

**AKILLESJÄNTEEN JA LUUSTOLIHAKSEN GLUKOOSIN  
KÄYTTÖ FYYSISEN RASITUKSEN AIKANA  
POSITRONIEMISSIOTOMOGRAFIALLA MITATTUNA**

**Jarna Saarinen**

Jyväskylän yliopisto  
Liikuntabiologian laitos  
Liikuntafysiologian *Pro Gradu*  
-tutkielma  
Syksy 2001  
Työn ohjaajat: Pirjo Nuutila ja  
Heikki Kyröläinen

## TIIVISTELMÄ

*Jarna Saarinen. Akillesjänteen ja luustolihasen glukoosin käyttö fyysisen rasituksen aikana positroniemissiotomografialla mitattuna. Liikuntafysiologian Pro Gradu –tutkielma. Liikuntabiologian laitos. Jyväskylän yliopisto.*

Jänteiden tehtävänä on kiinnittää lihakset luihin ja kuljettaa lihasten synnyttämät voimat luihin. Koska jänteiden solut käyttävät happea ja sisältävät energia-aineenvaihduntajärjestelmän entsyymiketjuja, niiden uskotaan käyttävän glukoosia energia-aineenvaihdunnassaan. Positroniemissiotomografia (PET) on radioaktiivisia isotooppeja hyödyntävä kuvantamismenetelmä, jolla voidaan tutkia elimistön biokemiallisia ja aineenvaihdunnallisia tapahtumia in vivo. Tämän tutkimuksen tarkoituksen on positroniemissiotomografian ja [<sup>18</sup>F]FDG:n avulla tutkia akillesjänteen glukoosin käyttöä eri rasiustasolla ja verrata sitä luustolihasen glukoosin käyttöön.

Tutkimukseen osallistui kahdeksan vapaaehtoista miestä (ikä  $29 \pm 7$  v.;  $VO_{2max}$   $51 \pm 9$  ml·kg<sup>-1</sup>·min). Kaikki koehenkilöt tutkittiin kolmena eri päivänä vähintään kahden päivän välein kerran kullakin kolmesta rasiustasosta 30 % (LOW), 55 % (MID) ja 75 % (HIGH)  $VO_{2max}$ :sta. PET-tutkimus alkoi kymmenen minuuttia polkupyörärasituksen alkamisesta, jolloin koehenkilön kyynärlaskimoon injisoitiin [<sup>18</sup>F]FDG-merkkiainetta. [<sup>18</sup>F]FDG:n injisoinnin jälkeen polkupyörärasitusta jatkettiin vielä 25 minuuttia. Polkupyörärasituksen jälkeen mitattiin akillesjänteen, nelipäisen reisilihaksen sekä lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttö PET:n avulla.

Koehenkilöiden syke ja laktaattikonsentraatio kasvoivat merkittävästi eri rasiustasojen välillä ( $p < 0.001$ ). Plasman glukoosikonsentraatiossa ei havaittu eroja eri mittauskertojen eikä eri rasiustasojen välillä. FDG kertyi lihaksiin ja akillesjänteeseen ja sen kulutus voitiin laskea graafisen analyysin avulla. Akillesjänteen glukoosin kulutus oli  $7.1 \pm 1.5$ ,  $6.6 \pm 1.1$  ja  $6.0 \pm 1.1$   $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  ja lyhyen pohjeluulihaksen  $13.3 \pm 5.4$ ,  $11.4 \pm 5.4$  ja  $11.5 \pm 2.9$   $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  eri rasiustasolla (LOW, MID ja HIGH). Akillesjänteen ja lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käytössä ei havaittu muutoksia eri rasiustasojen välillä. Lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttö oli kuitenkin akillesjänteen glukoosin käyttöä suurempaa LOW- ( $p < 0.05$ ) ja HIGH-tasolla ( $p < 0.05$ ). Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö kasvoi rasituksen intensiteetin myötä  $47.9 \pm 34.8$ ,  $120.1 \pm 34.6$  ja  $152.3 \pm 74.0$   $\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ . Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö kasvoi LOW-tasolta MID-tasolle lähes kolminkertaisesti ja LOW-tasolta HIGH-tasolle yli nelinkertaisesti, molemmissa ( $p < 0.001$ ). Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö oli merkittävästi suurempaa ( $p < 0.001$ ) verrattuna akillesjänteen tai lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttöön kaikilla kolmella rasiustasolla.

Tämän tutkimuksen tulosten perusteella akillesjänne käyttää glukoosia energiakseen ja akillesjänteen glukoosin käyttö voidaan mitata PET:n avulla. Kuormituksessa aktiivisen luustolihasen glukoosin käyttö kasvaa rasituksen intensiteetin lisääntyessä. Jännekudoksen glukoosin käyttö on huomattavasti vähäisempää verrattuna luustolihasen glukoosin käyttöön fyysisen rasituksen aikana, eikä jänteen glukoosin käytön määrä muutu eri rasiustasoteiteillä.

**Avainsanat:** akillesjänne, glukoosiaineenvaihdunta, akuutti rasitus, positroniemissiotomografia (PET), [<sup>18</sup>F]FDG, luustolihas

# SISÄLTÖ

<b>1 JOHDANTO.....</b>	<b>3</b>
<b>2 AKILLESJÄNTEEN RAKENNE JA TEHTÄVÄT.....</b>	<b>4</b>
2.1 Akillesjänteeseen tehtävät.....	4
2.2 Akillesjänteeseen osat.....	6
2.3 Jänteiden hienorakenne.....	8
2.3.1 Yleistä.....	8
2.3.2 Kollageeni.....	8
2.3.3 Jänteeseen solunulkoisen perusaineen.....	9
2.3.4 Jänteeseen solut.....	10
2.4 Fyysisen rasituksen vaikutukset jänteeseen.....	11
<b>3 AKILLESJÄNTEEN VERENVIRTAUS.....</b>	<b>12</b>
3.1 Akillesjänteeseen verisuonitus.....	12
3.2 Akillesjänteeseen ja sitä ympäröivän peritekan verenvirtaus levossa ja rasituksessa.....	15
3.3 Jänteeseen verenvirtauksen mittaussuomenetelmät.....	17
3.2.1 <sup>133</sup> Xe-puhdistussuomenetelmä.....	17
3.2.2 Laser doppler virtausmetri.....	18
3.2.3 Mikropallotekniikka.....	19
3.2.4 H <sup>+</sup> -kaasupuhdistussuomenetelmä.....	19
<b>4 JÄNTEEN ENERGIA-AINEENVAIHDUNTA.....</b>	<b>20</b>
4.1 Hapenkulutus ja sen mittaaminen.....	20
4.2 Energia.aineenvaihdunta.....	21
4.2.1 Glyseroli- ja glukositasot akillesjännettä ympäröivässä peritekanissa rasituksen aikana.....	23
<b>5 LUUSTOLIHAKSEN GLUKOOSIAINEENVAIHDUNTA RASITUKSESSA.....</b>	<b>25</b>
5.1 Luustolihasn glukosiaaineenvaihdunta.....	25
5.1.1 Solun sisäinen glukosiaaineenvaihdunta.....	26
5.2 Luustolihasn glukosin käytön säätely rasituksessa.....	27
5.2.1 Energia-aineiden käyttö.....	27
5.2.2 Fyysisen rasituksen intensiteetin ja kestön vaikutus glukosin käyttöön.....	28
5.2.3 Insuliinin ja lihassupistusten vaikutus glukosin kuljetukseen.....	29
<b>6 POSITRONIEMISSIOTOMOGRAFIA GLUKOOSIN KÄYTÖN TUTKIMISESSA.....</b>	<b>31</b>
6.1 PET:n perusteet.....	31
6.2 Glukosin käytön mittaaminen [ <sup>18</sup> F]FDG:n avulla.....	32
6.3 PET:in ja FDG:n avulla mitattu luurankolihasn glukosin käyttö.....	34
<b>7 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT.....</b>	<b>36</b>

<b>8 TUTKIMUSMENETELMÄT</b> .....	<b>37</b>
8.1 Koehenkilöt.....	37
8.2 Maksimaalinen hapenkulutus ( $VO_{2max}$ ).....	37
8.3 Tutkimusasetelma.....	38
8.4 PET-protokolla.....	39
8.4.1 Polkupyörärasitus ja [ $^{18}F$ ]FDG:n injisointi.....	39
8.4.2 PET-kuvaukset.....	39
8.5 PET-kuvien käsittely.....	40
8.6 Mielenkiintoalueet ja glukoosin käytön laskeminen.....	40
8.7 Verinäytteet ja sykkeen mittaaminen.....	42
8.8 Tilastolliset analyysit.....	42
<b>9 TULOKSET</b> .....	<b>43</b>
9.1 $VO_{2max}$ -testi ja polkupyöräergometrirasituksen kuormitustasot.....	43
9.2 Luustolihas- ja akillesjänteen glukoosin käyttö .....	44
9.3 Biokemialliset muutokset .....	46
<b>10 POHDINTA</b> .....	<b>49</b>
10.1 Päälöydökset.....	49
10.2 Luustolihas- ja akillesjänteen glukoosin käyttö .....	49
10.3 Biokemialliset muutokset.....	51
10.4 Tutkimusmenetelmät .....	52
10.5 Yhteenvedo.....	54
<b>LÄHTEET</b> .....	<b>56</b>

# 1 JOHDANTO

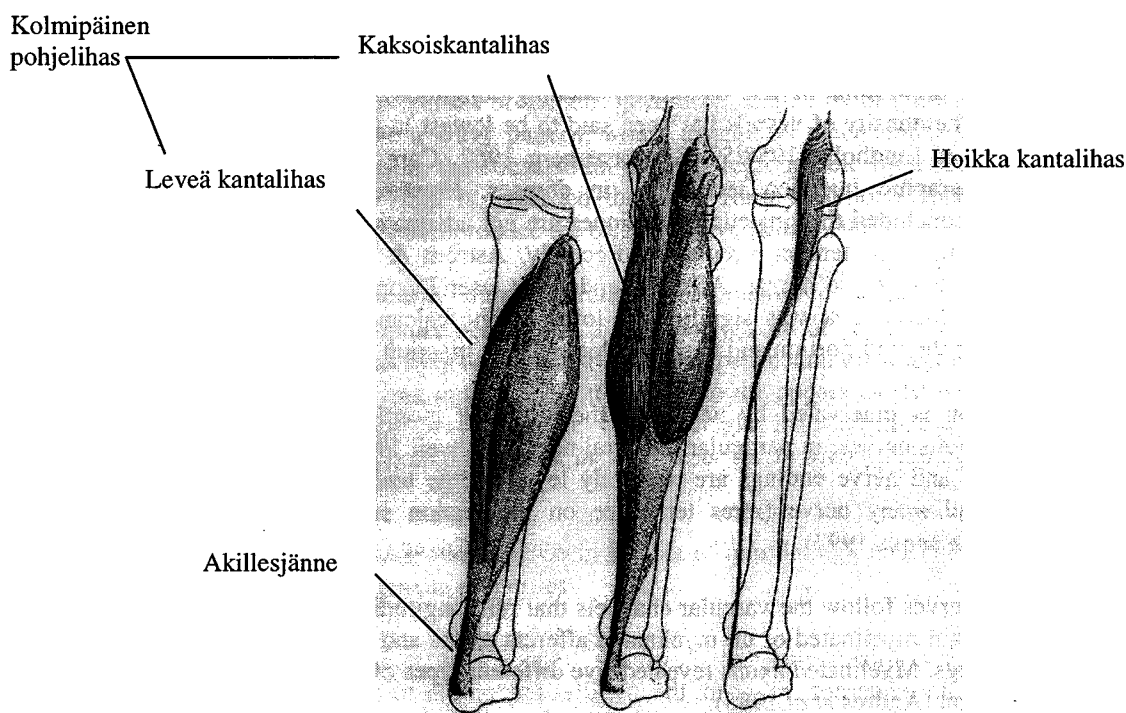
Jänne on monimutkaisesti järjestäytynyttä sidekudosta, joka liittyy lihakset luihin. Jänteen tehtävä on siirtää lihasten synnyttämät voimat luihin ja mahdollistaa siten nivelten liikkumisen. Jänteen uskottiin pitkään olevan metabolisesti inaktiivista kudosta. 1950-luvun lopulla ihmisen jänteen hapenkulutukseksi määritettiin kuitenkin  $1.7 \mu\text{l/g/min}$  jänteen kuivapainoa kohden (Peacock 1959). Ihmisen jänneiden soluissa on myös havaittu entsyymiketjuja, jotka kuuluvat elimistön kolmelle tärkeimmälle energia-aineenvaihduntajärjestelmälle: Krebsin syklille, anaerobiselle glykolyysille ja pentoosifosfaatti-yhdistyksielle (Józsa ym. 1979 ja Kvist ym. 1987). Jännekudoksen verisuonitus on vähäistä ja huomattavasti vähäisempää kuin lihaskudoksen (Lagergren & Lindholm 1958/1959, Peacock 1959, Smith 1965, Schmidt-Rohlfing ym. 1992, Kirkendall & Karret 1997 ja Ahmed ym. 1998). Jänteen verisuonituksen uskotaan olevan niin sanottua ei-ravitsevaa verisuonistoa (Newman ym. 1997, Langberg ym. 1998 ja Clark ym. 2000.), mikä näin ollen vaikuttaisi energia-aineiden kulkeutumiseen jänteeseen. Lisäksi rasituksen aikana uskotaan aktiivisten luustolihasveren virtauksen kasvavan jänteen verenvirtauksen kustannuksella (Clark ym. 2000). Jänteen energia-aineiden käyttöä ei ole juurikaan tutkittu. Langberg ym. (1999c) ovat tutkineet glyseroli- ja glukosipitoisuuksien muutoksia jännettä ympäröivällä peritenonilla levossa ja rasituksessa.

Positroniemissiotomografia (PET) on radioaktiivisia isotooppeja hyödyntävä kuvantamismenetelmä, jolla voidaan tutkia elimistön biokemiallisia ja aineenvaihdunnallisia tapahtumia in vivo. Tällä hetkellä mikään muu menetelmä ei pysty tähän yhtä monipuolisesti ja noninvasiivisesti. (Jones 1990 ja Knuuti & Nuutila 1999.) [ $^{18}\text{F}$ ]-2-fluoro-2-deoksi-D-glukoosi ([ $^{18}\text{F}$ ]FDG) on fluoriini-18 merkitty glukosianalogi, jossa vety on korvattu fluoriini-18:lla. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG kulkeutuu lihassoluun samojen kantajaproteiinien avulla kuin glukosiksi. Glukosista poiketen fosforyloitunut fluoro-deoksi-glukoosi ei metaboloidu edelleen vaan kertyy kohdesoluun. (Phelps ym. 1978.) [ $^{18}\text{F}$ ]FDG:n kudokseen kertymisen perusteella kyetään laskennallisten analyysien avulla määrittämään halutun alueen glukosin käyttö. Tämän tutkimuksen tarkoituksena on PET:n ja [ $^{18}\text{F}$ ]FDG:n avulla selvittää akillesjänteen glukosin käyttöä eri rasitustasoilla ja verrata sitä luustolihasseen. Tämä on ensimmäinen tutkimus, jossa jännettä on tutkittu PET:n avulla.

## 2 AKILLESJÄNTEEN RAKENNE JA TEHTÄVÄT

### 2.1 Akillesjänteen tehtävät

Jänteet sijaitsevat lihasten ja luiden välissä ja siirtävät lihasten synnyttämät voimat luiden mahdollistaen nivelten liikkeitä. Jänteet koostuvat kollageenista, elastaanista sekä vedestä ja sijaitsevat proteoglykaaneista ja vedestä muodostuneessa perusaineessa. (Kvist 1991.) Terveet jänteet ovat väriltään kirkkaan valkoisia, elastisia ja hyvin mekaanista rasitusta kestäviä. Jänteiden valkoinen väri johtuu niiden vähäisestä verisuonien määrästä. (O'Brien 1997.)



**Kuva 1.** Kolmipäinen pohjelihas ja akillesjänne. Kuva muokattu lähteestä Movin 1998. Hoikka kantalihas puuttuu 6 – 8 % ihmisistä (Kvist 1991).

Akillesjänne sijaitsee säären alaosassa ja sen takapuolella, pohjelihasten ja kantaluun välissä (Movin 1998). Akillesjänne muodostuu kolmipäisen pohjelihaksen (kaksoiskantalihas ja leveä kantalihas) kalvojänteiden jatkeista. (Kuva 1.) Akillesjänne kiinnittyy luujänneliitoksella kantaluun takaosaan (Benjamin ym. 1986). Aikuisen ihmisen akillesjänne on keskimäärin 15 cm pitkä ja 0.5 – 1.0 cm paksu. Henkilön koko (etenkin

pituus), ikä ja fyysinen harjoittelu (Michna & Hartman 1989) vaikuttavat akillesjänteen kokoon. (Koivunen-Niemelä 1995.) (Kuva 2. ja 3.)



*Kuva 2. Akillesjänne. (Virtual Hospital, Key Figure 10.)*



*Kuva 3. Magneettikuva akillesjänteestä.*

Akillesjänteen syyt kiertyvät spiraalimaisesti matkalla lihasjänneliitoksesta luujänneliitokseen. Lihasjänneliitosalueen mediaaliset jännesyyt muuttuvat luujänneliitosalueella kantaluun takaosiin kiinnittyviksi jännesyiksi. (Ahmed ym. 1998.) Noin neljä senttimetriä kantaluun yläpuolella akillesjänne on muodoltaan pyöreä, mutta tämän kohdan alapuolella jänne laajenee kiinnittyessään kantaluuhun (Koivunen-Niemelä 1995). Akillesjänteen muodostavista osista leveä kantalihas on suurin ja myös tärkein nilkan ojentajalihas. (Cummins ym. 1946.)

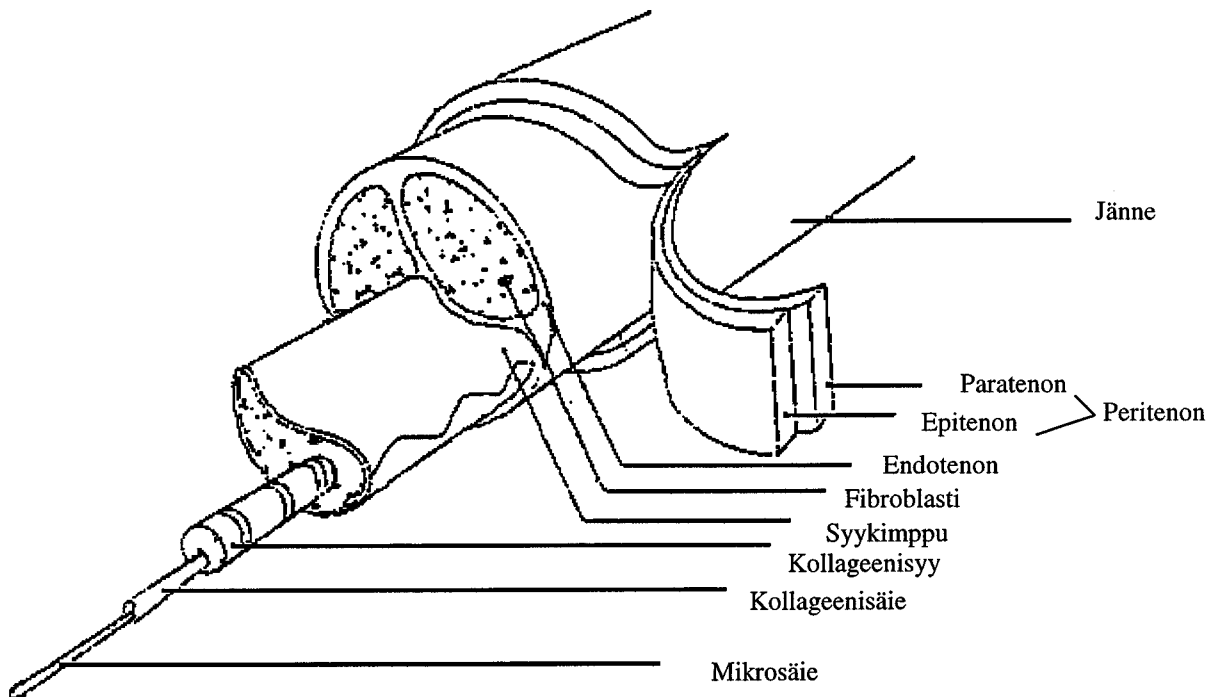
Akillesjänneestä puuttuu jännetuppi. Jännetupen sijasta akillesjännettä ympäröivät löyhät sidekudusrakenteet (paratenon, epitenon ja endotenon), jotka toimivat elastisena holkkina mahdollistaen jänneen vapaan liikkumisen ja vähentäen kitkaa (Kuva 4.). (Schmidt –Rohlfing ym. 1992.) Löyhien sidekudusrakenteiden avulla akillesjänne kykenee liikkumaan pituussuunnassaan puolitoista senttimetriä suhteessa ympäröiviin kudoksiin. Akillesjänteen ja kantaluun välissä sekä jänneen ja ihon välissä akillesjänteen liitoskohdassa sijaitsee nivelvoidepussi. Nivelvoidepussin tarkoituksena on vastaanottaa ja vaimentaa liikkumisesta aiheutuvia jänneeseen kohdistuvia iskuja. (Kvist 1991.)

## 2.2 Akillesjänteen osat

*Endotenon* on jännesyykimppujen ympärillä ja sisällä sijaitseva löyhä sidekudos. Endotenonin pääasiallinen tehtävä on sitoa jännesyykimppuja, mutta se mahdollistaa myös verisuonten, hermojen ja imusuonien kulkeutumisen jännesyiden mukana jänneen syvempiin osiin (Schatzker & Brånemark 1969). (Kuva 4.) (Elliot 1965, Józsa & Kannus 1997, s. 51, 55.)

*Epitenon* ympäröi koko jännettä. Epitenonin alapinta yhtyy endotenoniin ja yläpinta paratenoniin. Epitenon koostuu pitkittäisistä, vinoista sekä poikittaisista kollageenisyistä. Levossa epitenonin kollageenisyyt ovat noin 60 asteen kulmassa jänneen syihin nähden. Tämä kulma pienenee keskimäärin 30 asteeseen kun jännettä venytetään. Rasituksen aikana kulmamuuutosten uskotaan toimivan jänneen puolustusmekanismina ylikuormitusta vastaan. (Kuva 4.) (Józsa & Kannus 1997, s. 50.)





**Kuva 4.** Jänteen rakenne. Kuva muokattu lähteestä Kirkendall ym. 1997.

*Paratenon* on sidekudos, joka toimii uloimpana jännettä ympäröivänä löyhänä sidekudoksena (O'Brien 1997). Paratenon toimii elastisena holkkina mahdollistaen jänteen vapaan liikkumisen suhteessa ympäröiviin kudoksiin. Paratenon koostuu lähinnä tyypin I ja III kollageenisyistä sekä elastisista syistä. Paratenonin alla sijaitsevan epitenonin yläpinta yhtyy paratenoniin. Paratenonia sekä epitenonia voidaan kutsua yhteisellä nimellä peritenon. (Kuva 4.) (Elliot 1965 ja Kannus 2000.)

Kohtaa, jossa jänne yhtyy lihakseen kutsutaan *lihasjänneliitokseksi*. Lihasjänneliitos on hyvin spesifi alue, jossa lihassolujen synnyttämä voima kulkeutuu solun sisäisten suupistuvien proteiinien kautta solun ulkoisiin sidekudosproteiineihin (kollageenisäikeisiin). (Józsa & Kannus 1997, s. 64.) Liitoskohdassa lihassykimppujen solukalvon on osoitettu olevan yhtenäinen ja jänteen syykimput työntyvät lihassolujen solukalvojen sisälle muodostaen laajan kontaktipinnan lihassyiden ja jänteen kollageenisyiden välille. Liitosalueella lihassykimppuja ympäröivä sidekudossalvo on yhtenäinen jänteen en-

dotenonin kanssa. (Schatzker & Brånemark 1969.) Jänteen kasvu tapahtuu lihasjänne-liitosalueella, joka sisältää nopeasti kasvavia soluja, jotka kerrostuvat kollageeniksi. Liitosalue sisältää myös Golgin elimiä sekä hermoseptoreita. Tämä alue on lihasjänne –mekanismin heikoin kohta. (O'Brien 1997.)

*Luujänneliitos* on alue, jossa jänne kiinnittyy luuhun. Luujänneliitosalueella jänteen kollageenisäikeet muuttuvat Sharpey'n säikeiksi ja jänteen endotenon yhtyy luukalvoon. Jänteen kiinnittymiskohdassa luun kuorikerrokseen ei ole luukalvoa. (Schatzker & Brånemark 1969.) Liitosalueella viskoelastinen jänne siirtää lihasten synnyttämän voiman jäykkään luuhun (O'Brien 1997). Luujänneliitoskohdassa on neljä anatomisesti merkittävää kohtaa; 1) jänne, 2) syyrusto, 3) kalkkiutunut syyrusto ja 4) luu. Syyrusto varmistaa, ettei jänne taivu pehmeän ja kovan kudoksen kohdatessa. (Kvist 1991.) Luujänneliitosalueella verisuonitus on vähäistä (Smith 1965, Schmidt-Rohlfing ym. 1992, Åström & Westlin 1994 ja Ahmed ym. 1998).

## **2.3 Jänteiden hienorakenne**

### **2.3.1 Yleistä**

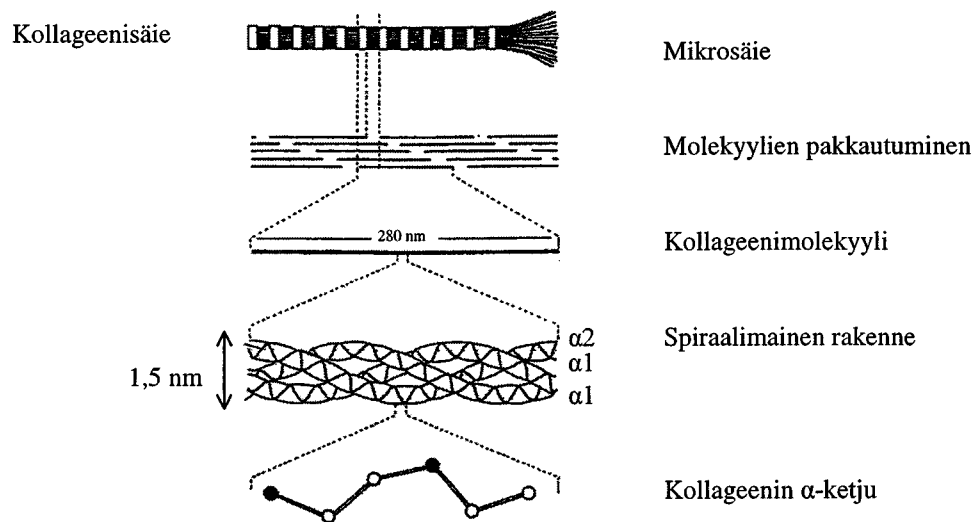
Jänteet koostuvat pääasiassa kollageenista (tyypin I kollageeni) sekä elastiinista. Jänteen märkäpainosta 70 % on vettä ja kuivamassasta 65 – 80 % kollageenia, 0.2 – 5 % proteoglykaaneja, 1 – 2 % elastiinia ja loppuosa ei-kollageenisia proteiineja. Elastiini on hyvin tärkeää jänteen joustavan rakenteen vuoksi. Elastiini mahdollistaa jänteen pituuden muutokset ilman rakenteessa tapahtuvia vaurioita. (Tipton ym. 1975, Kirkendall & Garrett 1997.) Tenoblastit ja tenosyytit, jotka ovat epäkypsiä ja kypsiä sidekudossoluja, tuottavat kollageenia ja elastiinia. Tenoblastit ja –syytit sijaitsevat kollageenisäikeiden välissä muodostaen varsinaisen jänteen. Joukko kollageenisäikeitä muodostaa kollageenisyyntä, mikä on jänteen perusyksikkö. (Kuvat 4. ja 5.) (Movin 1998, Kannus 2000.)

### **2.3.2 Kollageeni**

*Kollageenisyy* koostuu vaihtelevasta määrästä kollageenisäikeitä. Kollageenisyyt ovat yhtä pitkiä kuin itse jänne (Schatzker & Brånemark 1969). Kollageenisyyntä halkaisija

ihmisen jänneissä voi olla 300  $\mu\text{m}$ . Levossa jänneen kollageenisyyt ja säikeet ovat järjestyneet aaltomaisesti. Aaltomainen muoto katoaa, kun jännettä venytetään kollageenisyyden suuntaisesti. (Elliott 1965.)

*Kollageenisäikeen* halkaisija kasvaa syntymästä aikuisikään saakka. Aikuisella kollageenisäikeen halkaisija vaihtelee 20 – 150 nm:iin jänneestä riippuen, akillesjänneessä suurin osa säikeistä on halkaisijaltaan 30 – 80 nm (Józsa ym. 1984, Józsa & Kannus 1997, 70.) Kollageenisyyssä kollageenisäikeet kulkevat pitkittäin, poikittain sekä vaakatasossa muodostaen kolmiulotteisen rakenteen. Lihassupistusten aikana jänneet altistuvat pitkittäisille, poikittaisille ja kiertoliikkeille. Lisäksi jänneiden tulee kestää suoraan niitä vasten kohdistuvia iskuja ja painetta. Kollageenisäikeiden rakenne muodostaa puskurin eri suunnista tulevia voimia vastaan, suojelee säikeitä vaurioilta ja estää kollageenisyytä erkaantumasta toisistaan. (Kuva 5.) (Józsa ym. 1991.)



**Kuva 5.** Kollageenin mikrorakenne. Kolme alfa-ketjua kiertyvät lomittain muodostaen kolmisäikeisen spiraalimaisen rakenteen. Kuva muokattu lähteestä Kirkendall ym. 1997.

### 2.3.3 Jänneen solunulkoinen perusaines

Jänneen solunulkoinen aine koostuu kollageenisäikeistä, elastisista säikeistä, perusaineesta ja epäorgaanisista aineista. *Elastisten syiden* osuus jänneen kuivamassasta on 1 – 2 %; aortassa vastaava luku on 30 – 60 %. Elastisten syiden merkitys ei ole täysin sel-

vää, mutta niiden uskotaan vaikuttavan kollageenisyyden aaltomaisen rakenteen palautumiseen jänteen venytyksen jälkeen. (Kirkendall & Garrett 1997.)

*Jänteen perusaines* ympäröi kollageenisyytä ja vastaa jänteen viskoelastisuudesta. Perusaines huolehtii myös kollageenisyyden voitelusta mahdollistaen syiden liukumisen toisiaan vasten. Fibroblastit tuottavat perusaineksen, mikä koostuu proteoglykaaneista, glykosaminoglykaaneista, rakenteellisista glykoproteiineista ja laajasta joukosta muita pieniä molekyyliä. (O'Brien 1997 ja Kannus 2000.)

Jänteen kuivapainosta alle 0.2 prosenttia muodostuu *epäorgaanisista aineista*. Jänteessä epäorgaanisia aineita ovat muun muassa: kalsium, magnesium, mangaani, kadmium, koboltti, kupari, sinkki, nikkeli, litium, lyijy, fluori, fosfori ja pii. Epäorgaanisten aineiden tiedetään liittyvän kasvuun, kehitykseen ja luustolihasrakenteiden normaaliin aineenvaihduntaan. Esimerkiksi mangaania tarvitaan entsyymaattisiin reaktioihin ja kalsiumilla on tärkeä rooli luujänneliitoksen kehittämisessä. (Kannus 2000.)

#### **2.3.4 Jänteen solut**

Tenoblastit ja tenosyytit ovat sidekudossoluja ja muodostavat 90 – 95 % jänteen soluista. Loppuosa jänteen soluista muodostuu rustosoluista jänteen kiinnittymiskohdissa, nivelpussin sisäkerroksen soluista ja kapillaarien endoteelisoluista sekä endo- ja epi-tenonin pikkuvaltimoiden sileän lihaskudoksen soluista. Tenoblastin karkeapintainen solulimakalvosto ja Golgin elin ovat hyvin kehittyneitä, mutta vain muutamia mitokondrioita on havaittu solulimassa. (Moore & De Beaux 1987.) Soluliman reunalueilta on löydetty kalvorakkuloita ja joitakin lysosomeja. Nuorissa tenoblasteissa aineenvaihdunta on aktiivista eli jänteen perusaineksen synteesi on intensiivistä. (Kannus 2000.)

Ikääntyessä jänteen tenoblastit muuttuvat tenosyyteiksi (kypsä sidekudossolu). Tenosyytissä voidaan havaita solun sisäisiä supistuvia proteiineja (aktiini- ja myosiinifilamenteja) sekä kalvorakkuloita, jotka kuitenkin ovat tunnusmaisempia tenoblasteille. Tenosyyteissä Golgin elimet ja karkeapintaiset solulimakalvostot ovat yhä hyvin kehittyneitä. Rakenteellisten tutkimusten perusteella tenosyytit ovat myös metabolisesti aktiivisia, joskaan ei siinä määrin kuin tenoblastit. (Józsa ym. 1979.)

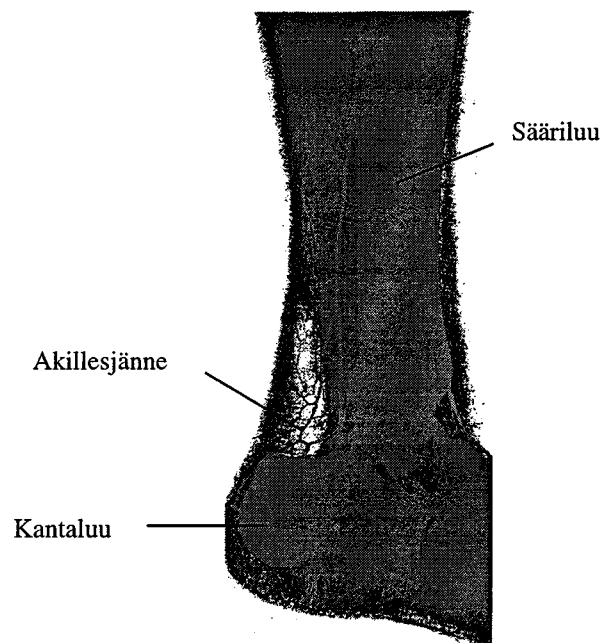
## 2.4 Fyysisen rasituksen vaikutukset jänteen rakenteeseen

Viimeaikaisten tutkimusten mukaan akuutin sekä pitkäaikaisen kestävyysharjoittelun on havaittu aiheuttavan ihmisillä tyypin I kollageenisynteesin lisääntymistä akillesjännettä ympäröivässä periteenonissa (Langberg ym. 1999a ja 2000). Huippu-urheilijoiden akillesjänneiden on havaittu olevan paksumpia kuin harjoittelemattomilla kontrollihenkilöillä. Fyysisen rasituksen uskotaan vaikuttavan kasvattamalla jänteen kokoa ja parantamalla sen vahvuutta ja siten vähentävän jänteen vammautumiseriskää. (Kiiskinen 1976 ja Kannus ym. 1997.) Boothin & Tiptonin (1972) eläintutkimuksessa kaneille tehdyssä kokeessa yksittäinen 30 minuuttia kestänyt kestävyysharjoitus ei kuitenkaan aikaansaanut kollageenisynteesin määrän kasvua akillesjänteessä. Yleisesti ollaan kuitenkin yhtä mieltä siitä, että toistuva fyysinen harjoittelu lisää jänteiden kollageenisynteesin määrää kasvuiässä olevilla eläimillä (Heikkinen & Vuori 1970, Kiiskinen ym. 1977, Suominen ym. 1980, Curwin ym. 1988 ja Kannus ym. 1997).

## 3 AKILLESJÄNTEEN VERENVIRTAUS

### 3.1 Akillesjännteen verisuonitus

Ihmisen akillesjännteen verisuonien määrä on vähäinen (Ahmed ym. 1998.) Jännekudoksen verisuonitus on esimerkiksi huomattavasti vähäisempää kuin lihaskudoksen (Smith 1965). Akillesjännteeseen verta tuovat lähinnä takimmainen ja etummainen säärivaltimo sekä pohjevaltimot. Akillesjännteeseen verta kulkeutuu kolmelta alueelta; lihasjänneliitoksesta jännteeseen tulevista jännteen suuntaisista verisuonista, luujänneliitosalueella sijaitsevan luukalvon verisuonista sekä paratenonin kautta kulkevilta takimmaisesta säärivaltimosta haarautuvista verisuonista. (Kuva 6.) (Lagergren & Lindholm 1958/1959, Peacock 1959, Smith 1965, Schmidt-Rohlfing ym. 1992 ja Ahmed ym. 1998.)



*Kuva 6. Akillesjänne ja sen verisuonistoa. Kuva muokattu lähteestä Lagergren & Lindholm 1958/1959.*

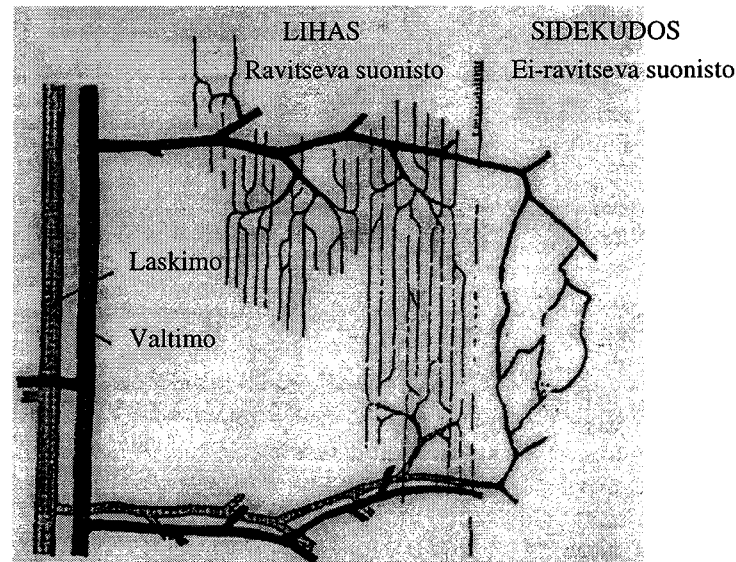
Eniten verta akillesjännteeseen kulkeutuu takimmaisesta säärivaltimosta paratenonin kautta (Peacock 1959 ja Ahmed ym. 1998). Paratenonilla pikkuvaltimot kulkevat jännteeseen nähden poikittain muodostaen koko jännteen pituisen verkkomaisen suonistojärjestelmän. Verkkomaisen järjestelmän pikkuvaltimot haarautuvat runsaasti ja yhtyvät

lihaskapillaariliitokselta tuleviin jänteen suuntaisiin suoniin tunkeutuessaan syvemmälle paratenoniin. Suonien kulkeutuessa syvemmällä paratenoniin ne läpäisevät epitenonin sekä endotenonin ja yhtyvät jänteen verenkiertoon. (Smith 1965, Carr & Norris 1989, Schmidt-Rohlfing 1992.)

Suonten kulkeutuessa jänteeeseen ne haarautuvat edelleen muodostaen valtimo- ja laskimokapillaarien diffuusiojärjestelmän kollageenisyykimppujen välillä pitkittäissuuntaisesti sijaitsevien verisuonten kanssa (Smith 1965). Lihaskapillaariliitoksessa vain lihaskalvon verisuonet jatkuvat jänteeeseen. Lihaksen ja jänneiden kapillaaritiehyet eivät ole yhteydessä toisiinsa lihaskapillaariliitoksessa. (Schatzker & Brånemark 1969.) Luujänne-liitoksen kautta jänteeeseen kulkeutuvaa verisuonitusta ei tunneta tarkkaan (Schatzker & Brånemark 1969 ja Schmidt-Rohlfing ym. 1992).

Verisuonten määrä on merkittävästi vähäisempi akillesjänteen kiinnittymiskohdassa kantaluuhun suhteessa koko muuhun akillesjänteeeseen (Smith 1965, Schmidt-Rohlfing ym. 1992, Åström & Westlin 1994 ja Ahmed ym. 1998.) Lukuun ottamatta akillesjänteen kiinnittymiskohtaa kantaluuhun Åströmin & Westlinin (1994) ja Ahmed ym. (1998) mukaan akillesjänteen verisuonitus on määrällisesti samanlaista koko jänteeessä. Vastaavasti Lagergren & Lindholm (1958/1959), Carr & Norris (1989) ja Schmidt-Rohlfing ym. (1992) ovat tutkimuksissaan osoittaneet akillesjänteen verisuonituksen olevan vähäisempää jänteen keskiosissa kuin muualla jänteeessä. Carr & Norrisin (1989) mukaan myös jänteen verisuonien pinta-ala on pienempi akillesjänteen keskiosassa kuin muualla jänteeessä.

Viime vuosina on useasti spekuloitu lihaksessa sijaitsevan ravitsevaa ja ei-ravitsevaa verisuonistoa (Newman ym. 1997, Langberg ym. 1998 ja Clark ym. 2000). Jänneiden verisuonten uskotaan olevan lihaksen ei-ravitsevaa suonistoa, jota oletetaan sijaitsevan myös lihaskalvoissa. Jänneiden verisuonet ovat hiussuonia tai niiden kaltaisia. Ei-ravitsevien suonten halkaisija on kooltaan kaksinkertainen verrattuna lihaksen ravitseviin suoniin. (Kuva 7.) Suuremman suonten halkaisijan vuoksi ei-ravitsevat suonet kykenevät 16-kertaiseen virtausmääriin verrattuna lihasten ravitseviin suoniin. Koska ei-ravitsevat suonet sijaitsevat aineenvaihdunnallisesti matala aktiivisella sidekudosalueella, suuri virtauskapasiteetti tukee oletusta ei-ravitsevan suoniston tärkeydestä. (Newman ym. 1997, Langberg ym. 1998 ja Clark ym. 2000.)



*Kuva 7. Jäniksen tenuissimus lihaksen ravitsevaa ja ei-ravitsevaa suonistoa. Kuva muokattu lähteestä Clark ym. 2000.*

Jänteiden verenvirtauksen taso saattaa toimia säätelijänä, joka verisuonten yhdyshaarojen avulla kontrolloi lihaksen ravitsevan verenkierron määrää (Newman ym. 1997). Rasituksen aikana lihaksen ravitsevan verenkierron uskotaan lisääntyvän jänteen proksimaalisten ja lihaksen distaalisten arterioliin vasokonstriktion johdosta, jolloin jänteen verenvirtaus ohjautuu kohti lihasta (Clark ym. 1998).

Clarkin ym. (2000) mukaan on todennäköistä, että rasituksen aikana jänteen verenvirtaus lisääntyy, mutta lihaksen verenvirtaus kasvaa enemmän ja lähinnä jänteen virtauksen kustannuksella. Suhteellisesti jänteen verenvirtaus siis vähenee lepotilanteeseen verrattuna. Jänteen rasituksen aikaisen verenvirtauksen vähenemisen uskotaan olevan selkeä etu ravintoaineiden jakelussa lihaksen suorituksen aikana. (Clark ym. 2000.) Eläinkokeissa noradrenaliinin on havaittu heikentävän jänteen verenvirtausta. Tämä tukee oletusta siitä, että fyysinen rasitus saattaa vähentää jänteen verenvirtausta lihaksen kustannuksella (Takemiya & Maeda 1988.), koska noradrenaliinin erityis lisääntyy fyysisen rasituksen johdosta (Wilmore & Costill 1999, s. 173).

Eläinkokeissa on harjoitelleiden rottien takajalkojen lihasten rasituksen aikaisen ravitsevan verenvirtauksen osoitettu olevan heikompaa verrattuna ei systemaattisesti harjoitelleisiin rottiiin. Tämän uskotaan johtuvan harjoittelun aiheuttamasta lihaksen ravitsevan hiussuoniston virtauskapasiteetin ja kestävyiden kehittymisestä. Harjoittelulla ei



todennäköisesti ole vaikutusta ei-ravitsevaan suonistoon eli jänteiden suonistoon. (Clark ym. 2000.)

### **3.2 Akillesjänteen ja sitä ympäröivän peritenonin verenvirtaus levossa ja rasituksessa**

Ihmisen jänteen verenvirtausta on tutkittu vähän (Håstad ym. 1958/1959, Fossgreen 1969, Åström & Svensson 1991, Åström & Westlin 1994). Fossgreenin (1969) tutkimuksessa ihmisen akillesjänteen verenvirtausta mitattiin  $^{133}\text{Xe}$ -puhdistumatekniikalla. Levossa virtaus oli 0.93 ml/100g kudosta/min. Åströmin & Westlinin (1994) tutkimuksessa ihmisen akillesjänteen verenvirtaus levossa oli  $78 \pm 52$  mV LDF:llä mitattuna. (Taulukko1.)

Suurimmassa osassa akillesjänteen verenkiertoon viittaavista tutkimuksista verenkierron määrää on mitattu akillesjännettä ympäröivältä löyhältä sidekudosalueelta peritenonilta (Langberg ym. 1998, 1999b, 2001 ja Boushel ym. 2000b, 2000a). (Taulukko 1.) Levossa akillesjännettä ympäröivässä peritenonissa verenvirtauksen määrä on kaksi kolme kertaa suurempi verrattuna varsinaisen akillesjänteen verenvirtaukseen (Fossgreen 1969, Langberg ym. 1998, 1999b, 2001 ja Boushel ym. 2000a, 2000b). Langberg ym. (1998) mukaan jänteen verenvirtaus on sidoksissa sitä ympäröivän peritenonin verenvirtaukseen ja siten peritenonin verenvirtauksen uskotaan ilmentävän ravinteiden ja hapen tarjontaa jänteeseen. Eläinkokeissa kaniin akillesjänteen ja paratenonin verenvirtauksen määrän on havaittu muuttuvan suhteessa toisiinsa niin levossa kuin rasituksessakin (Backman ym. 1991).

Håstad ym. (1958/1959) ja Åström & Westlin (1994) ovat tutkimuksissaan osoittaneet jänteen verenkierron heikentyneen levossa ikääntyneillä ihmisillä. Tätä tutkimustulosta tukevat Langbergin ym. (2001) tutkimustulokset, joiden mukaan peritenonin verenvirtauksen määrän havaittiin olevan levossa ikääntyneillä noin 50 % vähäisempää verrattuna nuoriin henkilöihin (74 v. vs. 26 v.). Langbergin tutkimuksessa rasituksen aikana peritenonin verenvirtauksen määrässä ei kuitenkaan havaittu tilastollisesti merkittävää eroa nuorten ja ikääntyneiden välillä. Lisäksi Åströmin & Westlinin (1994) tutkimuksessa osoitettiin naisilla akillesjänteen verenvirtauksen olevan suurempaa kuin miehillä.

**Taulukko 1.** Verenvirtaus akillesjanteessä ja jännettä ympäröivässä peritenonissa ihmisillä ja eläimillä.

NIRS – ICG = near-infrared spectroscopy – indocyanine green

\* tilastollisesti merkittävä ero lepotasoon nähden,  $\alpha$  lihakseen nähden ja \$ ryhmien välillä.

Lähde	Menetelmä	Laji	Jänne	Rasitus	Verenvirtaus (ml/100 g/min)
Fossgreen (1969)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 9	Akillesjänne	Lepo	0.93 ± 0.6 (SD)
Bülow & Tøndevold (1982)	Mikropallo n = 6	Koira	Akillesjänne	Lepo Juoksu 1 h	0.5 ± 0.1 (SE) 1.2 ± 0.2*
Hooper ym. (1984)	Mikropallo n = 8	Koira	Akillesjänne	Lepo	0.79 ± 0.5 (SEM)
Takemiya & Maeda (1988)	H <sup>+</sup>	Kani	Kaksoiskantali- haksen jänne	Lepo Sähköstimulaatio 1 V Sähköstimulaatio 5 V	34.5 ± 8.2 $\alpha$ (SD) 31.7 ± 5.6 $\alpha$ 37.3 ± 8.3
			Leveän kantali- haksen jänne	Lepo Sähköstimulaatio 1 V Sähköstimulaatio 5 V	30.2 ± 4.3 $\alpha$ 30.1 ± 5.6 $\alpha$ 23.8 ± 3.4 $\alpha$
			Kaksoiskanta- lihas	Lepo Sähköstimulaatio 1 V Sähköstimulaatio 5 V	17.1 ± 2.1 16.6 ± 2.3 21.9 ± 3.8
			Leveä kanta- lihas	Lepo Sähköstimulaatio 1 V Sähköstimulaatio 5 V	12.6 ± 1.1 13.6 ± 3.0 15.5 ± 1.7
Langberg ym. (1998)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 10	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Päkiälle nousu, 40 min	2.4 ± 0.6 (SEM) 9.7 ± 3.7*
Langberg ym. (1999b)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 6	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus, 30 min (työ/lepo, 1.5/1.5 s) oma kehon paino	2.3 ± 0.6 (SEM) 6.1 ± 1.2*
Langberg ym. (1999c)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 6	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus, 30 min (työ/lepo, 1.5/1.5 s) oma kehon paino	1.8 ± 0.3 (SEM) 6.1 ± 1.3*
Boushel ym. (2000a)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 7	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus 6 min, 9 V	2.1 ± 0.4 (SEM) 14 ± 4.0*
Boushel ym. (2000b)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen n = 5	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus 6 min 9 V	2.0 ± 0.5 (SE) 14.6 ± 0.3 *
	NIRS – ICG	Ihminen n = 5	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus 5 min 9 V	2.2 ± 0.5 15.1 ± 0.2*
Langberg ym. (2001)	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen 26 v. n = 6	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus, 40 min (työ/lepo, 1.5/1.5 s) oma kehon paino	2.7 ± 0.5 (SEM) 7.8 ± 1.0*
	$^{133}\text{Xe}$	Ihminen 74 v. n = 6	Peritenon (Akillesjänne)	Lepo Jalkapohjan koukistus, 40 min (työ/lepo, 1.5/1.5 s) oma kehon paino	1.6 ± 0.2\$ 5.5 ± 0.5*

Takemiyan & Maedan (1988) eläintutkimuksessa mitattiin kanin akillesjänteen sekä kaksoiskantalihaksen verenvirtausta levossa ja rasituksessa  $H^+$ -kaasupuhdistusmenetelmällä. Levossa leveän kantalihaksen sekä kaksoiskantalihaksen jänteiden verenvirtaus oli suurempaa kuin vastaavissa lihaksissa. Sähköisen stimulaation (5 Hz) aiheuttaman lihastyön seurauksena verenvirtaus heikkeni leveän kantalihaksen jänteessä ja lisääntyi kaksoiskantalihaksen jänteessä. (Taulukko 1.) Tutkimuksessa ei kyetty osoittamaan rasituksen aiheuttamaa hyperemiaa (kudoksen verisuonien lisääntynyt verimäärä) akillesjänteessä. Tutkijoiden mukaan levossa jänteiden korkeampaa verenvirtausta lihaksiin verrattuna selittää jänteiden pitkittäissuuntaiset suonet lukuisine haaroineen sekä ei-ravitseva verenvirtaus.

Bülow & Tondevoid (1982) havaitsivat pitkäaikaisen juoksurasituksen lisänneen verenvirtausta koirien akillesjänteessä kolminkertaisesti verrattuna lepotasoon. Ihmisillä rasituksen aikaista jänteen verenvirtausta on mitattu vain yksittäisen passiivisen venytystai isometrisen supistusliikkeen aikana (Åstrom & Westlin 1994). Tutkimuksessa ihmisen akillesjänteen verenvirtaus heikkeni sekä kolmipäisen pohjelihaksen passiivisen venytyksen että aktiivisen isometrisen supistuksen seurauksena verrattuna lepotasoon. Langbergin ym. (1998, 1999b ja 2001) sekä Boushelin ym. (2000a ja 2000b) tutkimuksissa verenvirtauksen on havaittu lisääntyvän ihmisen akillesjännettä ympäröivässä peritenonissa pitkäkestoisen rasituksen jälkeen. (Taulukko 1.)

### **3.3 Jänteen verenvirtauksen mittausmenetelmät**

#### **3.3.1 $^{133}\text{Xe}$ -puhdistusmenetelmä**

$^{133}\text{Xe}$ -puhdistusmenetelmä perustuu isotooppipuhdistusmenetelmään, jossa molekyylin tai ionin puhdistuma on täysin riippuvainen verenvirtauksen määrästä.  $^{133}\text{Xe}$ -puhdistusmäärä mitataan tukeilmaisimien avulla käyttäen hyväksi ilmaisaineen kykyä muuttaa ionisoivan säteilyn energia valoksi. (Langberg ym. 1998.) Radioaktiivinen  $^{133}\text{Xe}$  diffundoituu vapaasti solukalvojen läpi ja sitä on käytetty laajasti monien elinten kuten aivojen, sydämen, munuaisten sekä lihasten paikallisen verenvirtauksen mittaamisessa (Piaggi & Mingione 1981).  $^{133}\text{Xe}$ -puhdistusmenetelmää on käytetty myös ihmisen akillesjänteen (Fossgreen 1969) sekä akillesjännettä ympäröivän peri-

tenonin (Langberg ym. 1998, 1999b ja 2001 sekä Boushel ym. 2000a ja 2000b) verenvirtauksen määrittämisessä. Levossa ihmisen akillesjänteen verenvirtaukseksi on  $^{133}\text{Xe}$ -puhdistusmenetelmällä mitattu  $0.93 \pm 0.58$  ml/100 g/min (Fossgreen 1969) ja peritonenonin verenvirtaukseksi  $1.6 \pm 0.2 - 2.7 \pm 0.5$  ml/100 g/min (Langberg ym. 1998, 1999b, 1999c, 2001 sekä Boushel ym. 2000a ja 2000b).

Rådegranin (1999) mukaan menetelmässä on useita heikkouksia. Menetelmä on osoitettu epäsuoraksi ja tutkimusten mukaan sen avulla saadut tulokset aliarvioivat verenvirtauksen määrää. Verenvirtauksen aliarviointi saattaa johtua eri kudosten eroista merkkiaineen läpäisevyydessä, isotooppien vaihtumisesta valtimoiden ja laskimoiden välillä, injektion aiheuttaman trauman aikaansaamasta hyperemiasta, injektiokohdan vaikutuksesta ja käytetystä matemaattisesta testimallista, jonka avulla verenvirtaus on laskettu. Isotooppipuhdistusmenetelmässä laitteiden hankintahinta sekä käyttökustannukset ovat korkeat.

### 3.3.2 ”Laser doppler” virtausmittari

”Laser doppler” virtausmittarilla (laser doppler flowmetry = LDF) on kudosten mikrovaskulaarista verenkiertoa tutkittu jo 20 vuoden ajan. Åström & Westlin (1994) ovat soveltaneet menetelmää ihmisen akillesjänteen verenvirtauksen mittaamiseen. LDF:ssä kudoksesta läpivalaistetaan yksivärisen matala energisistä laserista lähtöisin olevan valon kanssa. LDF-menetelmä perustuu Doppler frekvenssin muutokseen ( $\Delta f$ ), joita ilmenee kun laservalo heijastuu erytrosyyteistä.  $\Delta f$  sisältää tietoa sekä verenvirtauksen määrästä että virtauksen suunnasta. (Åström & Westlin 1994 ja Rådegran 1999.)

LDF-menetelmässä verenvirtausta mitataan yhtäjaksoisesti, mutta valon läpäisykyvyn vuoksi ainoastaan hyvin pieneltä kudosalueelta ( $\sim 1 \text{ mm}^3$ ) kerrallaan. Menetelmä mahdollistaa kuitenkin tarkan tilan ja ajan analysoinnin ja pystyy siten esimerkiksi helposti kuvaamaan systoliset pulssiaallot. (Åström 2000.) LDF-menetelmällä verenvirtauksen absoluuttista määrää ei pystytä mittaamaan, koska ei kyetä määrittämään verisuonten halkaisijaa, josta ”laser Doppler” signaali on lähtöisin. Menetelmän soveltamisessa dynaamisen rasituksen aikaiseen verenvirtauksen mittaamiseen ei ole vielä täysin onnistuttu liikkeen aiheuttamien häiriöiden vuoksi. Tutkimusmenetelmän etu on sen vähäinen

invasiivisuus. Laitteen hankintahinta on korkea, mutta käyttökustannukset alhaiset. (Åström & Westlin 1994 ja Rådegran 1999.)

### 3.3.3 Mikropallotekniikka

Mikropallotekniikalla koiran akillesjänteen verenvirtausta ovat tutkineet Bülow & Tondevold (1982) ja Hooper ym. (1984). Menetelmän avulla voidaan määrittää koko verenvirtauksen tai tietyn alueen verenvirtauksen määrä. Eri alueiden verenvirtausta pystytään mittaamaan muuttamalla mikropallojen kokoa ko. alueen verisuonten halkaisijan mukaan. Menetelmässä tutkimuskohteen verenkiertoon injisoidaan radioaktiivisesti (esim.  $^{46}\text{Sc}$ ,  $^{95}\text{Nb}$ ,  $^{85}\text{Sr}$ ,  $^{141}\text{Ce}$ ,  $^{125}\text{I}$  ja  $^{113}\text{Sn}$ ) leimattuja mikropalloja sisältävä suolaliuos. Radioaktiivisesti merkatun mikropalloliuoksen injisoinnin jälkeen koe-eläimet tapetaan ja niiltä otetaan halutut koepalat analysointeja varten. Mikropallotekniikassa verenvirtauksen mittaus ei ole yhtäjaksoista, jolloin hetkellisiä muutoksia verenvirtauksessa ei välttämättä havaita. Menetelmässä mittausten lukumäärä koe-eläintä kohti on rajallinen ja menetelmä ei sovellu ihmisten tutkimiseen. Mikropallotekniikan etu on, että sen avulla kyetään määrittää vain tietyn alueen verenvirtaus. (Wagner ym. 1969 ja Gross ym. 1981.) Mikropallotekniikalla koirien akillesjänteen verenvirtaukseksi levossa Bülow & Tondevold (1982) mittasivat  $0.5 \pm 0.1$  ml/100 g/min ja Hooper ym. (1984)  $0.79 \pm 0.5$  ml/100 g/min.

### 3.3.4 $\text{H}^+$ -kaasupuhdistusmenetelmä

Jalokaasujen avulla verenvirtauksen mittaamisen esittelivät ensimmäisenä Kety & Schmitd vuonna 1945, tämän jälkeen jalokaasujen käyttö eri elinten ja kudosten verenvirtauksen mittaamisessa on levinnyt laajasti (Aukland ym. 1964). Kanin akillesjänteen verenvirtausta  $\text{H}^+$ -kaasupuhdistusmenetelmällä ovat mitanneet Takemiya & Maeda (1988).  $\text{H}^+$ -kaasupuhdistusmenetelmässä  $\text{H}^+$ -kaasua hengitetään, kunnes kaasu on diffundoitunut kaikkialle kudoksiin. Verenvirtauksen määrää mitataan  $\text{H}^+$ -kaasulle herkkillä Pt-Pt lankaelektrodeilla tuikeilmaisimien avulla. Veren happikonsentraatiot määritetään suorilla mittausmenetelmillä.  $\text{H}^+$ -puhdistuskäyrä lasketaan Kety (1960) analyttisen mallin mukaan. (Takemiya & Maeda 1988.)

## 4 JÄNTEEN ENERGIA-AINEENVAIHDUNTA

### 4.1 Hapenkulutus ja sen mittaaminen

Jänteen hapenkulutusta on mitattu Warburgin laitteen avulla (Peacock 1959). Warburgin menetelmässä viipaloitu tai homogenoitu kudokseksi laitetaan Warburgin nesteeseen, joka koostuu 20 prosenttisesta KOH-liuoksesta (KOH = kaliumhydroksidiliuos). Hapenkulutuksesta ja vastaavan hiilidioksidimäärän, joka absorboidaan KOH:lla, muodostumisesta johtuen Bordien nestepatsas laitteen suljetussa haarassa nousee. Lukemaa otettaessa lasketaan nestepinta laitteen suljetussa haarassa alkuperäiseen arvoonsa tasolle, johon laitevakio on määritetty. Samanaikaisesti laitteen avoimessa haarassa nestepinta laskee osoittaen suljetun haaran paineenlaskun, joka taas on seurausta kudoksen hapenkulutuksesta. Tämä avoimen haaran paineen muutos, joka saa aikaan paineen muutoksen laitteen suljetussa haarassa, kerrotaan laitevakiolla K, jotta saataisiin selville kulutetun hapen kokonaismäärä. (Misra 1971.)

Jänteiden on osoitettu olevan metabolisesti aktiivisia. Peacock (1959) mittasi ihmisen jänteiden hapenkulutukseksi 1.7  $\mu\text{l/g/min}$  jänteen kuivapainoa kohden. Eläinkokeissa Vailas ym. (1978) ovat mitanneet kuolleiden rottien akillesjänteen hapenkulutukseksi 4.0  $\mu\text{l/g/min}$ . Verrattuna lihas- tai maksakudokseen jänteen hapenkulutus on kuitenkin heikkoa. Jänteen hapenkulutuksen on eläinkokeissa rotilla havaittu olevan seitsemän ja puoli kertaa lihaskudoksen ja kymmenen kertaa maksakudoksen hapenkulutusta heikompa. (Vailas ym. 1978.) On kuitenkin huomioitava, että jänteen solujen massa on vain yhdestä kolmeen prosenttia jänteen kuivapainosta, kun esimerkiksi maksakudoksessa vastaava luku on 95 %. Jos hapenkulutus laskettaisiin jänteen kuivapainon sijasta jänteen solujen lukumäärää kohden, hapenkulutuksessa ei ilmenisi yhtä suuria eroja. (Józsa & Kannus 1997 s. 77.)

Vailaksen ym. (1978) mukaan jännekudoksessa on suhteessa vähemmän mitokondrioita kun lihas- tai maksakudoksessa. Väittämää tukevat tutkimustulokset, joiden mukaan jänteessä on matalampi sytokromioksidaasin aktiivisuus kuin lihaskudoksessa. Sytokromioksidaasi on mitokondrioissa esiintyvä kuparipitoinen entsyymikompleksi, joka katalysoi hapen käyttöä jänteen soluissa. Molekylaarinen happi on välttämätön edellytys

kollageenin synteesille, ja siten jänteiden matalampi hapenkulutus saattaa johtua jänteen vähäisemmästä kollageenisynteesin tarpeesta verrattuna vastaaviin anabolisiin tapahtumiin lihaksessa. (Vailas ym. 1978.)

## 4.2 Energia-aineenvaihdunta

Jänteiden energia-aineenvaihduntaa on tutkittu jänteiden biopsianäytteistä määritettyjen entsyymiaktiivisuuksien avulla (Józsa ym. 1979, 1985, Vandor ym. 1982 ja Kvist ym. 1987). Entsyymiaktiivisuuksia on yleensä mitattu terveiltä tapaturmaisesti kuolleilta henkilöiltä (Józsa ym. 1979, 1985 ja Vandor ym. 1982). Vandor ym. (1982) ja Kvisti ym. (1987) käyttivät entsyymiaktiivisuuksien määrittämisessä tutkimusmenetelmänä elektroforeesia, jossa erotetaan densitometrin avulla toisistaan sähköisesti varautuneita molekyylejä niiden erilaisen liikenopeuden perusteella sähkökentässä.

Józsa ym. (1979) ja Kvist ym. (1987) ovat tutkimuksissaan havainneet ihmisen jänteiden tenosyyteissä sekä peritenonin soluissa entsyymiketjuja, jotka kuuluvat elimistön kolmelle tärkeimmälle energia-aineenvaihduntajärjestelmälle: Krebsin syklille, anaerobiselle glykolyysille ja pentoosi-fosfaatti -yhdistielle. Jänteen voimakkaan kasvun aikana kaikki kolme energia-aineenvaihdunnan tuotantoketjua ovat hyvin aktiivisia. Ikääntymisen myötä energiantuotannossa käytettävät aineenvaihduntareitit muuttuvat anaerobisemmiksi. Krebsin syklin ja pentoosi-fosfaatti -yhdistien aktiivisuus vähenee anaerobisen glykolyysin tason pysyessä ennallaan. (Hess ym. 1989 ja Kannus & Józsa 1991.) (Taulukko 2.)

**Taulukko 2. Jänteiden tenosyyteissä havaitut entsyymit.** Taulukko muokattu lähteestä Józsa & Kannus 1997, 79.

**Merkkien selitykset:** 0 = ei aktiivisuutta, + = pieni aktiivisuus, ++ = keskimääräinen aktiivisuus ja +++ = korkea aktiivisuus.

Entsyymi	Aktiivisuus	Lähde
<i>Oksidatiivinen aineenvaihdunta</i>		
Sukkinaasidehydrogenaasi	+ - +++	Józsa ym. 1979
Sytokromioksidaasi	+++	Kvist ym. 1987
TPN diaphoraasi	+++	
DPN diaphoraasi	++ - +++	
Malataattidehydrogenaasi	+ - +++	Heikkinen ym. 1975
Isositraattidehydrogenaasi	+ - +++	
<i>Glykolyttinen aineenvaihdunta</i>		
Laktaatti dehydrogenaasi	+++	Józsa ym. 1979 & 1985 Vandor ym. 1982 Merker ym. 1982
Fosforylaasi	+ - ++	Józsa ym. 1979
Aldolaasi	0 - ++	Kvist ym. 1987
<i>Pentoosi-fostaatti -yhdystie</i>		
Glukoosi-6-fosfaatti dehydrogenaasi	+ - ++	Józsa ym. 1979 Kvist ym. 1987
<i>Hydrolyyttiset entsyymit</i>		
Alkaliinifosfataasi	+	Józsa ym. 1979
Happofosfataasi	+ - +++	
Aminopeptidaasi	0 - +++	
Lipaasi	+	
Ei spesifit esteraasit	0 - ++	Langhoff & Münzenmaier 1973
Beta-glukouronidaasi	+ - ++	Lindner 1966
Arylsulfataasi	+ - ++	
Kollagenaasi	0 - ++	Perez-Tamayo 1978 & 1979
Cathepsin	0 - +	Smolen & Weissmann 1979
Trypsiinin kaltaiset entsyymit	0 - +	

Jänteiden solut kykenevät syntetisoimaan kaikki perusaineen ainesosat: kollageenisyyt ja elastiset syyt sekä proteoglykaanit ja glykoproteiinit. Jänteiden perusaineen ainesosien synteesi on hyvin aktiivista ihmisen kasvun aikana ja heikkenee ikääntymisen myötä. (Kannus 2000.) Jänteiden perusaineen kataboliasta tiedetään hyvin vähän. Muista sidekudoksista tehtyjen tutkimusten perusteella jänteiden perusaineen ainesosien hajoamista oletetaan tapahtuvan kahdella tavalla: 1) tenosyyttien solunulkoiseen tilaan erittämät hajottavat entsyymit hävittävät perusaineen ainesosat, 2) perusaineen hajoaminen tapahtuu suoraan solusyönnin ja -juonnin kautta. (Józsa & Kannus 1997, 81.)



Jännekudoksen aineenvaihdunnan matala taso vastaa jänteen tehtäväkenttää, voimien siirtämistä lihaksista luihin. Matala aineenvaihdunnan taso yhdessä hyvin kehittyneen anaerobisen energiantuottokapasiteetin kanssa mahdollistaa jänneiden kyvyn kestää suuria voimia ja pitkiä venytyksiä ilman iskemian tai kuolion riskiä. Toisin sanoen jänne sietää hyvin vähäistä hapensaantia ilman vaurioriskiä. (Vailas ym. 1978.)

#### **4.2.1 Glyseroli- ja glukoositasot akillesjännettä ympäröivässä peritenonissa rasituksen aikana**

Langbergin ym. (1999c) tutkimuksessa mitattiin glyseroli-, glukoosi- ja laktaattitasoja peritenonissa. Tutkimuksessa koehenkilöt suorittivat jalkapohjan koukistusliikettä, koukistus 1.5 s ja lepo 1.5 s, yhtäjaksoisesti 30 minuuttia. Jalkapohjan koukistuksessa rasitus vastasi koehenkilön kehonpainoa. Glyseroli-, glukoosi- ja laktaattikonsentraatiot mitattiin valtimoveren plasmasta sekä peritenonin kudospöytätilasta levossa, rasituksessa sekä 60 minuuttia kestäneen palautusjakson aikana.

Valtimoveren plasman glyserolipitoisuus kasvoi huomattavasti rasituksen ja palautumisen aikana verrattuna lepotasoon. Peritenonilta mitatussa glyserolikonsentraatiossa ei havaittu muutoksia tutkimuksen aikana. Rasituksen aikainen glyserolin käytön nettomäärä kasvoi merkittävästi, mutta laski lepotasolle palautusjakson aikana. Valtimoveren plasman glukoosikonsentraatio laski merkittävästi rasituksen aikana ja palautui lähtötasolle palautumisen aikana. Peritenonin kudospöytätilasta mitattu glukoosikonsentraatio ei muuttunut rasituksen aikana, mutta laski merkittävästi palautumisen aikana. Edellä mainituista muutoksista huolimatta glukoosin käytön nettomäärässä ei havaittu muutoksia rasituksen aikana verrattuna lepoarvoihin. Valtimoveren plasman ja peritenonin kudospöytätilan laktaattikonsentraatiot pysyivät muuttumattomana koko tutkimuksen ajan, vaikka peritenonilta mitattu laktaatin vapautuminen lisääntyi merkittävästi rasituksen ja palautumisen aikana. (Langberg ym. 1999c.)

Tutkimuksessa havaittu glyserolikonsentraation kasvu tapahtui rasituksen ensimmäisten 10 minuutin aikana, jonka jälkeen glyserolikonsentraatio laski huolimatta siitä, että rasitustaso pysyi samana (Langbergin 1999c). Tämä viittaa hetkelliseen glyserolin käytön stimulaatioon, jota seuraa paikallinen lipolyysin heikentyminen pitkäaikaisen rasituksen

aikana. Tämän olettamuksen mukaan peritenonilla sijaitsevien rasvojen rooli ei olisi aineenvaihdunnan kannalta tärkeä. Tutkimuksen tulosten perusteella peritenonissa ei kyetty osoittamaan minkäänlaista glukoosin käyttöä. Siten on oletettavaa, että rasituksen aikana valtimoveren plasman glukoosikonsentraation lasku johtuu ainoastaan työskentelevien lihasten (ko. tutkimuksessa kolmipäinen pohjelihas) lisääntyneestä glukoosin käytöstä. (Langberg ym. 1999c.)

Peritenonissa mitattu laktaattikonsentraation kasvu rasituksessa ja levossa viittaa lisääntyneeseen anaerobiseen glykolyysiin. Se, että valtimoverestä mitatuissa laktaattiarvoissa ei havaittu muutoksia johtuu todennäköisesti hyvin vähäisestä ja paikallisesta laktaatin kokonaistuotosta tutkimuksen aikana. Lisäksi rasitus stimuloi maksan ja lihasten suorittamaa laktaatin pilkkomista, mikä kyseisessä tutkimuksessa saattaa olla riittävää laktaattikonsentraatioiden säilyttämiseksi lepotasolla. Jälkimmäistä selitystä tukee myös se, että glukoositason lasku stimuloi glukoneogeneesiä maksassa (glukoosin uudismuodostus muista aineista kuin hiilihydraateista esim. laktaatista tai aminohapoista). (Langberg ym. 1999c.)

## 5 LUUSTOLIHAKSEN GLUKOOSIAINEENVAIHDUNTA RASITUKSESSA

### 5.1 Luustoliuksen glukoosiaineenvaihdunta

Yön yli kestäneen paaston jälkeen elimistön glukoosin käyttö energiaksi on minimisään. Levossa ihmisen pääasiallisena energianlähteenä toimivat rasvakudoksesta hapeitetut rasvahapot ja elimistön glukoosinkäyttö on noin 2 mg/kg/min (11 µmol/kg/min). (Katz ym. 1983.) Glukoosia tuotetaan joko glukoneogeneesin (glukoosin uudismuodostuminen, glukoosin muodostuminen elimistössä muista aineista kuin hiilihydraatista, esimerkiksi maitohaposta tai aminohapoista) kautta tai sitä vapautuu maksan glykoogenivarastoista (glykogenolyysi) (Björkman & Eriksson 1985). Yli puolet glukoosista hapeutetaan ja käytetään insuliinista riippumattomissa kudoksissa, pääasiassa aivoissa, mutta myös munuaisten ytimissä, suolistossa ja erytrosyyteissä, joiden energian tuotanto on glukoosista riippuvainen (DeFronzo ym. 1983 ja Ferrannini ym. 1985).

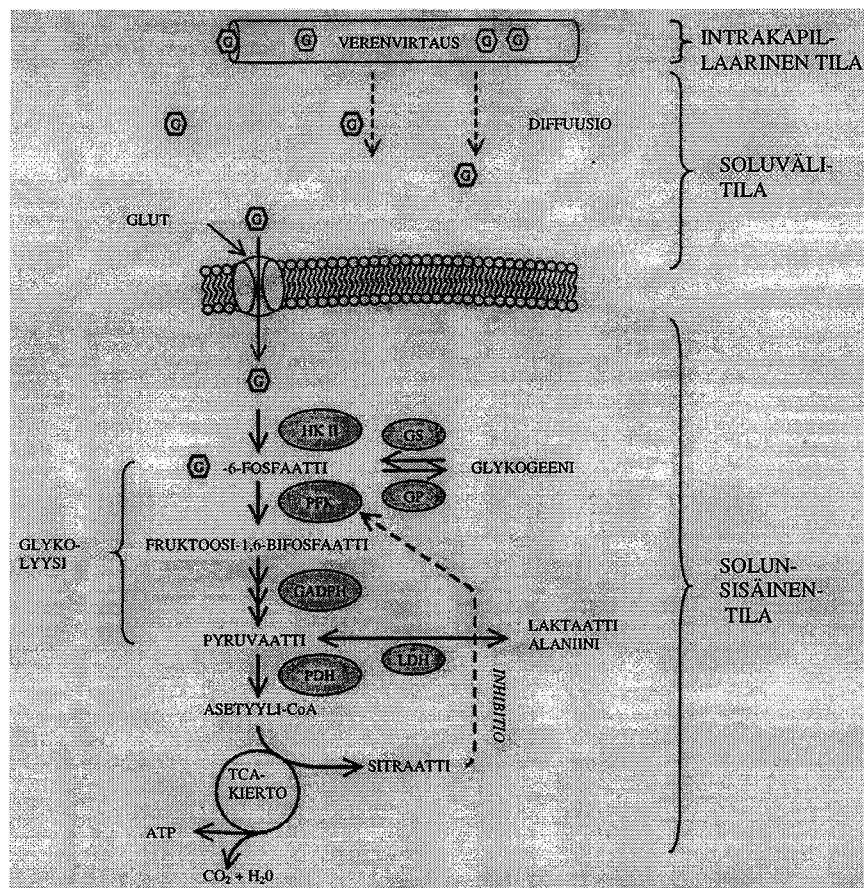
Hiilihydraattipitoisen ruuan tai insuliinistimulaation vaikutuksesta lihaksen pääenergian lähde vaihtuu rasvoista glukoosiin. Tämä johtuu insuliinin kyvystä kiihdyttää glukoosin käyttöä ja vähentää vapaiden rasvahappojen saatavuutta heikentämällä lipolyysiä. Insuliini-infuusion avulla aikaansaadun hyperinsulinemian aikana luustoliuksen osuus koko kehon glukoosinkäytöstä on noin 70 – 80 %. Luurankolihas on kehon insuliiniherkin kudos. (DeFronzo ym. 1981b, Yki-Järvinen ym. 1987 ja Nuutila ym. 1992.)

Metaboloituakseen glukoosin täytyy kulkeutua hiussuoniverkostosta lihassolun soluvälitilaan ja edelleen solunsisäiseen tilaan, jossa se fosforyloituu glukoosi-6-fosfaatiksi (Katzen ym. 1970). Luustoliuksen verenkierron, hiussuonien käytön ja niiden sisäpintojen solukerroksen glukoosin läpäisevyyden uskotaan vaikuttavan glukoosin käyttöön. Tärkein lihasten glukoosin käyttöä säätelevä tekijä on kuitenkin glukoosin kuljettaja-proteiinit (GLUT4, GLUT1 ja GLUT5 (Klip & Paquet 1990)) solukalvolla. Glukoosi kulkeutuu soluvälitilasta solunsisäiseen tilaan fasilitoidun diffuusion avulla (Hayashi ym. 1997). Matalien solunsisäisten glukoositasojen vuoksi, ja koska glukoosi suosii fosforyloitumista suhteessa glukoosin kuljetukseen, glukoosin kuljetusta pidetään luus-

tolihaksen insuliinivaikutteista glukoosiaineenvaihduntaa rajoittavana tekijänä (Kubo & Foley 1993). (Katz ym. 1988 ja Ziel ym. 1988.)

### 5.1.1 Solun sisäinen glukoosiaineenvaihdunta

Solunsisäinen glukoosi forforyloidaan heksokinaasin avulla nopeasti glukoosi-6-fosfaatiksi, jota seuraa joko glykolyysi tai glykogeenisynteesi. (Kuva 8.) Glykolyysissä glukoosi-6-fosfaatista muodostuu pyruvaattia, joka edelleen metaboloituu laktaatiksi ja alaniiniksi (anaerobinen glykolyysi) tai hapettuu asetyyli-CoA:ksi puryvaatti dehydrogenaasin katalysoimassa reaktiossa. Tämän jälkeen asetyyli-CoA kulkeutuu



**Kuva 8.** Luustolihaksen glukoosiaineenvaihdunta. G = glukoosi, GLUT = glukoosin kuljettaja, HK = heksokinaasi, GS = glykogeenisyntetaasi, GP = glykogeeni fosforylaasi, PFK = fosfofruktokinaasi, GAPDH = glyseraldehydi-3-fosfofruktokinaasi, PDH = pyruvaattidehydrogenaasi, LDH = laktatidehydrogenaasi ja TCA = sitruunahappo. Kuva muokattu lähteestä Peltoniemi ym. 2001b.

sitruunahappokiertoon, jossa se voidaan hapettaa (oksidatiivinen glukoosiaineenvaihdunta) tai käyttää uudelleen. (Katzen ym. 1970.) Glykolyysiin kulkeutuneesta glu-

koosista 90 % päätyy oksidatiiviseen glukoosiaineenvaihduntaan (Thiebaud ym. 1982 ja Del Prato ym. 1993). Glykogeenisynteesissä glukoosi lisätään kasvavaan glykogeeniketjuun glykogeenisyntetaasin katalysoimassa reaktiossa (Bogardus ym. 1983 ja Mandarino ym. 1987).

## **5.2 Luustolihasen glukoosin käytön säätely rasituksessa**

### **5.2.1 Energia-aineiden käyttö**

Rasvat ja hiilihydraatit ovat luustolihasen pääasiallisia energianlähteitä pitkäkestoisessa rasituksessa. Aerobisen rasituksen aikana lihas voi hapettaa energiaksi myös aminohappoja, mutta niiden osuus koko energiankulutuksesta aerobisen suorituksen aikana on hyvin vähäinen. Elimistön hiilihydraattien käyttö rasituksen aikana määräytyy lähinnä lihasten energiatarpeen mukaan. Rasvojen käyttö energiaksi rasituksen aikana riippuu hiilihydraattien käytön määrästä ja rasvojen saatavuudesta. Verenvirtaus ja sen mukana glukoosin kulkeutuminen työskenteleviin lihaksiin lisääntyvät fyysisen rasituksen alkessa. Fyysinen rasitus stimuloi glukoosin kuljettajaproteiinien siirtymistä solukalvoille ja glukoosin virtausta soluun. Plasman glukoosi ja lihasten glykogeenivarastot toimivat energianlähteinä pitkäkestoisessa rasittavassa suorituksessa. Rasituksen aikainen uupumus voi johtua joko veren vähäisestä glukoosikonsentraatiosta (hypoglykemia) tai lihasten glykogeenivarastojen ehtymisestä. (Holloszy ym. 1998 ja Goodyear & Kahn 1998.)

Rasvojen ja hiilihydraattien käytön osuus rasituksen aikaisina energianlähteinä määräytyy plasman vapaiden rasvahappojen pitoisuuden (Tipton 1997) sekä rasituksen intensiteetin (Kanaley ym. 1995) ja keston (Romijn ym. 1993) mukaan. Myös muut tekijät kuten henkilön harjoittelutausta (Klein ym. 1994 ja van Loon ym. 1999), käytössä oleva lihasmassa (Richter ym. 1988), suoritusta edeltänyt ja sen aikainen ravintoaineiden nauttiminen (Coyle ym. 1997 ja Langberg ym. 1997) sekä mahdollisesti ikä (Cartee 1994) ja sukupuoli (Hagenfeldt 1975, Nuutila ym. 1995) saattavat vaikuttaa rasvojen ja hiilihydraatin käytön jakautumiseen samalla suhteellisella intensiteetillä tehdyssä fyysisessä suorituksessa.

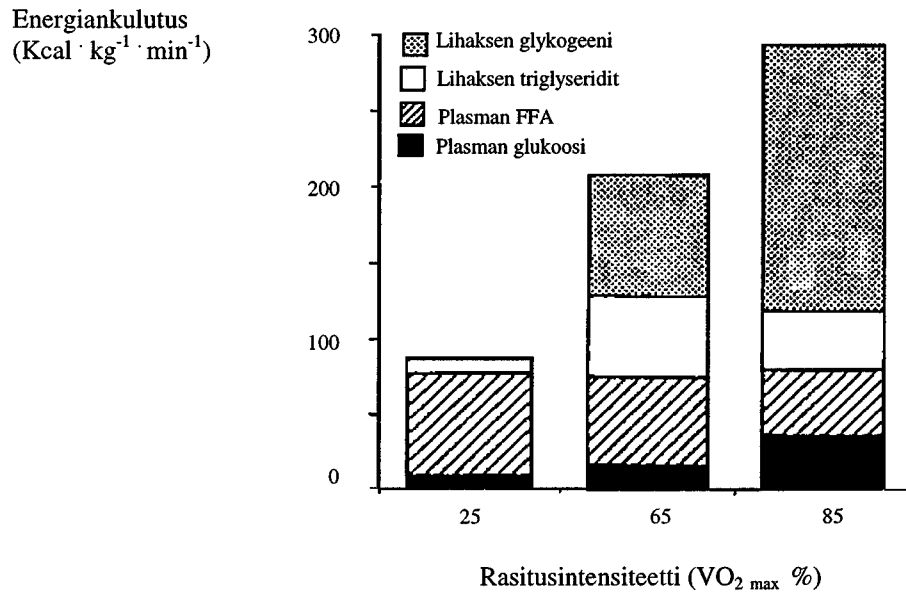
### 5.2.2 Fyysisen rasituksen intensiteetin ja keston vaikutus glukoosin käyttöön

Fyysisen rasituksen intensiteetti ja käytettävissä oleva happi (Sahlin 1990) määräävät, missä suhteessa lihakset käyttävät eri energialähteitä, ja ovat siten tärkeässä roolissa energia-aineenvaihdunnan säätelyssä rasituksen aikana (Brooks 1997). Rasituksen aikana lihasten käyttämä kokonaisenergian määrä määräytyy absoluuttisen työmäärän perusteella, kun taas rasituksen suhteellinen intensiteetti määrittää pääasiassa energia-aineiden suhteelliset osuudet eli lihasten hapettamien rasvojen ja hiilihydraattien osuudet käytetystä energiamäärästä. (Romijn ym. 1993 ja Roberts ym. 1996.) Fyysisen rasituksen intensiteetin lisääntyessä hiilihydraattien suhteellinen osuus energian käytössä kasvaa johtuen lihasten lisääntyneestä glykogeenin pilkkoutumisesta glukoosiksi ja lisääntyneestä veren glukoosin käytöstä. Hiilihydraattiaineenvaihdunnan ja työmäärän suhde ei ole lineaarinen, vaan hiilihydraattien käyttö kasvaa ei-lineaarisesti korkeilla intensiteeteillä. Rasituksessa lihasten käyttämä glukoosin määrä voi kasvaa jopa 30 – 50 kertaa lepotason kulutusta suuremmaksi (Sahlin 1990). (Wahren ym. 1971 ja Cooper ym. 1989.)

Fyysisen rasituksen intensiteetin lisäksi luustolihaksen energia-aineenvaihduntaan vaikuttaa suorituksen kesto (Brooks & Mercier 1994). Kohtalaisen rasituksen alkuvaiheessa (55 – 75 %  $VO_{2max}$ ) lihaksen glykogeeni on pääasiallinen energian lähde (Hollooszy ym. 1998). Pitkäkestoisen rasituksen jatkuessa lihasten glykogeenin osuus energian käytössä vähenee ja plasman vapaiden rasvahappojen osuus kasvaa progressiivisesti (Romijn ym. 1993 ja Brooks 1997).

Romijnin ym. (1993) tutkimuksessa mitattiin isotooppi-infuusion ([6.6- $2H_2$ ]glukoosi) avulla kestävyysurheilijoiden glukoosinkäyttöä. Tutkimuksessa koko kehon rasvattoman massan glukoosinkäyttö määritettiin levossa ja eri rasiustasoilla (25 %, 65 % ja 85 %  $VO_{2max}$ ) 20 – 30 minuuttia polkupyöräergometrirasituksen alkamisesta. Glukoosinkäyttö levossa oli  $11.5 \pm 0.4 \mu\text{mol/kg/min}$  ja eri rasiustasoilla  $14.3 \pm 0.4$  (25 %),  $24.5 \pm 1.2$  (65 %),  $56.9 \pm 2.1$  (85 %)  $\mu\text{mol/kg/min}$ . Carterin ym. (2001) tutkimuksessa mitattiin tavallisten miesten glukoosinkäyttöä 90 minuuttia kestäneessä polkupyöräergometrirasituksessa intensiteetin ollessa 60 %  $VO_{2max}$ :sta. Levossa miesten glukoosinkäyttö oli  $10.4 \pm 0.3$  ja rasituksen aikana  $26.4 \pm 2.9 \mu\text{mol/kg/min}$ . Vastaavanlaisia tuloksia sa-

moilla menetelmillä ovat saaneet myös Romijn ym. (2000) ja Bergman ym. (1999). (Kuva 9.)



*Kuva 9. Energiankulutuksen jakautuminen plasman vapaiden rasvahappojen (= FFA) ja glukoosin sekä lihaksen glykogeenin ja triglyseridien kesken 30 minuuttia kestäneen polkupyörärasituksen jälkeen eri rasitusintensiiviteeteillä (25, 65 ja 85 % VO<sub>2 max</sub>). Kuva muokattu lähteestä Romijn ym. 1993.*

### 5.2.3 Insuliinin ja lihassupistusten vaikutus glukoosin kuljetukseen

Glukoosin kuljetus lihassolun solukalvon läpi on tärkein glukoosiaineenvaihduntaa rajoittava tekijä. Glukoosi kulkeutuu soluun passiivisesti kuljettajaproteiinien avulla (GLUT4, GLUT5 ja GLUT1), joista lihaksessa tärkein on GLUT4. (Klip & Paquet 1990.) Glukoosin kuljetusta soluun stimuloivat insuliini ja lihassupistukset. Lihassupistusten ja insuliinin uskotaan vaikuttavan saamalla aikaan glukoosinkuljettajaproteiinien siirtymisen solusta solukalvolle ja yhtymisen vesirakkuloiden kanssa. GLUT4 kantajaproteiineja sisältävät vesirakkulat sijaitsevat solukalvon poikittaisissa putkiloissa (tranverse tubules), jotka ovat suoraan yhteydessä sarkoplasmakalvostolle. Tämä mahdollistaa glukoosin kuljetuksen suoraan lihassolun sisälle, jossa aerobisen glykolyysin ja pyruvaatin oksidaation kautta suurin osa myofibrillien lihassupistuksen aikana käyttämästä ATP:stä muodostuu. (Holloszy ym. 1998.) Insuliini ja lihassupistukset stimuloivat glukoosinkuljetusta myös lisäämällä kuljetuksen nopeutta (Goodyear & Kahn 1998). Insuliini ja lihassupistukset toimivat toisistaan riippumatta (Wojtaszewski & Richter 1998 ja Peltoniemi ym. 2001c). Huolimatta siitä, että lihastyö ja insuliini voivat stimuloida glukoosin käyttöä itsenäisesti, on niiden yhtäaikaisen stimulaation havaittu vai-

kuttavan synnergisesti lisäämällä GLUT4 kantajaproteiinien rekrytoimista plasmamembraanille (DeFronzo 1981a ja Goodyear & Kahn 1998). Baronin & Clarkin (1997) mukaan saattaa olla mahdollista, että insuliini toimii myös lisäämällä ravitsevan verenkierron määrää parantaen siten omaa ja glukoosin kulkeutumista lihassoluun.

Lihastyön jälkeen insuliinikonsentraatio säilyy yleensä koholla useita tunteja. Tällä hetkellä ei tiedetä tarkkaan, mitkä mekanismit aiheuttavat insuliinipitoisuuden nousun akuutin rasituksen seurauksena. Goodyearin & Kahnin mukaan insuliinipitoisuuden nousuun saattavat vaikuttaa lihasten glykokeenikonsentraatio, humoraaliset tekijät sekä auto- ja parakriiniset mekanismit. (Goodyear & Kahn 1998.) Autokriininen mekanismi tarkoittaa säätelyä, joka kohdistuu solun omaan toimintaan tai hormonieritykseen. Parakriinisissä mekanismeissa solu tuottaa naapurisolujen toimintaa säätelevää tekijää.



## 6 POSITRONIEMISSIOTOMOGRAFIA GLUKOOSIN KÄYTÖN TUTKIMISESSA

### 6.1 PET:n perusteet

Positroniemissiotomografia (PET) on radioaktiivisia isotooppeja hyödyntävä kuvantamismenetelmä, jolla voidaan tutkia elimistön biokemiallisia ja aineenvaihdunnallisia tapahtumia in vivo. Tällä hetkellä mikään muu menetelmä ei pysty tähän yhtä monipuolisesti ja noninvasiivisesti. PET-tekniikalla on mahdollista mitata verenvirtausta, hapen kulutusta sekä glukoosin, aminohappojen ja rasvojen aineenvaihduntaa, reseptorien toimintaa sekä lääkeaineiden pitoisuuksia ja vaikutusmekanismeja eri elimissä. (Jones 1990, Knuuti & Nuutila 1999.)

Tavallisimpia isotooppeja, joita on käytetty PET-tutkimuksissa, ovat happi-15, hiili-11, fluori-18 ja typpi-13. Koska esimerkiksi hiiltä on miljoonissa eri yhdisteissä, on mahdollista tehdä suuri määrä erilaisia hiilellä leimattuja yhdisteitä. PET-merkkiaineilla on lyhyt puoliintumisaika ja niiden aiheuttama säderasitus on samaa luokkaa kuin tavallisissa röntgentutkimuksissa. Tutkimuksissa käytettävä merkkiaine injisoidaan tutkittavan potilaan suoneen (Ament ym. 1998) tai kaasumainen merkkiaine annostellaan hengityksen kautta. Lyhyen puoliintumisajan etuna on tutkittavan potilaan saaman säderasituksen pieneneminen. Tämä mahdollistaa myös useiden perättäisten tutkimusten suorittamisen samalle henkilölle lyhyen ajan sisällä. (Jones 1990.)

PET-tutkimuksissa kuvantaminen perustuu niin sanottujen annihilaatiokvanttien rekisteröintiin. Nämä kvantit muodostuvat kun merkkiaineena käytetyn radioaktiivisen isotoopin ylimääräisiä protoneja sisältävät epävakaat ytimet käyvät läpi  $\beta$ -hajoamisen, jossa ytimen protoni hajoaa neutroniksi, positroniksi ja neutriinoksi.  $\beta$ -säteilyssä syntynyt positroni annihiloituu heti kohdatessaan elektronin. Tämä tarkoittaa elektronin ja positronin – hiukkasen ja vastahiukkasen – häviämistä ja muuttumista kahdeksi gamma-kvantiksi, fotoneiksi, jotka liikemäärän säilymisen vuoksi lähtevät vastakkaisiin suuntiin. Syntyneet kvantit voidaan rekisteröidä kristalli-ilmaisimien (detektorit) sekä valomonistinputkien avulla. Kun molemmat toisilleen vastakkaiset detektorit tunnistavat gammakvantin, voi kuvauslaite laskennallisin menetelmin päätellä, missä pisteessä

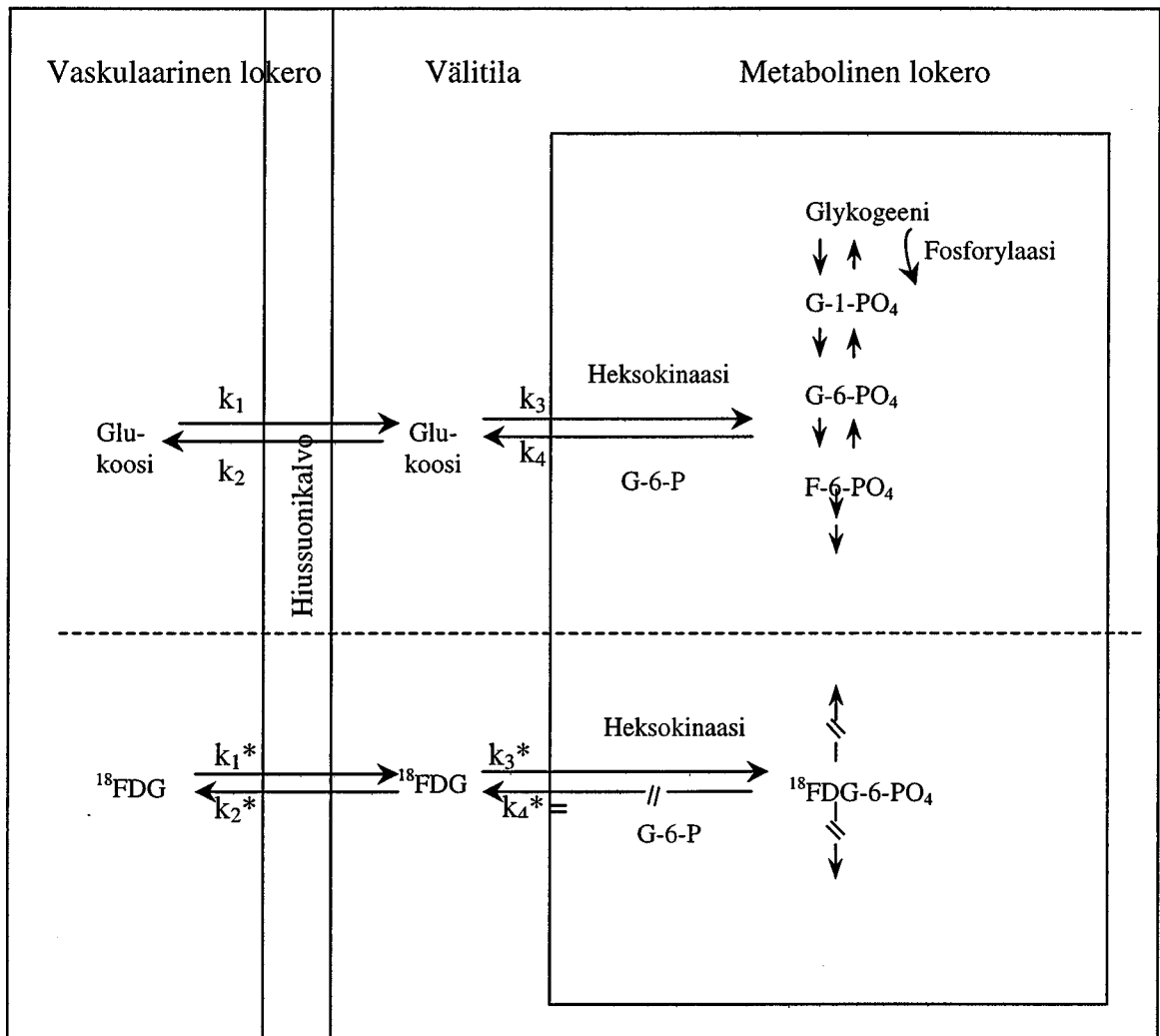
kvantteja synnyttävä annihilaatio on tapahtunut. Muun muassa tietokonetomografiasta tuttua takaisinprojektiotekniikkaa hyväksi käyttäen tietokone voi muodostaa detektorirenkaassa tapahtuneet annihilaatiot kuvaksi. (Jones 1990, Knuuti & Nuutila 1999.)

PET-kameran resoluutio vaihtelee kamerasta riippuen, yleensä se on 5 - 8 mm. Gamma-kameraan verrattuna PET-kameran erottelukyky on huomattavasti parempi, kun taas tietokonetomografia- tai magneettikuvaan verrattuna se on epätarkempi. PET:lla ei kuitenkaan tutkita anatomisia yksityiskohtia, vaan kudoksessa tapahtuvaa aineenvaihduntaa, jolloin piirtotarkkuus ei ole oleellisin suure. (Jones 1990.) PET-menetelmä mahdollistaa radioaktiivisen merkkiaineen jakautumisen määrittämisen tarkasti tilan ja ajan suhteen halutuilta anatomisilta mielenkiitoalueilta (ROI = regions of interest). Tämä mahdollistaa paikallisen aineenvaihdunnan aktiivisuuden ja verenkierron määrän välisen suhteen sekä paikallisen verenkierron jakautumisen määrittämisen. Menetelmän yksi etu verrattuna invasiivisiin tai mittaumenetelmiin on mahdollisuus tutkia verenvirtausta myös akuutin rasituksen aikana (Kalliokoski ym. 2000). PET-menetelmän käytön yleistymistä rajoittaa laitteiden sekä niiden käyttökustannusten korkea hinta. Menetelmään liittyvät matemaattiset mallit ja merkkiaineiden käyttäytymisen erot suhteessa luonnollisiin aineisiin ovat myös koettu mutkikkaiksi. (Rådegran 1999.)

## 6.2 Glukoosin käytön mittaaminen [<sup>18</sup>F]FDG:n avulla

[<sup>18</sup>F]-2-fluoro-2deoksi-D-glukoosi ([<sup>18</sup>F]FDG) on fluoriini-18 merkitty glukoosianalogi, jossa vety on korvattu fluoriini-18. Fluoriini-18 käytön etuja ovat sen vähäinen säteilyannos sekä suhteellisen pitkä puoliintumisaika (109.8 min), mikä mahdollistaa pitkäkestoiset aineenvaihdunnalliset analyysit. (Phelps ym. 1978.)

[<sup>18</sup>F]FDG kulkeutuu lihassoluun samojen kantajaproteiinien avulla kuin glukoosi ja fosforyloituu (Kuva 10.). Toisin kuin glukoosi fosforyloitunut fluoro-deoksi-glukoosi ei kykene edelleen metaboloitumaan, eikä defosforyloidu merkittävästi ( $k_4^* = 0$ ), siten se kertyy kohdesoluun. (Phelps ym. 1978.) Sokoloffin ym. (1977) kolmen lokeron malli kuvaa [<sup>18</sup>F]FDG:n fosforyloitumista soluun (Kuva 10.). Kolmen lokeron malli koostuu vaskulaarisesta lokerosta (plasma), [<sup>18</sup>F]FDG:n kudoslokerosta sekä lokerosta, jossa [<sup>18</sup>F]FDG:n fosforylaatio tapahtuu (metabolinen lokero). Kolmen lokeron mallissa vas



**Kuva 10.** Glukoosin ja FDG:n kuljetus ja aineenvaihdunta kudoksessa. Kuva muokattu lähteestä Sokoloff ym. 1977, *The three compartment model of  $[^{18}\text{F}]$ FDG kinetics*.

kulaarisen lokeron ja kudoslokeron välissä sijaitsee hiussuonikalvosto. Kudoslokeron ja metabolisen lokeron välissä ei ole fyysistä rajaa, vaan lokerot erottaa toisistaan fosforylaatio ja defosforylaatio reaktiot. Sokoloffin ym. (1977) kolmen lokeron malli on käytökelpoinen homogeenisilla kudosalueilla ja edellyttää steady state tilaa glukoosiainenvaihdunnassa.

Glukoosin käyttö voidaan laskea Patlakin & Blasbergin (1985) kehittämän graafisen analyysin avulla. Normalisoimalla plasman radioaktiivisuus (x-akseli) ja jakamalla kudosaaktiivisuus saman hetken plasma-aktiivisuudella (y-akseli) voidaan määrittää FDG:n fraktionaalinen kudokseen otto ( $K_i$ ), joka lasketaan kaavasta  $(k_1^* \cdot k_3^*) / (k_2^* + k_3^*)^{-1}$ , jossa  $k_1^*$  ja  $k_2^*$  ovat siirtymäkertoimet vaskulaarisesta lokerosta kudokseen ja takaisin

ja  $k_3^*$  on fosforylaationopeusvakio. Alueellinen glukoosinkulutus lasketaan kaavasta (Sokoloff ym. 1977);

$$rGU = \frac{[Glu]}{LC} \cdot K_i \text{ (}\mu\text{mol Glu/100 g kudosta/min), jossa}$$

RGU (regional glucose uptake) = glukoosin alueellinen kulutus

[Glu] = plasman glukoosikonsentraatio

LC (lumped constat) = FDG:n ja glukoosin kertymänopeuksien ero

$K_i$  = FDG:n fraktionaalinen kertymä kudoksessa.

LC (lumped constant) on vakio, jota käytetään korjaamaan erot [ $^{18}\text{F}$ ]FDG:n ja glukoosin fosforylaatiossa. LC:tä tarvitaan, koska glukoosi ja FDG eroavat kemiallisesti hieman toisistaan. Glukoosi ja [ $^{18}\text{F}$ ]FDG kulkeutuvat lihassoluun samojen kantajaproteiinien avulla, mutta kantajaproteiinit suosivat FDG:tä ja kuljettavat sitä soluihin (ja niistä pois) selvästi nopeammin kuin glukoosia. Vastaavasti heksokinaasin (entsyymi, joka katalysoi suurienergisien fosfaattiryhmän siirtymistä ATP-molekyylistä glukoosiin, jolloin muodostuu glukoosi-6-fosfaattia) affiniteetti glukoosille on suurempi kuin FDG:lle ja siten se fosforyloi FDG:tä hitaammin kuin glukoosia. LC muuttuu hyvin vähän eri olosuhteissa. Ihmisen luurankolihasen LC on kolmella eri tavalla mitattuna 1.2 (Kelley ym. 1999, Utriainen ym. 2000 ja Peltoniemi ym. 2000). (Reivich ym. 1985.)

### 6.3 PET:n ja FDG:n avulla mitattu luurankolihasen glukoosin käyttö

FDG-PET:ä on käytetty vuodesta 1992 alkaen (Nuutila ym. 1992) ja sitä pidetään nykyisin tarkimpana menetelmänä glukoosinkäytön mittaamisessa (Kelley ym. 2000). Menetelmä on validoitu Fickin periaatteen ja mikrodialyysitutkimuksen avulla (Peltoniemi ym. 2000) sekä vertaamalla koko elimistön ja lihasten glukoosin käyttöä (Nuutila ym. 1992). Levossa reisilihasten glukoosin käyttö on  $n. 10.6 \pm 0.8$  ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) (Nuutila ym. 1996). Hyperinsulinemian aikana reisilihasten glukoosinkäytön on mitattu olevan  $38.0 \pm 4.0 - 102.0 \pm 13.0$  ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) (Nuutila ym. 1993, 1995, 1996 ja 2000, Utriainen ym. 1997 ja 1998, Laine ym. 1998 sekä Peltoniemi ym. 2000, 2001a ja 2001b) ja hyperinsulinemian sekä fyysisen rasituksen aikana  $125.0 \pm 19.0 - 186.0 \pm$

29.0 ( $\mu\text{mol/kg/min}$ ) (Nuutila ym. 2000, Peltoniemi ym. 2001a ja 2001b). FDG-PET:ä ei ole ennen tätä tutkimusta sovellettu jänteen metabolian mittaamiseen.

## 7 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSONGELMAT

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli tutkia jänteen energia-aineenvaihduntaa ja selvittää tapahtuuko jännekudoksen glukoosin käytössä muutoksia fyysisen rasituksen aikana. Lisäksi tarkoituksena oli verrata jänteen glukoosin käyttöä suhteessa lihaksen glukoosin käyttöön fyysisen rasituksen aikana. Tutkimusongelmia olivat:

1. Miten paljon jännekudos käyttää glukoosia energiakseen fyysisen rasituksen aikana?
2. Kasvaako jännekudoksen glukoosin käyttö suhteessa fyysisen rasituksen tasoon?
3. Miten jännekudoksen glukoosin käyttö eroaa luustolihasen glukoosin käytöstä?
4. Soveltuuko PET jänteen glukoosin käytön mittaamiseen?

Tutkimusongelmiin liittyvät hypoteesit:

1. Jännekudoksen glukoosin käyttö on vähäistä fyysisen rasituksen aikana.
2. Jännekudoksen glukoosin käyttö kasvaa suhteessa fyysiseen rasitukseen.
3. Luustolihasen glukoosinkäyttö on huomattavasti suurempaa kuin jännekudoksen ja lihaksen glukoosinkäyttö kasvaa jänteen glukoosinkäytön kustannuksella.
4. PET:n avulla on mahdollista tutkia jänteen glukoosin käyttöä.

## 8 TUTKIMUSMENETELMÄT

### 8.1 Koehenkilöt

Tutkimukseen osallistui kahdeksan vapaaehtoista tervettä miestä (Taulukko 3.). Koehenkilöille oli kerrottu kirjallisesti ja suullisesti ennen tutkimusta tutkimukseen liittyvät mahdolliset riskit ja heiltä pyydettiin kirjallinen suostumus tutkimukseen osallistumisesta. Tutkimuksella oli Turun yliopiston (TY) ja Turun yliopistollisen keskussairaalan (TYKS) yhteisen eettisen toimikunnan suostumus.

*Taulukko 3. Koehenkilöiden taustatiedot. Arvot esitetty muodossa keskiarvo  $\pm$  keskihajonta.*

Koehenkilöt	Ikä (v)	Pituus (cm)	Paino (kg)	BMI ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	Rasvaprosentti (%)
n = 8	29 $\pm$ 7	181 $\pm$ 7	80 $\pm$ 11	24 $\pm$ 2	20 $\pm$ 5

### 8.2 Maksimaalinen hapenkulutus ( $\text{VO}_{2\text{max}}$ )

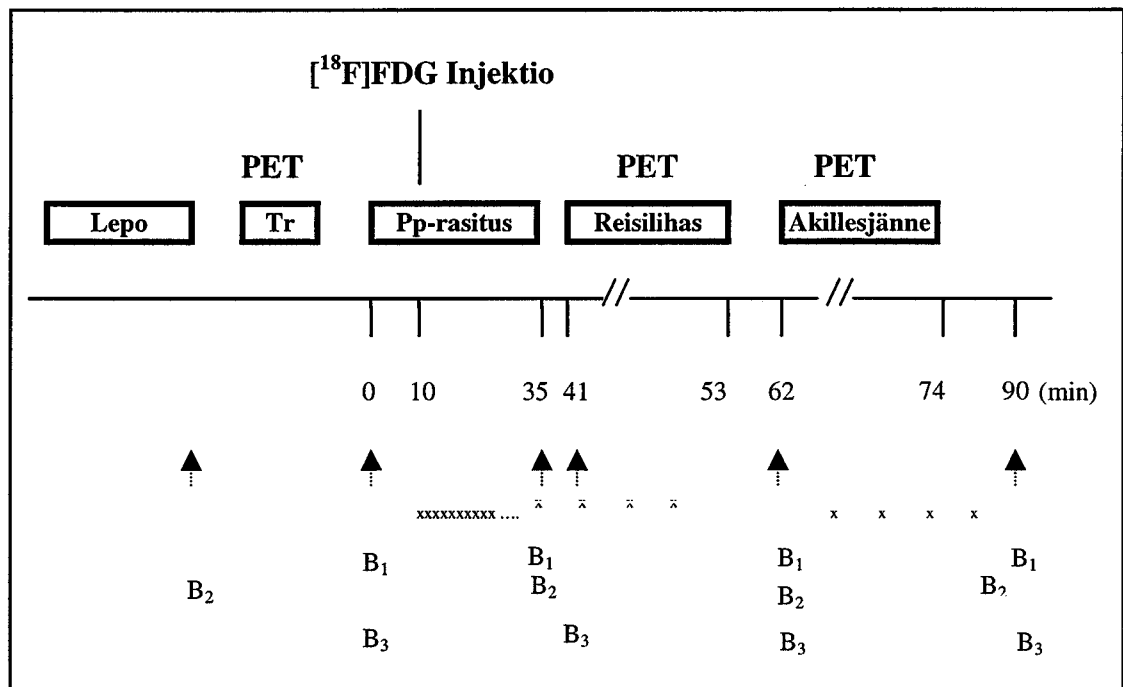
Koehenkilöille tehtiin suora maksimaalinen hapenkulutuksen testi ( $\text{VO}_{2\text{max}}$ -testi) noin viikko ennen varsinaisia PET-tutkimuksia. Maksimaalisessa polkupyöräergometritestissä kuormitusta lisättiin 25 W kahden minuutin välein koehenkilön uupumukseen asti. Testin aikana koehenkilöiltä mitattiin  $\text{VO}_{2\text{max}}$  ja maksimisyke sekä määritettiin aerobinen ja anaerobinen kynnyks. Polkupyörätestit ja kynnysten määritykset suoritti kokenut testaaja Liite ry:n ohjeiden mukaan Paavo Nurmi keskuksessa, Turussa. Koehenkilöt olivat saaneet ohjeet olla nauttimatta kofeiinia sekä alkoholia sisältäviä ravintoaineita tutkimusta edeltävien 24 tunnin aikana ja tutkimuspäivän aamuna koehenkilöt söivät aamiaisen viimeistään kaksi tuntia ennen testin alkua.

### 8.3 Tutkimusasetelma

Jokainen koehenkilö tutkittiin kolmena eri päivänä vähintään kahden päivän välein. PET-tutkimuspäivä koostui polkupyöräergometrirasituksesta sekä PET-kuvauksista. Kaikki kolme tutkimuspäivää olivat muuten samanlaisia, ainoastaan polkupyörärasituksen taso muuttui. Varsinaisina PET-tutkimuspäivinä koehenkilöt olivat saaneet ohjeet

olla syömättä vähintään 12 tuntia ennen tutkimuksen alkua ja lisäksi alkoholia ja kofeiinia sisältävien ravintoaineiden nauttimista oli kehoitettu välttämään 24 tuntia ennen tutkimusta. Koehenkilöitä oli myös kehoitettu välttämään kaikenlaista fyysistä rasitusta vuorokausi ennen tutkimusta.

Ennen tutkimuksen alkua koehenkilöt lepäsivät makuulla 30 minuuttia. Koehenkilöille asetettiin kanyylit molempiin kyynärlaskimoihin, joista toinen FDG:n injisointia varten ja toinen laskimoverinäytteiden ottoa varten. Viimeksi mainittu laskimo lämmitettiin lämpötyynyn avulla. Lämmitetystä laskimosta otetut näytteet vastaavat valtimosta otettuja näytteitä (Mcloughlin ym. 1992). Verinäytteiden ajankohdat on esitetty kuvassa 11. Kanyyliä asettamisen jälkeen koehenkilö asetettiin PET-kameraan kehon vaimennuskuvausta varten. Tämän jälkeen koehenkilö siirtyi polkupyöräergometrille ja aloitti polkupyörärasituksen 30, 55 tai 75 %:n rasiustasolla  $VO_{2max}$ :sta. Kymmenen minuuttia polkupyörärasituksen alkamisesta koehenkilön verenkiertoon injisoitiin [ $^{18}F$ ]FDG merkkiainetta. Tämän jälkeen kuormitusta jatkettiin vielä 25 minuuttia. Kuormituksen kokonaisaika oli 35 minuuttia. Akillesjänneiden PET-kuvaus alkoi  $62 \pm 3$  minuuttia polkupyörärasituksen päätyttyä ja kuvaus kesti 12 minuuttia. (Kuva 11.)



**Kuva 11.** Tutkimuksen kulku. Tr = transmissiokuvaus, PET = PET-kuvaus, Pp-rasitus = polkupyöräergometrirasitus, x = [ $^{18}F$ ]FDG:n aktiivisuuspäätteenä, B<sub>1</sub> = plasman glukoosinäytteet, B<sub>2</sub> = plasman laktaattinäytteet ja B<sub>3</sub> = seerumin vapaan insuliinin näytteet.



## 8.4 PET-protokolla

### 8.4.1 Polkupyörärasitus ja [<sup>18</sup>F]FDG:n injisointi

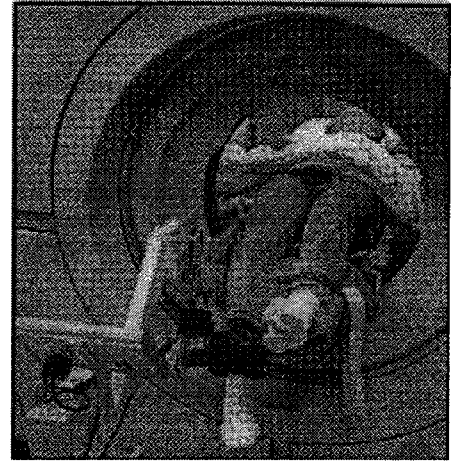
Polkupyörärasituksessa koehenkilöt polkivat määrättyllä rasiustasolla (alle aerobisen tason 30 % VO<sub>2max</sub>:sta = LOW, alle anaerobisen tason 55 % VO<sub>2max</sub>:sta = MID ja yli anaerobisen tason 75 % VO<sub>2max</sub>:sta = HIGH) 60 kierroksen poljin nopeudella minuutissa. Polkupyörärasitusta ennen ei tehty alkuverryttelyä, vaan rasitus alkoi heti määrättyllä rasiustasolla. Eri rasiustasojen suoritusjärjestys satunnaistettiin. Polkupyörärasituksen aikana mitattiin koehenkilön sykettä. Kymmenen minuuttia polkupyörärasituksen alkamisesta [<sup>18</sup>F]FDG injisoitiin koehenkilön kyynärlaskimoon, jonka jälkeen polkupyörärasitus jatkui vielä 25 minuuttia. Polkupyörärasituksen kokonaisaika oli 35 minuuttia. Polkupyörärasitus ei keskeytynyt merkkiaineen injisoinnin aikana. Injektion kesto oli noin kaksi minuuttia. [<sup>18</sup>F]FDG:n aktiivisuusnäytteet otettiin seuraavasti: 10 näytettä merkkiaineen injisointia seuranneiden kahden minuutin aikana ja yksi näyte 2.5, 3, 4, 5, 7.5, 10, 20, 30 minuutin kohdalla, sekä neljästi nelipäisen reisilihaksen ja jännekuvauksen aikana.

[<sup>18</sup>F]FDG:n ( $t_{1/2} = 109.8$  min) injisointi aktiivisuus oli  $160 \pm 8$  MBq. [<sup>18</sup>F]FDG:n valmistus tapahtui Hamacher ym. (1986) esittämän automatisoidun prosessin avulla. [<sup>18</sup>F]FDG:n spesifinen radioaktiivisuus valmistusprosessin päätyttyä oli  $\sim 74$  GBq/ $\mu$ mol ja radiokemiallinen puhtaus ylitti 98 %.

### 8.4.2 PET-kuvaukset

*Koehenkilön asettelu.* Tutkittavat kuvattiin selin makuulla PET-kameralla ECAT 931/08-12 (Siemens/CTI Inc., Knoxville, TN, USA) (Kuva 12.). Kameran kuvausalue on 10.8 cm pitkittäissuunnassa jaettuna 15 poikkileikkaustasoon. Tutkittavat asetettiin tutkimuspöydälle makuulle siten, että nelipäisen reisilihaksen kuvauksessa kuvauskentän keskikohta sijoittui patellan yläreunan ja suoliluun yläetukärjen puoleen väliin. Akillesjänteiden kuvauksessa kuvauskenttä alkoi koehenkilön ulkokehräksen alareunasta ja jatkui kohti ylävartaloa. Kuvausten ajaksi koehenkilön jalat tuettiin tyynyjen

nasta ja jatkui kohti ylävartaloa. Kuvausten ajaksi koehenkilön jalat tuettiin tyynyjen avulla ja sidottiin tukevasti tutkimuspöytään. Kuvauskenttien alkamiskohdat tatuoitiin koehenkilön ihoon, jotta kuvausalueiden paikantaminen kaikilla kolmella eri tutkimuskerralla onnistuisi tarkasti.



**Kuva 12.** PET-kuva. (Peltoniemi ym. 2001b.)

*Dynaaminen kuvaus.* Nelipäisen reisilihaksen kuvaus alkoi keskimäärin  $31 \pm 2$  minuuttia ja akillesjänneiden kuvaus alkoi noin  $62 \pm 3$  minuuttia [ $^{18}\text{F}$ ]FDG:n injisoinnin jälkeen. Dynaamisen kuvauksen kesto sekä reiden että akillesjänteen kohdalla oli kaikissa tutkimuksissa 12 minuuttia ja se koostui kolmesta neljän minuutin jaksosta. [ $^{18}\text{F}$ ]FDG:n aktiivisuusnäytteet otettiin neljästi nelipäisen reisilihaksen ja jännekuvauksen aikana. Kuvausten aikana seurattiin koehenkilön sydänkäyrää EKG-elektrodien avulla ja lisäksi mitattiin verenpainetta.

## 8.5 PET-kuvien käsittely

Kaikki PET-kameralla saatu tieto korjattiin kuolleeseen ajan (kahden eri gammakvantin rekisteröinnin välinen aika, jolloin detektorit eivät pysty rekisteröimään uutta gammakvanttia), isotoopin hajoamisen ja kudosten aiheuttaman vaimennuksen suhteen. Kaikki kuvat rekonstruoidiin  $128 \times 128$  pikselin matriisille MRP-menetelmän (median root prior) avulla, kuvien lopullinen resoluutio oli 8 mm (Alenius & Ruotsalainen 1997).

## 8.6 Mielenkiintoalueet ja glukoosin käytön laskeminen

Mielenkiintoalueet (regions of interest, ROI) piirrettiin PET-kuviin. Akillesjänteistä otetuissa kuvissa ROI:t piirrettiin akillesjänteeseen ja lyhyeseen pohjeluulihakseen. Lyhyt pohjeluuliha valittiin, koska se oli akillesjäntettä lähinnä oleva lihas, joka oli selkeimmin erotettavissa PET-kuvista kaikilta koehenkilöiltä. (Kuva 13.) Nelipäisen reisilihaksen kuvissa ROI muodostui suoran, ulomman, sisemmän ja keskimmäisen reisilihaksen muodostamasta alueesta. ROI:t piirrettiin neljälle eri poikkileikkaustasolle.

Nelipäisen reisilihaksen kohdalla neljä poikkileikkaustasoa valittiin kuvauskentän keskeltä eli patellan yläreunan ja suoliluun yläetukärjen puolesta välistä. Akillesjänteistä otetuissa kuvissa ensimmäinen poikkileikkaustaso alkoi koehenkilön ulkokehräsen alareunasta ja neljäs poikkileikkaustaso ylettyi 2.9 cm ylöspäin (4 x 0.72 cm) ulkokehräsen alareunasta. Glukoosin käyttö laskettiin kaavalla (Sokoloff ym. 1977);

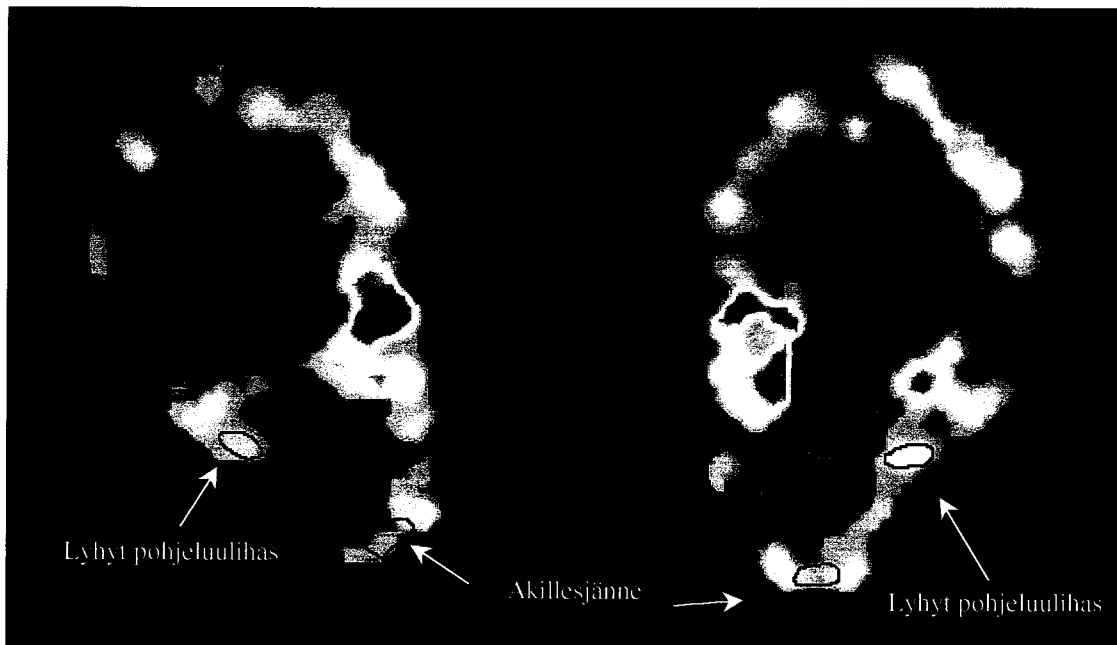
$$rGU = \frac{[Glu]}{LC} \cdot K_i \text{ (}\mu\text{mol Glu/100 g kudosta/min), jossa}$$

rGU = glukoosin alueellinen kulutus (regional glucose uptake)

[Glu] = plasman glukoosikonsentraatio

LC (lumped constat) = FDG:n ja glukoosin kertymänopeuksien ero

K<sub>i</sub> = FDG:n fraktionaalinen kertymä kudoksessa.



**Kuva 13.** Mielenkiintoalueet akillesjännteissä ja lyhyissä pohjeluulihaksissa.

## 8.7 Verinäytteet ja sykkeen mittaaminen

Plasman glukoosi määritettiin glukoosioksidaasi menetelmällä (GM7 Analyser, Analox Instruments, Hammersmith, London, UK). Plasman laktaattipitoisuus mitattiin entsyymaattisella analyysillä (Marbach & Weil 1967). Seerumin vapaa insuliinikonsentraatio määritettiin kaksinkertaisella radioimmunoanalyysillä (Pharmacia Insulin RIA kit, Pharmacia, Uppsala, Sweden) Plasman laktaatti- ja glukoosinäytteiden sekä seerumin vapaan insuliininäytteen ottoajankohdat näkyvät kuvassa 11. Koehenkilöiden syke mitattiin polkupyörärasituksen aikana (Polar Electro, Vantage NV, Kempele, Finland). Sykkeet on mitattu 15 sekunnin tallennusvälillä ja ilmoitettu rasituksen aikaisena keskiykykeenä.

## 8.8 Tilastolliset analyysit

Tilastolliset analyysit suoritettiin SAS/STAT –tilastoanalyysiohjelmistolla (SAS Institute, Cary, N. C., USA). Muuttujat analysoitiin kaksisuuntaisella toistuvien mittausten varianssianalyysillä (ANOVA) käyttäen *mixed* –mallia. Jos varianssianalyysin perusteella muuttujien toistuvien mittausten välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevää vaihtelua suoritettiin vertailut Tukey-Kramer –testillä. Muuttujien välisiä korrelaatioita tarkasteltiin Pearsonin korrelaatioilla. Tulos katsottiin tilastollisesti merkitseväksi, kun  $p < 0.05$ . Tulokset on ilmoitettu muodossa keskiarvo  $\pm$  keskihajonta.

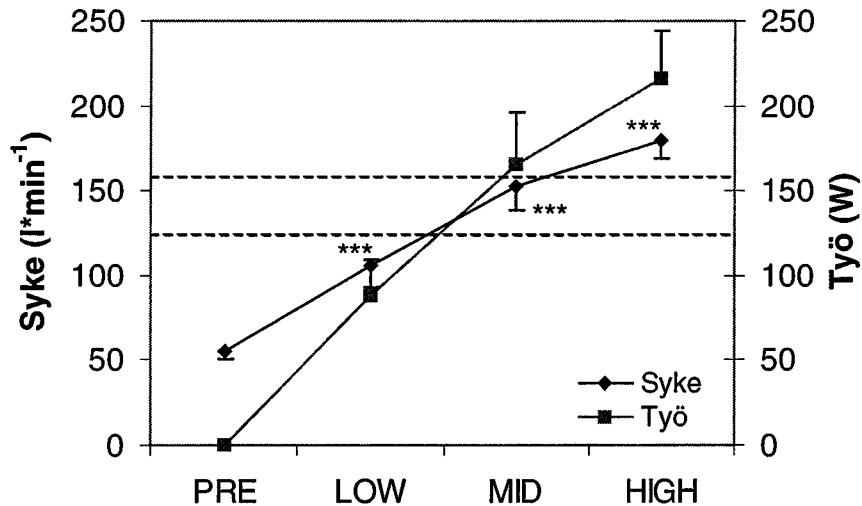
## 9 TULOKSET

### 9.1 VO<sub>2max</sub>-testi ja polkupyöräergometrirasituksen kuormitustasot

Koehenkilöiden maksimaalinen hapenottoikyky polkupyöräergometrillä suoritettussa VO<sub>2max</sub>-testissä oli  $51 \pm 9$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup> (Taulukko 4.). PET-tutkimusten kuormitustasot määritettiin VO<sub>2max</sub>-testin kuormitustasojen perusteella. PET-tutkimuksessa koehenkilöiden rasitusintensiteetit eri rasiustasoilla olivat; LOW  $31 \pm 5$  %, MID  $58 \pm 6$  % ja HIGH  $76 \pm 1$  % maksimaalisesta hapenkulutuksesta. Koehenkilöiden keskisykkeet LOW-tasolla suoritettussa polkupyörärasituksessa olivat  $18 \pm 5$  lyöntiä alhaisemmat kuin VO<sub>2max</sub> testissä määritetyllä aerobisella kynnyksellä. MID-tasolla suoritettussa rasiituksessa sykkeet olivat  $8 \pm 3$  lyöntiä alhaisemmat ja yli HIGH-tason rasiituksessa  $15 \pm 8$  lyöntiä korkeammat verrattuna aikaisemmin määritettyihin anaerobisen kynnyksen syketasoihin. Koehenkilöiden syke kasvoi tilastollisesti merkittävästi ( $p < 0.001$ ) eri rasiustasojen välillä. (Taulukko 4. ja Kuva 14.)

**Taulukko 4.** VO<sub>2max</sub>-testin tulokset ja tutkimuksissa toteutuneet polkupyörärasitusten kuormitustasot.

	VO <sub>2max</sub> -testi		Polkupyörärasitus	
Maksimaalinen suorituskyky (100 % VO <sub>2max</sub> )	VO <sub>2max</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	51 ± 9	HIGH	
	Työ (W)	286 ± 47	(76 ± 1 % VO <sub>2max</sub> )	216 ± 36
	Syke (l·min <sup>-1</sup> )	193 ± 13		176 ± 10
	Laktaatti (mmol·l <sup>-1</sup> )	13.5 ± 2.7		9.0 ± 2.7
Anaerobinen kynnyks (70 ± 6 % VO <sub>2max</sub> )	VO <sub>2max</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	37 ± 7	MID	
	Työ (W)	200 ± 45	(58 ± 6 % VO <sub>2max</sub> )	165 ± 31
	Syke (l·min <sup>-1</sup> )	161 ± 14		152 ± 14
	Laktaatti (mmol·l <sup>-1</sup> )	4.3 ± 0.6		3.7 ± 1.2
Aerobinen kynnyks (45 ± 5 % VO <sub>2max</sub> )	VO <sub>2max</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	23 ± 5	LOW	
	Työ (W)	115 ± 31	(31 ± 5 % VO <sub>2max</sub> )	88 ± 21
	Syke (l·min <sup>-1</sup> )	124 ± 13		106 ± 13
	Laktaatti (mmol·l <sup>-1</sup> )	1.8 ± 0.6		0.9 ± 0.3
Lepo	Syke (l·min <sup>-1</sup> )	59 ± 4	Lepo	55 ± 4
	Laktaatti (mmol·l <sup>-1</sup> )	1.4 ± 0.2		0.8 ± 0.2



**Kuva 14.** Syke ja tehty työ polkupyörärasituksen aikana. Katkoviivat kuvaavat koko ryhmän keskimääräistä aerobista (alempi) ja anaerobista (ylempi) kynnystä sykkeen mukaan. \*\*\* $p < 0.001$  tilastollisesti merkittävä muutos edelliseen tasoon verrattuna.

## 9.2 Luustolihas- ja akillesjänteen glukoosin käyttö

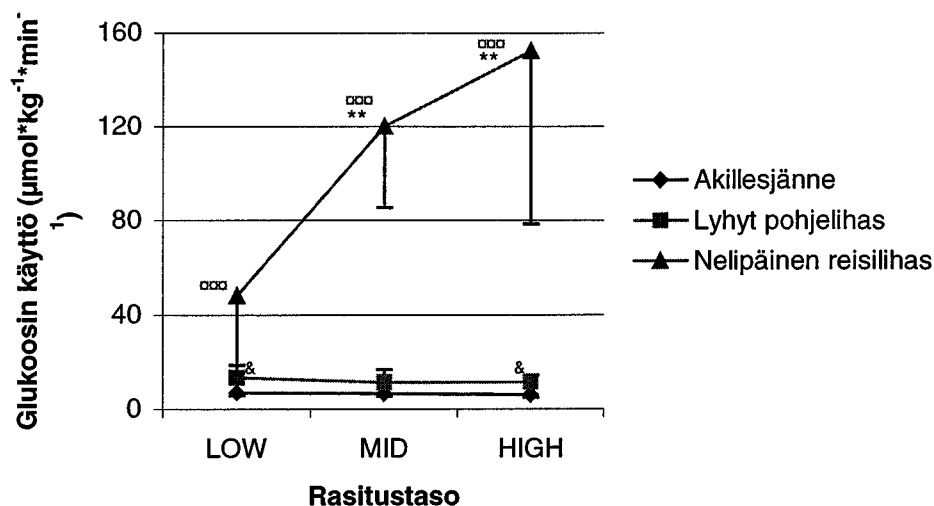
Akillesjänteen ja luustolihas- glukoosin käytössä ei havaittu merkittävää eroa vasemman ja oikean jalan välillä, joten tuloksissa on tarkasteltu molempien jalkojen keskiarvoa. Nelipäisen reisilihaksen glukoosinkäyttö muuttui tilastollisesti merkitsevästi LOW- ja MID-tasojen ( $p < 0.01$ ) sekä LOW- ja HIGH-tasojen ( $p < 0.01$ ) välillä. MID- ja HIGH-tasojen välillä ei havaittu tilastollista merkitsevyyttä. Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö kasvoi LOW-tasolta MID-tasolle noin kolminkertaisesti ( $p < 0.001$ ) ja LOW-tasolta HIGH-tasolle noin nelinkertaisesti ( $p < 0.001$ ). Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö oli merkittävästi suurempaa ( $p < 0.001$ ) verrattuna akillesjänteen tai lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttöön kaikilla kolmella rasiustasolla. (Taulukko 5. ja Kuva 15.)

**Taulukko 5.** Akillesjänteen ja luustolihasen glukoosin käyttö polkupyörärasituksessa eri rasitustasoilla. Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö oli merkittävästi suurempi MID- ja HIGH-tasoilla LOW-tasoon verrattuna \*\*  $p < 0.01$ . <sup>\*\*\*</sup>  $p < 0.001$  = merkittävä muutos nelipäisen reisilihaksen glukoosin käytössä kuormitustasojen välillä.

<b>Absoluuttinen glukoosin käyttö (<math>\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}</math>)</b>			
Rasitustaso	Akillesjänne	Lyhyt pohjeluulias	Nelipäinen reisilihas
LOW	$7.1 \pm 1.5$	$13.3 \pm 5.4$	$47.9 \pm 34.8$
MID	$6.6 \pm 1.1$	$11.4 \pm 5.4$	$120.1 \pm 34.6^{**}$
HIGH	$6.0 \pm 1.1$	$11.5 \pm 2.9$	$152.3 \pm 74.0^{**}$

<b>Prosentuaalinen muutos glukoosin käytössä rasitustasojen välillä (%)</b>			
Rasitustasot	Akillesjänne	Lyhyt pohjeluulias	Nelipäinen reisilihas
LOW vs. MID	$-3 \pm 22$	$-7 \pm 29$	$284 \pm 220^{***}$
LOW vs. HIGH	$-6 \pm 25$	$12 \pm 22$	$413 \pm 524^{***}$
MID vs. HIGH	$-11 \pm 29$	$1 \pm 45$	$40 \pm 82$



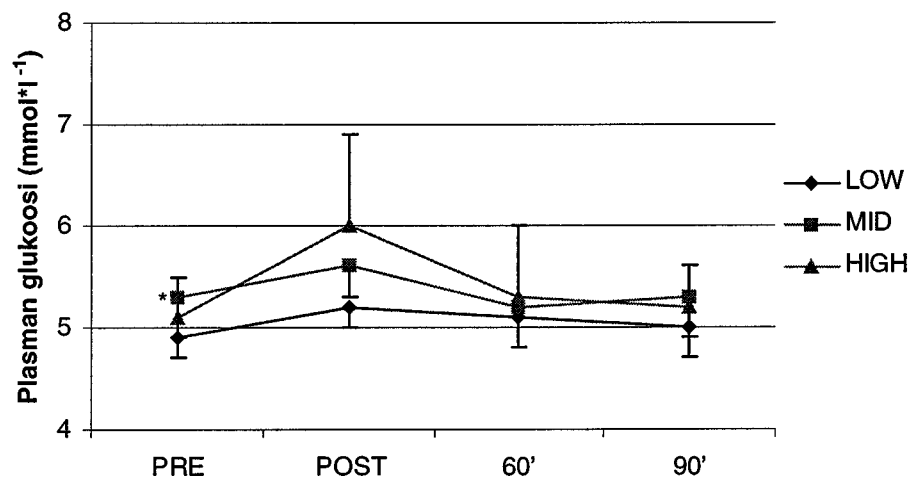
**Kuva 15.** Akillesjänteen ja luustolihasen glukoosin käyttö eri rasitustasoilla polkupyörärasituksessa. Tilastollisesti merkittävä muutos \*\* $p < 0.01$  LOW-tasoon nähden, <sup>\*\*\*</sup> $p < 0.001$  nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö eroaa tilastollisesti janteen ja lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käytöstä, & $p < 0.05$  tilastollinen ero lyhyen pohjeluulihaksen ja janteen glukoosin käytössä.

Kun nilkan FDG-kuvat rekonstruointiin MRP-menetelmällä akillesjänne visualisoitui hyvin ja mielenkiintoalueet (ROI) kyettiin piirtämään kuviin. (Kuvat 3. ja 13.) Akillesjänteen glukoosin käyttö oli matala kaikilla eri rasitustasoilla (Taulukko 5. ja Kuva 15.). Akillesjänteen ( $p = 0.24$ ) ja lyhyen pohjeluulihaksen ( $p = 0.58$ ) glukoosin käyttö eivät muuttuneet tilastollisesti merkittävästi eri rasitustasoilla. Lyhyen pohjeluulihaksen ja akillesjänteen glukoosin käytön välillä havaittiin eroa LOW- ( $13.3 \pm 5.4$  vs.  $7.1 \pm 1.5$

$\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) ja HIGH-tasoilla ( $11.5 \pm 2.9$  vs.  $6.0 \pm 1.1 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Akillesjän-  
teen glukoosin käyttö korreloi nelipäisen reisilihaksen glukoosin käytön kanssa LOW-  
tasolla ( $r = -0.73$ ,  $p = 0.04$ ). Lyhyen pohjeluulihaksen glukoosinkäyttö korreloi plas-  
man insuliinikonsentraation kanssa LOW-tasolla ( $r = 0.78$ ,  $p = 0.02$ ).

### 9.3 Biokemialliset muuttujat

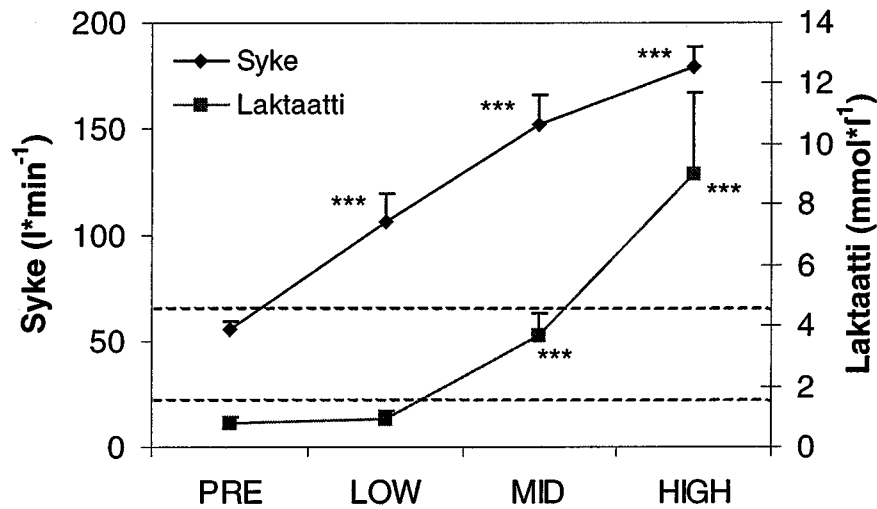
Plasman glukoosikonsentraatio oli merkittävästi ( $p < 0.05$ ) korkeampi PRE-mittauksen  
kohdalla MID-tasolla ( $5.3 \pm 0.3 \text{ mmol/L}$ ) verrattuna LOW-tasoon ( $4.9 \pm 0.2 \text{ mmol/L}$ ).  
Eri rasitustasoilla ei ilmennyt merkittäviä muutoksia eri mittauskohtien suhteen. Eroja ei  
myöskään havaittu eri rasitustasojen välillä eri mittauskohdissa tai muutoksissa mittaus-  
kohtien väleillä. (Kuva 16.)



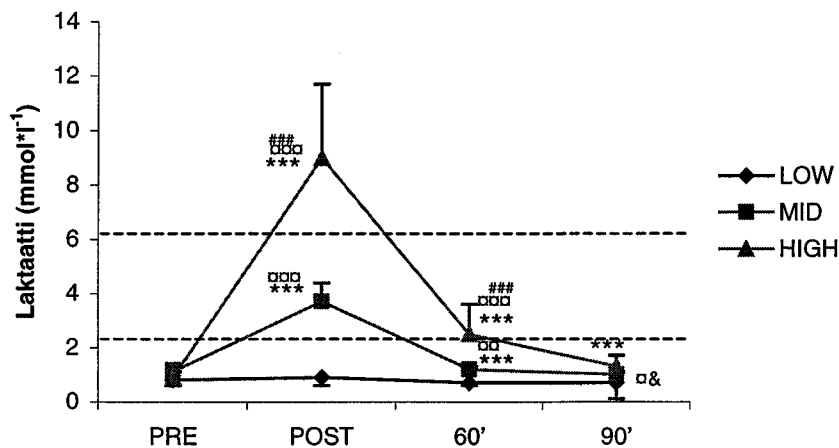
**Kuva 16.** Plasman glukoosikonsentraatio eri kuormitustasoilla polkupyörärasituksen aikana. \*  $p < 0.05$  tilastollisesti merkittävä ero LOW-tasoon nähden.



Plasman laktaattipitoisuus oli korkeampi rasituksen päätyttyä (POST) verrattuna lähtöarvoihin (PRE) MID- ja HIGH-tasoilla ( $1.1 \pm 0.3$  vs.  $3.7 \pm 0.7$  ja  $0.9 \pm 0.2$  vs.  $9.0 \pm 2.7$   $\text{mmol l}^{-1}$ ). Plasman laktaattikonsentraatioiden muutoksissa eri mittauskerroilla ja eri rasitustasojen välillä oli havaittavissa myös merkittäviä eroja ( $p < 0.01 - 0.001$ ). (Kuvat 17. ja 18.)

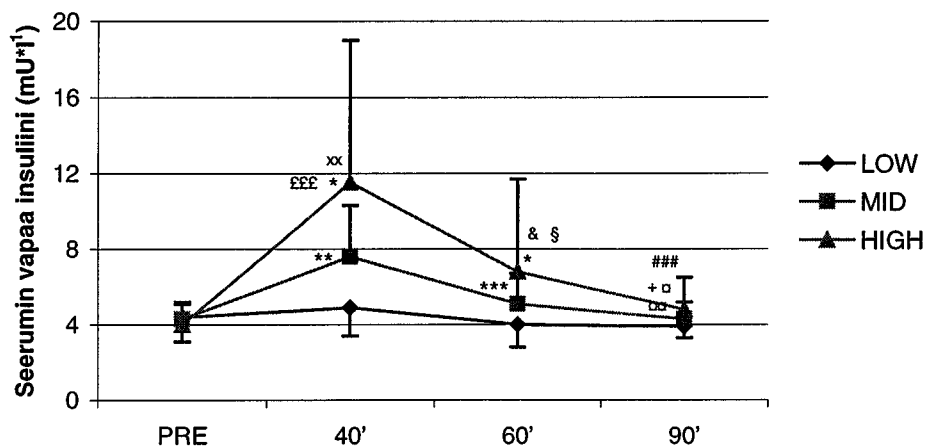


**Kuva 17.** Keskimääräinen syke ja välittömästi rasituksen päätyttyä (Post) mitattu plasman laktaattikonsentraatio eri rasitustasoilla suoritetuissa polkupyörärasituksissa. Katkoviivat kuvaavat koko ryhmän keskimääräistä aerobista (alempi) ja anaerobista (ylempi) kynnystä plasman laktaatin mukaan. \*\*\* $p < 0.001$  tilastollisesti merkittävä muutos edelliseen tasoon ja Pre-tasoon verrattuna.



**Kuva 18.** Plasman laktaattikonsentraatioiden muutokset eri rasitustasoilla suoritetuissa polkupyörärasituksissa. Katkoviivat kuvaavat koko ryhmän keskimääräistä aerobista (alempi) ja anaerobista (ylempi) kynnystä plasman laktaatin mukaan. Tilastollisesti merkittävä muutos \*\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$  edelliseen mittaukseen, &Post-mittaukseen, ## $p < 0.01$ , ## $p < 0.01$ , # $p < 0.05$  LOW-tasoon verrattuna ja ### $p < 0.001$  MID- ja HIGH-tasojen välillä.

Seerumin vapaan insuliinin konsentraatio kasvoi viisi minuuttia rasituksen päätyttyä (40') MID- (84.0 %) ja HIGH- (183.3 %) tasoilla PRE-arvoihin verrattuna. MID- ja HIGH-tasoilla insuliinikonsentraatio oli palautunut lähtöarvojen tasolle mittauskohdassa 60'. Insuliinikonsentraatiossa oli havaittavissa merkittäviä muutoksia eri mittauskohtien välillä eri kuormitustasojen kesken  $p < 0.001 - 0.05$ . (Kuva 19.)



**Kuva 19.** Seerumin vapaa insuliini eri rasiustasoilla.  $***p < 0.001$ ,  $**p < 0.01$ ,  $*p < 0.05$  tilastollisesti merkittävä muutos edelliseen mittaukseen ja  $^{iii}p < 0.01$ ,  $^{ii}p < 0.05$  40'-mittaukseen nähden. Merkittävä muutos mittauskohtien PRE ja 40' välillä tasojen LOW ja HIGH  $^{iii}p < 0.001$  sekä MID ja HIGH kesken  $^{xx}p < 0.01$ . Merkittävä muutos mittauskohtien PRE ja 60' välillä LOW- ja HIGH-tasojen kesken  $^{\&}p < 0.05$ . Merkittävä muutos mittauskohtien 40' ja 90' välillä tasojen LOW ja HIGH  $^{###}p < 0.001$  sekä MID ja HIGH kesken  $^+p < 0.05$ . Merkittävä muutos mittauskohtien 40' ja 60' välillä LOW- ja HIGH-tasojen kesken  $^{\S}p < 0.05$ .

## 10 POHDINTA

### 10.1 Päälöydökset

Tutkimuksen tarkoituksena oli osoittaa akillesjänteen käyttävän glukoosia energia-aineenvaihdunnassaan ja selvittää muutoksia jännekudoksen glukoosin käytössä fyysisen rasituksen aikana. Lisäksi tarkoituksena oli verrata jänteen glukoosin käyttöä suhteessa luurankolihasen glukoosin käyttöön fyysisen rasituksen aikana. PET:n avulla pystyttiin osoittamaan jänteen käyttävän glukoosia energiakseen, mutta jänteen glukoosin käytön määrä ei muuttunut fyysisen rasituksen vaikutuksesta. Jänteen glukoosin käyttö oli huomattavasti vähäisempää kuin varsinaista työtä tekevien luurankolihasen glukoosin käyttö rasituksen aikana.

### 10.2 Luustolihasen ja akillesjänteen glukoosin käyttö

Akillesjänteen glukoosin käyttö polkupyöräkuormituksessa oli keskimäärin  $6.6 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  kaikilla kolmella rasiustasolla. Tämä eroaa Langbergin ym. (1999c) tutkimustuloksista, joiden mukaan ei kyetty osoittamaan minkäänlaista glukoosin käyttöä ihmisen akillesjäntettä ympäröivällä peritenonilla 30 minuuttia kestäneen jalkapohjan koukistusliikkeitä sisältäneen rasituksen aikana. Tutkimustulokset ovat ristiriidassa keskenään, koska Langbergin (1998) mukaan akillesjäntettä ympäröivän peritenonin verenvirtaus on yhteydessä jänteen verenvirtaukseen ja siten myös ravinteiden ja hapen tarjontaan. Langbergin ym. (1999c) tutkimuksessa käytettiin mittausmenetelmänä mikrodialyysitekniikkaa. Mikrodialyysitekniikka on epätarkka havaitsemaan vähäisiä aineenvaihdunnallisia muutoksia (Maggs ym. 1997), mikä saattaa osaksi selittää ristiriidan glukoosin käytössä tämän ja Langbergin ym. (1999c) tutkimuksen välillä.

Akillesjänteen glukoosinkäytössä ei havaittu merkittävää muutosta eri rasiustasojen välillä. Akillesjänteen glukoosin käytön arvoissa on kuitenkin nähtävissä laskusuuntaus, joskaan se ei ole tilastollisesti merkittävä suuren yksilöllisen vaihtelun vuoksi (LOW vs. HIGH  $-11 \pm 29 \%$ ). On kuitenkin tutkimustuloksia, joiden mukaan eläinten akillesjänteen verenvirtaus (Bülow & Tondevold 1982 ja Takemiya & Maeda 1988) ja ihmisen akillesjäntettä ympäröivän peritenonin verenvirtaus ovat lisääntyneet rasituksen joh-

dosta (Langberg ym. 1998, 1999b ja 2001 sekä Boushel ym. 2000a ja 2000b). Akillesjännteen verenvirtauksen uskotaan olevan yhteydessä jännettä ympäröivän peritenonin verenvirtaukseen ja siten peritenonin verenvirtauksen uskotaan ilmentävän ravinteiden ja hapen tarjontaa jänteeseen (Langberg ym. 1998). Lisäksi Backmanin ym. (1991) eläinkokeissa paratenonin ja akillesjännteen verenvirtauksen on havaittu muuttuvan suhteessa toisiinsa niin levossa kuin rasituksessakin. Näiden tutkimustulosten perusteella on siis todennäköistä, että myös tässä tutkimuksessa jännteen verenvirtaus lisääntyi rasituksen johdosta.

Lihaksessa uskotaan olevan ravitsevaa ja ei-ravitsevää suonistoa. Jänteessä sitä vastoin uskotaan olevan vain ei-ravitsevää suonistoa. (Newman ym. 1997, Langberg ym. 1998 ja Clark ym. 2000). Koska rasituksen aikana verenvirtaus ja siten myös glukoosin kuljetus työskenteleeviin lihaksiin lisääntyy (Goodyear & Kahn 1998), olisi todennäköistä, että myös glukoosinkuljetus jänteisiin lisääntyy. Tätä ei kuitenkaan pystytty osoittamaan tässä tutkimuksessa. Onko siis mahdollista, että verenvirtaus lisääntyy jänteissä, mutta nimenomaan ei-ravitsevissä suonissa? Tämä selittäisi sen, miksi jännteen glukoosin käyttö ei lisääntynyt rasituksen intensiteetin kasvaessa.

Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö kasvoi ( $p < 0.01$ ) MID- ja HIGH-tasoilla LOW tasoon verrattuna. Reisilihasten glukoosin käyttö oli myös kaikilla kolmella eri rasiustasolla akillesjännteen ja lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttöä suurempi ( $p < 0.001$ ). Useissa tutkimuksissa on osoitettu rasituksessa aktiivisten lihasten dominoivan plasman glukoosin virtausta ja lihasten glukoosin käyttöä suhteessa vähemmän aktiivisiin lihaksiin (Fujimoto ym. 1996 ja 2000, Tashiro ym. 1999, Bergman ym. 1999 ja Pappas 2001). Bergmanin ym. (1999) mukaan elimistö pyrkii tehostamaan glukoosin käyttöä johtamalla plasman glukoosia inaktiivisista lihaksista aktiivisiin lihaksiin ja siten turvaamaan aktiivisten lihasten energian saannin rasituksen intensiteetin lisääntyessä. Polkupyörärasituksessa nelipäinen reisilihas tekee voimakasta lihastyötä (Gregor ym. 1987 ja Lepers ym. 2000), mikä oli havaittavissa myös tässä tutkimuksessa nelipäisen reisilihaksen glukoosin käytön perusteella eri rasiustasoilla

Akillesjännteen glukoosin käyttö oli merkittävästi ( $p < 0.001$ ) heikompaa nelipäiseen reisilihakseen verrattuna kaikilla rasiustasoilla ja lyhyeseen pohjeluulihakseen verrattuna LOW- ja MID-tasoilla. Akuutti kuormitus stimuloi luustolihasproteiinisynteesiä.

siä (Gyuton 1991, 20 - 21). Akuutin kuormituksen ei ole kuitenkaan havaittu vaikuttavan akillesjänteen proteiinisynteesin aktiivisuuteen eläimillä (Booth & Tipton 1972). Sitä vastoin jatkuvan fyysisen harjoittelun uskotaan lisäävän kollageenisynteesin määrää kasvuiässä olevilla eläimillä (Heikkinen & Vuori 1970, Kiiskinen ym. 1977, Suominen ym, 1980 ja Curwin ym. 1988). Ero jänteiden ja lihasten proteiinisynteesien aktiivisuuksissa akuutin rasituksen aikana saattaa osaksi selittää eroja akillesjänteen ja luustoli hasten glukoosin käytössä tässä tutkimuksessa.

### 10.3 Biokemialliset muutokset

Plasman glukoosikonsentraatiossa ei havaittu merkittäviä muutoksia eri mittauskertojen eikä eri rasitustasojen välillä. Romijnin ym. (1993) tutkimuksessa 30 minuutin polkupyörärasituksen jälkeen plasman glukoosipitoisuudessa oli havaittavissa selkeä riippuvuus suhteessa rasitustasoon. Tutkimuksessa plasman glukoosi konsentraatio kasvoi lähtötasoon nähden 65 % ja 85 %, mutta ei 25 % tasolla  $VO_{2max}$ :sta suoritetuissa polkupyörärasituksissa. Vastaavanlaisia tuloksia saatiin myös tutkimuksessa Romijn ym. (2000). Erojen puuttuminen plasman glukoosikonsentraatioissa PRE- ja POST-mittausten kohdalla tässä tutkimuksessa johtuu yksilöiden välisestä vaihtelusta.

Plasman laktaattikonsentraatio kasvoi yhdessä polkupyörärasituksen intensiteetin kanssa. Polkupyörärasituksen jälkeen (POST) mitatut laktaattiarvot olivat selvästi suurempia MID- ja HIGH-tasoilla lähtöarvoihin verrattuna. Laktaatti- ja sykearvojen kohdalla kyettiin osoittamaan myös selkeä ero kolmen eri rasitustason välillä eri mittauskohdissa ( $p < 0.01- 0.001$ ). Vastaavanlaisia muutoksia laktaattipitoisuudessa suhteessa rasitustasoon on havaittu myös Romijn ym. (1993) tutkimuksessa.

Seerumin vapaa insuliinikonsentraatio kasvoi merkittävästi polkupyörärasituksen jälkeen (40') MID- ( $p < 0.05$ ) ja HIGH-tasoilla ( $p < 0.01$ ) suhteessa lähtöarvoihin (PRE). Mittauskohdassa (60') insuliinipitoisuuksissa ei enää kyetty osoittamaan eroa PRE-tasoon nähden millään rasitustasolla. Tällä hetkellä ei tunneta tarkkaan mekanismeja, jotka aiheuttavat insuliinipitoisuuden kasvun akuutin rasituksen aikana, mutta sen uskotaan johtuvan useista tekijöistä, kuten lihasten glykokeenikonsentraatiosta, humoraalisisista tekijöistä sekä auto- ja parakriinisista mekanismeista (Goodyear & Kahn 1998).

Tutkimuksessa rasituksen jälkeen mitatut insuliinikonsentraatiot vastasivat normaaleja paastoarvoja (Peltoniemi ym. 2000, Nuutila ym. 2000 sekä Peltoniemi ym. 2001a ja b). Insuliinistimulaation ( $1 \text{ mU} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ) seurauksena seerumin vapaan insuliinipitoisuuden on havaittu nousevan noin  $53 \text{ mU} \cdot \text{l}^{-1}$  rasituksen aikana ja vasta näillä pitoisuuksilla on osoitettu insuliinin stimuloivan glukoosiaineenvaihduntaa (Peltoniemi ym. 2000, Nuutila ym. 2000 sekä Peltoniemi ym. 2001a ja 2001b.). Tässä tutkimuksessa MID- ja HIGH-tasoilla havaittu insuliinipitoisuuksien kasvu ei siten ollut riittävä stimuloimaan glukoosiaineenvaihduntaa.

## 10.4 Tutkimusmenetelmät

Tutkimus oli osa suurempaa tutkimusta, jossa verrattiin pääasiassa luustolihasen sydämen ja aivojen glukoosin käyttöä eri rasiustasoilla. Koskaan aikaisemmin ei positroniemiottomografiolla ole tutkittu jännettä, ja koska kyseisen tutkimusasetelman puitteissa oli mahdollista kuvata myös jännettä, lisättiin akillesjänteen kuvaukset tutkimussuunnitelmaan. Radioaktiivisen säteilyannoksen, huomattavien kustannusten ja koska aivojen ja sydämen glukoosin käytöstä on jo kohtuullisesti tietoa, tutkimusasetelma ei sisältänyt glukoosin käytön määrittämistä lepotasolla. Tutkimusasetelmaa heikentää myös se, että polkupyörärasituksessa pääasiainen työtä tekevä lihas on nelipäinen reisilihas, jonka perusteella olisi pitänyt tutkia kyseisen lihaksen jännettä eli patellajännettä eikä polkupyörärasituksessa vähemmän aktiivisen pohjelihaksen akillesjännettä. Jännekudoksen glukoosin käyttöä pohdittaessa olisiko esimerkiksi patellajännteen glukoosin käyttö ollut suurempaa kuin akillesjänteen? Tutkimuksessa pet-kuvausten järjestystä ei satunnaistettu vaan eri kohteet kuvattiin aina järjestyksessä reisilihas, sydän, aivot ja akillesjänne. Tämän ei kuitenkaan uskota vaikuttavan lopputuloksiin koska Patlakin & Blasbergin (1985) kehittämän graafisen analyysin avulla kyetään määrittämään FDG:n fraktionaalinen kudokseen otto tietyllä ajan hetkellä. Jänteen aineenvaihdunnasta, erityisesti glukoosin käytöstä on hyvin vähän tutkimustietoa, mikä vaikeuttaa ja heikentää tutkimustulosten analysointia. Koehenkilöjoukon fyysisen harjoittelun tausta oli heterogeeninen, mikä todennäköisesti vaikutti tuloksiin suurten yksilöllisten erojen kautta.

Nuutilan ja Kalliokosken (2000) mukaan yksi jänteiden tutkimusta PET:lla rajoittava tekijä saattaa olla PET-laitteiden kuvaustarkkuus. Tutkimuksessa kuvien lopullinen re-

soluutio oli 8 mm. Akillesjänteen paksuus on 5 – 10 mm (Koivunen-Niemelä 1995). Tutkimuksessa analysoitavat kuvat osat valittiin mahdollisimman läheltä akillesjänteen kiinnittymistä kantaluuhun, mutta kuitenkin alueelta, missä jänne on muodoltaan pyöreä ja missä aktiivisen lihaskudoksen määrä ei häiritse mielenkiintoalueinen määrittämistä. Tutkimuksessa koehenkilöiden akillesjänne visualisoitui hyvin FDG-kuviin ja mielenkiintoalueet (ROI) kyettiin piirtämään (Kuvat 3. ja 13.). FDG-PET:n luotettavuutta ja toistettavuutta ei tämän hetkisten tietojen mukaan ole tutkittu luurankolihasen osalta. FDG-PET on kuitenkin osoitettu luotettavaksi tutkimusmenetelmäksi aivojen aineenvaihdunnan (Chang ym. 1989, Sossi ym. 1998 ja Moore ym. 1999) sekä esimerkiksi sydänlihaksen verenvirtauksen osalta (Wyss ym. 2000). Verrattuna luurankolihasen sydänlihaksen tutkiminen on huomattavasti vaikeampaa sydämen luonnollisen liikkeen vuoksi.

Jänteen glukoosin käytön laskemisessa käytettiin lihaskudokselle määritettyä LC:tä (Kelley ym. 1999, Utriainen ym. 2000 ja Peltoniemi ym. 2000.). Jännekudokselle ei ole vielä mahdollista määrittää omaa LC:tä, koska ei ole muita mittausmenetelmiä, joilla jänteen glukoosin käyttö voitaisiin mitata ja joiden avulla kyettäisiin määrittämään jänteen oikea LC. Myös rasvakudoksen LC on 1,2, joten ei ole syytä uskoa että jänteen LC poikkeaisi suuresti tästä arvosta. On kuitenkin mahdollista, että lihaskudoksen LC:n käyttäminen vääristää jänteen todellista glukoosin käyttöä ja myös jänteen glukoosin käytön suhdetta lihaksen glukoosin käyttöön.

Yleensä akillesjänteen rasitusta koskevissa tutkimuksissa lihastyönä on ollut nilkan ojennusliike, jolloin pohjelihakset tekevät suurimman työn ja akillesjänteeseen kohdistuu voimakas rasitus (Langberg ym. 1998, 1999b, 1999c ja 2001 sekä Boushel ym. 2000a ja 2000b). Gregor ym. (1987) mittasivat akillesjänteen voimia polkupyöräergometrirasituksen aikana kuormituksilla 88 W ja 265 W poljinnopeuden ollessa 60 kierrosta minuutissa. Akillesjänteestä mitatut voimat edellä mainitussa järjestyksessä olivat 489 N ja 661 N. Tässä tutkimuksessa koehenkilöiden keskimääräinen kuormitus eri rasitustasoilla oli  $88 \pm 21$ ,  $165 \pm 31$  ja  $216 \pm 36$  W. Gregorin ym.(1987) tutkimuksen perusteella voidaan osoittaa akillesjänteeseen kohdistuneen kohtuullisia voimia myös tässä tutkimuksessa. Gregorin ym. (1987) ja Lepersin ym. (2000) tutkimuksissa on osoitettu myös nelipäisen reisilihaksen voimakas EMG-aktiivisuus polkupyörärasituksen aikana. Huolimatta siitä, että koehenkilöiden jalat kiinnitettiin remmeihin polkimiin, koehenkilöi-

den polkemistekniikoissa oli eroja, minkä vuoksi akillesjänteisiin ja reisilihaksiin kohdistuneet kuormitukset olivat todennäköisesti eri suuruisia eri koehenkilöillä.

Polkupyörärasituksen kuormitustasot asetettiin aerobisen ja anaerobisen kynnyksen alapuolelle sekä anaerobisen kynnyksen yläpuolelle (30, 55 ja 75 %  $VO_{2max}$ ). Koehenkilöiden kuormitusten mukaan lasketut rasitustasot olivat  $31 \pm 5$ ,  $58 \pm 6$  ja  $76 \pm 1$  %  $VO_{2max}$ :sta. Erot eri kuormitustasoilla olivat riittävät aikaansaamaan eroja eri rasitustasoilla mitattuihin syke ja laktaattiarvoihin ( $p < 0.001$ ). Tutkimuksessa HIGH-tason kuormitus ylitti koehenkilölle määritetyn anaerobisen kynnyksen kuormitustason. HIGH-tason kuormitus ei ollut kuitenkaan liian rasittava, ja koehenkilöt jaksoivat polkea 35 minuuttia. Esimerkiksi Romijn ym. (1993) tutkimuksessa harjoittelemattomat miehet eivät jaksaneet polkea polkupyöräergometrillä 85 %:n rasitustasolla maksimaalisesta hapenkulutuksesta täyttä 30 minuuttia.

## 10.5 YHTEENVETO

Tässä tutkimuksessa PET-menetelmän avulla osoitettiin akillesjänteen käyttävän glukoosia energiakseen fyysisen rasituksen aikana. Akillesjänteen glukoosin käyttö oli kuitenkin vähäistä rasituksen aikana. Akillesjänteen glukoosin käyttö ei muuttunut eri rasitustasoilla suoritettujen polkupyöräergometrikuormitusten aikana. Myös nelipäisen reisilihaksen ja lyhyen pohjeluulihaksen osoitettiin käyttävän glukoosia polkupyörärasituksen aikana. Nelipäisen reisilihaksen glukoosin kulutus kasvoi merkittävästi rasituksen intensiteetin lisääntyessä. Nelipäisen reisilihaksen glukoosin käyttö oli huomattavasti suurempaa kuin akillesjänteen tai lyhyen pohjeluulihaksen glukoosin käyttö kaikilla eri rasitustasoilla.

Tähän saakka tämä on ensimmäinen tutkimus, jossa on tutkittu akillesjänteen määrällistä glukoosin käyttöä. Tämä on myös ensimmäinen tutkimus, jossa jännettä on tutkittu PET-menetelmän avulla. Tähän saakka jänteen aineenvaihdunnasta on tiedetty hyvin vähän, koska suurin osa jänteitä koskevista tutkimuksista on tehty eläimillä tai ruumiista otetuilla jänteiden koepaloilla. Noninvasiivisuutensa vuoksi PET-menetelmä mahdollistaa jänteen verenvirtauksen ja aineenvaihdunnan tutkimisen niin levossa kuin rasituk-



sessakin ja jatkossa voisi olla hyödyllistä selvittää myös jänteen vapaiden rasvahappojen käyttö. Tulevaisuudessa PET-kameroiden kuvaresoluution parantuessa kyetään tutkimaan myös pienempiä jänteitä. Liikuntafysiologiselle tutkimukselle PET-menetelmä on erittäin hyödyllinen noninvasiivisuutensa vuoksi. PET:n avulla kyetään esimerkiksi tutkimaan huippu-urheilijoita ja tutkimuksia voidaan suorittaa läpi kilpailukauden, koska tutkimus ei vaikuta urheilijoiden kykyyn harjoitella tai kilpailla normaalisti. Tällä hetkellä liikuntafysiologinen tutkimus PET-menetelmää hyödyntäen ei kuitenkaan ole kannattavaa, menetelmän kalleuden vuoksi, mutta toivottavasti teknologian kehittyessä myös tämä asia korjaantuu. PET-menetelmä tuo uusia ulottuvuuksia jänteiden normaalin fysiologian ja patofysiologian tutkimiseen. PET:n avulla uskotaan löytyvän vastauksia esimerkiksi jänteiden rasitusvammojen syntymekanismeihin sekä niiden parantamiseen.

## LÄHTEET

- Ahmed, I. M., Lagopoulos, M., McConell, P. Soames, R. W. & Sefton, G. K. Blood supply of achilles tendon. *Journal of Orthopaedic Research* 16, 5, 591 – 596, 1998.
- Alenius, S. & Ruotsalainen, U. Bayesian image reconstruction for emission tomography based on median root prior. *European Journal of Nuclear Medicine* 24, 258 – 265, 1997.
- Ament, W., Lubbers, J., Rakhorst, G., Vaalburg, W., Verkerke, G. J., Paans, A. M. J. & Willemsen, A. T. M. Skeletal muscle perfusion measured by positron emission tomography during exercise. *Pflügers Archives – European Journal of Physiology and Occupational Physiology* 436, 653 – 658, 1998.
- Aukland, K., Bower, B. F. & Berliner, R. W. Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circulation Research* 14, 164 – 187, 1964.
- Backman C., Fridén, J & Widmark, A. Blood flow in chronic achilles tendinosis. Radioactive microsphere study in rabbits. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 62, 4, 386 – 387, 1991.
- Baron, A. D. & Clark M. G. Role of blood flow in the regulation of muscle glucose uptake. *Annual Reviews of Nutrition* 17, 487 – 499, 1997.
- Benjamin, M., Evans, E. J. Copp, L. The histology of tendon attachments to bone in man. *Journal of Anatomy* 149, 89 - 100, 1986.
- Bergman, B. C., Butterfield, G. E., Wolfel, E. E., Lopaschuk, G. D., Casazza, G. A., Horning, M. A. & Brooks, G. A. *American Journal of Physiology* 277, E81 – E92, 1999.
- Björkman, O. & Eriksson, L. S. Influence of 60-hour fast in insulin-mediated splanchnic and peripheral glucose metabolism in humans. *Journal of Clinical Investigation* 76, 87 – 92, 1985.
- Bogardus, C., Thuillez, P., Ravussin, E., Vasquez, B. Narimiga, M. & Azhar, S. Effect of muscle glycogen depletion on in vivo insulin action in man. *Journal of Clinical Investigation* 72, 1606 – 1610, 1983.
- Booth, F. W. & Tipton, C. M. Effect of a single exercise bout on <sup>14</sup>C-proline metabolism in Achilles tendon. *Medicine and Science in Sports* 4, 4, 230 – 232, 1972.

- Boushel, R., Langberg, H., Green, S., Skovgaard, D. Bülow, J. & Kjær, M. Blood flow and oxygenation in peritendinous tissue and calf muscle during dynamic exercise in humans. *The Journal of Physiology* 524, 1, 305 – 313, 2000a.
- Boushel, R., Langberg, H., Olesen, J., Nowak, M., Simonsen, L., Bülow, J. & Kjær, M. Regional blood flow during exercise in humans measured by near-infrared spectroscopy and indocyanine green. *Journal of Applied Physiology* 89, 5, 1868 – 1878, 2000b.
- Brooks, G. A. & Mercier, J. Balance of carbohydrate and lipid utilization during exercise: the “crossover” concept. *Journal of Applied Physiology* 76, 6, 2253 – 2261, 1994.
- Brooks, G. A. Importance of the ‘crossover’ concept in exercise metabolism. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology* 24, 11, 889 - 895, 1997.
- Butler, D. L., Grood, E. S., Noyes, F. R. & Zernicke, R. F. Biomechanics of ligaments and tendons. *Exercise and Sport Science Reviews*
- Bülow, J. & Tøndevold, E. Blood flow in different adipose tissue depots during prolonged exercise in dogs. *European Journal of Physiology* 392, 235 – 238, 1982.
- Carr, A. J. & Norris, S. H. The blood supply of the calcaneal tendon. *The Journal of Bone and Joint Surgery (Br)* 71 – B, 100 – 101, 1989.
- Cartee, G. D. Influence of age on skeletal muscle glucose transport and glycogen metabolism. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 26, 5, 577 – 585, 1994.
- Chang, J. Y., Duara, R., Barker, W., Apicella, A., Yoshii, F., Kelley, R. E., Ginsberg, M. D. & Boothe, T. E. Two behavioral states studied in a single PET/FDG procedure: error analysis. *Journal of Nuclear Medicine* 30, 1, 93 – 105, 1989.
- Clark, M. G., Rattigan, S., Dora, K. A., Newman, J. M. & Eldershaw, T. P. Vascular control of nutrient delivery by flow redistribution within muscle: implications for exercise and post-exercise muscle metabolism. *International Journal of Sports Medicine* 19, 391 – 400, 1998.
- Clark, M. G., Clerk, L. H., Newman, J. M. B. & Rattigan, S. Interaction between metabolism and flow in tendon and muscle. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 10, 338 – 345, 2000.

- Cooper, D. M., Barstow, T. J., Bergner A., & Lee, W. N. Blood glucose turnover during high- and low-intensity exercise. *American Journal of Physiology* 275, E405 – E412, 1989.
- Coyle, E. F., Jeukendrup, A. E., Wagenmakers, A. J. & Saris, W. H. Fatty acid oxidation in directly regulated by carbohydrate metabolism during exercise. *American Journal of Physiology* 273, 2, (Pt1), E268 – E275, 1977.
- Cummins, E. J., Anson, B. J. Carr, B. W., Wright, R. R. The structure of calcaneal tendon (of Achilles) in relation to orthopaedic surgery. *Surgery of Gynecol Obstet* 83, 107 - 116, 1946.
- Curwin, S. L., Vailas, A. C. & Wood, J. Immature tendon adaptation to strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology* 65, 6, 2297 – 2301, 1988.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Sato, Y., Felig, P. & Wahren, J. Synergistic interaction between exercise and insulin on peripheral glucose uptake. *Journal of Clinical Investigation* 68, 1468 – 1474, 1981a.
- DeFronzo, R. A., Jacot, E., Jaquier, E., Maeder, E., Wahren, J. & Feber, J. P. The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* 30, 1000 – 1007, 1981b.
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Hendler, R., Felig, P. & Wahren, J. Regulation of splanchnic glucose uptake by insulin and hyperglycemia in man. *Diabetes*, 32, 35 – 45, 1983.
- Del Prato, S., Bonadonna, R. C. & Bonora, E. Characterization of cellular defects of insulin action in type 2 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Journal of Clinical Investigation* 91, 484 – 494, 1993.
- Elliot, D. H. Structure and function of mammalian tendon. *Biological Review* 40, 392 – 421, 1965.
- Ferrannini, E., Björkman, O. & Reichard, G. A. The disposal of an oral glucose load in healthy subjects. A quantitative study. *Diabetes* 34, 580 – 588, 1985.
- Fossgreen, J. Die blutzirkulation in der achillesehne der menschen gemenssen mit xenon-133. *Acta Rheumatologica Scandinavica* 15, 67 – 71, 1969.
- Fujimoto, T., Itoh, M., Tashiro, M., Yamaguchi, K., Kubota, K. & Ohmori, H. Glucose uptake by individual skeletal muscles during running using whole-body positron emission tomography. *European Journal of Applied Physiology* 83, 297 – 302, 2000.

- Fujimoto, T., Itoh, M., Kumano, H., Tashiro, M. & Ido, T. Whole-body metabolic map with positron emission tomography of man after running. *Lancet* 27, 348 (9022): 266, 1996.
- Goodyear, L. & Kahn, B. Exercise, glucose transport and insulin sensitivity. *Annual Review of Medicine* 49, 235 – 261, 1998.
- Gregor, R. J., Komi, P. V. & Järvinen, M. Achilles tendon forces during cycling. *International Journal of Sports Medicine* 8, 9- 14, 1987.
- Gross, P. M., Melvin, M. L. & Heistad, D. D. Measurement of blood flow to bone and marrow in experimental animals by means of the microsphere technique. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 63-A, 6, 1028 – 1031, 1981.
- Guyton, A. C. *Textbook of Medical Physiology*. W. B. Saunders Company. Eight edition, 20 – 21, 1991.
- Hagenfeldt, L. Turnover of individual free fatty acids in man. *Federation Proceedings* 34, 13, 2246 – 2249, 1975.
- Hamacher, K., Coenen, H. H. & Stocklin, G. Efficient stereospecific synthesis of no carrier-added 2-[<sup>18</sup>F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose using aminopolyether supported nucleophilic substitution. *Journal of Nuclear Medicine* 27, 235 – 238, 1986.
- Hayashi, T., Wojtaszewski, P. & Goodyear, L. J. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *American Journal of Physiology* 273, 6 E1039 – E1051, 1997.
- Heikkinen, E. & Vuori, I. Effects of physical activity on the connective tissue metabolism in the mice. *The Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 25, Suppl. 113 – 170, 36. Fourth Annual meeting of Finnish Medical Societies Turku 1970.
- Hess, G. P., Cappiello, W. L., Poole, R. M. & Hunter, S. C. prevention and treatment of overuse tendon injuries. *Sport Medicine* 8, 371 – 384, 1989.
- Hollszty, O. J., Kohrt, W. M. & Hansen, P. A. The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Frontiers in Bioscience* 3, d1011 - 1027, 1998.
- Hooper, G., Davies, R. & Tothill, P. Blood flow and clearance in tendons. Studies with dogs. *The Journal of Bone and Joint Surgery* 66 - B, 3, 441 – 443, 1984.

- Håstad, K., Larsson, L.-G. & Lindholm, Å. Clearance of radiosodium after local deposit in the achilles tendon. *Acta Chirculatory Scandinavica* 116, 251 – 255, 1958/1959.
- Jones, T. Positron emission tomography. *Clin. Phys. Physiol. Meas.* 11, Suppl. A 27 – 36, 1990.
- Józsa, L., Bálint, J. B., Réffy, A. & Demel, Z. Histochemical and ultrastructural study of adult human tendon. *Acta Histochemica* 65, 250 – 257, 1979.
- Józsa, L., Reffy, A. & Balint, J. B. Polarization and electron microscopic studies on the collagen of intact and ruptured human tendons. *Acta Histochemica* 74, 209 – 215, 1984.
- Józsa, L., Kannus, P., Balint, J. B. & Reffy, A. Three-dimensional ultrastructure of human tendons. *Acta Anatomica* 142, 306 - 312, 1991.
- Józsa, L. & Kannus, P. Human tendons: anatomy, physiology, and pathology. *Human Kinetics* 1997.
- Józsa, L., Vador, E., Demel, Z., Bálint, B. & Réffy, A. The distribution of lactate dehydrogenase inoenzymes in adult human achilles tendons. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 23, 3, 181 – 184, 1985.
- Kalliokoski, K. K., Kemppainen, J., Larmola, K., Takala, T. O., Peltoniemi, P., Oksanen, A., Ruotsalainen, U., Cobelli, C., Knuuti, J. & Nuutila, P. Muscle blood flow and flow heterogeneity during exercise studied with positron emission tomography in humans. *European Journal of Applied Physiology* 83, 395 – 401, 2000.
- Kanaley, J. A., Mottram, C. D., Scanlon, P. D. & Jensen, M. D. Fatty acid kinetic responses to running above or below lactate threshold. *Journal of Applied Physiology* 79, 2, 439 – 47, 1995.
- Kannus, P. Structure of the tendon connective tissue. *Scandinavian Journal of Medicine Science in Sports* 10, 312 - 320, 2000.
- Kannus, P. & Józsa, L. Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients. *Journal of Bone and Joint Surgery (Am)* 73, 1507 – 1525, 1991.
- Kannus, P., Józsa, Natri, A. & Järvinen, M. Effects of training, immobilization and remobilization on tendons. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 7, 67 – 71, 1997.

- Katz, A., Nyomba, B. L. & Bogardus, C. No accumulation of glucose in human skeletal muscle during euglycemic hyperinsulinemia. *American Journal of Physiology* 255, E942 – E945, 1988.
- Katz, L. D., Glickman, M. G., Rapoport, S., Ferrannini, E. & DeFronzo, R. A. Splanchnic and peripheral disposal of oral glucose in man. *Diabetes* 32, 675 – 679, 1983.
- Katzen, H. M., Soderman, D. D. & Wiley, C. E. Multiple forms of hexokinase. Activities associated with subcellular particulate and soluble fractions of normal and streptozotocin diabetic tissues. *J Biol Chem* 245, 4081 – 4096, 1970.
- Kelley, D. E., Williams, K. V., Price, J. C. & Goodpaster, B. Determination of the lumped constant for [18F] fluorodeoxyglucose in human skeletal muscle. *Journal of Nuclear medicine* 40, 1798 – 1804, 1999.
- Kety, S. S. & Schmidt, C. F. The determination of cerebral blood flow in man by the use of nitrous oxide in low concentrations. *American Journal of Physiology* 143, 53, 1945.
- Kety, S. S. Theory of blood-tissue exchange its application to measurement of blood flow. In *Methods in Medical Research VIII*, ed. by Brun, H. D. Chicago, Year Book Publishers 222 - 227, 1960.
- Kiiskinen, A. Adaptation of connective tissues to physical training in young mice. *Studies in sport, physical education and health* 9. University of Jyväskylä 1976.
- Kiiskinen, A. Physical Training and connective tissues in young mice – properties of achilles tendons and long bones. *Growth* 41, 123 – 137, 1977.
- Kirkendall, D. T. & Garrett, W. T. Function and biomechanics of tendons. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 7, 62 – 66, 1997.
- Klein, S., Coyley, E. F. & Wolfe, R. R. Fat metabolism during low-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *American Journal of Physiology* 267, 6 (Pt1), E934 – E940, 1994.
- Klip, A. T. & Paquet, M. R. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care* 13, 228 – 242, 1990.
- Knuuti, J. & Nuutila, P. PET as a cardiovascular and metabolic research tool. *Annual Medicinen* 31, 450 – 456, 1999.
- Koivunen-Niemelä, T. Imaging of the achilles tendon . Diagnostic evaluation of sonography and magnetic resonance imaging. *Turun yliopiston julkaisuja. Sarja D, osa 190*. 1995.

- Kubo, K. & Foley, J. E. Rate-limiting steps for insulin-mediated glucose uptake into perfused rat hindlimb. *American Journal of Physiology* 264 (Endocrinol. Metab. 27): E167-E172, 1993.
- Kvist, M. Achilles tendon overuse injuries. Turun yliopiston julkaisuja. Sarja D, osa 87. 1991.
- Kvist, M., Józsa, L., Järvinen, M. & Kvist, H. Chronic achilles paratenonitis in athletes: a histological and histochemical study. *Pathology* 19, 1- 11, 1987.
- Kvist, M., Józsa, L. Kannus, P., Isola, J., Vieno, T., Järvinen, M. & Lehto, M. Morphology and histochemistry of the myotendinous junction of the rat calf muscles. Histochemical, immunohistochemical and electromicroscopic study. *Acta Anatomica* 141, 199 - 205, 1991.
- Lagergren, C. & Lindholm, Å. Vascular distribution in the achilles tendon. An angiographic and microangiographic study. *Acta chirurgica skandinavica* 116, 491 – 495, 1958/1959.
- Laine, H. Yki-Järvinen, H., Kirvelä, O., Tolvanen, T., Raitakari, M., Solin, O., Haaparanta, M., Knuuti, J., & Nuutila, P. Insulin resistance of glucose uptake in skeletal muscle cannot be ameliorated by enhancing endothelium-dependent blood flow in obesity. *Journal of Clinical Investigation* 10, 5, 1156 – 1162, 1998.
- Langberg, H. , Bülow, J. & Kjær, M. Blood flow in the peritendinous space of the human Achilles tendon during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica* 163, 149 – 153, 1998.
- Langberg, H., Skovgaard, D. Petersen. L. J., Bülow, J. & Kjær, M. Type I collagen synthesis and degradation in peritendinous tissue after exercise determined by microdialysis in humans. *Journal of Physiology* 521, 1, 299 – 306, 1999a.
- Langberg, H. Skovgaard, D., Karamouzis, M., Bülow, J. & Kjær, M. Metabolism and inflammatory mediators in the peritendinous space measured by microdialysis during intermittent isometric exercise in humans. *Journal of Physiology* 515, 3, 919 – 927, 1999b.
- Langberg, H., Bülow, J. & Kjær, M. Standardized intermittent static exercise increases peritendinous blood flow in human leg. *Clinical Physiology* 19, 1, 89 – 93, 1999c.



- Langberg, H., Rosendal, L. & Kjær, M. Local collagen–turnover in human connective tissue after prolonged training. In 5<sup>th</sup> Annual Congress of the European College of Sport Science Jyväskylä 2000, Finland.
- Langberg, H., Olesen, J., Skovgaard, D. & Kjær, M. Age related blood flow around the achilles tendon during exercise in humans. *European Journal of Applied Physiology* 84, 246 – 248, 2001.
- Lepers, R., Hausswirth, C., Maffiuletti, N., Brisswalter, J. & van Hoecke, J. Evidence of neuromuscular fatigue after prolonged cycling exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 32, 11, 1880 – 1886, 2000.
- Liite ry. Kestävyysominaisuuksien testaaminen. Teoksessa Kuntotestauksen perusteet, Liikuntalääketieteen ja testaustoiminnan edistämisyhdistys, 1998.
- Maggs, D. G., Borg, W. P. & Sherwin, R. S. Microdialysis techniques in the study of brain and skeletal muscle. *Diabetologia*, 40, S75 - S82, 1997.
- Mandarino, L. J., Wright, K. S. & Verity, L. S. Effects of insulin on human skeletal muscle pyruvate dehydrogenase, phosphofructokinase, and glycogen synthase. Evidence for their role in oxidative and nonoxidative glucose metabolism. *Journal of Clinical Investigation* 80, 655 – 663, 1987.
- Marbach, E. P. & Weil, M. H. Rapid enzymatic measurement of blood lactate and pyruvate. Use and significance of metaphosphoric acid as a common precipitant. *Clinical Chemistry* 13, 314 – 325, 1967.
- Mcloughlin, P., Popham, P., Linton, R. A. F., Bruce, R. C. H. & Band, D. M. Use of arterialized venous blood sampling during incremental exercise tests. *Journal of Applied Physiology* 73, 937 – 940, 1992.
- Michna, H. & Hartman, G. Adaptation of tendon to exercise. *International Orthopaedics (SICOT)* 13, 161 - 165, 1989.
- Misra, M., S. A modified method for the use of Warburg apparatus. *Indian Journal of Experimental Biology* 10, 150 – 151, 1971.
- Moore, M. J. & De Beaux, A. A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. *Journal of Anatomy* 153, 163 – 169, 1987
- Movin, T. Aspects of aetiology, phat anatomy and diagnostic methods in chronic mid-portion achillodynia. Karolinska institutet. Stockholm. 1998.
- Newman, J. M. B., Steen, J. T. & Clark, M. G. Vessels supplying septa and tendons as functional shunts in perfused rat hindlimb. *Microvascular Research* 54, 49 – 57, 1997.

- Nuutila, P., Koivisto, V. A. & Knuuti, J. Glucose-free fatty acid cycle operates in human heart and skeletal muscle in vivo. *Journal of Clinical Investigation* 89, 1767 – 1774, 1992.
- Nuutila, P., Knuuti, J., Ruotsalainen, U., Koivisto, V. A., Eronen, R., Teräs, M., Bergman, J., Haaparanta, M., Voipio-Pulkki, L. M. & Viikari, J. Insulin resistance is localized to skeletal but not heart muscle in type I diabetes. *American Journal of Physiology* 264, 5 (Pt1), E756 – E762, 1993.
- Nuutila, P., Knuuti, M. J., Mäki, M., Laine, H., Ruotsalainen, U., Teräs, M., Haaparanta, M., Solin., & Yki-Järvinen, H. Gender and insulin sensitivity in the heart and in skeletal muscles. Studies using positron emission tomography. *Diabetes* 44, 1, 31 – 36, 1995.
- Nuutila, P., Raitakari, M., Laine, H., Kirvelä, O., Takala, T., Utriainen, T., Mäkimattila, S., Pitkänen, O-P., Ruotsalainen, U., Ida, H., Knuuti, J. & Yki-Järvinen, H. Role of blood flow in regulating insulin-stimulated glucose uptake in humans. *Journal of Clinical Investigations* 97, 7, 1741 – 1747, 1996.
- Nuutila, P., Peltoniemi, P., Oikonen, V., Larmola, K., Kempainen, J., Takala, T. O., Sipilä, H., Oksanen, A., Ruotsalainen, U., Bolli, G. B. & Yki-Järvinen, H. Enhanced stimulation of glucose uptake by insulin increases exercise-stimulated glucose uptake in skeletal muscle in humans: Studies using (<sup>15</sup>O)-oxygen, (<sup>15</sup>O)-water, (<sup>18</sup>F)-fluoro-deoxy-glucose and positron emission tomography. *Diabetes*, 49, 7, 1084 – 1091, 2000.
- Nuutila, P. & Kalliokoski, K. Use of positron emission tomography in the assessment of skeletal muscle and tendon metabolism and perfusion. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 10, 346 – 350, 2000.
- Moore, A. H., Cherry, S. R., Pollack, D. B., Hovda, D. A. & Phelps, M. E. Application of positron emission tomography to determine cerebral glucose utilization in conscious infant monkeys. *J Neurosci Methods* 1, 88, 2, 123- 133, 1999.
- O'Brien, M. Structure and metabolism of tendons. *Scandinavian Journal of Medicine Science in Sports* 7, 55 - 61, 1997.
- Pappas, G. P., Olcott, E. W. & Drace, J. E. Imaging of skeletal muscle function using <sup>18</sup>FDG PET: force production, activation and metabolism. *Journal of Applied Physiology* 90, 1, 329 – 337, 2001.

- Patlak, C. S. Blasberg, R. G. Graphical evaluation of blood-to-brain transfer constants from multiple- time uptake data. Generalizations. *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism* 5, 584 – 590, 1985.
- Peacock, E. E. A study of the circulation in normal tendons and healing grafts. *Annals of Surgery* 149, 3, 415 – 428, 1959.
- Peltoniemi, P., Lönnroth, P., Laine, H., Oikonen, V., Tolvanen, T., Grönroos, T., Strindberg, L., Knuuti, J. & Nuutila, P. Determination of lumped constant for (<sup>18</sup>F)-fluoro-deoxy-glucose in skeletal muscle of obese and nonobese humans. *American Journal of Physiology* 279, E1122 - E1130, 2000.
- Peltoniemi, P., Yki-Järvinen, H., oikonen, V., Oksanen, A., Takala, T. O., Rönnemaa, T., Erkinjuntti, M. M., Knuuti, M. J. & Nuutila, P. Resistance to exercise induced increase in glucose uptake during hyperinsulinemia in insulin resistant skeletal muscle of patients with type I diabetes. *Diabetes*, 50, 6, 2001a.
- Peltoniemi, P. Yki-Järvinen, H., Laine, H., Oikonen, V., Rönnemaa, T., Kalliokoski, K., Raitakari, O., Knuuti, M. J., & Nuutila, P. Evidence for spatial heterogeneity in insulin- and exercise induced increases in glucose uptake. Studies in normal subjects and patients with type I diabetes. Submitted. In; Peltoniemi, P. Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle during exercise. Studies in different degrees of glucose tolerance. Turun yliopiston julkaisu. Sarja D, osa 445. 2001b.
- Peltoniemi, P. Insulin-stimulated glucose uptake in skeletal muscle during exercise. Studies in different degrees of Glucose tolerance. Turun yliopiston julkaisu. Sarja D, osa 445. 2001c.
- Phelps, M. E., Hoffman, E. J., Selin, C., Huang, S. C., Robinson, G., MacDonald, N., Schelbert, H. & Kuhl, D. E. Investigation of (<sup>18</sup>F)2-deoksyglucose for the measure of myocardial glucose metabolism. *Journal of Nuclear Medicine* 19, 1311 – 1319, 1978.
- Piaggi, A. & Mingione, A. A study of tendon blood flow using <sup>133</sup>Xenon. *The Hand* 13, 1, 48 – 50, 1981.
- Reivich, M., Alavi, A., Wolf, A., Fowler, J., Russell, J., Arnett, C., MacGregor, R. R. Shiue, C. Y., Atkins, H., Anand, A., Dann, R. & Greenberg, J. H. Glucose metabolic rate kinetic model parameter determination in humans: the lumped constant and rate constants for (<sup>18</sup>F)fluorideoxyglucose and

- (<sup>13</sup>C)deoxyglucose. *Journal of Cerebral Blood Flow Metabolism* 5, 584 – 590, 1985.
- Richter, E. A., Jensen, P., Kiens, B., Saltin, B., Christensen, N. J. & Savard. Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. *American Journal of Physiology* 25. E555 – E561, 1988.
- Roberts, T. J., Weber, J. M., Hoppeler, H., Weibel, E.R. & Taylor, C. R. Design of the oxygen and substrate pathways. II. Defining the upper limits of carbohydrate and fat utilization. *Journal of Experimental Biology* 199 (Pt8), 1651 – 1658, 1996.
- Romijn, J. A., Coyle, E. F, Siddossis, L. S., Gastaldelli, A., Horowitz, J. L., Endert, E. & Wolfe, R. R. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *American Journal of Physiology* 265, 3 (Pt1), E380 – E391, 1993.
- Romijn, J. A., Coyle, E. F, Siddossis, L. S., Rosenblatt, J. & Wolfe, R. R. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *Journal of Applied Physiology* 88, 1707 – 1714, 2000.
- Rådegran, G. Limb and skeletal muscle blood flow measurements at rest and during exercise in human subjects. *Proceedings of the Nutrition Society* 58, 887 – 898, 1999.
- Sahlin, K. Muscle glucose metabolism during exercise. *Annals of Medicine* 22, 3, 85 – 89, 1990.
- Schatzker, J. & Brånemark, P-I. Intravital observation on the microvascular anatomy and microcirculation of the tendon. *Acta Orthopaedica Scandinavica Supplementum no. 126*, 1969.
- Schmidt-Rohlfing, B., Graf, J., Schneider, U. & Niethard, F. The blood supply of the achilles tendon. *International Orthopaedics (SICOT)*, 16, 29 – 31, 1992.
- Smith, J. W. Blood supply of tendons. *American Journal of Surgery* 109, 272 – 276, 1965.
- Sokoloff, L., Reivich, M., Kennedy, C., Rosiers, M. H., Patlak, C. S., Pettigrew, K. D., Sakurada, O. & Shinohara, M. The (<sup>14</sup>C)deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure, and normal values in the conscious and anaesthetized albino rat. *Journal of Neurochemistry* 28, 897 – 916, 1977.

- Sossi, V., Oakes, T. R., Chan, G. L., Schulzer, M. & Ruth, T. J. Quantitative comparison of three- and two-dimensional PET with human brain studies. *Journal of Nuclear Medicine* 39, 10, 1714 – 1719, 1998.
- Suominen, H., Kiiskinen, A. & Heikkinen, E. Effects of physical training on metabolism of connective tissues in young mice. *Acta Physiologica Scandinavica* 108, 17 – 22, 1980.
- Takemiya, T. & Maeda, J. The functional characteristics of tendon blood circulation in the rabbit hindlimbs. *Japanese Journal of Physiology* 38, 3, 361 – 374, 1988.
- Tashiro, M., Fujimoto, T., Itoh, M., Kubota, K., Fujiwara, T., Miyake, M., Watanuki, S., Horikawa, E., Sasaki, H. & Ido, T. 18F-FDG PET imaging of muscle activity in runners. *Journal of Nuclear Medicine* 40, 1, 70 – 76, 1999.
- Thiebaud, D., Jacot, E., DeFronzo, R. A., Maeder, E., Jequier, E. & Felber, J. P. The effect of graded doses of insulin on total glucose uptake, glucose oxidation, and glucose storage in man. *Diabetes* 31, 957 – 963, 1982.
- Tipton, C. M., Matthes, R. D., Maynard, J. A. & Carey, R. A. The influence of physical activity on ligaments and tendons. *Medicine and Science in Sports* 7, 3, 165 – 175, 1975.
- Tipton, C. M. Current issues in exercise metabolism: the crossover concept. *Clinical & Experimental Pharmacology & Physiology* 24, 11, 887 – 888, 1997.
- Utriainen, T., Nuutila, P., Takala, T., Vicini, P., Ruotsalainen, U., Rönnemaa, T., Tolvanen, T., Raitakari, M., Haaparanta, M., Kirvelä, O., Cobelli, C. & Yki-Järvinen, H. *Journal of Clinical Investigations* 100, 4, 777 – 785, 1997.
- Utriainen, T., Takala, T., Luolahti, M., Rönnemaa, T., Laine, H., Ruotsalainen, U., Haaparanta, M., Nuutila, P. & Yki-Järvinen, H. Insulin resistance characterizes glucose uptake in skeletal muscle but not in the heart in NIDDM. *Diabetologia* 41, 5, 555 – 559, 1998.
- Utriainen, T., Lovisatti, S. & Mäkimattila, S. Direct measurement of the lumped constant for 2-deoxy-[1]-[<sup>14</sup>C]-glucose in vivo in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology* 279, E228 – E233, 2000.
- Vailas, A., C., Tipton, C. M., Laughlin, H. L., Tchong, T. K. & Matthes, R. D. Physical activity and hyposectomy on the aerobic capacity of ligaments and tendons. *Journal of Applied Physiology* 44, 542 – 546, 1978.

- van Loon, L. J., Jeukendrup, A. E., Saris, W. H. & Wagenmakers, A. J. Effect of training status on fuel selection during submaximal exercise with glucose ingestion. *Journal of Applied Physiology* 87, 4, 1413 – 1420, 1999.
- Virtual Hospital, Atlas of Human Anatomy in Cross Section: Section 7. Lower Limb. (<http://www.vh.org/Providers/Textbooks/HumanAnatomy/7Section/Key10.html>)
- Vandor, E., Józsa, L. & Balint, B. The lactate dehydrogenase activity and isoenzyme pattern of normal and hypokinetic human tendons. *European Journal of Applied Physiology* 49, 63 – 68, 1982.
- Wahren, J., Felig, P., Ahlborg, G. & Jorfeldt, L. Glucose metabolism during leg exercise in man. *Journal of Clinical Investigation* 50, 12, 2715 – 2725, 1071.
- Wagner, H. N., Rhodes, B. A., Sasaki, Y. & Ryan, J. P. Studies of the circulation with radioactive microspheres. Review article. *Investigative Radiology* 6, 4, 374 – 386, 1969.
- Wilmore, J. H. & Costill, D. L. *Physiology of sport and exercise*. Second Edition. Champaign (IL) Human Kinetics cop. 1999.
- Wojtaszewski, J. F. P. & Richter, E. A. Glucose utilization during exercise: influence of endurance training. *Acta Physiologica Scandinavica* 162, 351 – 358, 1998.
- Yki-Järvinen, H., Helve, E. & Koivisto, V. A. Hyperglycemia decreases glucose uptake in type I diabetes. *Diabetes* 36, 892 – 896, 1987.
- Wyss, C. A., Mikolajczyk, K., Berthold, T., Burger, C. & Kaufmann, P. A. Reproducibility and comparison of coronary flow reserve assessed with PET using bicycle exercise versus adenosine stress. *European Heart Journal* 21 (Abstr. Suppl.), 568, 2000.
- Ziel, F. H., Venkatesan, N. & Davidson, M. B. Glucose transport in rate limiting for skeletal muscle glucose metabolism in normal and STZ-induced diabetic rats. *Diabetes* 37, 885 – 890, 1988.
- Åström, M. & Svensson, H. Tendon blood flow assessed by laser Doppler flowmetry. *Scand J Reconstr Hand Surg* 25, 213 – 215, 1991.
- Åström, M. & Westlin, N. Blood flow in human achilles tendon assessed by laser doppler flowmetry. *Journal of Orthopaedic Research* 12, 246 – 252, 1994.
- Åström, M. Laser Doppler flowmetry in the assessment of tendon blood flow. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 10, 365 – 367, 2000.