine

Kandidaatintutkielma  
Liikuntafysiologia LFYA005  
Kevät 2008  
Liikuntabiologian laitos  
Jyväskylän yliopisto  
Työn ohjaajat: Antti Mero ja  
Riikka Kivelä

## TIIVISTELMÄ

**Laine, Tanja 2008. Perimän ja liikuntaharjoittelun vaikutus ulomman reisilihakseen lihassolutyyppeihin ja kapillarisaatioon. Liikuntafysiologian kandidaatin tutkielma. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, 34s.**

Tutkimuksissa on havaittu, että perimä vaikuttaa lihassolutyypin jakaumaan ja kapillariteettiin (Rico-Sanz ym. 2003). Monet tutkimukset ovat kuitenkin havainneet myös erityyppisten harjoitusten muokkaavan erityisesti II-tyyppin solujen jakaumaa (mm. Liu ym. 2002) ja kasvattavan kapillaarien määrää (mm. Zoladz ym. 2005). Tämän tutkimuksen tarkoituksena onkin selvittää, määrittääkö perimä vai liikunta-aktiivisuus enemmän ihmisen lihassolutyypijakaumaa ja kapillariteettia.

Koehenkilöinä oli 10 kaksosparia, joista toinen oli ollut merkittävästi toista aktiivisempi 30-vuoden seurantajakson aikana ( $MET_{ka}$  aktiivinen (A):  $11,4 \pm 3,0$  vs. inaktiivinen (I):  $2,0 \pm 1,9$ ,  $p < 0,001$ ). Koehenkilöiltä otettiin vastus lateralikselta lihasbiopsianäyte, josta analysoitiin ATPaasi värjäyksen perusteella viisi lihassolun alatyyppejä ja kapillaarit laskettiin immunohistokemiallisesta CD31-värjäyksestä. Lisäksi koehenkilöiltä mitattiin  $VO_{2max}$  epäsuoralla polkupyöräergometritestillä sekä kehonkoostumusta ja veren kolesterolipitoisuudet.

Saatujen tulosten perusteella kaksoset eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan lihassolujakauman tai  $mm^2$  kohden lasketun kapillaarimäärän suhteen. Sen sijaan tilastollisesti merkitseviä eroja saatiin kaksosparien rasvaprosenteissa (A:  $19,9 \pm 5,9$  % vs I:  $25,5 \pm 5,6$  %,  $p=0,019$ ), HDL-LDL -suhteessa (A:  $0,59 \pm 0,2$  vs I:  $0,46 \pm 0,15$ ,  $p=0,014$ ) ja  $VO_{2max}$ :ssä (A:  $33,6 \pm 5,2$  ml/kg/min vs. I:  $29,3 \pm 4,1$  ml/kg/min,  $p < 0,05$ ). Tilastollisesti merkitsevät korrelaatiot saatiin viskeraalisen rasvan ja HDL-LDL -suhteen välille ( $r=-0,73$ ,  $p < 0,001$ ) sekä viskeraalisen rasvan ja I-tyyppin solujen määrän välille ( $r=-0,46$ ,  $p=0,044$ ). Myös seurantajakson aikaisen aktiivisuuden keskiarvo ( $MET_{ka}$ ) ja  $VO_{2max}$ :n välinen korrelaatio oli tilastollisesti merkitsevä ( $r=0,52$ ,  $p=0,023$ ).

Tutkimuksen johtopäätöksenä on, että lihassolujen tyypit ja kapillaarien määrä ovat suurelta osin perimän määräämiä, eikä ainakaan yleisellä liikunnallisella aktiivisuudella voida niihin juuri vaikuttaa. Vaikka solutyypillä on yhteyttä mm. viskeraalisen rasvan määrään, on elintapojen ja liikuntaharjoittelun merkitys terveydelle kiistaton. Tämä näkyy mm. terveyden kannalta parempana kehonkoostumuksena ja kolesteroliarvoina sekä parantuneena hapenottokykyä.

Avainsanat: kapillaarit, lihassolut, perimä

# SISÄLTÖ

## TIIVISTELMÄ

1	JOHDANTO	4
2	KIRJALLISUUSKATSAUS	6
2.1	OMINAISUUKSIEN PERIYTYMINEN	6
2.1.1	Geenien periytyminen vanhemmilta	6
2.1.2	Geenien ilmeneminen	7
2.1.3	Fyysisen harjoittelun vaikutus geenien ilmenemiseen	7
2.2	LIHASSOLU	9
2.2.1	Luurankolihasen rakenne	9
2.2.2	Lihassolutyypit	10
2.2.3	Myosiinin raskasketjut	11
2.2.4	Lihassolujakauman perinnöllisyys	12
2.2.5	Fyysisenharjoittelun vaikutus lihassolujakaumaan	13
2.3	KAPILLAARIT	14
2.3.1	Kapillaarien rakenne ja tehtävät	14
2.3.2	Kapillaarien muodostus	16
2.3.3	Kapillaarien perinnöllisyys	17
2.3.4	Fyysisenharjoittelun vaikutus kapillarisaatioon	17
3	TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESIT	19
4	TUTKIMUSMENETELMÄT	20
4.1	Koehenkilöt	20
4.2	Koeasetelma	21
4.3	Aineiston keräys	21

4.4	Aineiston analysointi	22
4.4.1	Lihassolunäytteiden valmistelu	22
4.4.2	Lihaksen poikkipinta-alan määrittäminen	22
4.4.3	Lihassolutyypin määrittäminen	23
4.4.4	Kapillaarien määrittäminen	25
4.5	Tilastolliset menetelmät	25
5	TULOKSET	26
6	POHDINTA	29
	LÄHTEET	32

# 1 JOHDANTO

Lihassolujakaumalla on todettu olevan vaikutusta moniin terveydellisiin tekijöihin ja suorituskyykyyn. Esimerkiksi korkea I-tyyppin solujen osuus ennusti matalaa verenpainetta (Hernelahti ym. 2005) ja matala I-tyyppin solujen osuus taas ennusti lihavuutta ollen näin riskitekijä sydän- ja verisuonisairauksille (Karjalainen ym. 2006). Yhteyksiä suorituskyykyynkin on havaittu (Costill ym. 1976). Myös kapillaaritiheydellä on vaikutusta terveyteen ja suorituskyykyyn. Parantunut kestävyysuorituskyky aiheutuu osittain lisääntyneestä kapillaaritiheydestä (Andersen & Henriksson 1977) ja alhaisen aerobisen kestävyyskapasiteetin tiedetään toisaalta olevan yhteydessä mm. aineenvaihdunnallisten sairauksien ilmenemiseen (Wisloff ym. 2005).

Eri lajien harrastajilla on todettu selkeästi toisistaan poikkeavia lihassolujakaumia. Kestävyysurheilijoilla hitaat ja kestävät I-tyyppin lihassolut näyttäisivät olevan enemmistönä, kun taas nopeutta vaativien lajien harrastajilla on havaittu enemmän nopeita II-tyyppin soluja (mm. Gollnick ym. 1972). Harjoittelun on kuitenkin todettu vaikuttavan pääasiassa II-tyyppin lihassolujen alatyyppeihin (mm. Liu ym. 2002; Short ym. 2005; Kryger & Andersen 2007). Toisaalta myös perimällä on todettu olevan vaikutusta lihassolujakaumaan. Toisissa tutkimuksissa lihassolujakauman on todettu olevan lähes yksinomaan perimän määräämä (Komi ym. 1977), kun taas toisten tutkimusten mukaan perimän merkitys on vähäisempi (n. 45%: Simoneau & Bouchard 1995; Rico-Sanz ym. 2003).

Harjoitteleilla on todettu selkeästi suurempia kapillaaritiheyksiä kuin harjoittelemattomilla henkilöillä (Zoladz ym. 2005). Erityisesti kestävyysurjoittelu näyttäisi lisäävän kapillaaritiheyttä (Andersen & Henriksson 1977), mutta myös voimaharjoittelun on todettu lisäävän kapillaarien määrää (McCall ym. 1996). Kuitenkin myös perimä ja perheypäristö vaikuttavat merkittävästi lihasten kapillaareihin (Rico-Sanz ym. 2003).

Tämän tutkimuksen tarkoituksena onkin määrittää, missä määrin perimä ja toisaalta pitkäaikainen liikunta-aktiivisuus vaikuttavat ihmisen lihassolujakaumaan ja kapillaaritiheyteen.

## 2 KIRJALLISUUSKATSAUS

### 2.1 Ominaisuuksien periytyminen

#### 2.1.1 Geenien periytyminen vanhemmilta

Geneettinen koodi sisältää eliön ”rakennussuunnitelman” ja ihmisen genomilla tarkoitetaan siis ihmisen perinnöllisen informaation sisältävää DNA:ta. Kaksijuosteinen DNA on ihmisellä pakkautunut 23 kromosomipariksi eli yhteensä 46 kromosomiksi, jotka sijaitsevat solujen tumassa. Kromosomeista 22 paria on autosomeja (eli ei-sukupuolikromosomeja) ja kaksi kappaletta yksilön sukupuolen määrääviä sukupuolikromosomeja. Puolet genomistaan eli toisen kustakin kromosomiparistaan yksilö perii isältään (22 autosomia ja x tai y sukupuolikromosomi) ja puolet äidiltään (22 autosomia ja x kromosomi). (Rankinen & Bouchard 2005, s. 39-54).

Normaalissa solunjakautumisessa (mitoosi) syntyvät solut ovat täsmälleen samanlaisia emäsolun kanssa. Sen sijaan sukusolujen jakautuessa diploidinen kromosomiluku ( $2n$ ) puolittuu haploidiseksi ( $n$ ) ja syntyvissä uusissa sukusoluissa, gameeteissa, on siten vain yksi kappale kustakin kromosomiparista. Prosessia, jossa sukusolut syntyvät kutsutaan meioosiksi. Se sisältää kaksi solunjakautumista, jolloin syntyy yhteensä neljä sukusolua. Miehillä syntyy neljä elinkelpoista siittiötä, mutta naisilla vain yksi elinkelpoinen munasolu, koska kolme muuta surkastuvat. Meioosin ensimmäisessä vaiheessa kromosomiluku puolittuu, kun kustakin vastinkromosomiparista toinen menee toiseen ja toinen toiseen syntyvistä soluista. Meioosin toisessa vaiheessa syntyneet solut jakautuvat mitoosin kaltaisesti niin, että kumpikin kromatidirihma kaksinkertaisesta kromosomista siirtyy omiin soluihinsa. (Bouchard ym. 1997, s.15-21).

Meioosi sisältää kaksi tapahtumaa, joiden seurauksena erilaisten gameettien määrä on loputon. Tämän ansiosta kaikki ihmiset ovat yksilöitä, eikä kahta täysin samanlaista genomia ole (lukuun ottamatta homotsygotteja kaksosia). Ensinnäkin meioosin ensimmäisessä vaiheessa kromosomiparit jakautuvat täysin sattumanvaraisesti tytärsoluihin.

Lisäksi vastinkromosomien pariutuessa tapahtuu crossing-over:iksi kutsuttua geenien vaihdantaa vastinkromosomien geenien alleelien (samaa ominaisuutta koodaava geeni) välillä, mikä lisää geenien sattumanvaraisuutta syntyvissä sukusoluissa. Hedelmöityksessä äidiltä ja isältä tulleet sukusolut yhdistyvät ja syntyneissä soluissa on jälleen diploidinen kromosomiluku. Nämä solut (sukusolulinjaa lukuun ottamatta) jakautuvat mitoottisesti, jolloin kaikissa yksilön soluissa on sama geneettinen koodi. (Bouchard ym. 1997, s. 21-23).

### **2.1.2 Geenien ilmeneminen**

Geeni on perinnöllisyyden fyysinen ja toiminnallinen perusyksikkö. Se on DNA:n jakso, joka sisältää tiedon erilaisten proteiinien rakenteesta. Translaation ja transkription kautta rakennetaan proteiineja geenien ohjeiden mukaan, ja näin ne saavat aikaan ihmisen fenotyypin ja säätelevät monin tavoin kehon toimintaa. (Bouchard ym. 1997, s. 33-34).

Transkriptiossa aukaistu DNA-juoste kopioidaan tumassa lähetti-RNA:ksi. Lähetti-RNA siirtyy tumasta solulimaan, jossa se kiinnittyy ribosomeihin. Ribosomeilla tapahtuu translaatio, kun siirtäjä-RNA:t tuovat paikalle ohjeen mukaisia aminohappoja, jotka peptidisidoksella liitetään toisiinsa polypeptideiksi. Lopulta muokkauksen jälkeen polypeptidiketjusta muodostuu tarkoituksen mukainen proteiini. (Bouchard ym. 1997, s.27-29).

Geenien ilmenemistä säädellään monen eri mekanismin kautta. Pääasiassa säätely tapahtuu transkription tasolla, mutta jonkin verran myös translaatiossa. Näin saadaan muodostettua juuri tarvittava määrä tarvittavia proteiineja oikeassa paikassa. (Bouchard ym. 1997, s. 36). Vaikka jokainen solu sisältää kaikki geenit, kaikki geenit eivät kuitenkaan ilmene kaikissa soluissa, mikä on myös geenien säätelyn ansiota. (Rankinen & Bouchard 2005, s.39-54).

### 2.1.3 Fyysisen harjoittelun vaikutus geenien ilmenemiseen

Akuutti ja säännöllinen fyysinen harjoittelu aiheuttaa monia fysiologisia vasteita, jotka vaativat suurempaa proteiinisynteesiä vastaamaan kasvanutta proteiinien tarvetta. On esimerkiksi tuotettava lisää entsyymejä eri energiatuottoreiteille, korvattava harjoituksessa katabolisoituja proteiineja tai tuettava kehon adaptoitumista harjoittelun vaikutuksiin eli suorituskyvyn paranemista. Harjoittelun ja geenien ilmenemisen välillä onkin havaittu yhteyttä. Adaptaatio harjoitukseen on kuitenkin riippuvainen useiden eri geenien ilmenemisen yhteisvaikutuksesta. (Rankinen & Bouchard 2005, s.39-54).

Lihassolu mukautuu ominaisuuksiltaan vastaamaan muuttuvien olosuhteiden tarpeisiin. Hermolihasjärjestelmän aktivaatio tai inaktivaatio, mekaaninen kuormitus tai kuormittamattomuus, hormonit sekä ikääntyminen vaikuttaa geenien ilmenemiseen. Muuttuvat olosuhteet vaikuttavat siten mm. eri myosiinin rasakasketjujen (MHC) (ks. luku 2.2.3) ilmenemiseen, mikä taas muuttaa lihassolutyyppiä (ks. luku 2.2.2). Eri proteiini-isoformien tai tiettyjen proteiinien määrää säädellään kaikilla proteiinisynteesin kontrollin tasoilla. (Pette & Staron 2000).

Esimerkiksi O'Neill ym. havaitsivat tutkimuksessaan, että MHC IIX:n lähetti-RNA:n määrä väheni kestävyystyyppisen harjoittelun seurauksena, mutta vasta toistuvan harjoittelun seurauksena. Tämä havainto tukee aiempia tutkimuksia, joissa kestävyysharjoittelun on todettu vähentävän IIB-tyyppin lihassoluja (ks. luku 2.2.5). Sen sijaan MHC I tai IIA l-RNA pitoisuuksissa ei havaittu muutoksia harjoittelun vaikutuksesta, mikä johtunee joko näiden erilaisista transkriptiota säätelevistä tekijöistä tai niiden vaatimasta suuremmasta stimuluksesta MHC IIX:ään verrattuna. (O'Neill ym. 1999).

Baar kuvaa reviw-artikkelissaan monimutkaista järjestelmää, jolla solu säätelee proteiinisynteesiä. Tähän säätelyjärjestelmään kuuluu lukuisia eri molekyyliä, hormoneja, entsyymejä ym., jotka yhdessä aktivoivat tietyn geenin proteiinisynteesiä. Voima ja kestävyys harjoittelu aktivoivat solussa eri signaaliketjuja, mikä selittää näiden harjoitusmuotojen erilaisen vasteen lihaksissa. Baar muistuttaa myös, että muutokset lihaksen fenotyypissä ovat toistuvien harjoitusten tulos. Jokainen harjoitus aiheuttaa lihaksessa muutoksen, joka riittävän usein toistettuna muodostuu uudeksi tasapainotilaksi. (Baar 2006).

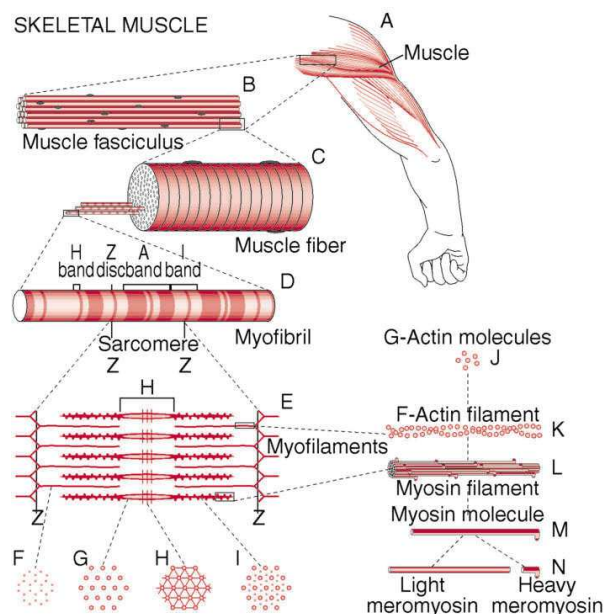


## 2.2 Lihassolu

### 2.2.1 Luurankolihasen rakenne

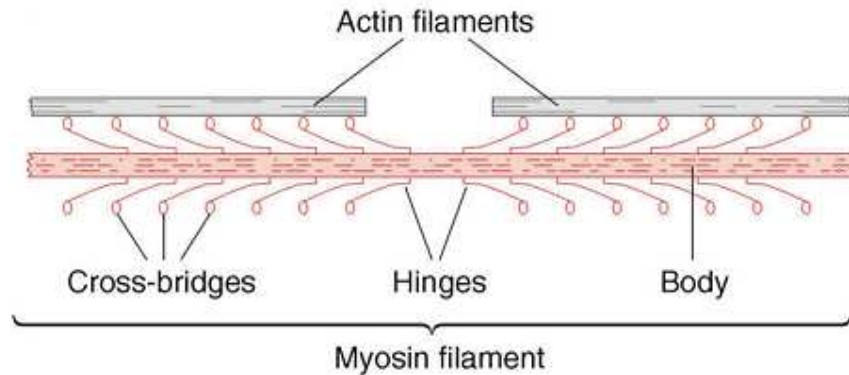
Jokainen ihmisen yli 660 luurankolihasesta sisältää useita sidekudoskerroksia. Koko lihasta (muscle) ympäröi epimysiumiksi kutsuttu sidekudoskalvo. Se sulautuu lihaksen kummassakin päässä jänteisiin, jotka yhdistävät lihaksen luihin mahdollistaen liikkeitä. Lihaksen jakautuu perimysiumin ympäröimiksi lihassolukimpuiksi (fascicle), jotka puolestaan edelleen muodostuvat endomysiumin ympäröimistä yksittäisistä lihassoluista (fiber). (McArdle ym. 2001, s. 359-360).

Lihassolua ympäröi solukalvo eli sarkolemma, joka sulkee sisäänsä koko lihassolun sisällön, kuten soluorganellit, sarkoplasman, sarkolemman ja myofibrillit. Myofibrillit sisältävät useita peräkkäisiä sarkomeereja, jotka ovat lihaksen toiminnallisia yksiköitä. Sarkomeerit ovat Z-levyjen välisiä alueita, joissa aktiini- ja myosiinifilamentit saavat aikaan lihassupistuksen liukuessaan kemiallisen reaktioketjun seurauksena toistensa lomaan. Aktiini- ja myosiinifilamenttien säännöllinen järjestäytyminen Z-levyjen välillä saa aikaan luurankolihasen poikkijuovaisen ulkonäön. (McArdle ym. 2001, s. 362-368). (Kuva 1).



KUVA 1. Lihassolun rakenne. (Guyton & Hall 2000)

Z-levyihin kiinnittyneet aktiini- eli ohuet filamentit koostuvat kolmesta proteiinikomponentista: aktiinista, tropomyosiinista ja troponiinista, joilla kaikilla on oma tehtävänsä lihassupistuksessa. Myosiini- eli paksut filamentit sijaitsevat sarkomeerin keskiosassa, aktiinien lomassa. Ne koostuvat lukuisista myosiinimolekyyleistä, joiden päät muodostavat poikkisillat, joiden avulla myosiini kiinnittyy aktiiniin lihassupistuksen aikana ja saa aikaan filamenttien liikkeen toistensa lomaan. (Guyton & Hall 2000, s. 70-71). (Kuva 2).



KUVA 2. Myosiinimolekyylin kiinnittyminen aktiinifilamentteihin poikkisiltojen avulla. (Guyton & Hall 2000).

## 2.2.2 Lihassolutyypit

Kaikki lihassolut eivät muodosta homogeenista ryhmää, vaan niillä on erilaisia metabolisia ja supistukseen liittyviä ominaisuuksia. Lihassolujen määrittäminen perustuu myosiinin raskasketjuihin (MHC), joita on kolmea eri isoformia. Eri isoformien ATPaasi entsyymi toimii eri pH arvoissa. (McArdle ym. 2001, s. 374).

*Hitaat lihassolut.* Paljon hitaita lihassoluja sisältäviä lihaksia kutsutaan punaisiksi lihaksiksi niiden värityksen perusteella. Punainen väri johtuu hitaiden lihassolujen sisältämästä runsaasta myoglobiinipitoisuudesta ja lukuisista suurista, rautaa sitovia sytokromeja sisältävistä mitokondrioista. Nämä ominaisuudet tekevät hitaista lihassoluista hyvin väsymystä kestäviä. Ne myös turvautuvat aineenvaihdunnassaan lähes yksinomaan aerobisiin reitteihin (SO = slow oxidative), mikä yhdessä väsymyksen siedon kanssa tekee ne hyvin sopiviksi pitkäkestoisiin aerobisiin suorituksiin. Hitaiden lihassolujen myosiinin ATPaasi aktiivisuus on suhteellisen matala ja kalsiumin vapautuminen suhteellisen hidasta, minkä vuoksi nämä lihassolut supistuvat ja rentoutuvat melko hitaasti.

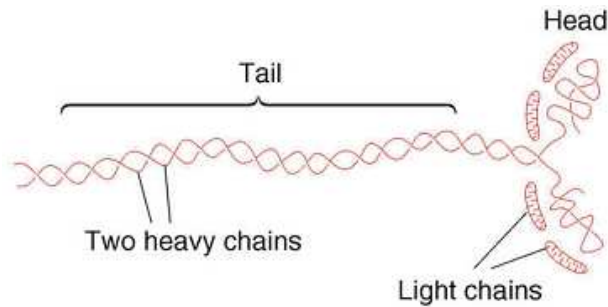
Verrattuna nopeisiin lihassoluihin, hitaat lihassolut ovat kooltaan pienempiä eivätkä ne pysty tuottamaan niin suurta voimaa. Usein hitaat oksidatiiviset lihassolut nimetään tyyppin I-lihassoluiksi. (McArdle ym. 2001, s.376).

*Nopeat lihassolut.* Nopeat lihassolut pystyvät supistumaan ja rentoutumaan nopeasti. Tämä johtuu niiden laajasta sarkoplasmisesta retikkelistä, jonka ansiosta ne pystyvät kuljettamaan aktiopotentiaalin nopeasti koko lihassoluun ja vapauttamaan nopeasti kalسيومia. Niiden myosiinin ATPaasi aktiivisuus on korkea ja poikkisiltojen muodostus nopeaa. Energian tuotossa ne turvautuvat nopeaan glykolyysiin ja väsyvät nopeasti, minkä vuoksi ne soveltuvat hyvin anaerobisiin, sprinttityyppisiin suorituksiin. Kooltaan nopeat lihassolut ovat hitaita suurempia ja kykenevät tuottamaan suurempia voimia. (McArdle ym. 2001, s.374-376).

Nopeat lihassolut jaetaan pääasiassa kahteen alaryhmään niiden hieman toisistaan poikkeavien ominaisuuksien perusteella. Tyyppin IIA-solut ovat monilta ominaisuuksiltaan I ja IIB-tyypin välimuotoja. Ne tuottavat energiaa sekä aerobisia että anaerobisia aineenvaihduntareittejä pitkin (FOG = fast-oxidative-glycolytic) ja ne pystyvät myös sietämään väsymystä paremmin kuin IIB-tyypin lihassolut. IIA-tyypin solut eivät myöskään pysty supistumaan aivan yhtä nopeasti, eivätkä tuottamaan aivan yhtä paljoa voimaa kuin IIB-tyypin solut. IIB-tyypin lihassolut sen sijaan ovat kaikkein nopeimpia ja tuottavat energiaa enimmäkseen glykolyysin avulla (FG = fast-glycolytic). Ne kykenevät tuottamaan suurimmat voimat ja ovat kooltaan suurimpia, mutta ne myös väsyvät kaikkein nopeimmin. (McArdle ym. 2001, s.376-377).

### **2.2.3 Myosiinin raskasketjut**

Myosiini on luurankolihasen tärkein supistuva proteiini. Se koostuu kuudesta polypeptidiketjusta, kahdesta raskaasta ja neljästä kevyestä ketjusta. Raskasketjut kiertyvät toistensa ympärille tupla helixiksi muodostaen myosiinimolekyylin hännän. Kummankin raskasketjun pää sitoo kaksi kevyttä ketjua, jotka yhdessä muodostavat myosiinin päät. (Guyton & Hall 2000, s.70). Lihassolutyyppi ja niiden supistusominaisuudet määräytyvät pääasiassa myosiinin raskasketjun (MHC = myosin heavy chain) mukaan (Short ym. 2005). (Kuva 3).



KUVA 3. Myosiinin rakenne. ATPaasi entsyymi sijaitsee head-osassa. Guyton & Hall 2000).

Myosiinilla on sekä rakenteellinen että entsyymaattinen rooli lihassupistuksessa. Poikissillat muodostavien myosiinimolekyylien päässä on lihassupistuksen aikaansaamiseksi välttämätön, ATP:tä energiaksi (ADP + fosfaatti) pilkkova ATPaasi entsyymi. (McArdle 2001, s.370). Lihassolutyyppien määrittäminen histokemiallisesti ATPaasi-värjäyksellä perustuu tämän entsyymin toisistaan poikkeavaan aktiivisuuteen ja inaktiivisuuteen eri pH arvoissa eri lihassolutyypeillä. I-tyypin lihassoluissa myosiinin ATPaasi säilyttää aktiivisuutensa happamassa liuoksessa ja inaktivoituu emäksisessä liuoksessa. II-tyypin lihassoluissa ATPaasi käyttäytyy päinvastaisesti. Iia ja Iib tyypin solujen ATPaasin käyttäytyminen eri pH:ssa eroavat myös hieman toisistaan. (Brooke & Kaiser 1969).

Lihassolutyyppit voidaan määrittää myös perustuen MHC isoformien erilaisiin suhteellisiin osuuksiin eri lihassolutyypeissä. MHC isoformit I, Iia ja Iix vastaavat ihmisellä histokemiallisesti määritettyjä lihassolutyypejä I, Iia ja Iib. Vaikka suurin osa lihassoluista ilmentää vain yhtä MHC isoformia, yli 30% lihassoluista on havaittu ilmentävän useampaa isoformia (hybridisolut). MHC isoformikoostumus saattaa vaihdella fyysisen harjoittelun ja ikääntymisen seurauksena ja sen määrittäminen on tärkeä mittari lihaksen supistusominaisuuksia määrittäessä. (Short ym. 2005).

#### 2.2.4 Lihassolujakauman perinnöllisyys

Useiden tutkimusten perusteella on arvioitu, että ihmisten I-tyypin lihassolujen osuudesta 15% selittyy teknisillä virheillä, 40% ympäristötekijöillä ja loput 45% on perimän aiheuttamaa. (Simoneau & Bouchard 1995). Aikaisempien tutkimusten mukaan genotyyppi määrittäisi lihassolutyyppijakauman suurimmaksi osaksi. Tulos saatiin vertaile-

malla homo- ja heterotsygoottien kaksosten lihassolujakaumia ja todettiin, että toisin kuin heterotsygooteilla kaksosilla, homotsygoottien kaksosten lihassolukoostumus oli- vat molemmilla sukupuolilla lähes täsmälleen samanlaiset. (Komi ym. 1977). Kuitenkin ottaen huomioon mm. tekniset virheet, myöhempi tutkimus on osoittanut, ettei perimän vaikutus lihassolujakaumaan ole läheskään näin voimakas. Rico-Sanz ym. löysivät tut- kimuksissaan vain heikon yhteyden lihassolujakaumissa perheiden sisällä. (Rico-Sanz ym. 2003).

### **2.2.5 Fyysisen harjoittelun vaikutus lihassolujakaumaan**

Lihassolut kykenevät muuttamaan fenotyyppiään ja toiminnallisia ominaisuuksiaan muuttuvien vaatimusten mukaan. Muutokset hermo-lihasaktiivisuudessa ja /tai mekaa- nisessa kuormituksessa saavat aikaan molekyyli- ja solutason muutoksia, joiden laajuus riippuu toiminnan muutoksen tyypistä, intensiteetistä ja kestosta. Myös lihassolutyypillä on vaikutusta. Yleisesti keskinkertainen muutos hermo-lihasaktiivisuudessa saa aikaan vain aineenvaihdunnallisia muutoksia, kun taas suurempi pysyvä muutos johtaa lihas- solutyypin muutokseen. (Pette 2005).

Suunnistajilla tehtyjen tutkimusten mukaan harjoittelu vaikuttaa erityisesti II-tyypin li- hassolujen alatyyppeihin. Kestävyysharjoittelun seurauksena IIB-tyypin lihassolut vähe- nivät ja IIA-tyypin lihassolut lisääntyivät osoittaen lihassolujen muuttuvan oksidatiivi- sempaan suuntaan. (Jansson & Kaijser 1977). Tulosta lihassolujakauman siirtymisestä hitaampaan suuntaan kestävyysharjoittelun seurauksena tukee myös uudempi tutkimus, jossa MHC I ja IIA lähetti-RNA:n määrä kasvoi, kun taas MHC IIX I-RNA: n määrä vä- heni. Samansuuntaiset muutokset tapahtuivat myös proteiinitasolla. (Short ym. 2005).

Tutkimusten mukaan lihaksen eri lihassolutyyppien määrä ei muutu voimaharjoittelun seurauksena nuorilla eikä vanhoilla. Sen sijaan IIA-tyypin lihassolujen pinta-alaan suh- teutettu osuus kasvaa ja I-tyypin solujen osuus vähenee, koska II-tyypin lihassolujen hypertrofia on suurempaa. (McCall ym. 1996 ja Kryger & Andersen 2007). Kryger:in ja Andersen:in vanhoilla ihmisillä tekemässä tutkimuksessa yhden lihassolun MHC iso- formikoostumuksessa ei tapahtunut muutosta, mutta koko lihaksen MHC I pitoisuus vä- heni ja MHC IIA pitoisuus kasvoi tukien lihassolujen suhteellisten osuuksien muutoksia hypertrofian seurauksena. (Kryger & Andersen 2007). MHC IIA pitoisuuden kasvun li-

säksi mm. Andersen ja Aagaard havaitsivat voimaharjoittelun vähentävän MHC IIX pitoisuutta. Harjoittelun lopettamisen jälkeen MHC IIX pitoisuus kasvoi suuremmaksi kuin ennen harjoittelua osoittaen harjoitusärsyksen merkityksen lihassolumuutoksiin. (Andersen & Aagaard 2000).

Harjoittelutapa vaikuttaa merkittävästi lihassoluissa tapahtuviin muutoksiin. Liu ym. havaitsivat tutkimuksissaan, että sekä maksimivoima- että yhdistelmävoimaharjoittelu (maksimivoimaharjoittelu, ballistinen harjoittelu ja venymis-lyhenemissyklusta hyödyntävä harjoittelu) lisäsivät MHC IIA:n määrää. Maksimivoimaharjoittelu kuitenkin vähensi MHC IIX:n määrää, kun taas yhdistelmäharjoittelu vähensi MHC I:n määrää. Isoformikoostumuksissa tapahtui siis muutosta eri suuntiin, mikä lienee yhteydessä myös harjoitusvasteeseen eli siihen, että yhdistelmäharjoittelu paransi liikenopeutta toisin kuin maksimivoimaharjoittelu. (Liu ym. 2002).

Vaikka harjoittelun ei ole suoranaisesti todettu muuttavan II-tyypin lihassoluja I-tyypin soluiksi (tai päinvastoin), vaan vaikuttaa lähinnä lihassolun oksidatiiviseen kapasiteettiin tai muihin ominaisuuksiin mm. entsyymien kautta, on eri lajien urheilijoilla todettu selkeästi toisistaan poikkeavia lihassolujakaumia. Kestävyysurheilijoilla on havaittu olevan enemmän I-tyypin soluja, kun taas nopeuslajien urheilijoilla II-tyypin lihassolut ovat hallitsevassa asemassa. Toisaalta myös harjoittelussa pääasiassa työskentelevällä lihasryhmällä on väliä, sillä esimerkiksi uimareiden käsissä on havaittu suurempi I-tyypin lihassolujen osuus kuin jalkalihaksissa. (Gollnick ym. 1972). Lihassolujakaumalla onkin havaittu olevan yhteys suorituskäyttöön ainakin keskimatkan juoksussa, jossa pienempi pinta-ala hitaita lihassoluja ennusti parempaa loppuaikaa. (Costill ym. 1976).

Lihassolumäärittämissä tehtävissä on otettava huomioon, että lihassolujakauma vaihtelee myös saman henkilön eri lihasten ja jopa saman lihaksen eri kohtien välillä huomattavasti. (Elder ym. 1982). Yleisesti staattista lihastyötä tekevissä lihaksissa on enemmän I-tyypin lihassoluja ja liikettä aikaansaavissa lihaksissa on enemmän II-tyypin soluja. Useimmat lihakset kuitenkin tekevät kummankin tyyppistä työtä ja niissä lihassolujakauma vaihtelee sattumanvaraisemmin. (Johnson ym. 1973). Esimerkiksi Elderin ym. tutkimuksessa todettiin soleuksessa olevan koehenkilöillä keskimäärin 24% nopeita lihassoluja, kun taas vastus lateraaliksessa niitä oli 57%. Myös saman lihaksen eri kohdista otettujen näytteiden välillä on eroja ja siten on merkitystä otetaanko lihasnäyte

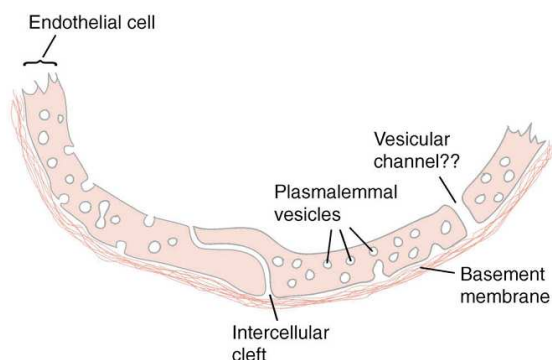
esimerkiksi vastus lateraaliksen pitkästä vai lyhyestä päästä. Myös näytteenottosyvyys vaikuttaa, vaikkakaan merkitsevää eroa tässä ei Elderin tutkimuksessa havaittu. (Elder ym. 1982).

## 2.3 Kapillaarit

### 2.3.1 Kapillaarien rakenne ja tehtävät

Aineiden vaihto kudosten ja kiertävän veren välillä tapahtuu kapillaareissa. Kapillaarit siis hoitavat verenkierron päätehtävää eli kuljettavat aineita (happi, ravintoaineet) kudoksiin ja poistavat niistä aineenvaihdunnan lopputuotteita (hiilidioksidi, vety-ionit). Ne pitävät myös yllä kudosten oikeaa ionipitoisuutta ja kuljettavat niihin erilaisia hormoneja ym. aineita. Aineiden vaihto kapillaareissa on tehokasta, koska kapillaareja on kaikkialla kehossa ja etäisyys niistä soluun on harvoin yli  $30\mu\text{m}$ . Kapillaarien läpi virtaavan veren määrää säädellään monien eri mekanismien kautta niin, että se vastaa tarkalleen kunkin kudoksen tarvetta. (Guyton & Hall 2000, s.162).

Kapillaarit ovat hyvin ohuita rakenteita, joiden seinämä on vain yhden solun paksuinen (n.  $0,5\ \mu\text{m}$ ) ja halkaisijakin vain  $4\text{-}9\ \mu\text{m}$ , niin, että punasolu juuri ja juuri mahtuu sen läpi. Tyypillinen kapillaariseinämän rakenne koostuu endoteelisoluista, joita ympäröi ulkopuolelta tyvikalvo. Endoteelisolujen välissä on rakoja, joiden läpi vesi ja vesiliukoiset aineet diffusoituvat. Endoteelisoluissa on myös kalvorakkuloita, jotka sisältävät plasmaa tai solun ulkoista nestettä, ja ne liikkuvat hitaasti endoteelisolun läpi. (Kuva 4). (Guyton & Hall 2000 s. 162-163).



KUVA 4. Kapillaariseinämän rakenne. (Guyton & Hall 2000).

### 2.3.2 Kapillaarien muodostus

Kapillaariverkoston tiheneminen parantaa tehokkaasti aineiden vaihtoa veren ja kudosten välillä. Prosessia, jossa olemassa olevista kapillaareista muodostetaan uusia kapillaareja, kutsutaan angiogeneesiksi, joka voi tapahtua kahdella eri tavalla. Intussusceptioniksi kutsutaan tapahtumaa, jossa yksi kapillaari jakautuu pitkittäisesti kahtia venytyksen vaikutuksesta. Toinen tapa uuden kapillaarin muodostumiselle on haarautuminen (sprouting), jossa aktivoituneet endoteelisolut työntyvät ulos vanhasta kapillaarista muodostaen haaran. (Prior ym. 2004).

VEGF (= Vascular endothelial growth factor) on angiogeneesin ehkä tärkein monista kasvutekijöistä, joita säädellään monimutkaisten mekanismien kautta. Esimerkiksi typpioksidi on tärkeä VEGF:n signaloija, sillä ilman sitä VEGF ei saa aikaa angiogeneesiä. VEGF:n on todettu lisääntyvän harjoittelun seurauksena ja sitä pidetäänkin yhtenä tärkeänä tekijänä, joka saa aikaan kapillarisaatiota harjoittelun seurauksena. VEGF ilmenee runsaammin oksidatiivisimmilla lihasalueilla eli punaisessa lihaksessa verrattuna valkoiseen lihakseen. Näillä alueilla on myös tiheämpi kapillaariverkosto. (Prior ym. 2004).

Rotilla tehdyn tutkimuksen perusteella kapillaarien muodostuminen on yhteydessä lihassolutyypin muutokseen. Kestävyysharjoittelu lisäsi VEGF:n määrää, mikä puolestaan kiihdytti angiogeneesiä. Uusien kapillaarien muodostuminen erityisesti IIB- ja IID/x-tyypin solujen (vastaa ihmisen IIB-tyyppiä) ympärille sai aikaan niiden muuttumisen IIA-tyypin soluiksi. (Waters ym. 2004).

Hypoksia eli matalampi hapen osapaine ( $PO_2$ ) on yksi mahdollinen angiogeneesiä edistävä tekijä.  $PO_2$ :n laskun on joissain tutkimuksissa todettu lisäävän VEGF:n tuottoa ja näin kiihdyttävän angiogeneesiä. (Prior ym. 2004). Tätä tukee tutkimustulokset siitä, että harjoittelu hypoksiassa on edistänyt normoksiaa enemmän kapillarisaatiota (Hepple 2000). Kuitenkin on myös tutkimustuloksia, joissa hypoksia ei ole lisännyt VEGF:n tuottoa. Erään tutkimuksen mukaan pidempi aikaisempi oleskelu hypoksiaolosuhteissa, jopa vähensi VEGF:n tuottoa silti estämättä angiogeneesiä. Niinpä luultavasti muut te-



kijät kuin matala PO<sub>2</sub> ovat tärkeämpiä angiogeneesin aikaansaamiseksi. Tällaisia tekijöitä ovat esimerkiksi veren virtauksen kasvu kapillaareissa, joka aiheuttaa niihin venytyskuormitusta ja lisää angiogeneesiä. Myös lihasten supistumisen aikaansaama mekaaninen kuormitus lisää kapillaarien muodostumista lihaksissa ja solun ulkoisen tilan turmeltuminen saa aikaan sprouting angiogeneesiä. (Prior ym. 2004).

### **2.3.3 Kapillaarien perinnöllisyys**

Rico-Sanz ym. havaitsivat tutkimuksessaan pientä, mutta merkitsevää yhteyttä perheenjäsenten välillä kapillaaritiheyksissä ja lihaspinta-aloissa kapillaaria kohti tyyppin I ja IIa lihassoluissa. Havainnot koskivat tilannetta ennen harjoittelua ja ne osoittavat, että genotyyppi ja /tai perhe ympäristö on merkittävä tekijä kapillaarien kehittymiselle oksidatiivisiin soluihin aikuisuudessa. Harjoitteluvasteissa ei sen sijaan ollut yhteyttä perhe-taustaan. (Rico-Sanz ym. 2003).

### **2.3.4 Fyysisen harjoittelun vaikutus kapillarisaatioon**

Parantunut kestävyys suorituskyky, johtuu osittain lisääntyneestä kapillaaritiheydestä, jonka ansiosta mm. hapen ja energiaravinteiden kuljetus kudoksiin ja lämmön sekä aineenvaihdunnan sivutuotteiden poisto niistä tehostuu (Andersen & Henriksson 1977).

Mm. Zoladz ym. tutkimuksen mukaan urheilijoilla olikin merkittävästi suurempi kapillaaritiheys ja enemmän kapillaareja lihassoluja kohti kuin harjoittelemattomilla henkilöillä (Zoladz ym. 2005). Rotilla tehtyjen tutkimusten perusteella lihaksen adaptoituessa harjoitteluun kapillaarien määrä lisääntyy, ei niinkään kiemuraisuus (Poole ym. 1989).

Erytisesti kestävyys harjoittelu näyttää selvästi lisäävän lihasten kapillarisaatiota. Sekä kapillaaritiheys että kapillaarien määrä lihassolua kohti kasvaa aerobisen harjoittelun seurauksena. (Andersen & Henriksson 1977).

Myös voimaharjoittelun on todettu lisäävän kapillaarien määrää lihassolua kohti. Sen sijaan kapillaaritiheys lihaksissa ei muutu samaan aikaan ja vastaavalla määrällä tapahtuvan lihassolun koon kasvun vuoksi. (McCall ym. 1996).

Vanhoilla miehillä tehtiin tutkimus, jossa toinen ryhmä harjoitteli 18 viikkoa aerobisesti ja toinen ryhmä jatkoi yhdeksän viikon aerobisen harjoittelun jälkeen voimaharjoittelulla.  $VO_2$  ja kapillaarien määrä lihassolua kohti kasvoi molemmilla ryhmillä yhtä paljon. Sen sijaan kapillaaritiheydessä tapahtui kasvua jälkimmäisellä osuudella vain aerobisesti koko ajan harjoitelleilla. Tämä osoittaa sen, että hapen kuljetuksen kannalta on oleellisempi muuttuja on kapillaarien määrä lihassolua kohti kuin kapillaaritiheys. (Hepple ym. 1997).

Tutkimuksissa ei ole löydetty eroja harjoittelun vaikutuksista eri lihassolutyypin kapillarisaatioon. Sekä kestävyys- että voimaharjoittelu lisäävät kapillaareja yhtä paljon sekä I- että II-tyyppin solujen ympärillä. (Andersen & Henriksson 1977 ja McCall ym. 1996).

### **3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESEIT**

#### **Tutkimuksen tarkoitus**

Tämän tutkimuksen tarkoituksena on selvittää, eroavatko liikuntataustaltaan erilaiset kaksoset toisistaan lihassolujakauman ja kapillarisaation suhteen. Päämääränä on selvittää, onko ihmisen lihassolujakauma ja kapillaarien määrään enemmän perimän vai liikunta-aktiivisuuden aikaan saamaa.

#### **Tutkimusongelmat**

1. Onko liikuntataustaltaan erilaisten kaksosten lihassolujakauma erilainen?
2. Eroavatko liikuntataustaltaan erilaiset kaksoset toisistaan kapillarisaation suhteen?

#### **Hypoteesit**

Nollahypoteesi:

H<sub>0</sub>: Harjoittelulla ei ole vaikutusta lihassolujakaumaan eikä kapillarisaatioon.

Työhypoteesit:

H<sub>1</sub>: Perimä selittää osan lihassolujakaumien eroista ihmisten välillä. (Rico-Sanz ym. 2003; Simoneau & Bouchard 1995)

H<sub>2</sub>: Harjoittelu vaikuttaa lihassolujakaumaan. (mm. Liu ym. 2002; Short ym. 2005; Kryger & Andersen 2007)

H<sub>3</sub>: Perimällä on vaikutusta kapillarisaatioon. (Rico-Sanz ym. 2003)

H<sub>4</sub>: Harjoittelu lisää lihaskapillaarien määrää. (mm. Andersen & Henriksson 1977; Zoladz ym. 2005)

## 4 MENETELMÄT

### 4.1 Koehenkilöt

Koehenkilöinä oli 10 suomalaista kaksosparia eli 20 henkilöä. Joukossa oli sekä mie-että naispareja. Seitsemän kaksosparia oli ditsygootteja ja loput kolme paria monotsygootteja. Kaksoispareista toinen oli ollut liikunnallisesti aktiivinen 30 seurantavuoden aikana, kun taas toinen oli ollut inaktiivinen. Liikunnallisesti aktiivisten kaksososapuolien keskimääräinen MET arvo vuoden 2005 aikana oli 9,8 (SD  $\pm$  4,3) ja inaktiivisen osapuolen MET arvo oli 1,6 (SD  $\pm$  1,3). Ero kaksosparien välillä oli tilastollisesti merkitsevä (p<0,001). Myös vuosien 1980-2007 seurantajakson aikaisten MET:ien keskiarvojen ero oli tilastollisesti merkitsevä (p<0,001). Aktiivisten seuranta-ajan keskimääräinen MET oli 11,4 ( $\pm$  3,0) ja inaktiivisten keskimääräinen MET oli 2,0 ( $\pm$  1,9). Taulukossa 4 on esitelty muita koehenkilöryhmän ominaisuuksia.

TAULUKKO 4. Koehenkilöt. \* = p<0,05

	<b>Aktiivinen</b>	<b>Inaktiivinen</b>
Ikä (vuotta)	60,1	60,1
Paino (kg)	69,1 $\pm$ 11,7	78,4 $\pm$ 23,0
BMI	24,2 $\pm$ 2,8	26,5 $\pm$ 4,3
Rasvaprocentti (%)	19,9 $\pm$ 5,9	25,5 $\pm$ 5,6 *
Rasvamassa (kg)	13,5 $\pm$ 4,0	20,2 $\pm$ 9,3
Rasvaton massa (kg)	55,4 $\pm$ 11,0	58,0 $\pm$ 15,2
Viskeraalinen rasva (cm <sup>2</sup> )	90,4 $\pm$ 70,0	158,4 $\pm$ 122,7
HDL-LDL -suhde	0,59 $\pm$ 0,20	0,46 $\pm$ 0,15 *
VO <sub>2max</sub> (arvioitu) (ml/kg/min)	33,6 $\pm$ 5,2	29,3 $\pm$ 4,1 *
Lepoverenpaine, systolinen (mmHg)	132 $\pm$ 15	137 $\pm$ 29
Lepoverenpaine, diastolinen (mmHg)	83 $\pm$ 9	86 $\pm$ 16

## 4.2 Koeasetelma

Tämän tutkimuksen kaksoset ovat osa isommasta kaksospopulaatiosta, jotka osallistuvat fyysisen aktiivisuuden terveystaakkoja mittaavaan tutkimukseen. Koehenkilöille tehtiin alkumittaukset vuonna 1975, jolloin heiltä mitattiin mm. paino ja pituus sekä tehtiin kysely fyysisestä aktiivisuudesta. Vastaava kysely fyysisestä aktiivisuudesta tehtiin vuonna 1981, jolloin valittiin tutkimukseen mukaan ne, jotka erosivat merkitsevästi fyysisen aktiivisuuden perusteella molemmissa alkumittauksissa. Muissa ominaisuuksissa ei perustilanteessa ollut merkitseviä eroja.

Koehenkilöille tehtiin samanlaiset fyysisen aktiivisuuden kyselyt viiden vuoden välein vuosina 1985-2005, jolloin he arvioivat takautuvasti fyysistä aktiivisuuttaan viimeisen 12 kk aikana. Seurantamittaukset suoritettiin vuonna 2007, jolloin mitattiin mm. antropometriaa, verimuuttujia ja otettiin tämän tutkimuksen lihasbiopsianäytteet. Mukaan hyväksyttiin ne kaksosparit, joiden ero fyysisessä aktiivisuudessa oli säilynyt koko seurantaajan ajan.

## 4.3 Aineiston keräys

Fyysinen aktiivisuus vapaa-ajalla ja työmatkoilla sekä liikunnanintensiteetti arvioitiin kyselyjen ja puhelinhaastattelujen pohjalta. Niiden perusteella laskettiin kunkin henkilön MET-arvo eli lepoaineenvaihdunnan kerrannainen, joka laskettiin jokaisesta aktiivisuudesta kaavalla: intensiteetti x kesto x kerrat kuukaudessa. Tulos ilmoitettiin MET-tunteina päivää kohden.

Hengitys- ja verenkiertoelimistön kunto testattiin epäsuoralla, oirerajoitteisella maksimaalisen hapenottokyvyn testillä. Testi suoritettiin WHO:n protokollalla, jossa 20 W:n totuttelun ja 25W:n lämmittelyn jälkeen kuormaa lisättiin kahden minuutin välein 25 W ja loppuverryttely suoritettiin 25 W:n teholla. Sydämen syke (EKG:llä), verenpaine ja RPE mitattiin suorituksen aikana 1.:n, 3.:n ja 5.:n min lopussa.

## **4.4 Aineiston analysointi**

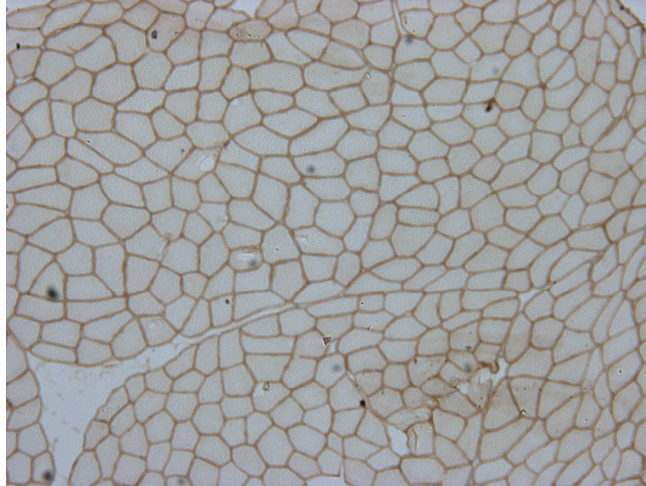
### **4.4.1 Lihassolunäytteiden valmistelu**

Lääkäri otti koehenkilöiltä lihasbiopsianäytteet vastus lateralis lihaksesta (lihaksen keskikohdasta, n. 2 cm:n syvyydeltä). Biopsianäytteet kiinnitettiin korkkipalalle TissuTek:in avulla lihassyt pystysuunnassa ja jäädytettiin nopeasti nestetyöllä jäädytyksessä isopentaanissa (-160 °C). Näytteet varastoitettiin jatkokäsittelyä varten pakastimeen (-80 °C). Värjäyksiä varten lihasnäytteistä leikattiin kryostaattimikrotomilla (-25 °C) 10 µm paksuisia leikkeitä objektilasille. Näytelasit säilytettiin pakastimessa (-20 °C) odottamassa värjäyksiä.

### **4.4.2 Lihaksen poikkipinta-alan määrittäminen**

Lihaksen poikkipinta-alan määrittämiseksi käytettiin immunohistokemiallista värjäystä, jossa värjätään tietty proteiini solusta perustuen vasta-ainereaktioon reaktioon niille spesifin antigeenin kanssa. Solukoon ja -määrän määrittämiseksi käytettiin primäärivasta-aineena mouse-anti-human dystrofinia (laimennos 1:500, Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK), joka tarttuu lihassolukalvolla olevaan dystrofiini-proteiiniin. Värireaktio tapahtui avidiini-biotiini HRP menetelmällä (Vectastain<sup>®</sup> ABC Method, Vector laboratories, USA), jonka substraattina käytettiin ruskean sakan aiheuttavaa DAB:ia. Sekundäärivasta-aine, johon on kiinnitetty biotiini, kiinnittyy primäärivasta-aineeseen. Avidiini/biotinyloitu entsyymi -kompleksi (ABC) tarttuu sekundäärivasta-aineeseen (avidini biotiiniin). Entsyymi reagoi lisätyn substraatin (DAB) kanssa muodostaen värillisen sakan.

Näytteitä tarkasteltiin Olympus BX50 valomikroskoopilla (Kuva 4.1). TEMA-kuvantamisohjelmalla (Tema, Scanbeam, Hadsund, Denmark) laskettiin keskimääräinen solukoko n. 200 solun alueelta.



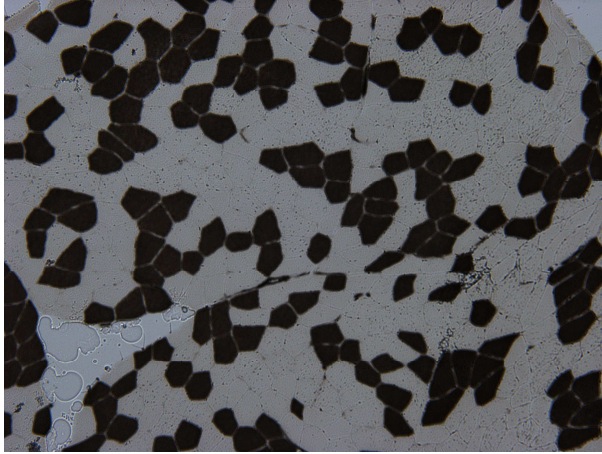
KUVA 4.1. Lihassolun poikkipinta-alan määrittäminen dystrofiiniväryksestä.

#### 4.4.3 Lihassolutyypin määrittäminen

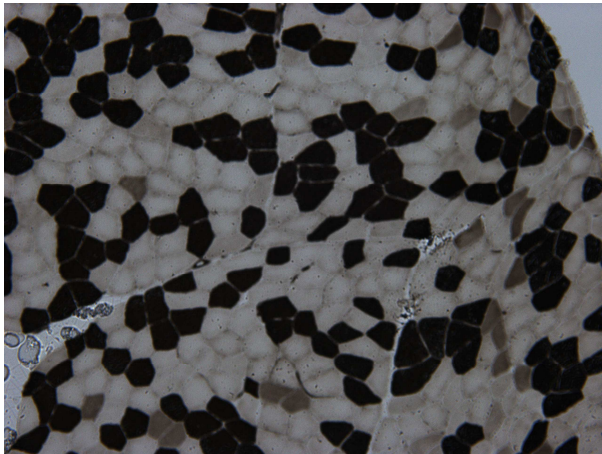
Lihassolutyypin määrittämiseksi tehtiin näytteille ATPaasi värjäys, joka perustuu eri lihassolutyypin myosiinin raskasketjujen erilaiseen käyttäytymiseen erilaisessa pH:ssa. I-typin lihassolujen myosiinin raskasketjussa sijaitseva ATPaasi säilyttää aktiivisuutensa happamassa liuoksessa, mutta inaktivoituu emäksisessä liuoksessa. (Brooke & Kaiser 1970). II-typin lihassolujen ATPaasi käyttäytyy päinvastoin, mutta reaktion voimakkuus eri pH:ssa vaihtelee alatyypeittäin, jolloin saadaan määritettyä yhteensä neljä II-typin lihassolun alatyyppejä.

Käytetyt preinkubaatio pH:t ja ajat olivat pH 4,37 / 4 min, pH 4,55 / 2 min 10 sek, pH 4,6 / 1 min 50s ja pH 10,3 / 9 min. Preinkubaatioiden jälkeen näytteet inkuboidaan ensin ATP liuoksessa (37 °C) ja sen jälkeen käsitellään vielä kalsiumkloridi- (CaCl<sub>2</sub>), koboltikloridi- (CoCl<sub>2</sub>) ja ammoniumsulfidiliuoksissa. Tällöin preinkubaatiossa aktiiviseksi jääneet ATPaasit reagoivat ATP:n kanssa ja reaktiotuote muodostaa lopulta värillisen sakan reaktioissa muiden aineiden kanssa.

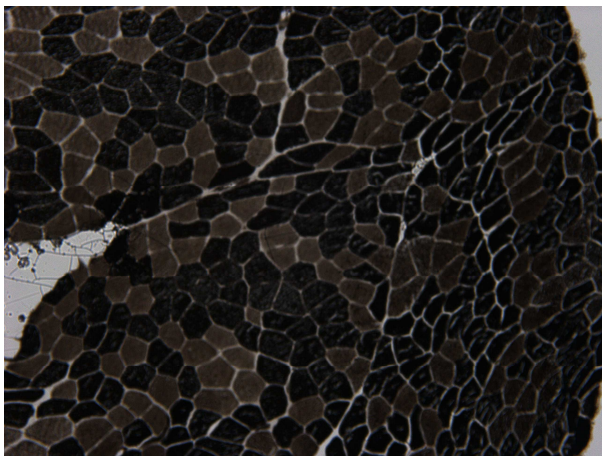
Näytteitä tarkasteltiin Olympus BX50 valomikroskooppia (Kuvat 4.2-4.3) ja analysointiin käytettiin TEMA-kuvantamisohjelmaa (Tema, Scanbeam, Hadsund, Denmark). Lihassolutyypit määritettiin noin 200 solusta/näyte.



KUVA 4.2. pH 4,37



KUVA 4.3. pH 4,55

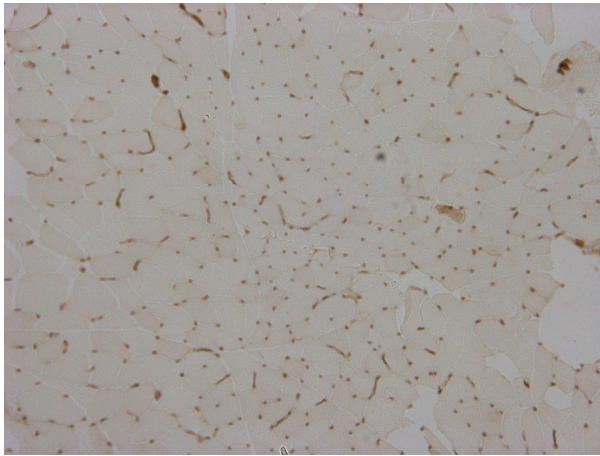


KUVA 4.4. pH 10,3



#### 4.4.4 Kapillaarien määrittäminen

Kapillaarit värjättiin myös immunohistokemiallisesti (ks. 4.4.2). Värjättävä proteiini oli tässä tapauksessa verisuonten endoteelisoluissa sijaitseva CD31 (PECAM 1) ja primääri vasta-aineena käytettiin Mouse-antihuman CD31:stä (laimennos 1:100, BD Biosciences Pharmingen, San Diego, USA). Näytteet kuvattiin ja kuvat analysoitiin analySIS tietokoneohjelmalla (Soft Imaging System, Münster, Saksa). Näytteistä määritettiin kapillaarien lukumäärä solua sekä solupinta-alaa ( $\text{mm}^2$ ) kohden (Kuva 4.5).



KUVA 4.5. Kapillaarien määrittäminen.

#### 4.5 Tilastolliset menetelmät

Aineisto analysoitiin tilasto-ohjelma SPSS:llä (SPSS 14.0 for Windows). Kaksosparien keskinäisiä eroja mitattiin parittaisella t-testillä, joka laskee erotuksen inaktiivisen ja aktiivisen kaksosparin arvojen välillä ja vertaa näitä erotuksia keskenään. Lisäksi laskettiin korrelaatioita eri muuttujien välillä koko aineistosta Pearsonin kaavalla. Tilastollisen merkitsevyyden tasoksi valittiin  $p < 0,05$ .

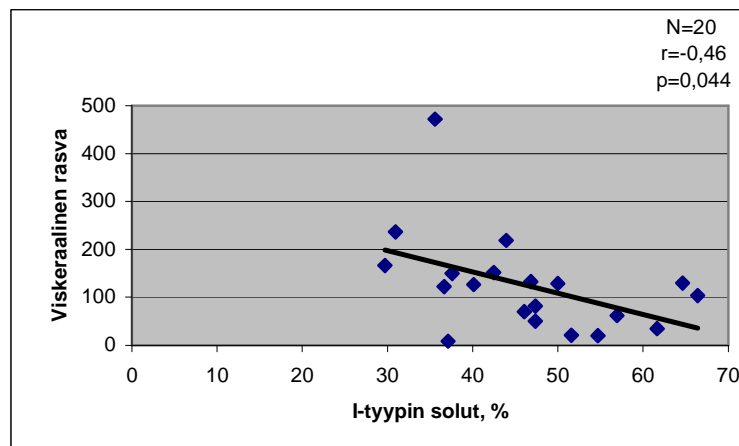
## 5 TULOKSET

**Lihassolut.** Taulukossa 5.1 on esitetty lihassolutyyppien suhteelliset osuudet kaksospareilla. Erot kaksosparien välillä eivät t-testin perusteella olleet minkään solutyyppin kohdalla tilastollisesti merkitseviä ( $p > 0,05$ ). Lisäksi taulukossa on keskimääräinen solukoko inaktiivisella ja aktiivisella kaksososapuolella. Myöskään tässä muuttujassa ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä ( $p = 0,185$ ).

TAULUKKO 5.1. Lihassolutyyppien jakaumat koehenkilöryhmittäin. Erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. lkm=lukumäärä, p-a=pinta-ala

Lihassolutyyppi	Aktiivinen	Inaktiivinen
I, lkm:n %-osuus	45 ± 9	48 ± 12
I, p-a:n %-osuus	48 ± 13	54 ± 14
I/IIA, lkm:n %-osuus	1,0 ± 1,6	0,2 ± 0,3
I/IIA, p-a:n %-osuus	0,7 ± 1,2	0,2 ± 0,2
IIA, lkm:n %-osuus	34 ± 9	29 ± 13
IIA, p-a:n %-osuus	34 ± 9	28 ± 13
IIA/X, lkm:n %-osuus	19 ± 13	21 ± 11
IIA/X, p-a:n %-osuus	16 ± 12	17 ± 8
IIIX, lkm:n %-osuus	1,0 ± 1,6	1,3 ± 1,7
IIIX, p-a:n %-osuus	0,9 ± 1,3	1,1 ± 1,2
<b>Keskimääräinen solukoko, <math>\mu\text{m}^2</math></b>	4548 ± 1258	4098 ± 989

Tyyppin I lihassolujen lukumäärän %-osuus korreloi tilastollisesti merkitsevästi ( $p = 0,044$ ) viskeraalisen rasvan määrän kanssa (korrelaatio -0,46) (ks. kuva 5.2). Sen sijaan I-tyyppin solujen ja rasvaprosentin tai rasvamassan välillä ei ollut yhteyttä tilastollisesti merkitsevästi.



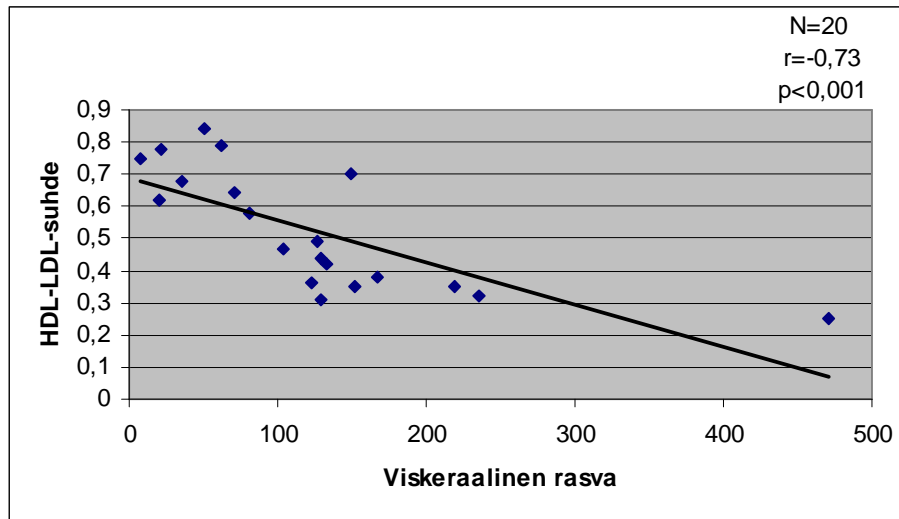
KUVA 5.2 Viskeraalisen rasvan ja I-tyyppin solujen korrelaatio on tilastollisesti merkitsevä ( $r=-0,46$ ,  $p=0,044$ ).

**Kapillaarit.** Kapillaaritiheys oli aktiivisilla kaksosilla keskimäärin  $239 \pm 59$  kapillaaria/mm<sup>2</sup> ja inaktiivisilla  $242 \pm 48$  kapillaaria/mm<sup>2</sup>. Ero ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Lihassolutyypillä ei ollut kapillaaritiheyden tilastollisesti merkitsevää yhteyttä. Myöskään rasvamassan tai viskeraalisen rasvan määrän ja kapillaaritiheyden välinen korrelaatio ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

**Paino ja kehonkoostumus.** Kaksospareista inaktiivinen oli keskimäärin lähes kymmenen kiloa painavampi ja keskimääräinen BMI oli 2,3 yksikköä korkeampi aktiiviseen kaksospariin verrattuna. Erot eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä ( $p>0,05$ ). Huomattava ero kaksosparien välillä oli myös kehon koostumuksessa. Eroa rasvatomassa massassa oli keskimäärin vain 2,3 kg, mutta rasvamassassa eroa oli 6,3 kg aktiivisen henkilön ollessa kummankin suhteen kevyempi. Myös viskeraalista rasvaa inaktiivisilla kaksosilla oli keskimäärin 68,1 cm<sup>2</sup> enemmän. Erot eivät kuitenkaan myöskään näissä olleet tilastollisesti merkitseviä, vaikkakin rasvamassan ja viskeraalisen rasvan määrän kohdalla olikin trendiä ( $p<0,08$ ). Sen sijaan tilastollisestikin merkitseviä eroja kaksosten välillä saatiin rasvaprosentin osalta, jossa p-arvo oli 0,019. Aktiivisten rasvaprosentti oli keskimäärin 19,9 ( $\pm 5,9$ ) % ja inaktiivisten 25,5 ( $\pm 5,6$ ) %. Aktiivisella kaksososapuolella oli siis suhteellisesti huomattavasti vähemmän rasvaa. BMI:hin tai muihinkaan kehonkoostumusmuuttujiin vuosien 1980-2007 MET-arvojen keskiarvolla ei kuitenkaan ollut merkittävää tai tilastollisesti merkitsevää korrelaatiota. BMI:n ja keskiarvo MET:in välinen korrelaatio oli  $-0,32$  ( $p=0,17$ , ns.).

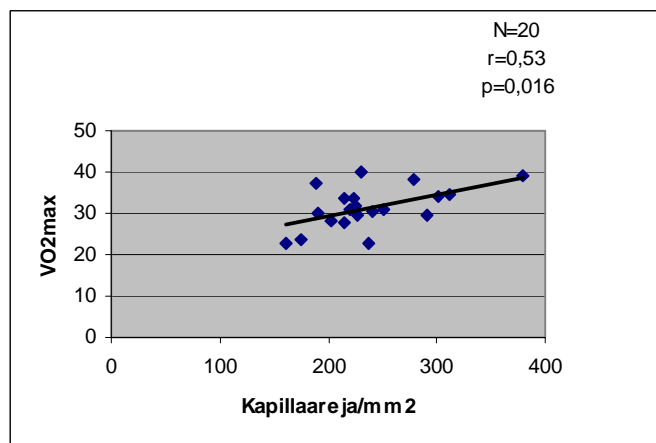
**Kolesteroli.** HDL ja LDL kolesterolien suhteen osalta ero kaksosparien välillä oli tilastollisesti merkitsevä ( $p=0,014$ ), niin että aktiivisen kaksosen suhde oli korkeampi eli parempi (A:  $0,59 \pm 0,2$  vs. I:  $0,46 \pm 0,15$ ). Vuoden 2005 aktiivisuus (MET) korreloikin tilastollisesti merkitsevästi ( $p=0,02$ ) HDL-LDL -suhteen kanssa ( $r=0,52$ ). Kolesteroliarvojen suhteella oli tilastollisesti merkitsevä ( $p<0,001$ ) ja voimakas negatiivinen korrelaatio ( $r=-0,73$ ) viskeraalisen rasvan määrän kanssa (ks. kuva 5.3). Myös BMI:n ja HDL-LDL -suhteen välinen korrelaatio ( $r=-0,53$ ) oli tilastollisesti merkitsevä ( $p=0,017$ ). Rasvattoman massan ja HDL-LDL -suhteen välillä oli negatiivinen ja tilastolli-

sesti merkitsevä korrelaatio ( $r = -0,57$ ,  $p = 0,008$ ) ja myös rasvamassan ja HDL-LDL –suhteen korrelaatio oli lähes tilastollisesti merkitsevä ( $r = -0,4$ ,  $p = 0,051$ )



KUVA 5.3 Korrelaatio viskeraalisen rasvan ja HDL-LDL –suhteen välillä on  $-0,73$  ( $p < 0,001$ ).

**Maksimaalinen hapenottokyky,  $VO_{2max}$ .** Ero  $VO_{2max}$ :ssa oli kaksosten välillä tilastollisesti merkitsevä (A:  $33,6 \pm 5,2$  vs. I:  $29,3 \pm 4,1$ ),  $p < 0,05$ . Maksimaalinen hapenottokyky korreloikin aktiivisuuden kanssa tilastollisesti merkitsevästi niin, että vuoden 2005 MET:in ja  $VO_{2max}$ :n välinen korrelaatio oli  $0,56$  ( $p = 0,011$ ) ja seurantaajan 1980-2007 keskiarvo MET:in ja  $VO_{2max}$ :n välinen korrelaatio oli  $0,52$  ( $p = 0,023$ ). Korrelaatio  $VO_{2max}$ :n ja kapillaaritiheyden välillä oli tilastollisesti merkitsevä  $0,53$  ( $p = 0,016$ ) (ks. kuva 5.4).  $VO_{2max}$  korreloi tilastollisesti merkitsevästi myös monien kehonkoostumusmuuttujien kanssa: BMI ( $r = -0,56$ ,  $p = 0,01$ ), viskeraalisen rasvan määrä ( $r = -0,58$ ,  $p = 0,007$ ) ja rasvamassa ( $r = -0,52$ ,  $p = 0,018$ ).



KUVA 5.4 Kapillaaritiheyden ja maksimaalisen hapenoton välinen korrelaatio on  $0,53$  ( $p = 0,016$ )

## 6 POHDINTA

**Päätulokset.** Tutkimuksen päätulokset osoittavat, että liikuntataustaltaan 30 vuotta erilaiset kaksoset eivät eronneet toisistaan lihassolujakaumaltaan tai kapillaaritiheydeltään. Tämä osoittaa sen, että lihassolutyypin sekä kapillaarien tiheys määräytyvät suurelta osin perimän mukaan, eikä liikuntaharjoittelulla ole pitkälläkään aikavälillä suurta vaikutusta näihin tekijöihin.

Tulos on sikäli yllättävä, että useiden tutkimusten mukaan jo suhteellisen lyhyenkin aikavälin harjoittelulla on saatu lihassolukoostumusta muuttumaan II-tyyppin solujen sisällä (mm. Liu ym. 2002; Short ym. 2005; Kryger & Andersen 2007) ja kapillaarien määrä on lisääntynyt (Andersen & Henriksson 1977; McCall ym. 1996). On kuitenkin aina muistettava, että ihmiseltä otettava lihasbiopsianäyte edustaa vain pientä osaa ihmisen koko lihaksesta ja lihaksistosta. Näytteet otettiin kuitenkin yleisesti tutkimuksissa käytetystä vastus lateralis -lihaksesta, joka edustaa melko keskimääräistä lihasta. Lisäksi tutkimuksen koehenkilöiden liikuntaharjoittelua ei monista muista tutkimuksista poiketen ole vakioitu millään tavalla, vaan kukin on harrastanut liikuntaa omalla tavallaan ja intensiteetillään. Lienee kuitenkin mainitsemisen arvoista, että eräässä kaksosparissa aktiivisempi osapuoli oli juossut elämässään useita maratoneja, eikä merkittäviä eroja lihassolujakaumissa tai kapillaarien määrässä silti löytynyt inaktiiviseen osapuoleen verrattuna.

Lisäksi tulos on kiinnostava verrattuna eri lajien urheilijoilta saatuihin tuloksiin. Niiden tulosten perusteella urheilijoiden lihassolukoostumukset eroavat selkeästi toisistaan eri lajeissa (Gollnick ym. 1972, Costill ym. 1976). Tämän tutkimuksen tulosten perusteella voisi siis sanoa, että lahjakkuus tiettyyn lajiin saadaan jo perimässä. On siis todennäköistä, että urheilijat ovat valikoituneet sen lajin pariin, johon heillä on lihassolukoostumuksensa ja/tai kapillaaritiheytensä perusteella parhaimmat ominaisuudet. Kapillaaritiheys olikin aiempien tutkimusten mukaisesti (Hepple 2000) ja fysiologisen hapenkuljetusmekanismin kanssa loogisesti yhteydessä maksimaaliseen hapenkulutukseen. Voi siis olla, että perimä määrää paljon siitä kenellä on mahdollisuutta urheilun huipulle ja kenellä ei.

Myös terveydellisten näkökohtien kannalta tulos herättää mielenkiintoa. Matalalla I-tyypin solujen osuudella on todettu olevan yhteyttä mm. lihavuuteen ollen näin merkittävä tekijä moniin sydän- ja verisuonisairauksiin (Karjalainen ym. 2006). Mikäli perimää suurelta osin solukoostumuksemme, on siis myös alttius lihavuuteen ja moniin sairauksiin geenien lisäksi myös tätä kautta osin perinnöllistä ja alttiuden omaavien on syytä kiinnittää muita tarkemmin huomiota elintapoihinsa. Lisäksi koska myös kapillaaritiheys osoittautui vahvasti perinnölliseksi, saattaa alttius tiettyihin aineenvaihdunnallisiin sairauksiin periytyä myös pelkän ”huonon” kapillarisaation vuoksi.

**Paino ja kehonkoostumus.** Vaikka solutyypillä olisikin yhteyttä lihavuuteen, osoittavat tutkimuksen tulokset sen, että liikuntatottumuksilla on painoon ja kehonkoostumukseen paljon merkitystä. Vaikkakaan kaikki erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä ja suora korrelaatiota MET:in ja BMI:n välillä ei havaittu, oli tutkimuksessa havaittavissa selvä suuntaus siihen, että inaktiiviset henkilöt olivat aktiivisia painavampia ja suurin osa tästä painosta oli rasvaa. Rasva oli kertynyt sekä ihonalaiseksi että viskeraaliseksi rasvaksi.

**Kolesteroli.** Suuri viskeraalisen rasvan määrä oli selvässä yhteydessä sydän- ja verisuonisairauksia ennustavan pienen HDL-LDL –suhteen kanssa. Viskeraalisen rasvan määrä korreloi tilastollisesti merkitsevästi myös I-tyypin solujen osuuden kanssa, mikä siis tukee aiempia havaintoja solutyypin vaikutuksesta lihavuuteen (Karjalainen ym. 2006). Toisaalta tilastollisesti merkitsevää yhteyttä ei löydetty solutyypin ja rasvamäärän tai rasvaprosentin välille, mikä antaisi olettaa, että lihassolutyypin vaikutus nimenomaan terveyden kannalta haitallisemmän rasvan kerääntymiseen. Myös viimeaikainen liikunta-aktiivisuus näyttäisi aiempien tutkimusten mukaisesti (Leon & Sanchez 2001) korreloivan negatiivisesti HDL-LDL –suhteen kanssa eli liikunta parantaa kolesteroliarvoja terveyden kannalta edullisempaan suuntaan.

**VO<sub>2max</sub>.** Liikunta-aktiivisuus oli selvässä yhteydessä paremman hapenottokyvyn kanssa. Vaikka tämän tutkimuksen mukaan paljolti perinnöllinen kapillaaritiheys onkin vahvasti yhteydessä hapenottokyvyn kanssa, on liikunnalla hapenottokykyyn vähintään yhtä suuri vaikutus. Voidaan siis päätellä, että vaikka perisikin ns. huonon kapillarisaation, voi omalla liikunta-aktiivisuudellaan huomattavasti vähentää sen haittavaikutuksia

ja parantaa terveyttään sekä suorituskykyään. Myös kehon koostumukseen hapenottokyvyllä oli merkitsevä yhteys, mikä johtunee kuitenkin liikunnan edullisista vaikutuksista kumpaankin enemmän kuin niiden välisestä suorasta yhteydestä.

**Virhearviontia.** Kaikkia tuloksia tarkasteltaessa on huomioitava, että koehenkilömäärä oli tutkimuksessa suhteellisen pieni, vaikkakin kaksostutkimukseksi kymmenen paria on jo kohtuullinen aikaisempiinkin tutkimuksiin verrattuna. Lisäksi tuloksiin saattaa vaikuttaa näytteiden analysoinnissa mahdollisesti sattuneet virheet ja tulkinnanvaraisuus. Etenkin lihassolutyyppejä määritettäessä rajanveto kahden lihassolutyyppin välille on toisinaan hankalaa, muodostavathan lihassolutyypit todellisuudessa jatkumon ja rajat ovat vain keinotekoisesti asetettuja. Analysoinnissa tapahtunutta virhettä pyrittiin kuitenkin minimoimaan suorittamalla ne ns. sokkoanalyysinä, jolloin analysoija ei tiennyt kenen näytettä oli analysoimassa. Näin väheni systemaattisen virheen mahdollisuus. Samoin tulosten virhettä vähentää se, että sama henkilö suoritti kaikki analyysit, jolloin solutyyppeiden ja niitä vastaavien värien rajat pysyivät näytteestä toiseen lähellä toisiaan.

**Johtopäätökset.** Tämän tutkimuksen perusteella lihassolutyypit ja kapillaaritiheys ovat suurelta osin perimän määrittämiä, eikä niihin voida liikuntaharjoittelulla paljoakaan vaikuttaa. Tietäen lihassolukoostumuksen ja kapillaarien vaikutuksen terveyteen, on epäsuotuisan lihassolukoostumuksen omaavien kiinnitettävä elintapoihinsa ehkä normaalia suurempaa huomiota, sillä elintavoilla voidaan kuitenkin vaikuttaa moniin terveysmuuttujiin lihassolutyypistä tai kapillaaritiheydestä riippumatta. Myös urheilijoiden ja valmentajien on syytä tiedostaa, ettei huippusuoritus ole kiinni yksinomaan harjoittelusta, vaan myös perimällä on suuri merkitys lahjakkuuteen.

## LÄHTEET

- Andersen, J. L. & Aagaard, P. 2000. Myosin heavy chain IIX overshoot in human skeletal muscle. *Muscle & Nerve* 23 (7), 1095-1104.
- Andersen, P. & Henriksson, J. 1977. Capillary supply of quadriceps femoris muscle of man: adaptive response to exercise. *The Journal of Physiology* 270, 677-690.
- Baar, K. 2006. Training for Endurance and Strength: Lessons from Cell Signaling. *Medicine and Science in Sports & Exercise* 38 (11), 1939-1944.
- Bouchard, C., Malina, R. M. & Pe'russe, L. 1997. Genetics of Fitness and Physical Performance. *Human Kinetics, United States of America*, 15-39
- Brooke, M. H. & Kaiser, K. K. 1970. Three "myosin adenosine triphosphatase" systems: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry* 18, 670-672.
- Costill, D. L., Daniels, J., Evans, W., Fink, W., Krahenbuhl, G. & Saltin, B. 1976. Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. *Journal of Applied Physiology* 40 (2), 149-154.
- Gollnick, B. D., Armstrong, R. B., Saubert IV, C. W., Piehl, K. & Saltin, B. 1972. Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *Journal of Applied Physiology* 33 (3), 312-319.
- Elder, G. C. B., Bradbury, K. & Roberts R. 1982. Variability of fiber type distributions within human muscles. *Journal of Applied Physiology* 53 (6), 1473-1480.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2000. *Textbook of Medical Physiology*. Saunders, Philadelphia, 70-71, 11162-163.
- Hepple, R. T. 2000. Skeletal muscle: microcirculatory adaptation to metabolic demand. *Medicine and Science in Sports & Exercise* 32 (1), 117-123.
- Hepple, R. T., Mackinnon, S. L. M., Goodman, J. L., Thomas, S. G. & Pyley, M. J. 2000. Resistance and aerobic training in older men: effects on  $VO_{2peak}$  and the capillary supply to skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 82 (4), 1305-1310.
- Hernelahti, M., Tikkanen, H. O., Karjalainen, J. & Kujala, U. M. 2005. Muscle fiber-type as a predictor of blood pressure: a 19-year follow-up study. *Hypertension* 45 (5), 1019-1023.



- Jansson, E. & Kaijser, L. 1977. Muscle adaptation to extreme endurance training in man. *Acta Physiologica Scandinavica* 100 (3), 315-324.
- Johnson, M. A., Polgar, J., Weightman, D. & Appleton, D. 1973. Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. *Journal of the Neurological Sciences* 1118 (1), 111-129.
- Karjalainen, J., Tikkanen, H., Hernelahti, M. & Kujala, U. M. 2006. Muscle fiber-type distribution predicts weight gain and unfavourable left-ventricular geometry: a 19-year follow-up study. *BMC Cardiovascular Disorders* 6 (2).
- Komi, P. V., Viitasalo, J. H., Havu, M., Thorstensson, A., Sjödin, B. & Karlsson, J. 1977. Skeletal muscle fibres and muscle enzyme activities in monozygous and dizygous twins of both sexes. *Acta Physiologica Scandinavica* 100 (4), 385-392.
- Kryger, A. I. & Andersen, J. L. 2007. Resistance training in the oldest old: consequences for muscle strength, fiber types, fiber size, and MHC isoforms. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in sports* 17, 422-430.
- Leon, A. S. & Sanchez, O. A. 2001. Response of blood lipids to exercise training alone or combined with dietary intervention. *Medicine and Science in sports and exercise* 33 (6), 502-515.
- McArdle, W. D., Katch, F. I. & Katch, V. I. 2001. *Exercise Physiology Energy, Nutrition, and Human Performance*, 359-377.
- McCall, G. E., Byrnes, W. C., Dickinson, A., Pattany, P. M. & Fleck, S. J. 1996. Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *Journal of Applied Physiology* 81, 2004-2012.
- O'Neill, D. S., Zheng, D., Anderson, W. K., Dohm, G. M. & Houmard, J.A. 1999. Effect of endurance exercise on myosin heavy chain gene regulation in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 276, 414-419.
- Pette, D. 2005. Activity-Dependent Adaptive Responses of Skeletal Muscle Fibers. Teoksessa Mooren, F. C. & Völker, K. (toim.) *Molecular and Cellular Exercise Physiology*. Human Kinetics, 263-275.
- Pette, D. & Staron, R. S. 2000. Myosin Isoforms, Muscle Fiber Types, and Transitions. *Microscopy Research and Technique* 50, 500-509.
- Poole, D. C., Mathieu-Costello, O. West, J. B. 1989. Capillary tortuosity in rat soleus muscle is not affected by endurance training. *The American Journal of Physiology* 256, 1110-1116.

- Prior, B., M., Yang, H. T. & Terjung, R. L. 2004. What makes vessels grow with exercise training? *Journal of Applied Physiology* 97, 1119-1128.
- Rankinen, T. & Bouchard, C. 2005. Genes, Genetic Heterogeneity, and Exercise Phenotypes. Teoksessa Mooren, F. C. & Völker, K. (toim.) *Molecular and Cellular Exercise Physiology*. *Human Kinetics*, 39-54.
- Rico-Sanz, J., Rankinen, T., Joanisse, D. R., Leon, A. S., Skinner, J. S., Wilmore, J. H., Rao, D. C. & Bouchard, C. 2003. Familial Resemblance for Muscle Phenotypes in the HERITAGE Family Study. *Medicine & Science in Sports and Exercise* 35 (8), 1360-1366.
- Short, K. R., Vittone, J. L., Bigelow, M. L., Proctor, D. N., Coenen-Schimke, J. M., Rys, P. & Nair, K. S. 2005. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance exercise training. *Journal of Applied Physiology* 99, 95-102.
- Simoneau, J. & Bouchard, C. 1995. Genetic determinism of fiber type proportion in human skeletal muscle. *FASEB Journal* 9, 1091-1095.
- Waters, R. E., Rotevatn, S., Li, P., Annex, B. H. & Yan, Z. 2004. Voluntary running induces fiber type-specific angiogenesis in mouse skeletal muscle. *American Journal of Physiology – Cell Physiology* 287, 1342-1348.
- Wisloff, U., Najjar, S. M., Ellingsen, O., Haram, P. M., Swoap, S., Al-Share, Q., Fernström, M., Rezaei, K., Lee, S. J., Koch, L. G. & Britton, S. L. 2005. Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. *Science* 307 (5708), 418-420.
- Zoladz, J. A., Semik, D., Zawadowska, B., Mejerzack, J., Karasinski, J., Kolodziejjski, J., Duda, K. & Kilarski, W. M. 2005. Capillary density and capillary-to-fibre ratio in vastus lateralis muscle of untrained and trained men. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 43 (1), 11-17.



