

**LIHASSOLUTYYPIN VAIKUTUS KEHON
RASVAKUDOKSEN MÄÄRÄÄN NUORILLA JA VANHOILLA
MIEHILLÄ**

Heidi Syväoja

Liikuntafysiologia

LFY.A005

Kandidaatintutkielma

Kevät 2008

Liikuntabiologian laitos

Jyväskylän yliopisto

Työn ohjaajat: Antti Mero

ja Juha Hulmi

TIIVISTELMÄ

Syväoja, Heidi 2008. Lihassolutyyppin vaikutus kehon rasvakudoksen määrään nuorilla ja vanhoilla miehillä. Liikuntafysiologian kandidaatintutkielma. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, 35.

Lihavuus on maailmanlaajuinen yleistynyt ongelma. Ihmisen katsotaan olevan ylipainoinen, jos hänen painoindeksinsä ylittää 25, ja lihava, jos hänen painoindeksinsä on 30 tai enemmän. (McArdle ym. 2007. s.837.) Yleisen käsityksen mukaan 18. ikävuoden jälkeen sekä naisten, että miesten rasvamäärä lisääntyy progressiivisesti; Karkeasti vuosikymmenessä rasvan määrä lisääntyy 3 %, jolloin vyötärön ympärys lisääntyy samankaltaisesti. (Schuit 2006, McArdle ym. 2007. s. 900 - 902.) Ihmisen luurankolihas koostuu pääasiassa kahdesta lihassolutyypistä; hitaan supistumisominaisuuden ja suuren aerobisen kapasiteetin omaavista tyypin I soluista ja nopeista anaerobisen kapasiteetin omaavista tyypin II soluista (Bassett 1994). Ikääntyminen vaikuttaa myös lihassolujakaumaan: tyypin II lihassolujen määrä vähenee, jolloin tyypin I solujen suhteellinen osuus kasvaa (Andersen 2003, McArdle 2007, 894). Tutkijat ovat löytäneet yhteyden lihassolujakauman ja rasvan määrän välille; tyypin I lihassolujen määrä on käänteisessä yhteydessä lihavuuteen (Karjalainen ym. 2006, Tanner ym. 2002, Hickey ym. 1995, Wade ym. 1990). Tämän työn tarkoitus on tutkia, eroavatko nuoret ja vanhat miehet lihassolujakaumaltaan ja rasvamäärältään toisistaan ja miten nämä tekijät ovat yhteydessä toisiinsa ja ikääntymiseen.

Koehenkilöinä oli sekä terveitä 42 - 73-vuotiaita vanhoja miehiä (n = 54) että 19 - 34-vuotiaita nuoria miehiä (n = 33). Koehenkilöiden liikunta-aktiivisuus vaihteli todella aktiivisesta liikkumattomiin henkilöihin. Tutkimuksessa mitattiin lepotilassa miesten kehonkoostumus ja lihassolujakauma. Kehonkoostumusta ja varsinkin rasvan määrää arvioitiin BMI:llä ja rasvaprosentilla ihopoimiumittauksin. Lihassolutyyppi selvitettiin lihassolunäytteistä ATPaasi värjäyksen sekä myosiinien isoformien määrittämisen (SDS-PAGE) perusteella.

Tilastollisesti merkitseviä eroja havaittiin vanhojen ja nuorten miesten välillä BMI:ssä ($26,00 \pm 2,69$ s.d vs $23,34 \pm 2,53$, $p < 0,001$), rasvaprosentissa ($24,93 \pm 3,95$ % vs $17,85 \pm 3,67$ %, $p < 0,001$) ja rasvan määrässä (kg) ($20,69 \pm 5,22$ kg vs $14,04 \pm 4,00$ kg, $p < 0,001$). Tyypin I lukumäärän suhteellinen osuus oli nuorilla miehillä suurempi kuin vanhoilla miehillä ($53,52 \pm 14,44$ % vs $43,58 \pm 13,18$ %) ($p < 0,01$). Vanhojen miesten tyypin I solujen pinta-ala oli merkitsevästi suurempi kuin nuorilla miehillä ($5546,46 \pm 1268,48$ μm^2 vs $5005,36 \pm 1546,32$ μm^2) ($p < 0,01$). Tyypin I solujen suhteellinen lukumäärä oli tilastollisesti merkitsevästi käänteisessä yhteydessä kehon painoindeksiin ($r = -0,262$, $p < 0,05$), rasvaprosenttiin ($r = -0,294$, $p < 0,01$) ja rasvan määrän (kg) ($r = -0,285$, $p < 0,01$). Myös tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus korreloi negatiivisesti ja tilastollisesti merkitsevästi kehon painoindeksiin ($r = -0,214$, $p < 0,05$), rasvaprosentin ($r = -0,223$, $p < 0,05$) ja rasvan määrän (kg) kanssa ($r = -0,241$, $p < 0,05$)

Tutkimuksen, kuten myös muiden samaa aihealuetta käsittelevien tutkimusten (Karjalainen ym. 2006, Tanner ym. 2002, Hickey ym. 1995, Wade ym. 1990), perusteella tyypin I solujen suhteellinen määrä on käänteisessä yhteydessä lihavuutta määrittäviin muuttujiin ja siten sen alhainen osuus saattaa ennustaa lihavuutta. Lihassolujakauman ja lihavuutta kuvaavien muuttujien (rasvaprosentti, BMI, rasvan

määrä) välinen suhde näyttää samankaltaiselta sekä nuorten että vanhojen miesten keskuudessa.

Avainsanat: lihavuus, rasvaprosentti, BMI, lihassolutyypit, ikääntyminen

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ

1 JOHDANTO.....	5
2 KIRJALLISUUSKATSAUS.....	6
2.1 LIHAVUUS.....	6
2.11 Lihavuus -maailman laajuinen ongelma.....	6
2.12 Lihavuuteen vaikuttavat tekijät.....	7
2.13 Lihavuus riskitekijänä sairauksille.....	7
2.14 Ikääntymisen vaikutus kehonrasvakudokseen.....	9
2.2 LIHASSOLU.....	10
2.21 Luurankolihasrakenteen rakenne.....	10
2.22 Lihassolutyypit.....	11
2.23 Myosiinin raskasketjut.....	12
2.24 Lihassolujen perinnöllisyys.....	13
2.25 Ikääntymisen vaikutus lihassolujakaumaan.....	13
2.3 LIHAVUUDEN JA LIHASSOLUTYYPIN YHTEYS.....	16
3 ONGELMAT JA HYPOTEESIT.....	19
4 MENETELMÄT.....	21
4.1 Koehenkilöt.....	21
4.2 Koeasetelma.....	21
4.3 Aineiston keräys ja analysointi.....	21
4.4 Tilastolliset menetelmät.....	24
5 TULOKSET.....	25
6 POHDINTA.....	30
LÄHTEET.....	33

1 JOHDANTO

Lihavuus on maailman laajuinen kasvava ongelma, joka on yleistynyt myös täällä Suomessa (McArdle ym. 2007. s.837, Sulander ym. 2004). Se on paljon muutakin kuin kosmeettinen haitta; lihavuudella on yhteyksiä muihin elintapasairauksiin, kuten tyypin 2 diabetekseen, korkeaan verenpaineeseen ja jopa eri syöpämuotoihin (Faeh ym. 2007, Kuschner & Mendonca 2007, Ceschi ym. 2007). Tämä monen tekijän summana pidetty ongelma on tutkijoiden mukaan yhteydessä myös lihassolujakaumaan, jota ovat perimä ja ympäristö yhdessä muokanneet.

Tyypin I lihassolut ovat käänteisessä yhteydessä kehon rasvan määrään eli mitä enemmän henkilöllä on tyypin I lihassoluja, sitä todennäköisemmin hänellä on vähemmän rasvaa kuin henkilöllä, joilla on paljon tyypin II lihassoluja (Wade ym. 1990). Tämä johtuu suurimmaksi osaksi hitaiden lihassolujen kyvystä käyttää rasvaa energian lähteenä, kun taas nopeat solut eivät siihen pysty, jolloin ne saattavat kerätä ylimäärän rasvaa varastoihin solujen sisään (Wade ym. 1990, Tanner ym. 2002).

Ikääntymisen on myös todettu vaikuttavan sekä lihassolujakaumaan että kehon rasvan määrään (Andersen 2003, Schuit 2006) Nämä vaikutukset ovat kuitenkin vielä hieman epäselviä, sillä tutkimusten välillä esiintyy ristiriitoja. Yleinen mielenkiinto kohdistuu juuri siihen, miten nuoret ja vanhat miehet eroavat yllämainittujen muuttujien perusteella ja selittyvätkö esimerkiksi erot kehon rasvaprosenteissa eri-ikäisillä miehillä lihassolujakauman perusteella.

Tämän työn tarkoituksena on tutkia, eroavatko nuoret ja vanhat miehet lihassolujakaukumaltaan ja rasvamäärältään toisistaan ja miten nämä tekijät ovat yhteydessä toisiinsa ja ikääntymiseen.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

2.1 LIHAVUUS

2.1.1 Lihavuus -maailman laajuinen lisääntyvä ongelma

McArdlen ym. mukaan ihmisen katsotaan olevan ylipainoinen, jos hänen painoindeksinsä ylittää 25, ja lihava, jos hänen painoindeksinsä on 30 tai enemmän. Tämän luokittelun perusteella amerikkalaisesta aikuisväestöstä 56 % olivat joko lihavia tai ylipainoisia vuosien 1988-1994 aikana, kun taas vuosien 1999-2002 ylipainoisten ja lihavien määrä on noussut 65 %:n. Ylipainoisten määrä oli korkea erityisesti naisten ja vähemmistöjen keskuudessa. Kahden vuosikymmenen aikana lihavuus on lisääntynyt 1980-luvun 14,5 %:sta vuoden 2006 31 %:n eli se on kaksinkertaistunut. Samankaltainen lihavuuden lisääntyminen on ongelmana maailmanlaajuisesti: 300 miljoonaa lihavaa ja lisäksi 750 miljoonaa ylipainoista ihmistä. (McArdle ym. 2007. s.837.)

Kuten maailman laajuisesti myös skandinaaviassa ylipaino ja lihavuus ovat lisääntyneet. Reas ym. tutkivat norjalaisen aikuisväestön painon kehitystä 11 vuoden aikana (1990-2001) haastattelututkimuksen avulla. Reas ym. mukaan tutkimuksessa keskimääräinen painoindeksi nousi 23,7:stä 25,4:n sukupuolesta riippumatta. Lihavien (BMI>30) prosentuaalinen osuus nousi 4 %:sta 11 %:n naisilla ja 5 %:sta 13 %:n miehillä. Samalla normaalipainoisten osuus laski 66 %:sta 47 %:n. 68 % jo vuonna 1990 lihaviksi tai ylipainoisiksi luokiteltujen paino nousi entisestään 10 vuoden aikana lisäten BMI:tä keskimäärin noin 2,6 yksikköä. Suurin painon nousu tapahtui nuorten aikuisten (20-29 v.) keskuudessa. Tulokset osoittavat merkittävää sukupuolille yhtäläistä painon nousua norjalais väestössä. (Reas ym. 2007.)

Varsinkin Suomessa lihavuus on lisääntynyt. Sulander ym. tutkivat iältään 65-79-vuotiaiden suomalaisten lihavuutta 1985-2003 vuosien aikana. Heidän tutkimuksensa perusteella kaikissa yllämainituissa ikäryhmissä sekä miesten että naisten keskuudessa lihavuus lisääntyi kyseisellä aikavälillä. Suurinta nousu oli 65-69-vuotiaiden joukossa. Pienintä lihavuuden lisääntyminen oli vanhimpien 75-79-vuotiaiden koehenkilöiden

joukossa. (Sulander ym. 2004.) Sarlio-Lähteenkorva ym. ovat tutkimuksessaan vertailleet suomalaisten ja tanskalaisten työikäisten suhteellisen painon ja lihavuuden eroja. Tutkimuksen perusteella sekä suomalaisilla naisilla että miehillä on tanskalaisiin verrattuna suurempi painoindeksi. He ovat useammin myös lihavia. Sarlio-Lähteenkorva ym. toteavat tutkimuksessaan edeltävien tutkimusten, mm. Rahkosen ym. tutkimuksen, osoittaneen, että suomalaiset ovat myös ruotsalaisia ylipainoisempia. (Sarlio-Lähteenkorva ym. 2005.)

2.1.2 Lihavuuteen vaikuttavat tekijät

Lihavuuden taustalla on monimutkainen perimän, ympäristön, metabolian, käytöksen ja sosiaalisten vaikutusten summa. Yksinkertaisesti ihminen lihoo, jos hän syö enemmän kuin kuluttaa eli kun energiatasapaino on positiivinen. Kuitenkin yksilölliset erot mm. entsyymien ja ATP:n määrissä, kehon lämpötiloissa ja metaboliaan vaikuttavissa muissa tekijöissä, mahdollistavat joidenkin ihmisten kohdalla suuren painon ja varsinkin rasvamäärän kasvun. (McArdle ym. 2007. s.840.) Myös sosioekonomisen aseman on todettu olevan yhteydessä lihavuuteen. Reasin ym. tutkimuksessa naisilla, joilla oli vähemmän koulutusta, olivat myös useammin ylipainoisia tai lihavia kuin enemmän koulutusta saaneet. Varakkaammilla miehillä oli suurempi BMI kuin vähemmän tienaavilla. (Reas ym. 2007.) Myös siviilisäädylly on yhteys lihavuuteen. Naimattomat naiset ovat usein lihavempia kuin naimisissa olevat naiset. (Sarlio-Lähteenkorva ym. 2005.)

2.1.3 Lihavuus riskitekijänä sairauksille

Lihavuus on erittäin merkittävä riskitekijä muille elintasosairauksille. Lihavuuden on todettu olevan itsenäinen ja suuri riski sydänsairauksille. 4-10 % painon nousu 20 ikävuoden jälkeen nostaa riskin kuolla sepelvaltimotautiin tai sydäninfarktiin 1,5-kertaiseksi. Liikalihavuus on yhteydessä myös tyypin 2 diabetekseen. (McArdle ym. 2007. s.846.) Faeh ym. löysivät vahvan yhteyden lihavuuden ja diabeteksen välille. Tutkimuksen perusteella 60 % diabetesta sairastavista ovat ylipainoisia ja 25 % lihavia. (Faeh ym. 2007.) Myös lasten lihavuus on läheisessä yhteydessä lisääntyneen

diabeteksen kanssa (McArdle ym. 2007.s.846). Samankaltaisiin tuloksiin Narayan ym. päätyivät tutkimuksessaan, jonka perusteella ylipaino ja varsinkin lihavuus lisäävät elinikäistä riskiä sairastua diabetekseen etenkin nuorella iällä. Tutkimuksen mukaan diabeteksen riski kasvoi 7,6 %:sta 70,3%:n alipainoisten ja erittäin lihaviin välillä 18 vuoden iässä miehillä ja 12,2 %:sta 74,4 %:n naisilla. 65-vuotiailla normaalipainoisten ja lihaviin erot eivät olleet näin suuret; riski kasvoi 3,7 %:sta 23,9 %:n miehillä ja 8,7 %:sta 26,7%:n naisilla. (Narayan ym. 2007.)

Lihavuus on riskitekijä ja osa metabolista oireyhtymää. Yatsuyan perehtyi tutkimuksessaan metabolisen oireyhtymän osatekijöiden yleistymiseen painon lisääntyessä 25 vuoden ajan keski-ikäisillä miehillä. Henkilöillä, joiden paino nousi enemmän kuin 10 % tai 20 % 20 ikävuoden jälkeen, oli selvästi suurempi riski saada kaksi tai useampi metabolisen oireyhtymän osatekijä kuin henkilöillä, joiden paino pysyi samalla tasolla. (Yatsuya 2007.)

90-95 % korkeaa verenpainetta sairastavien potilaiden sairauden syytä ei tiedetä, jolloin puhutaan pääasiallisesta korkeasta verenpaineesta (primary hypertension). Lihavuudella on suuri rooli korkean verenpaineen kehittymisessä. (Guyton & Hall 2006. s. 228.) Kuschnirin ja Mendoncan mukaan korkea painoindexi on yhteydessä korkeaan verenpaineeseen 11-19-vuotiailla nuorilla. 50 % korkeaa verenpainetta sairastavista nuorista oli myös lihavia (BMI>30) ja 20 % ylipainoisia (BMI>20). (Kuschnir & Mendonca. 2007.) Vastaavista tuloksista kertoo korkean verenpaineen yleisyys Yatsuyan tutkimuksessa, joka oli 42,9 % henkilöillä, joiden paino oli noussut yli 20%, verrattuna painonsa säilyttäneiden vastaavaan arvoon 21,5 % (Yatsuya. 2007.)

Lihavuus lisää myös rinta-, paksusuoli-, eturauhas-, munuaissyöpäriskiä (McArdle ym. 2007.s.846). Ceschin ym. kertovat review-artikkelissaan lihavuuden olevan riski usealle syöpälajille, kuten esim. yllä mainituille syöville. Heidän mukaansa juuri lihavuuden aikaan saamat muutokset metaboliassa ja hormonaalisissa vasteissa, etenkin insuliiniresistenssissä, saattavat selittää lihavuuden ja syövän yhteyttä. (Ceschi ym. 2007.)

2.1.4 Ikääntymisen vaikutus kehon rasvakudokseen

Ikään liittyvät muutokset kehonkoostumuksessa ovat vieläkin epäselvät (Ding ym. 2007). Yleisen käsityksen mukaan 18 ikävuoden jälkeen sekä naisten, että miesten rasvamäärä lisääntyy progressiivisesti kunnes he saavuttavat 50-60 vuoden iän. Tässä vaiheessa kehon paino alkaa laskea, vaikka rasvan määrä lisääntyykin. Tämä lasku johtuu osittain suuremmasta kuolleisuudesta lihaviin keskuudessa verrattuna normaalipainoisiin vanhemmalla iällä. (McArdle ym. 2007. s. 900-902.) Toisaalta se johtuu myös siitä, että rasvaton massa ja ennen kaikkea lihasmassa vähenee. Vähentymisen johdosta lihasten metabolia ja voima vähenee, joka saattaa johtaa toiminnallisiin rajoituksiin ja näin vähentää liikunnallisia tottumuksia. Sekä metabolian hidastuminen, että liikunnan vähentyminen ikääntyessä vähentävät energian tarvetta. Jos taas ihmisen ruokatottumukset pysyvät samanlaisina, painon nousu ja rasvan kertyminen varsinkin keskivartaloon on odotettavissa. (Schuit 2006.)

Liikunnalla ja varsinkin voimaharjoittelulla on vanhuusiässä tärkeä rooli ylläpidettäessä negatiivista energiatasapainoa, estettäessä ylipainon ja lihavuuden lisääntyminen ja vähennettäessä riskiä muille elintasosairauksille, kuten sydän- ja verisuonisairauksille. Toisaalta liikunta ei estä biologista taipumusta rasvamäärän lisääntymiseen ikääntyessä. Vaikka kehonpaino pysyisi samana, sisäelinten ympärillä olevan rasvan määrä lisääntyy. Karkeasti vuosikymmenessä rasvan määrä lisääntyy 3 %, jolloin vyötärön ympärysmittaan lisääntyy samankaltaisesti. (Schuit 2006, McArdle ym. 2007. s. 900-902.)

2.2 LIHASSOLU

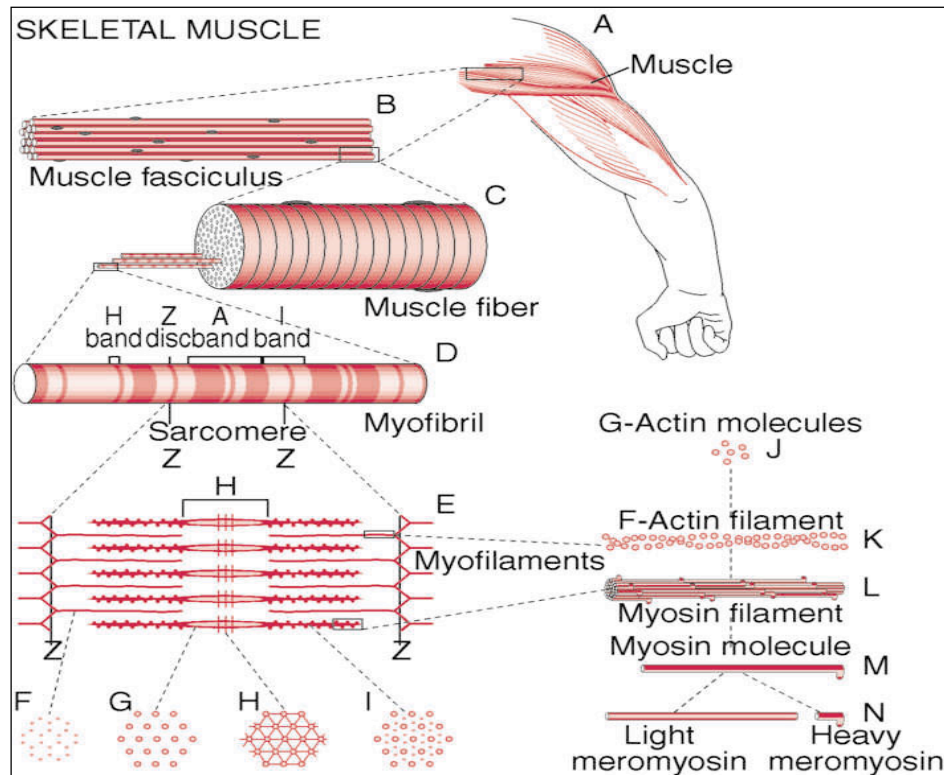
Ihmisellä on kolmenlaista lihaskudosta: poikkijuovaista, sileää ja sydänlihaskudosta. Luurankolihakset (skeletal muscle), joita ihmisellä on yli 660, koostuvat juuri kyseisestä poikkijuovaisesta tahdonalaisesta lihaskudoksesta. Tämä puolestaan koostuu poikkijuovaisista lihassoluista eli lihassyistä, joita tämän työn aikana tullaan tarkastelemaan. Nämä pitkät, sylinterimäiset ja monitumaiset solut ovat asettuneet rinnakkain pituussuuntaisesti lihakseen, joka puolestaan kiinnittyy molemmista päistään ympäristöönsä (yleensä luihin tai rustoihin) jänteiden avulla. Tämän kaltainen kiinnittyminen mahdollistaa lihassupistuksen aikana tapahtuvan yhden tai useamman luun liikkeen ja tätä kautta myös koko kehon liikkumisen. (McArdle ym. 2007. s.366.)

2.2.1 Luurankolihaksen rakenne

Luurankolihaksessa tärkeää osaa näyttelevät erilaiset kalvorakenteet, jotka mm. erottavat lihaksen eri osatekijät toisistaan. Koko luurankolihasta ympäröi lihaksen jänteeseen yhdistävä kalvorakenne epimysium, joka samalla antaa suojan lihakselle. Toinen kalvorakenne, perimysium, ympäröi 150 lihassyyn muodostamaa lihassolukimppua eli fasikkelia. Kolmas kalvorakenne on endomysium, joka erottaa lihassolut toisistaan. Jokaisen lihassolun ympärillä on myös lihassolun solukalvo eli sarkolemma, joka pitää yllä solun sisäistä ympäristöä. Kalvorakenteet jatkuvat myös solun sisään T-tubuluksina ja sarkoplastisena reticulumina, jotka huolehtivat mm. sähköisen impulssin leviämisestä luurankolihassoluihin saaden supistuksen aikaan. (McArdle ym. 2007. s.366-367.)

Itse lihassolu koostuu pienemmistä toiminnallisista yksiköistä, jotka ovat asettuneet solun sisään rinnakkain pituussuuntaisesti. Nämä halkaisijaltaan yhden mikrometrin suuriset myofibrillit eli lihassäikeet puolestaan koostuvat ohuista myofilamenteista, pääasiassa aktiini- ja myosiinifilamenteista. Myofibrilli jakaantuu useisiin lihaksen pienimpiin supistuviin yksiköihin, sarkomeereihin, jotka ovat asettuneet peräkkäin muodostaen jonon. Sarkomeerin sisällä aktiini ja myosiini liukuvat toistensa lomiin, jolloin sarcomeeri lyhenee. Usean peräkkäisen sarcomeerin lyheneminen saa lihassupistuksen aikaan. Lihaksen poikkijuovaisuus johtuu juuri peräkkäisistä

sarcomeereista ja niiden filamenttien asettumisesta. (McArdle ym. 2007. s.368-369.)



Kuvio 1. Lihaksen rakenne
(Guyton & Hall 2006. s. 74-75.)

2.2.2 Lihassolutyypit

Ihmisen luurankolihas ei ole vain homogeenista kudosta, vaan se koostuu pääasiassa kahdesta lihassolutyypistä, jotka eroavat toisistaan aineenvaihdunnan sekä supistumisominaisuuksien perusteella (McArdle ym.2007.s.380). On tyyppin I lihassoluja, joita hitaan supistumisnopeutensa vuoksi kutsutaan hitaiksi soluiksi, sekä tyyppin II lihassoluja, jotka puolestaan supistuvat nopeasti ja ovat siten nopeita soluja (Bassett 1994).

Hitaat lihassolut. Hitaat lihassolut saavat energiansa pääasiassa aerobisen ATP:n uudelleenmuodostuksen kautta (McArdle ym.2007.s.383). Tekijöitä, jotka mahdollistavat tämän korkean aerobisen kapasiteetin, ovat lisääntynyt oksidatiivisten entsyymien aktiivisuus, myoglobiinin määrä, rasvavarastot sekä kapillarisaatio (Bassett

1994). Lisäksi mitokondrioiden suuri koko ja määrä ovat aerobian kannalta merkittäviä tekijöitä. Nämä ominaisuudet tekevät hitaista lihassoluista räsistä kestäviä ja aerobisiin kestävyysuorituksiin sopivia. Hitaille lihassoluille on ominaista punainen pigmentti, mikä johtuu yllämainitusta suuresta mitokondriokonsentraatiosta sekä suuresta rautaa sisältävän myoglobiinin määrästä. Näin ollen hitaita lihassoluja sisältävää lihasta kutsutaan punaiseksi lihakseksi. Näiden ominaisuuksien lisäksi hitaat lihassolut eroavat nopeista lihassoluista suhteellisen alhaisella ATPaasi-aktiivisuudella, hitaalla kalsiumin käsittelynopeudella sekä heikohkolla glykolyyttisellä kapasiteetilla. (McArdle ym.2007.s.383.)

Nopeat lihassolut. Nopeat lihassolut tuottavat energiansa puolestaan anaerobisen aineenvaihdunnan kautta ja omaavat tehokkaan glykolyyttisen kapasiteetin. (Bassett 1994.) Korkea aktiopotentialien elektrokemiallinen kuljetuskapasiteetti, korkea myosiinin ATPaasi -aktiivisuus, tehokas kalsiumin luovutus ja takaisinotto sarcoplastisessa retikulumissa sekä nopea poikkisiltojen muodostuminen mahdollistavat erittäin nopean energian tuoton nopeutta ja voimaa tarvitseviin suorituksiin. Nämä ominaisuudet mahdollistavat myös 3-5 kertaa nopeamman lihassupistuksen verrattuna hitaisiin soluihin. Paljon nopeita lihassoluja sisältävää lihasta kutsutaan valkoiseksi lihakseksi ja se on luonteeltaan nopeasti väsyvää. (McArdle ym. 2007. s.381-382.) Nopeat lihassolut voidaan jakaa kahteen eri ryhmään: tyyppiin I ja tyyppiin II lihassoluihin. I tyyppiin solut asettuvat ominaisuuksiltaan tyyppiin I ja tyyppiin II lihassolujen väliin. (Bassett 1994.) Tyyppiin II solut ovat supistumisominaisuuksiltaan nopeita, mutta tuottavat energiaa sekä aerobisesti, että anaerobisesti. Niillä on korkea sekä aerobisten että anaerobisten entsyymien aktiivisuus. Niitä kutsutaankin nopeiksi-oksidiivisiksi-glykolyyttisiksi soluiksi. Tyyppiin IIb soluilla on suurin anaerobinen kapasiteetti ja suurin supistumisnopeus, minkä vuoksi niitä kutsutaan nopeiksi-glykolyyttisiksi soluiksi. (McArdle ym. 2007. s.381-383.)

2.2.3 Myosiinin raskasketjut

Kuten jo edellä todettiin lihassupistuksen saavat aikaan myosiini- ja aktiinifilamentit, jotka liukuvat toistensa lomiin. Myosiinifilamentti koostuu useasta myosiinimolekyylistä, jotka puolestaan koostuvat kahdesta raskasketjusta sekä neljästä

kevyemmästä ketjusta. Raskaat ketjut kiertyvät toistensa ympäri muodostaen tuplahelixin, jota kutsutaan myosiinimolekyylin hännäksi. Toinen pää tästä ketjusta liittyy polypeptidirakenteeseen, joka kevyiden ketjujen kanssa muodostaa myosiinimolekyylin pään. (Guyton & Hall 2006. s. 74-75.) Lihassolutyyppi ja sen supistusominaisuudet määräytyvät myosiinin raskasketjuisoformien (MyHC) perusteella, jotka ovat pääasiallisia supistuvia proteiineja luurankolihasessa. Ihmisen luurankolihas koostuu yhdestä hitaasta (MyHC I) ja kahdesta nopeasta (MyHC IIa, MyHC IIx) raskasketjuisoformista. Nämä isoformit vastaavat lihassolutyyppiä I, IIa ja IIb. Myosiinin raskasketjujen fenotyyppi määräytyy geneettisten ja ympäristötekijöiden mukaan. (Puhke ym. 2006, Short ym. 2005.)

2.2.4 Lihassolujen perinnöllisyys

Lihassolutyyppien suhteelliset osuudet ihmisen luurankolihasissa vaihtelevat suuresti eri yksilöillä. Esimerkiksi Karjalaisen ym. mukaan hitaiden lihassolujen määrä vaihtelee 13-96 % välillä yksilöstä toiseen, minkä aiheuttaa suurimmaksi osaksi perimä. (Karjalainen ym. 2006.) Myös Simoneau ja Bouchardin mukaan yksilöllinen vaihtelu on suurta, mistä kertoo se, että yli 25 % valkoihoisilla amerikkalaisilla on joko vähemmän kuin 35 % tai enemmän kuin 65 % tyyppin I soluja. Tutkimukset ovat osoittaneet perimän määräävän 45 %:sti lihassolutyyppien jakauman. 15 % vaihtelusta johtuu lihassolunäytteiden keräämiseen liittyvistä virheistä sekä teknisestä vaihtelusta ja loput 40 % ympäristötekijöistä. Ympäristötekijöihin kuuluu myös fyysinen harjoittelu, mikä saattaa selittää myös yksilöllistä vaihtelua sekä vaihtelua ihmisen raajojen välillä. Harjoittelun on todettu vaikuttavan eniten tyyppin IIb määrään ja vähiten tyyppin I soluihin, mutta lisäävän tyyppin I suhteellista osuutta. Joten mahdollisesti tyyppin IIa solut muuttuvat enemmän tyyppin I kaltaisiksi aerobisen harjoittelun myötä eikä uusia tyyppin I soluja synny. (Simoneau & Bouchard 1995.)

2.2.5 Ikääntymisen vaikutus lihassolutyyppisiin

Vanheneminen aiheuttaa muutoksia ihmisen eri kudoksissa niin myös luurankolihas kudoksessa. Useiden aikaisempien tutkimusten ja näin ollen yleisen käsityksen mukaan ikääntyminen vähentää pelkästään II lihassoluja. (Andersen 2003,

McArdle 2007, 894.) Myöhemmät tutkimukset ovat kuitenkin saaneet ristiriitaisia tuloksia: lihasolujen väheneminen olisi samankaltaista sekä I tyyppin että II tyyppin soluissa. Eli ikääntyminen ei vaikuttaisi lihasolutyyppien suhteellisiin osuuksiin. (Deschenes 2004.) Kuitenkin Anderssenin mukaan eräät tutkijat ovat saaneet tuloksia, joiden mukaan tyyppin I lihasolujen määrä lisääntyisi 60 ja 70 iässä. Ristiriitaisten tulosten pohjalta Anderssen arveleekin, että vanheneminen ei yleisesti vaikuttaisi lihasolujen suhteellisiin osuuksiin, mutta 60 ja 70 ikävuoden välissä todennäköisyys tyyppin I lihasolujen suhteelliseen lisääntymiseen on suurempi. (Andersen 2003.)

Miten tämä lihasolujen väheneminen sitten selittyy? Yleisesti tiedetään ikääntymisen vähentävän toimivien motoristen yksiköiden määrää. Näiden yksiköiden rappeutuminen näyttää alkavan noin 60 vuoden iässä. On oletettu, että suurimmat motoriset yksiköt eli juuri tyyppin II lihasoluja hermottavat yksiköt kuolevat ensimmäisinä ja uudelleen hermottuminen on vain osittaista ja melko sattumanvaraista, jolloin tyyppin I solujen suhteelliset osuudet kasvavat. (Andersen 2003.)

Ikääntyminen vaikuttaa lihasolutyyppien jakautumiseen lihaksessa. Nuorilla lihasolutyyppit levittäytyvät tasaisesti eri puolille lihasta muodostaen mosaiikin. Vanhoilla puolestaan samaa solutyyppiä olevat lihasyyt kasaantuvat yhteen muodostaen yhtenäisen alueen. (Deschenes 2004.) Solujen ryhmittäminen on melko yleistä vanhenevassa lihaksessa. Usealla vanhuksella on nähtävissä jonkin asteista lihasolutyyppien ryhmittymistä vaihdellen normaalista todella ryhmittyneisiin lihasoluihin. Syytä tänään ilmiöön ei tiedetä, mutta sen arvellaan johtuvan jatkuvasta hermojen tuhoutumisesta ja osittaisesta uudelleen hermottumisesta, mikä kiihtyy vanhetessa. (Andersen 2003.)

Ikääntyminen vaikuttaa myös myosiinin raskasketjujen esiintymiseen (Puhke ym. 2006). Shortin ym. mukaan ikääntyessä MHC I määrä lihaksessa ei muutu, mutta MHC IIa ja IIx määrät laskevat, mikä lisää MCH I suhteellista osuutta (Short ym. 2005). Samankaltaisiin tuloksiin ovat tulleet Pearson ym., joiden mukaan nopeiden MCH isoformien määrät ovat vanhoilla miehillä paljon pienemmät kuin nuorilla (Pearson ym. 2006). Kuitenkaan keski-ikäisillä henkilöillä MCH isoformien esiintymisessä ei ole merkittäviä eroja verrattuna nuoriin henkilöihin (Puhke ym. 2006). Andersenin ym. tutkimuksessa tuli esiin myös uusia mielenkiintoisia seikkoja. Tutkimuksen perusteella vanhoilla ihmisillä yleisin fenotyyppi (28,5 %) on lihasolut, joissa on sekä MCH I ja

MCH IIa, kun taas nuorilla tätä fenotyyppiä on vain 1-5 %. Vanhoilla vain 20% lihassoluista koostuvat MCH I, mikä on vähemmän kuin puolet nuorten arvoista. Tutkimuksessa tuli myös ilmi, että muutama lihassolu koostuu epätavallisesta MCH isoformien yhdistelmästä, joita ei ole löydetty normaalista nuoresta lihaksesta. Vanhoilla oli 1,2 % lihassoluja, jotka koostuivat kaikista kolmesta MCH isoformista sekä 0,7 % lihassoluja, jotka koostuivat MHC I ja MHC IIx, mutta ei MCH IIa. (Andersen 2003.) Tällaisia lihassyitä, jotka ilmentävät useampaa kuin yhtä myosiinin raskasketjuisoformia, sanotaan hybridisoluiksi. Ilmiö saattaa vaikuttaa lihassolujen supistus ominaisuuksiin. (Deschenes 2004.)

2.3 LIHAVUUDEN JA LIHASSOLUTYYPIN YHTEYS

Waden ym. jo vuonna 1990 tekemässä tutkimuksessa todettiin hitaiden lihassolujen määrän olevan käänteisessä yhteydessä rasvan määrään. Eli mitä vähemmän I tyypin lihassoluja ihmisellä on, sitä enemmän on tyypin II lihassoluja, ja sitä todennäköisimmin kehossa on enemmän rasvaa. Tutkimuksen perusteella vähintään 40 % lihavuuden vaihtelusta saattaa olla selitettävissä lihassolujakauman vaihtelulla ihmisten välillä. (Wade ym. 1990.)

Myös myöhemmät tutkimukset ovat tulleet samankaltaisiin tuloksiin. Vuonna 1995 tehty Hickey ym. tutkimus puoltaa Waden ym. tutkimuksen tuloksia: Painoindeksi (BMI) on käänteisesti verrannollinen hitaiden lihassolujen määrään (Hickey ym. 1995). Vuonna 2002 Tanner. ym. testasivat hypoteesia, jonka mukaan lihassolutyyppi on yhteydessä lihavuuteen ja vertasivat tätä yhteyttä ensin lihavien ja hoikkien naisten välillä, sitten kausaasialaisten ja afrikkalais-amerikkailaisten naisten välillä. Tulokset olivat selvät; ensinnäkin lihavilla tyypin I soluja oli vähemmän ja IIB soluja huomattavasti enemmän kuin hoikilla ja toiseksi Afrikkalais-amerikkalaisilla naisilla oli huomattavasti vähemmän I tyypin lihassoluja kuin valkoihoisilla naisilla (52% vs. 44%). Tämä korreloi hyvin myös aikaisempiin tutkimuksiin, joiden perusteella afrikkalais-amerikkalaisnaiset ovat lihavempia. Tulokset osoittavat lihassolutyyppin olevan yhteydessä lihavuuteen ja ainakin osittain lihassolujakauman perusteella voidaan ennustaa lihavuutta. (Tanner ym. 2002.)

Lihassolutyyppi on yhteydessä rasvan sijoittumiseen kehossa. Uusimpiin tutkimuksiin lukeutuva vuonna 2006 Karjalaisen ym. tekemä tutkimus osoitti hitaan lihassolutyyppin olevan selvästi yhteydessä kehon rasvaisuuteen, vyötärö-lantio suhteeseen, painon nousuun aikuisiässä sekä fyysisen aktiivisuuden määrään. Eli pieni määrä I tyypin lihassoluja ennustaa lihavuutta ja painon nousua varsinkin keskivartalossa. (Karjalainen ym. 2006.)

Tämä tyypin I lihassolujen käänteinen suhde lihavuuteen johtuu ennen kaikkea siitä, että hitaat ja nopeat lihassolutyyppit, kuten jo edellä todettiin, eroavat energia-

aineenvaihdunnaltaan toisistaan. Hitailia lihassoluilla on korkea oksidatiivinen kapasiteetti, joten ne pystyvät käyttämään rasvahappoja energian lähteenään. Nopeat lihassolut puolestaan tuottavat energiaa pääasiassa glykolyttisesti ilman happea, joten ne eivät ole sopivia rasvan polttamiseen. (Wade ym. 1990, Toft ym. 1998.) Tyypin II solut näin ollen saattavat varastoida rasvan joko lihaskudokseen tai rasvakudokseen ja näin edesauttaa positiivisen rasvatasapainon syntymistä (Tanner ym. 2002). Tyypin II lihassolut, erityisesti IIB solut, ovat insuliiniresistenttejä, kun taas tyypin I lihassolut ovat insuliinisensitiivisiä, mikä saattaa osaltaan vaikuttaa lihavuuden ja lihassolutyyppien yhteyteen (Tanner ym. 2002, Toft ym. 1998).

Lihasten suuren oksidatiivisen kapasiteetin on todettu myös suojaavan pitkäaikaisen positiivisen energiatasapainon aiheuttamalta lihavuudelta. Sun ym. mukaan ylisyyttäminen aiheutti vähemmän painon nousua henkilöillä, joilla oli tutkimuksen alussa enemmän tyypin I soluja, vähemmän tyypin IIa soluja sekä suuremmat aerobisten entsyymien aktiivisuudet (OGDH= oxoglutaraatti dehydrokinaasi). OGDH:n aktiivisuus kuitenkin pieneni ylisyyttämisen johdosta, mikä puolestaan kertoo siitä, että pitkäaikainen positiivinen energiatasapaino vähentää lihaksen oksidatiivista kapasiteettia eli kykyä hapettaa rasvaa ja jopa normaalikokoisilla ihmisillä rasvakudos on negatiivisessa yhteydessä lihaksen aerobiseen energian tuottoon. Eli luurankolihasen matala oksidatiivinen kapasiteetti on mahdollinen lihavuuden ennustaja. (Sun ym. 2002.)

Lihavilla ihmisillä on todettu olevan myös taipumus suhteellisesti pienempään painon pudotukseen. Tämä saattaa johtua juuri lihassolujen heikentyneestä kyvystä käyttää rasvaa energiaksi, joka taas on yhteydessä matalaan hitaiden lihassolujen määrään (Tanner ym. 2002.) I lihassolutyyppin suuri määrä edistää rasvojen oksidaatiota matalatehoisen liikunnan aikana. Henkilöillä, joilla on paljon tyypin I lihassoluja, on huomattu olevan taipumusta käyttää rasvaa energiaksi sekä levossa että kohtuullisen liikunnan aikana. (Turpeinen ym. 2006.) Myös Wade ym. huomasivat lihassolutyyppin, lihavuuden ja heikentyneen rasvanpolton yhteyden. Heidän mukaansa rasvan määrällä ja RER:llä (respiratory exchange ratio) oli merkittävä suora yhteys. Lihavat miehet käyttivät siis vähemmän rasvaa energianlähteenä kuin hoikat miehet submaksimaalisen työn aikana. Sama yhteys oli nähtävissä myös lihassolutyyppin ja rasvanpolton suhteen. Enemmän hitaita lihassoluja omaavat henkilöt käyttivät enemmän rasvaa energiaksi kuin paljon nopeita lihassoluja omaavat. (Wade ym. 1990.) Tästä on hyötyä

painonpudotuksessa, sillä varsinkin erittäin lihavien osalta on hitaiden lihassolujen ja painon pudotuksen välillä on positiivinen korrelaatio. Mitä enemmän lihavilla oli hitaita lihassoluja, sitä enemmän he pystyivät pudottamaan painoa. (Tanner ym. 2002.)

3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS, TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESIT

Tutkimuksen tarkoitus. Tämän työn tarkoituksena on tutkia, eroavatko nuoret ja vanhat miehet lihassolujakaukamaltaan ja rasvamäärältään toisistaan ja miten nämä tekijät ovat yhteydessä toisiinsa ja ikääntymiseen.

Tutkimusongelmat:

Onko lihassolutyypin yhteydessä lihavuutta kuvaaviin tekijöihin: BMI:hin, rasvaprosenttiin, rasvan määrään (kg)?

Onko vanhoilla ja nuorilla miehillä eroa lihassolujakaumassa?

Onko vanhoilla ja nuorilla miehillä eroa BMI:ssä, rasvaprosentissa, rasvan määrässä (kg)?

Hypoteesit:

H1: Hitaiden lihassolujen määrä on käänteisesti verrannollinen lihavuuteen.

Tutkimusten perusteella tyypin 1 lihassolujen määrä on käänteisessä yhteydessä lihavuuteen (Karjalainen ym. 2006, Tanner ym. 2002, Hickey ym. 1995, Wade ym. 1990).

H2: Vanhoilla miehillä on suhteellisesti enemmän tyypin 1 lihassoluja

Yleisen käsityksen mukaan ikääntyminen vähentää tyypin 2 soluja (Andersen 2003, McArdle 2007, 894). Kuitenkin myös ristiriitaisia tuloksia lihassolujen vähenemisestä on saatu: lihassolujen väheneminen olisi samankaltaista sekä 1 tyypin että 2 tyypin soluissa (Deschenes 2004).

H3: Vanhoilla miehillä on enemmän rasvaa

Yleisen käsityksen mukaan 18. ikävuoden jälkeen sekä naisten, että miesten rasvamäärä lisääntyy progressiivisesti (McArdle ym. 2007. s. 900-902).

4 MENETELMÄT

4.1 Koehenkilöt

Tutkimusaineisto koostuu kaksiosaisen liikuntabiologian laitoksen laajasta tutkimussarjan ”voimaharjoittelun ja proteiiniravinnon lyhyet ja pitkäaikaiset molekyylibiologiset ja fysiologiset vaikutukset” koehenkilöiden tiedoista (aineisto: Hulmi, Häkkinen, Mero 2005-2007). Tutkimukseeni valittiin terveet nuoret sekä vanhat miehet, joilta oli määritetty sekä kehonkoostumus että lihassolujakauma. Miehet jaettiin kahteen eri ryhmään iän perusteella: vanhat miehet olivat iältään 42-73-vuotiaita (n = 54) ja nuoret miehet olivat iältään 19-34-vuotiaita (n = 33). Koehenkilöiden liikuntaaktiivisuus vaihteli todella aktiivisesta liikkumattomiin henkilöihin. Pääasiassa koehenkilöt harrastivat aerobista liikuntaa, mutta myös kuntosaliharjoittelua ja pallopelejä. Kaikki koehenkilöt kävivät läpi lääkärin tarkastuksen ja heitä informoitiin tarkasti tutkimussuunnitelmasta sekä mahdollisista riskeistä ja epämiellyttävistä tuntemuksista, joita tutkimuksen yhteydessä voisi ilmetä. Kaikki koehenkilöt allekirjoittivat myös suostumuksen tutkimukseen, jolle yliopiston eettinen toimikunta oli antanut lausunnon Helsingin julistuksen mukaisesti.

4.2 Koeasetelma

Tutkimuksessa mitattiin lepotilassa nuorten miesten kehonkoostumus ja lihassolujakauma ja määriteltiin näiden muuttujien välinen yhteys. Samalla tavalla toimittiin vanhojen miesten suhteen. Lopuksi vertailtiin nuorten ja vanhojen miesten välisiä eroja kehonkoostumuksessa ja lihassolutyypin jakaumassa. Kehonkoostumusta ja varsinkin rasvan määrää arvioitiin BMI:llä ja rasvaprosentilla ihopainomittauksin. Lihassolutyypin selvitetiin lihassolunäytteistä ATPaasi värjäyksen sekä myosiinien isoformien määrittämisen (SDS-PAGE) perusteella.

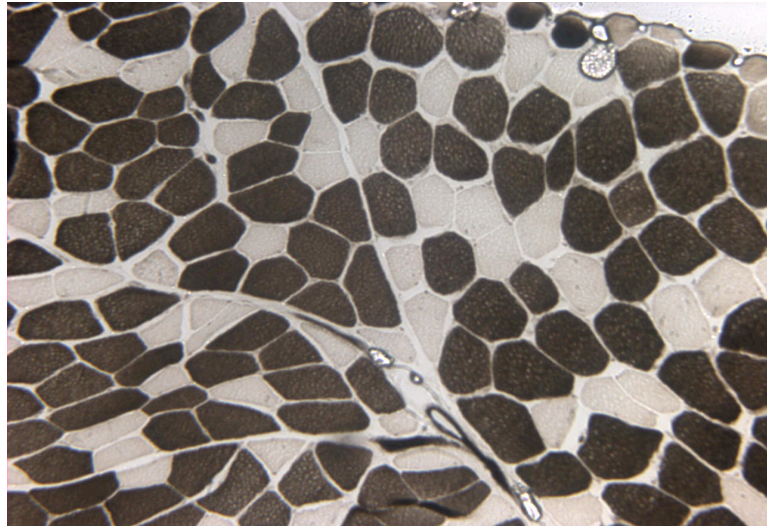
4.3 Aineiston keräys ja analysointi

Kehonkoostumuksen määrittely. Koehenkilöiden paino ja pituus mitattiin, joiden perusteella määriteltiin kehon painoindeksi (BMI). BMI:n (kehon paino jaettuna pituuden neliöllä) on todettu olevan yhteydessä kehon rasvan määrään sekä elintapasairauksien riskiin. Henkilön katsotaan olevan ylipainoinen, jos hänen BMI:nsä ylittää 25 ja lihava, jos hänen BMI:nsä ylittää 30. (McArdle ym. 2007, 775.) Kehon rasvaisuutta tarkemmin tutkittiin neljän pisteen ihopoimumenetelmän avulla, Durnin Womersley 1974 (biceps- ja tricepspoimu, subscapularpoimu, subrailiacispoimu). Tämän menetelmän on todettu korreloivan hyvin vedenalaispunnitukseen, jota pidetään kultaisena standardimenetelmänä (McArdle ym. 2007, 794.)

Lihاسبiopsiat. Lihassolunäytteet otettiin oikean jalan vastus lateraalisen puolivälistä Bergströmin tekniikalla, joka on eniten käytetty standardimenetelmä (Hayot ym. 2005). Ennen näytteen ottoa alue puhdistettiin antiseptisellä liuoksella ja puudutettiin 1 %:lla adrenaliinia sisältävällä lidocaine-puudutusaineella. Näytteet otettiin 5 mm:llä neulalla 1,5 – 2,5 cm syvyydeltä ihon alta, jolloin saatiin noin 100 - 150 mg lihaskudosta. Erityistä huomiota kiinnitettiin näytteenottosyvyyteen, jolloin lihaksen pinnan ja syvien osien välillä oleva mahdollinen vaihtelu lihassolujakaumassa ja lihassolukoossa ei vaikuttaisi tuloksiin. Näytteet puhdistettiin näkyvästä side- ja rasvakudoksesta ja verestä. Näytteistä määritettiin lihassyiden orientaatio ja asetettiin korkinpalalle siten, että lihassyöt ovat pystysuunnassa. Tämän jälkeen se jäädettiin välittömästi isopentaanin avulla nestemäisessä työssä lämpötilassa $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ ja varastoitettiin lämpötilassa $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

ATPaasi-värjäys. Tutkimuksessa lihassolutyypin erottamiseksi lihassolunäytteet käsiteltiin ATPaasi-värjäyksen avulla. ATPaasi on myosiinin raskasketjun entsyymi, joka pilkkoo ATP:tä ADP:ksi ja fosfaatiksi vapauttaen energiaa poikkisiltojen syntymiseen aktiinin ja myosiinin välille ja on siten välttämätön entsyymi lihassupistuksessa. ATPaasi-värjäyksessä käytetään hyväksi lihassolutyypin ATPaasi entsyymien erilaista käyttäytymistä eri pH:ssa: Hitaan lihassolutyypin myosiinissa sijaitseva ATPaasi-entsyymi säilyttää aktiivisuutensa happamassa liuoksessa, mutta inaktivoituu emäksisessä liuoksessa. Nopean tyypin myosiini puolestaan käyttäytyy päinvastoin. Ennen värjäystä lihassolunäytteestä leikeltiin 10 μm paksuisia

lihasleikkeitä kryostaatilla -24 celsius asteessa ja siirrettiin objektilasille. Tämän jälkeen niitä preinkuboitiin happamissa pH:ssa 4.37 (4 min) ja pH:ssa 4.60 (70 ja 80 s) huoneenlämmössä sekä emäksisessä pH:ssa 10,3 (9 min) vesihauteessa. Valmiit värjätyt näytteet analysoitiin TEMA-kuvantamisohjelmalla (Tema, Scanbeam, Hadsund, Denmark). Näytteistä analysoitiin noin 200 solua/näyte. Lihassolutyypeistä I, Iia, Iiax ja Iix määritettiin niiden suhteelliset osuudet ja solukoko.



Kuvio 2. Emäksisellä pH:lla värjätyissä näytteissä nopeat solut näkyvät tummia. Happamassa liuoksessa tummana näkyvät solut ovat puolestaan hitaita lihassoluja.

SDS-PAGE. Lihassolutyypien määrittämiseen käytettiin myös toista menetelmää: myosiini isoformien määrittäminen proteiinitasolla polyakryyliamidigeelielektroforeesin avulla natriumdodekyylisulfaatin (SDS) läsnä ollessa (SDS-PAGE). Menetelmä perustuu myosiinien isoformien kokoeroihin, joten ne erottuvat koon mukaan geelillä sähkövirrassa. Menetelmän avulla pystytään arvioimaan tutkittavan proteiinin molekyylipaino noin 10 % tarkkuudella vertaamalla näytteen liikkuvuutta geelillä molekyylipainoltaan tunnettujen standardien liikkuvuuteen geelillä. Isot molekyylit eivät juurikaan liiku geelillä, kun taas pienet molekyylit liikkuvat paljon. Kryostaatilla leikatut, $10\ \mu\text{m}$ paksuiset, lihasleikkeet (10 – 20 kpl) jokaisesta lihasnäytteestä asetettiin $700\ \mu\text{l}$ lysiinipuskuriin, joka sisälsi 10 % glyserolia, 5 % 2-mercaptoetanolia ja 2,3 % SDS:ää (natriumdodekyylisulfaatti) sisältävää Tris-HCL puskuria $62,5\ \text{mM}$ (pH 6.8). Puskuriin sulaneita lihasleikkeitä lämmitettiin 10 minuuttia $+60\ ^\circ\text{C}$:ssa. Pienet määrät näytepuskuriä ($3\text{--}10\ \mu\text{l}$) pipetoitiin SDS-PAGE geelisysteemin näytekaivoihin. Geelisysteemi koostui kampaageelistä, joka sisälsi 3 %

akryyliamidia, sekä erottelugeelistä, joka sisälsi puolestaan 6 % akryyliamidia ja 30 % glyserolia. Näytteitä ajettiin elektroforeesissa (Bio-Rad Protean II xi Cell) 4 °C lämpötilassa 42 tuntia 70 V sähkövirrassa. Ajon jälkeen geelit kiinnitettiin 24 h ajan 5 % etikkahappoa ja 50 metanolia sisältävässä liuoksessa ja sen jälkeen värjättiin Coomassie Bluella. Värin poisto tapahtui 7,5 % etikkahapon ja 5 % metanolin avulla yön yli kunnes tausta oli puhdas. Myosiini isoformit MCH I, Iia ja Iix määritettiin niiden geelillä kulun perusteella. Myosiini isoformien suhteelliset osuudet määritettiin densitometrillä (Cream 1D, Kem-En-Tec aps, Copenhagen, Denmark). Lihassolutyypin määrittämiseen SPSS-PAGE:ä käytettiin 40 vanhan miehen ja 22 nuoren miehen kohdalla.

4.4 Tilastolliset menetelmät

Tilastollisista menetelmistä standardoituja menetelmiä käytettiin keskiarvojen ja keskihajontojen laskennassa. Korrelaatioanalyysit tehtiin Pearsonin tulomomenttikorrelaatioiden avulla. Lihassolujakauman ja rasvan määrän eroja vanhojen ja nuorten miesten kesken arvioitiin kahden riippumattoman otoksen t-testillä (independent samples t-test) normaalijakautuneissa muuttujissa ja Mann-Whitneyn U-testillä parametrittomissa muuttujissa.

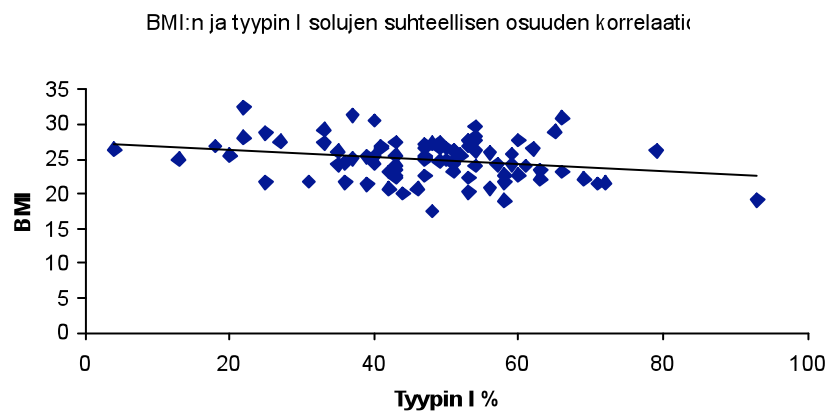
5 TULOKSET

Kehonkoostumus. Pituuden ja kehon painon perusteella määritetty painoindeksi (BMI) erosi merkitsevästi nuorten ja vanhojen miesten kesken. Vanhojen miesten BMI ($26,00 \pm 2,69$ s.d) oli 2,66 yksikköä suurempi kuin nuorten miesten ($23,34 \pm 2,53$) ($p < 0,001$). Myös kehon rasvaprosentti erosi tilastollisesti merkitsevästi nuorten ja vanhojen miesten kesken. Vanhojen miesten rasvaprosentti oli ($24,93 \pm 3,95$ %) 7,08 prosenttiyksikköä suurempi kuin nuorten ($17,85 \pm 3,67$ %) ($p < 0,001$). Vanhojen miesten kehon rasvamäärä (kg) oli huomattavasti suurempi kuin nuorilla miehillä ($20,69 \pm 5,22$ kg vs $14,04 \pm 4,00$ kg) ($p < 0,001$). Eroksi rasvan määrässä tuli 6,65 kg ryhmien välillä.

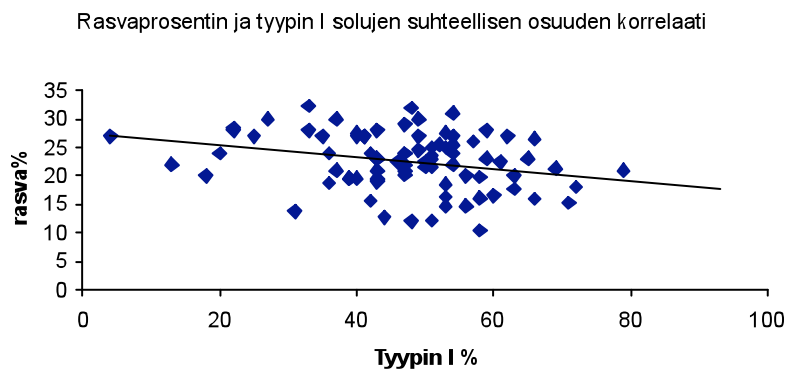
Lihassolujakauma – ATPaasi-värjäys. Vanhojen miesten tyypin I solujen pinta-ala oli merkitsevästi suurempi kuin nuorilla miehillä ($5546,46 \pm 1268,48$ μm^2 vs $5005,36 \pm 1546,32$ μm^2) ($p < 0,01$). Tyypin I lukumäärän suhteellinen osuus oli nuorilla miehillä suurempi kuin vanhoilla miehillä ($53,52 \pm 14,44$ % vs $43,58 \pm 13,18$ %) ($p < 0,01$). Nuorten miesten tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus oli vanhoja miehiä suurempi, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä.

Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. Nuorten ja vanhojen miesten tulokset erikseen tilastollisesti analysoituna. ATPaasi-värjäys. Vanhoilla miehillä tyypin I solujen pinta-ala oli käänteisessä yhteydessä kehon painoon, painoindeksiin, rasvaprosenttiin ja rasvan määrään (kg), mutta yhteys ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Nuorilla miehillä tyypin I solujen pinta-ala ei myöskään korreloinut merkitsevästi edellä mainittuihin muuttujiin. Tyypin II soluilla sekä nuorilla että vanhoilla miehillä oli positiivinen korrelaatio kehon painoon, painoindeksiin, rasvaprosenttiin ja rasvan määrään (kg), mutta yhteys ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Vanhojen sekä nuorten miesten tyypin I solujen suhteellinen lukumäärä ei korreloinut tilastollisesti merkitsevästi kehon painoon, painoindeksiin, rasvaprosenttiin tai rasvan määrään (kg), mutta yhteys oli negatiivista. Samoin tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus ei korreloinut tilastollisesti merkitsevästi yllä mainittujen muuttujien kanssa, mutta yhteys tässäkin oli negatiivista.

Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. Nuorten ja vanhojen miesten tulokset yhdessä tilastollisesti analysoituna. ATPaasi-värjäys. Tyypin I solujen suhteellinen lukumäärä on tilastollisesti merkitsevästi käänteisessä yhteydessä kehon painoindeksiin ($r = -0,262$, $p < 0,05$), rasvaprosenttiin ($r = -0,294$, $p < 0,01$) ja rasvan määrän (kg) ($r = -0,285$, $p < 0,01$) (Kuva 3,4,5). Myös tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus korreloi negatiivisesti ja tilastollisesti merkitsevästi kehon painoindeksiin ($r = -0,214$, $p < 0,05$), rasvaprosenttiin ($r = -0,223$, $p < 0,05$) ja rasvan määrän (kg) kanssa ($r = -0,241$, $p < 0,05$) (Kuva 6,7,8). Regressioanalyysin perusteella tyypin I solujen suhteellinen osuus selitti 6,8 % BMI:stä ($p < 0,05$) ja 8,1 % kehon rasvan määrästä (kg) ($p < 0,01$). Tyypin I solujen pinta-ala suhteessa solujen yhteenlaskettuun pinta-alaan selitti 5,8 % kehon rasvasta (kg) ja 4,8 % BMI:stä ($p < 0,05$).

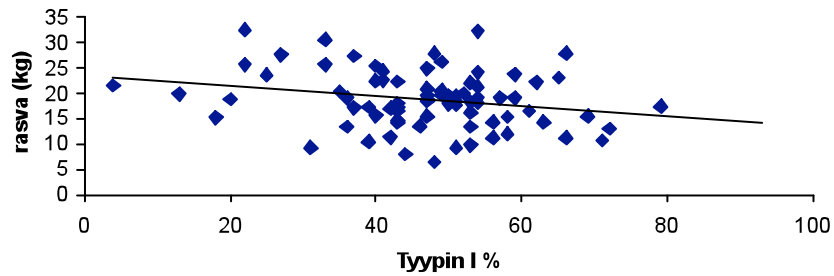


Kuvio 3. Tyypin I solujen lukumäärän suhteellinen osuus on käänteisessä yhteydessä painoindeksiin ($r = -0,262$, $p < 0,05$)



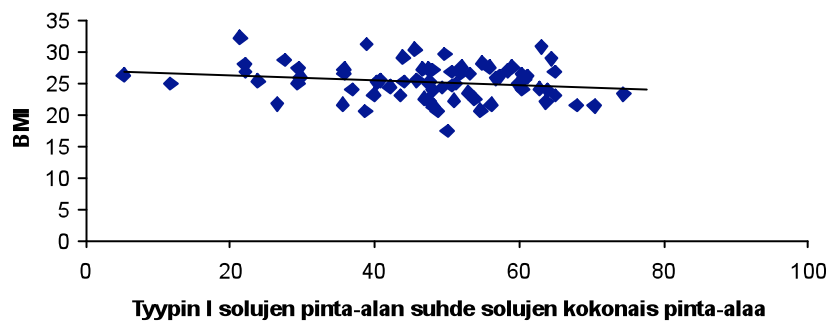
Kuvio 4. Tyypin I solujen lukumäärän suhteellinen osuus on käänteisessä yhteydessä rasvaprosenttiin ($r = -0,294$, $p < 0,01$)

Kehon rasvan määrän (kg) ja tyypin I solujen suhteellisen osuuden korrelaatio



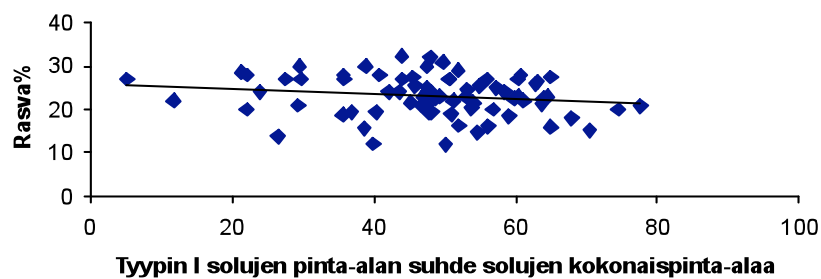
Kuvio 5. Tyypin I solujen lukumäärän suhteellinen osuus on käänteisessä yhteydessä rasvamäärään (kg) ($r = -0,285$, $p < 0,01$)

BMI ja tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus

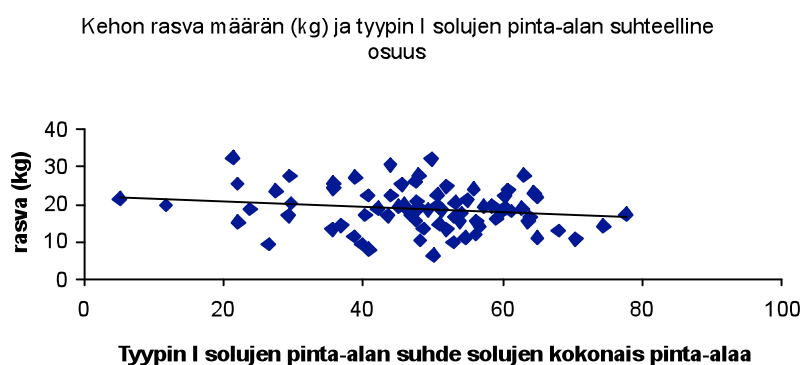


Kuvio 6. Tyypin I solujen pinta-alan suhde kokonaispinta-alaan korreloi negatiivisesti painoindeksiin ($r = -0,214$, $p < 0,05$)

Rasvaprosentti ja tyypin I solujen pinta-alan suhteellinen osuus



Kuvio 7. Tyypin I solujen pinta-alan suhde kokonaispinta-alaan korreloi negatiivisesti rasvaprosenttiin ($r = -0,223$, $p < 0,05$).



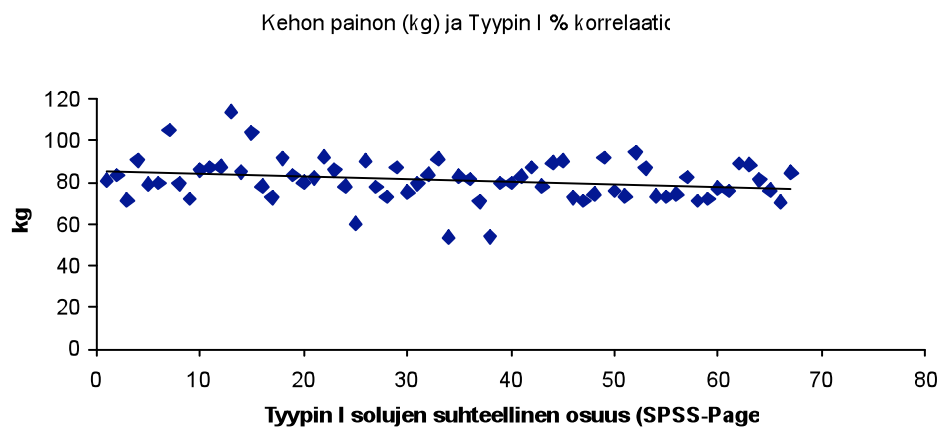
Kuvio 8. Tyypin I solujen pinta-alan suhde kokonaispinta-alaan korreloi negatiivisesti rasvan määrään ($r = -0,241$, $p < 0,05$).

Lihassolujakauma - SDS-Page. SDS-Pagen tulokset korreloivat positiivisesti ja tilastollisesti merkitsevästi ATPaasi-värjäyksistä saatuihin tuloksiin ($r = 0,329$, $p < 0,01$). Eli mitä suurempi ATPaasi-värjäyksien perusteella oli tyypin I solujen lukumäärän prosentuaalinen osuus, sitä suurempi oli myös SDS-Pagen perusteella saatujen tyypin I solujen suhteellinen osuus. Nuoret ja vanhat miehet eivät eronneet toisistaan tilastollisesti merkitsevästi tyypin I solujen suhteellisen määrän suhteen. Nuorten miesten tyypin I solujen suhteellinen osuus oli tilastollisesti merkitsevästi suurempi kuin vanhoilla miehillä ($52,83 \pm 10,67$ % vs $43,11 \pm 12,79$ %) ($p < 0,01$). Vanhojen miesten tyypin I solujen suhteellinen osuus oli puolestaan tilastollisesti merkitsevästi suurempi kuin nuorten miesten ($9,43 \pm 11,47$ % vs $1,94 \pm 7,19$ %) ($p < 0,01$).

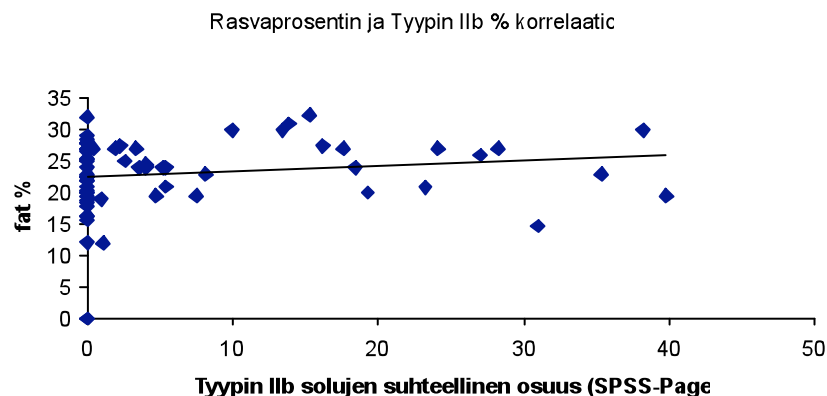
Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. Nuorten ja vanhojen miesten tulokset erikseen tilastollisesti analysoituna. SDS-Page. Vanhoilla miehillä tyypin I solujen suhteellinen määrä oli käänteisessä suhteessa kehon painoon, BMI:hin, rasvaprosenttiin ja rasvan määrään (kg), mutta yhteys ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Tyypin II solujen suhteellisen määrän yhteys yllämainittuihin muuttujiin oli positiivinen, mutta ei tilastollisesti merkitsevä. Nuorten miesten tulokset olivat samansuuntaisia, mutta eivät myöskään tilastollisesti merkitseviä.

Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. Nuorten ja vanhojen miesten tulokset yhdessä tilastollisesti analysoituna. SDS-Page. Tyypin I solujen suhteellinen osuus oli tilastollisesti merkitsevästi käänteisessä suhteessa kehon painoon ($r = -0,257$,

$p < 0,05$) (Kuva 9). BMI:n, rasvaprosentin ja rasvan määrän (kg) korrelaatio tyypin I solujen suhteelliseen määrään oli myös negatiivinen, mutta ei tilastollisesti merkitsevä. Tyypin Iib solujen suhteellinen osuus korreloi positiivisesti ja tilastollisesti merkitsevästi rasvaprosenttiin ($r = 0,292$, $p < 0,05$) ja rasvan määrään (kg) ($r = 0,277$, $p < 0,05$) (kuva 10). Positiivinen korrelaatio tyypin Iib solujen suhteellisella osuudella oli myös kehon painoon ja painoindeksiin, mutta tulos ei ollut tilastollisesti merkitsevä. Regressioanalyysin perusteella tyypin I solujen suhteellinen osuus selitti kehon painoa 6,5 %. Regressioanalyysin perusteella tyypin Iib solujen suhteellinen osuus selitti 8,5 % rasvaprosentista ja 7,7 % rasvan määrästä.



Kuvio 9. Tyypin I solujen suhteellinen osuus oli tilastollisesti merkitsevästi käänteisessä suhteessa kehon painoon ($r = -0,257$, $p < 0,05$).



Kuvio 10. Tyypin Iib solujen suhteellinen osuus oli tilastollisesti merkitsevästi suorassa suhteessa rasvaprosenttiin ($r = 0,277$, $p < 0,05$)

6 POHDINTA

Päätulokset. Tutkimuksen oleelliset tulokset olivat seuraavat: Vanhojen miesten BMI, rasvaprosentti ja rasvan määrä (kg) olivat huomattavasti nuoria miehiä suurempia. Vanhojen miesten tyypin I solujen suhteellinen lukumäärä oli merkitsevästi pienempi kuin nuorilla miehillä. Tyypin I solujen suhteellinen lukumäärä ja suhteellinen pinta-alan sekä nuorilla että vanhoilla miehillä olivat käänteisessä yhteydessä painoindeksiin, rasvaprosenttiin ja rasvan määrään (kg).

Kehonkoostumus. Tutkimustulokset tukivat hypoteesia ja yleistä käsitystä, jonka mukaan vanhoilla miehillä on enemmän rasvaa. Tästä kertovat sekä BMI, rasvaprosentti sekä rasvan määrä. Rasvan kertyminen elimistöön vanhuusiällä osaltaan selittyy lihasmassan vähenemisen ja sen aiheuttaman metabolian vähentymisen sekä liikuntatottumusten vähentymisen johdosta. Toisaalta osa vanhuusiällä tapahtuvasta rasvan määrän kasvusta johtuu biologisesta taipumuksesta kerätä rasvaa varsinkin keskivartaloon. (Schuit 2006, McArdle ym. 2007. s. 900-902.) Selvytyksen saamiseksi, mistä tämä biologinen taipumus johtuu, tarvitaan lisää tutkimuksia.

Lihassolujakauma – ATPaasi-värjäys. Tulokset osaltaan olivat saman suuntaiset hypoteesiin nähden, mutta osaltaan ristiriitaisia. Vanhojen miesten tyypin I solujen pinta-ala oli suurempi kuin nuorilla miehillä, mutta ei suhteellinen lukumäärä eikä pinta-ala, mikä on ristiriidassa yleisen käsityksen kanssa. Tyypin IIa solujen suhteellinen osuus oli nuorilla miehillä suurempi, mikä tukee yleistä käsitystä. Tyypin IIb solujen suhteellisen osuus oli nuorilla miehillä vanhoja miehiä pienempi, mikä puolestaan on ristiriidassa oletuksen kanssa, että tyypin II solut vähenevät enemmän vanhuusiällä. Tuloksiin on todennäköisesti vaikuttanut se, että aineiston koko oli suhteellisen pieni, ja nuoria miehiä oli huomattavasti vähemmän kuin vanhoja miehiä. Vaikutuksia on myös sillä, miten kattava lihasnäyte on saatu kuvaamaan koko lihasta, sillä vanhoilla miehillä samaa solutyyppiä olevat lihassytkä kasaantuvat yhteen muodostaen yhtenäisen alueen (Deschenes 2004). Toisaalta aineisto antaa viitteitä myös siitä, että nuorten ja vanhojen miesten tyypin I solujen suhteellisessa määrässä ei ole eroja, jolloin tyypin I ja II solujen väheneminen vanhuusiällä olisi samankaltaista. Suoria johtopäätöksiä ei kuitenkaan voida tehdä, sillä tutkimuksessa ei seurattu samojen henkilöiden vanhenemista vaan kahden eri ryhmän, vanhojen ja nuorten miesten,

lihasbiopsioista saatuja tuloksia.

Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. ATPaasi-värjäys. Tulokset osoittivat, että tyypin I solujen lukumäärän ja pinta-alan suhteellinen osuus on käänteisessä yhteydessä lihavuutta kuvaavien tekijöiden kanssa. Tämä tulos tukee hypoteesia, ja kertoo, että lihassolutyypin olevan yhteydessä ylipainoon ja lihavuuteen ja ainakin osittain lihassolujakauman perusteella voidaan ennustaa lihavuutta. (Tanner ym. 2002.) Tämän oletetaan johtuvana siitä, että hitaat ja nopeat lihassolutyypit eroavat energia-aineenvaihdunnaltaan toisistaan. Hitaiden lihassolujen korkea oksidatiivinen kapasiteetti edesauttaa rasvahappojen käyttöä energiaksi, kun taas nopeilla lihassoluilla tämä kapasiteetti on pieni (Wade ym. 1990, Toft ym. 1998). Tutkimukset ovat osoittaneet, että kestävyystyypinen liikunta lisää tyypin I solujen pinta-alaa ja niiden rekrytointia (Simoneau & Bouchard 1995.), joten koehenkilöt, joilla oli paljon tyypin I soluja, saattavat olla erittäin aktiivisia liikkujia, mikä osaltaan vaikuttaa tuloksiin.

Vanhojen ja nuorten miesten tuloksia erikseen käsiteltynä, sekä nuorilla ja vanhoilla miehillä tyypin I solujen pinta-alalla oli käänteinen yhteys ja tyypin II solujen pinta-alalla positiivinen yhteys painoon, painoindeksiin, rasvaprosenttiin ja rasvan määrään (kg), mutta yhteys ei ollut tilastollisesti merkitsevää. Tyypin I sekä lukumäärän että pinta-alan suhteellinen osuus oli myös käänteisesti yhteydessä yllä mainittuihin muuttujiin. Eli kummassakin ikäryhmässä oli nähtävissä samansuuntaista yhteyttä lihassolujen ja lihavuuden suhteen. Voimmekin olettaa, että sama yhteys lihassolutyypin ja lihavuuden välillä säilyy myös ikääntyessä. Kuitenkaan tulokset eivät olleet tilastollisesti merkittäviä, mihin saattaa vaikuttaa aineiston pieni koko, sillä kun aineistot yhdistettiin, saatiin tilastollisesti merkitsevää korrelaatio tyypin I suhteellisten osuuksien ja lihavuutta kuvaavien muuttujien välille.

Lihassolujen yhteys kehon rasvan määrään. SDS-Page. Lihassolutyypien ja lihavuutta kuvaavien muuttujien välinen yhteys oli odotettavissa, sillä ATPaasi-värjäyksistä oli saatu käänteistä yhteyttä vahvistavia tuloksia ja koska SDS-Pagen tulokset korreloivat tilastollisesti merkitsevästi ATPaasi-värjäyksistä saatuihin tuloksiin. Kuitenkaan SDS-PAGE:n tulokset eivät olleet tilastollisesti merkitseviä, lukuunottamatta tyypin I solujen suhteellisen osuuden käänteistä suhdetta kehon painoon ja tyypin IIB solujen suhteellisen osuuden positiivista ja suhdetta rasvaprosenttiin ja rasvan määrään. Tähän on varmasti vaikuttanut se, että koko

tutkimukseen osallistuneista koehenkilöistä vain 40 vanhan miehen ja 22 nuoren miehen kohdalla käytettiin SDS-PAGE:a lihassolutyypin määrittämiseen. Kuitenkin myös tällä menetelmällä tehdyt analyysit antavat viitteitä tyypin I solujen käänteisestä suhteesta rasvan määrään, rasvaprosenttiin ja BMI:hin, jolloin voimme olettaa alhaisen I tyypin lihassolujen suhteellisen osuuden ennustavan lihavuutta ja painon nousua (Karjalainen ym. 2006).

Johtopäätökset ja kriittinen arvio. Tutkimuksen, kuten myös muiden samaa aihealuetta käsittelevien tutkimusten (Karjalainen ym. 2006, Tanner ym. 2002, Hickey ym. 1995, Wade ym. 1990), perusteella tyypin I solujen suhteellinen määrä on käänteisessä yhteydessä lihavuutta määrittäviin muuttujiin ja siten sen alhainen osuus saattaa ennustaa lihavuutta. Lihassolujakauman ja lihavuutta kuvaavien muuttujien (rasvaprosentti, BMI, rasvan määrä (kg)) välinen suhde näyttää samankaltaiselta sekä nuorten että vanhojen miesten keskuudessa. Vanhat miehet ovat nuoria miehiä rasvaisempia ja tyypin I solujen pinta-ala oli merkitsevästi suurempi vanhoilla miehillä kuin nuorilla miehillä. Kriittisesti tarkasteltuna aihe oli ajankohtainen ja tärkeä, koska se oli sidoksissa lihavuuden kautta terveyden muihin riskitekijöihin. Ryhmien koko erot saattoivat vaikuttaa tuloksiin ja vääristää niitä. Menetelmissä myös ATPaasi värjäyksien onnistumisella, analyysillä ja analyysin tekijän tulkinnalla olennainen osa tulosten paikkaansa pitävyyden kannalta. Tuloksiin saattaa vaikuttaa myös ihopoimiumittauksen valinta kehonkoostumusta kuvaavaksi mittaukseksi. Mittaukseen vaikuttavat mittaajan kokemus ja ihopoimujen koko, jota joskus on vaikea määrittää, jos ihopoimujen koko suuri.

LÄHTEET

- Andersen, J. 2003. Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 13, 40-47.
- Bassett, D., 1994. Skeletal muscle characteristics: relationships to cardiovascular risk factors. *Medicine And Science In Sports And Exercise* 8, 957-66.
- Deschenes, M. 2004. Effects of Aging on Muscle Fibre Type and Size. *Sports Medicine* 34, 809-824.
- Ding, J., Kritchevsky, S., Newman, A., Taaffe, D., Niclas, B., Visser, M., Lee, J., Nevitt, M., Tylavsky, F., Rubin, S., Pahor, M. & Harris, T., 2007. Effects of birth cohort and age on body composition in a sample of community-based elderly. *The American Journal of Clinical Nutrition* 85, 405-410.
- Faeh, D., William, J., Tappy, L., Ravussin, E. & Bovet, P. 2007. Prevalence, awareness and control of diabetes in the Seychelles and relationship with excess body weight 7, 163.
- Ceschi, M., Gutzwiller, F., Moch, H., Eichholzen, M. & Probst-Hensch, N. 2007. Epidemiology and pathophysiology of obesity as a cause of cancer. *Swiss medical weekly* 137, 50–56.
- Guyton, A. & Hall, J. 2006. *Textbook of Medical Physiology*. Elsevier Saunders. Philadelphia.
- Hayot, M., Michaud, A., Koechlin, C., Caron, M-A., LeBlanc, P., Prefaut, C. & Maltais, F. 2005. Skeletal muscle mikrobiopsy: a validation study of a minimally invasive technique. *European respiratory journal* 25, 431-440.
- Hickey, S., Carey, J., Azevedo, J., Houmard, J., Pories, W., Israel, R. & Dohm, L. 1995. Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transport rate in humans. *The American Physiological Society* E453 457.
- Karjalainen, J., Tikkanen, H., Hernelahti, M., Kujala, U., Muscle fiber-type distribution predicts weight gain and unfavorable left ventricular geometry: a 19 year follow up study. *BMC Cardiovascular Disorders* 6.
- Kuschnir, M. & Mendonca, G. 2007. Risk factors associated with arterial hypertension in adolescents. *Jornal de Pediatria* 83, 335-342.
- McArdle, W., Katch, F., Katch, V., 2001. *Exercise Physiology Energy, Nutrition, and Human Performance*. Lippincott Williams & Wilkins, Maryland.

- Narayan, K., Boyle, J., Thompson, T., Gregg, E. & Williamson, D. 2007. Effect of BMI on lifetime risk for diabetes in the U.S. *Diabetes Care* 30, 1562-1566.
- Puhke, R., Aunola, S., Surakka, J., Venojärvi., Alev, K., Seene, T. & Rusko, H. 2006. The profile and distribution of myosin heavy chain isoforms in middle-aged sedentary persons. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 46, 176-182.
- Reas, D., Nygard, J., Svensson, E., Sorensen, T. & Sandanger, I. 2007. Changes in body mass index by age, gender, and socio-economic status among a cohort of Norwegian men and women (1990-2001). *BMC Public Health* 7, 269.
- Sarlio-Lähteenkorva, S., Lissau, I. & Lahelma, E. 2005. The social patterning of relative body weight and obesity in Denmark and Finland. *European Journal of Public Health* 16, 36-40.
- Schuit, A. 2006. Physical activity, body composition and healthy ageing. *Science & Sports* 21, 209-213.
- Short, K., Vittone, J., Bigelow, M., Proctor, D., Coenen-Schimke, J., Rys, P. & Sreekumaran, K. 2005. Changes in myosin heavy chain mRNA and protein expression in human skeletal muscle with age and endurance exercise training. *Journal of Applied Physiology* 99, 95-102.
- Simoneau, J., Bouchard, C., 1995. Genetic determinism of fiber type proportion in human skeletal muscle. *Federation of American Societies for Experimental Biology*, 1091-1095.
- Sulander T., Rahkonen, O., Helakorpi, S., Nissinen, A. & Uutela, A. 2004. Eighteen year trends in obesity among the elderly. *Age and Ageing* 33, 632-635.
- Sun, G., Ukkola, O., Rankinen, T., Joannisse, D. & Bouchard, C. 2002. *Metabolism* 51, 451-456.
- Tanner, C., Barakat, H., Dohm, G., Pories, W., McDonald, K., Cunningham, P., Swanson, M., Houmard, J., 2001. Muscle fiber type is associated with obesity and weight loss. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 282, 1191-1196.
- Toft, I., Bønaa, K., Lindal, S., Jenssen, T., 1998. Insulin Kinetics, Insulin Action, and Muscle Morphology in Lean or Slightly Overweight Persons With Impaired Glucose Tolerance. *Metabolism* 7, 848-856.
- Turpeinen, J.-P., Leppävuori, J., Heinonen, O., Kaila, K., Salo, J., Lilja, M., Kesäniemi, Y., 2006. Muscle fiber type I influences lipid oxidation during low-intensity

exercise in moderately active middle-aged men. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 16, 134-140.

Wade, A., Marbut, M., Round, J., 1990. Muscle fibre type and aetiology of obesity. *Lancet* 335, 805-08.

Yatsuya, H. 2007. Pathophysiologic Mechanisms of Obesity and Related Metabolic Disorders: An Epidemiologic Study using Questionnaire and Serologic Biomarkers. *Journal of Epidemiology* 17, 141-146.