

VOIMAHARJOITTELUN JA PROTEIINISUPPLEMENTAATION VAIKUTUS MYOSTATIININ JA SIIHEN LIITTYVIEN GEENIEN ILMENTYMISEEN NUORILLA JA VANHOILLA MIEHILLÄ

Hanna Salmijärvi

Pro Gradu – tutkielma

Liikuntafysiologia

LFYS008

Kevät 2008

Liikuntabiologian laitos

Jyväskylän yliopisto

Työn ohjaajat: Antti Mero,

Juha Hulmi, Heikki Kainu-

lainen

TIIVISTELMÄ

Salmijärvi, Hanna 2008. Voimaharjoittelun ja proteiinisupplementaation vaikutus myostatiinin ja siihen liittyvien geenien ilmentymiseen nuorilla ja vanhoilla miehillä. Liikuntafysiologian Pro gradu – tutkielma. Jyväskylän yliopisto. Liikuntabiologian laitos, 80s.

Myostatiini vaikuttaa luurankolihasen kasvuun negatiivisesti pääasiallisesti estämällä satelliittisolujen kypsymistä ja erilaistumista. Hypertrofiaolosuhteissa satelliittisolut jakautuvat ja luovuttavat lihassoluihin uusia tumia. Myogeeniset säätelytekijät MyoD ja myogeniini säatelevät satelliittisolujen kypsymistä ja erilaistumista. Riittävä proteiinin saanti on hypertrofialle välttämätöntä fyysisen suorituksen yhteydessä. Ikääntyminen aiheuttaa sarkopeniaa eli lihasmassan vähenemistä. Tätä voidaan kuitenkin huomattavasti ennalta ehkäistä säännöllisellä voimaharjoittelulla. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää miten pitkäaikainen voimaharjoittelu heraproteiinillä tai ilman vaikuttaa myostatiinin, myostatiinin sitojaproteiinin (FLRG) ja myostatiinin reseptoriproteiinin (aktiviini IIB) sekä solusykliä säatelevien tekijöiden (MyoD:n, myogeniinin, Cdk2:n, p21:n ja MAFbx:n) lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja ikääntyneillä miehillä.

Tutkimuksen koehenkilöinä oli 31 nuorta (ikä 19–34 vuotta) sekä 27 keski-ikäistä ja ikääntynyttä (ikä 52–72 vuotta) miestä. Nuoret ja ikääntyneet miehet jaettiin kolmeen ryhmään: proteiini (PROT), plasebo (PLA) ja kontrolli (KON). PROT- ja PLA-ryhmät osallistuivat 21 viikon voimaharjoittelujaksoon (ST) ja harjoittelivat kaksi kertaa viikossa. PROT-ryhmä nautti proteiinijuomaa (15 g heraa) ja PLA-ryhmä plasebojuomaa sekä ennen että jälkeen jokaista voimaharjoitusta. Ennen ja jälkeen ST:tä kaikilta koehenkilöiltä otettiin lihassolunäytteet sekä mitattiin konsentrisen ja isometrisen jalkaprässin sekä isometrisen penkkipunnerruksen maksimivoimat. Myostatiinin ja siihen liittyvien geenien (AcvrIIB, FLRG, p21, Cdk2, MyoD, myogeniini ja MAFbx) lähetti-RNA-tasot määritettiin reaaliaikaisella real-time RT-PCR:llä ja tulokset normalisoitiin GAPDH:n lähetti-RNA:n suhteen. Lihassolukoot sekä lihassolutyypit määritettiin antidystrofiini vasta-aineen avulla sekä histokemiallisella ATPaasi – värjäyksellä.

Lihassolujen keskiarvoiset pinta-alat kasvoivat nuorilla (54,4 %; 49,7 %) miehillä enemmän verrattuna vanhoihin (39,5 %; 28,8 %) miehiin PROT-ryhmillä lihassolutyypissä II ($p = 0,02$) sekä lihassolutyypeissä I ja II yhdistettynä ($p < 0,05$). PROT- ja PLA-ryhmillä yhdistettynä havaittiin, että nuorten (42,8 %; 49,7 %) miesten lihassoluhypertrofia oli merkitsevästi voimakkaampaa tyyppin I ($p = 0,04$) sekä tyypeissä I ja II yhdistettynä ($p = 0,04$) verrattuna vanhoihin (17,5 %; 22,7 %) miehiin. Isometrisen penkkipunnerruksen maksimitulos kasvoi merkitsevästi ($p < 0,01$) enemmän nuorilla (22,5 %; 22,5 %; 23,7 %) kuin vanhoilla (11,0 %; 8,0 %; 9,4 %) miehillä PROT -ryhmillä, PLA -ryhmillä ja PROT- ja PLA -ryhmillä yhdistettynä. Lähetti-RNA – tasojen muutoksissa 21 viikon seurantajakson aikana havaittiin ainoat tilastollisesti merkitsevät erot satelliittisolujen erilaistumista säatelevässä myogeniinissä. Myogeniinissä havaittiin merkitsevä lasku nuorilla PLA -ryhmässä ($p = 0,02$), mutta merkitsevä nousu vanhoilla PLA -ryhmässä ($p < 0,01$). Myostatiinissa havaittiin merkitsevä lasku nuorilla miehillä ($p = 0,04$).

Tämän tutkimuksen mukaan vanhoilla miehillä näyttäisi olevan heikompi vaste lihassoluhypertrofialle voimaharjoittelun seurauksena nuoriin miehiin verrattuna. Vanhojen miesten heikompi vaste lihassoluhypertrofialle on yhteydessä pienempään kasvuun MyoD:n lähetti-RNA -tasossa, voiman heikompaan kehittymiseen ja alhaisempaan proteiinin saantiin. Nuorilla miehillä havaittiin myös voimakkaampaa lihassoluhypertrofiaa tukeva lasku myostatiinin lähetti-RNA -tasossa.

Avainsanat: heraproteiini, hypertrofia, ikääntyminen, myostatiini, voimaharjoittelu

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ	2
SISÄLTÖ	3
SANASTO	6
1 JOHDANTO	7
2 PROTEIINIT	8
2.1 Proteiinien tehtävät	8
2.2 Aminohapot ja proteiinien rakenne	8
2.3 Aminohappojen sisäänotto luurankolihakseen	9
2.4 Proteiinien tarve fyysisen harjoittelun yhteydessä	10
2.5 Proteiinivalmisteet	11
3 SOLUSYKLI	12
4 HYPERTROFIA JA SEN SÄÄTELY	15
4.1 Lihaksen rakenne	15
4.2 Proteiinien synteesi ja hajoaminen	17
4.3 Satelliittisolut	18
4.4 Kasvutekijät	21
4.4.1 Myostatiini	21
4.4.2 IGF-1	24
4.5 Akt -signalointi	25
5 VOIMAHARJOITTELUN PITKÄAIKAiset VASTEET - HYPERTROFIA	26

5.1 Neuraaliset vasteet	26
5.2 Hypertrofiset vasteet	27
6 IKÄÄNTYMISEN VAIKUTUKSET VOIMAAN JA LIHAKSEN KOKOON	30
7 VOIMAHARJOITTEULUN VAIKUTUKSET MYOSTATIINIIN JA SIIHEN LIITTYVIIN GEENEIHIN	31
8 TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESIT	33
9 MENETELMÄT	34
9.1 Koehenkilöt	34
9.2 Koeasetelma	35
9.3 Kuntosaliharjoittelu	37
9.4 Aineiston keräys	38
9.4.1 Antropometria	38
9.4.2 Ravinto	38
9.4.3 Lihassolunäyte	38
9.4.4 Voimatestit	39
9.5 Aineiston analysointi	40
9.5.1 Ruokapäiväkirjat	40
9.5.2 Lihassolunäytteen analysointi	40
9.5.3 Maksimivoima	42
9.6 Tilastolliset menetelmät	42
10 TULOKSET	43
10.1 Voima	43
10.2 Ravinto	48
10.4 Lihassolukoko	49
10.5 Lihasten lähetti-RNA-tasot	51

10.5.1 Myostatiini	52
10.5.2 Aktiviini IIb -reseptori	53
10.5.3 FLRG	54
10.5.4 MyoD	55
10.5.5 Myogeniini	56
10.5.6 p21	57
10.5.7 Cdk2	57
10.5.8 MAFbx	58
10.5.9 Ryhmien väliset erot	59
11 POHDINTA	65
LÄHTEET	73

SANASTO

Akt	= protein kinase B
BMI	= painoindeksi, paino (kg)/(pituus (m)) ²
Cdk	= cyclin-dependent kinase
GDF-8	= growth and differentiating factor 8
hypertrofia	= lihasmassan lisääntyminen (tässä)
mTOR	= mammalian target of rapamycin
MyHC	= myosin heavy chain
myostatiini	= lihasmassan lisääntymistä negatiivisesti säätelevä tekijä
PI3K	= phosphatidylinositol 3-kinase
Rb	= retinoblastoma
sarkopenia	= lihasmassan väheneminen ikääntymisen myötä
ST	= voimaharjoittelujakso
TGF-β	= Transforming growth factor β
1RM	= yhden toistosuorituksen maksimitulos

1 JOHDANTO

Myostatiini on ollut viime vuosina runsaan tutkimuksen kohteena sen lihaksen kasvua negatiivisesti säätelevän roolinsa vuoksi. Alun perin karjaeläimillä havaitun massiivisen lihasten kasvun syyksi McPherron ym. (1997) todistivat myostatiinigeenin mutaation. Hiirillä toteutetussa poistogeenitutkimuksessa havaittiin, että huomattava hypertrofia johtuu nimenomaan myostatiinigeenin mutaatiosta. Myostatiinigeenin poisto aiheutti näillä hiirillä dramaattista sekä laajalle levinnyttä kasvua luurankolihasmassassa.

Satelliittisolut, lihaksen kantasolut, vastaavat lihassolujen tumien lukumäärän lisäämisestä, mikä näyttää olevan välttämätöntä lihaksen kasvun eli hypertrofian kannalta. Satelliittisolut aktivoituvat tarvittaessa ja ajautuvat solusykliin, jossa muodostetaan uusia tytärsoluja. (Rennie ym. 2004.) Myostatiini estää satelliittisolujen aktivoitumista, jakautumista ja erilaistumista. Satelliittisolujen aktivoitumisen estämiseen myostatiini vaikuttaa vähentämällä tiettyjen solusyklin käynnistymiseen vaadittavien proteiinien toimintaa ja lisäämällä solusykliä estävien säätelytekijöiden toimintaa. Satelliittisolujen erilaistumiseen myostatiini vaikuttaa estämällä myogeenisten säätelytekijöiden toimintaa. (Welle ym. 2006.)

Intensiivisen voimaharjoittelujakson aikana myofibrillien proteiinisynteesi lisääntyy harjoiteltavissa lihaksissa. Kun proteiinisynteesi on suurempaa kuin proteiinien hajoaminen, voi lihaksessa tapahtua hypertrofiaa. Tutkimuksissa on selkeästi osoitettu, että aminohappojen nauttiminen voimaharjoituksen yhteydessä joko vapaassa muodossa tai kokonaisina proteiineina on tärkeää hypertrofian kannalta, sillä liian vähäisen proteiinin saannilla proteiinien hajoaminen on voimakkaampaa kuin proteiinisynteesi eikä kehitystä pääse tapahtumaan. (Garfinkel & Carafelli 1992.) Erityisesti hera-/maitoproteiinien nauttiminen voimaharjoituksen jälkeen on osoittautunut kannattavaksi keinoksi lisätä lihaksen kasvua ja parantaa proteiinitasapainoa (Marshall 2004).

Sarkopenia on tunnettu ilmiö, jossa lihasmassa vähenee ikääntymisen myötä. Luurankolihas toimintakyky heikkenee, jolloin ikääntyvien itsenäisesti selviytyminen arkipäivässä hankaloituu. Täten on kansanterveydellisesti tärkeää selvittää mekanismeja, jotka aiheuttavat sarkopeniaa. Monet tutkimukset osoittavat, että ikääntyneiden säännöllinen

voimaharjoittelu nostaa maksimivoimaa sekä aiheuttaa lihassoluhypertrofiaa. Nuoriin verrokkeihin nähden absoluuttinen hypertrofia on pienempää ikääntyvillä, johtuen todennäköisesti ikääntyvien lihasten pienemmästä koosta. Ristiriitaista on, onko suhteellisessa hypertrofiassa eroa nuorten ja ikääntyvien välillä. (Folland & Williams 2007.)

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää miten pitkäaikainen voimaharjoittelu heraproteiinilisällä tai ilman vaikuttaa myostatiinin, myostatiinin sitojaproteiinin (FLRG) ja myostatiinin reseptoriproteiinin (aktiviini Iib) sekä solusykliä säätelevien tekijöiden (MyoD:n, myogeniinin, Cdk2:n, p21:n ja MAFbx:n) lähetti-RNA -tasoihin nuorilla ja ikääntyneillä miehillä. Tarkoituksena oli tutkia, miten pitkäaikainen voimaharjoittelu, proteiinilisällä tai ilman, vaikuttaa lihassoluhypertrofiaan nuorilla ja ikääntyneillä miehillä. Tutkimus on ainutlaatuinen laajuudeltaan käsittäessään monien eri kasvutekijöiden, lihassolukoon ja voiman muutosten seuranta pitkäaikaisen voimaharjoittelujakson ajan.

2 PROTEIINIT

2.1 Proteiinien tehtävät

Proteiinit toimivat hyvin monenlaisissa tehtävissä, kuten esimerkiksi monimutkaisten rakenteiden osina, solun kalvojen osina, kuljettajamolekyyleinä, hormoneina ja entsyymeinä. Proteiinien monimuotoisuus selittää pitkälti sen, miten solujen syntyminen on mahdollista. (Heino & Vuento 2004, 47.) Geneettinen informaatio, jonka DNA sisältää määrittää jokaisessa solussa tapahtuvan proteiinisynteesin laadun ja määrän. Syntetisoidut proteiinit taas ovat vastuussa muiden solun osien syntetisoinnista. Eri kudoksissa on eri proteiinikoostumus, joka määrittää kudoksen aineenvaihdunnallisen kapasiteetin. (Nelson & Cox 2000, 115–129.) Lihaskudoksessa proteiineja on noin 18 % ja loput käytännössä vettä. Lihaskudos onkin hyvin muuntautumiskykyinen. Se pystyy muuttamaan sen toiminnallisia, rakenteellisia ja aineenvaihdunnallisia ominaisuuksia vasteena aktiivatiolle ja/tai kuormitukselle. (Roy ym. 1991.)

2.2 Aminohapot ja proteiinien rakenne

Elimistössä on yhteensä 20 eri proteiinisynteesissä käytettävää aminohappoa sekä lisäksi niiden johdannaisia. Aminohapot voidaan jaotella välttämättömiin ja ei-välttämättömiin aminohappoihin (Taulukko 1). Välttämättömiä aminohappoja on yhdeksän erilaista. Niitä elimistö ei pysty itse tuottamaan, joten niitä tulee saada säännöllisesti ravinnosta. (Nelson & Cox 2000, 115–129.) Välttämättömiin aminohappoihin kuuluu myös haaraketjuiset aminohapot, leusiini, isoleusiini ja valiini. Leusiinilla on tärkeä rooli proteiiniaineenvaihdunnassa, sillä se toimii proteiinisynteesin translaation aloituksessa avainsignaalinä. (Ha & Zemel 2003.) Ei-välttämättömiä aminohappoja elimistö pystyy itse syntetisoimaan. Aminohapot koostuvat hiiliatomiin kiinnittyneestä aminoryhmästä (-NH₂), karboksyyliiryhmästä (-COOH), vedystä sekä kullekin aminohapolle ominaisesta sivuketjusta. Aminohapot ovat joko vapaina aminohappoina, pieninä ket-

juina muodostaen peptidejä, tai pitkinä monimutkaisina rakenteina, proteiineina. Proteiinit ova aminohapoista koostuvia makromolekyylejä. Niillä on kolmiulotteinen rakenne, konformaatio, jota tukevat useat heikot ja vahvat vuorovaikutukset. (Nelson & Cox 2000, 115–129.)

TAULUKKO 1. Välttämättömät ja ei-välttämättömät aminohapot (Nelson & Cox 2000, 637).

Välttämättömät aminohapot	Ei-välttämättömät aminohapot
Fenyylialaniini	Alaniini
Histidiini	Arginiini*
Isoleusiini	Asparagiini
Leusiini	Aspartaatti
Lysiini	Glutamaatti
Metioniini	Glutamiini
Treoniini	Glysiini
Typtofaani	Kysteiini
Valiini	Proliniini
	Seriini
	Tyrosiini

*Arginiini on välttämätön aminohappo nuorilla kasvuikäisillä, mutta ei aikuisilla

2.3 Aminohappojen sisäänotto luurankolihakseen

Liian suuren koon vuoksi aminohappojen kulkeutuminen solujen sisään ei onnistu passiivisella diffuusiolla. Näin ollen se tapahtuu fasilitoidun kuljetuksen tai aktiivisen kuljetusmekanismin avulla. Tässä kuljetusprosessissa insuliinilla ja kasvuhormonilla on tärkeä kuljetusta stimuloiva rooli. Solun sisällä vapaita aminohappoja ei ole paljoa, sillä aminohapoista syntetisoidaan solujen sisällä yleensä proteiineja. (Guyton & Hall 2000, 792–795.) Proteiinin määrä 70 kg painavalla miehellä on noin 12 kg ja vapaiden aminohappojen määrä (vapaa aminohappoallas) noin 200–220 g. Proteiinien ja vapaiden aminohappojen määrät ovat jatkuvan muutoksen kohteina, sillä proteiinien synteesiä ja hajoamista tapahtuu koko ajan. (Wagenmakers 2001.)

2.4 Proteiinien tarve fyysisen harjoittelun yhteydessä

Proteiini on yksi tärkeimmistä ravintoaineista. Aminohappojen tai proteiinien päivittäisen saannin tulisi edistää proteiinisynteesiä luurankolihasessa. Watt ym. (1992) raportoi sioilla toteutetussa tutkimuksessaan, että aminohappojen normaalia suurempi saanti stimuloi nettoproteiinisynteesiä lisäämällä aminohappojen kuljetusta lihassoluihin. Myös muissa tutkimuksissa on raportoitu, että kun aminohappojen saatavuus lisääntyy, kohenee myös luurankolihasen anabolisten tapahtumasarjojen aktiivisuus (Biolo ym. 1997).

Valtion ravitsemusneuvottelukunnan suositusten (2005) Suomessa käytetty suositus proteiinin päivittäiseksi saanniksi tavalliselle aikuiselle henkilölle on noin 10–15 % päivän kokonaisenergiasta. Järkevämpää on ilmaista proteiinien tarve suhteutettuna kehon massaan. Suomessa käytetty suositus on 0,8 g / kg. Fyysisesti aktiivisten proteiinin tarpeesta on kiistelty vuosia. Miehillä tehtyjen typpitasapainotutkimusten perusteella on arvioitu, että kestävyysurheilijoilla proteiinin tarve lisääntyy noin 50–75 % (0,8 g/kg → 1,2–1,4 g/kg) ja voimaharjoittelijoilla vastaavasti noin 100 % (0,8 g/kg → 1,6–1,8 g/kg). (Lemon 2000.) Raportoidut proteiinien saannit ovat luokkaa 150–250 g/päivä ja noin 14–20 % päivän kokonaisenergiasta (Maughan & Burke 2002, 31–32). Proteiinin tarve, typpitasapainotutkimuksilla määritettynä, ei ole sama asia kuin optimaalinen saanti. Onkin mahdollista, että typpitasapainon ylittävillä proteiinien saanneilla lihasten hypertrofia on suurempaa. Urheilijat tavoittelevatkin tasapainon sijaan edistymistä. Urheilijoita ajatellen tulee painottaa optimaalista saantia tarpeen sijaan. (Tarnopolsky ym. 1992.)

2.5 Proteiinivalmisteet

Proteiinivalmisteita on 1) kokonaisina proteiineina, joihin lukeutuvat esimerkiksi soija, maidon kaseiini ja hera, 2) proteiinihydrolysaatteina, jotka koostuvat di- ja tripeptideistä sekä vapaista aminohapoista ja 3) vapaina aminohappoina (Colgan 1993, 159). Heraproteiini, jota on tässä tutkimuksessa käytetty proteiinilisänä, kuuluu maitoproteiineihin. Maitoproteiinit voidaan jaotella 1) kokomaitoproteiineihin, 2) heraproteiineihin, 3) kaseiineihin tai kaseinaatteihin ja 4) ternimaitovalmisteisiin (Hoffman & Falvo 2004).

Yleisesti urheilijoiden käytössä olevia proteiinivalmisteita ovat muun muassa hera, kaseiini (kaseinaatti), ternimaitovalmisteet, soija ja yksittäiset aminohapot sekä niiden yhdistelmät. Erilaiset valmistustekniikat vaikuttavat muun muassa tuotteen sisältämän proteiinin määrään, kuinka hyvin kokonaiset proteiinit ovat säilyneet ja kuinka paljon tuote sisältää suojaravintoaineita, rasvaa, laktoosia ja tuhkaa. Markkinoilla on saatavissa sekä proteiinikonsentraatteja, -hydrolysaatteja että isolaatteja. (Hoffman & Falvo 2004.)

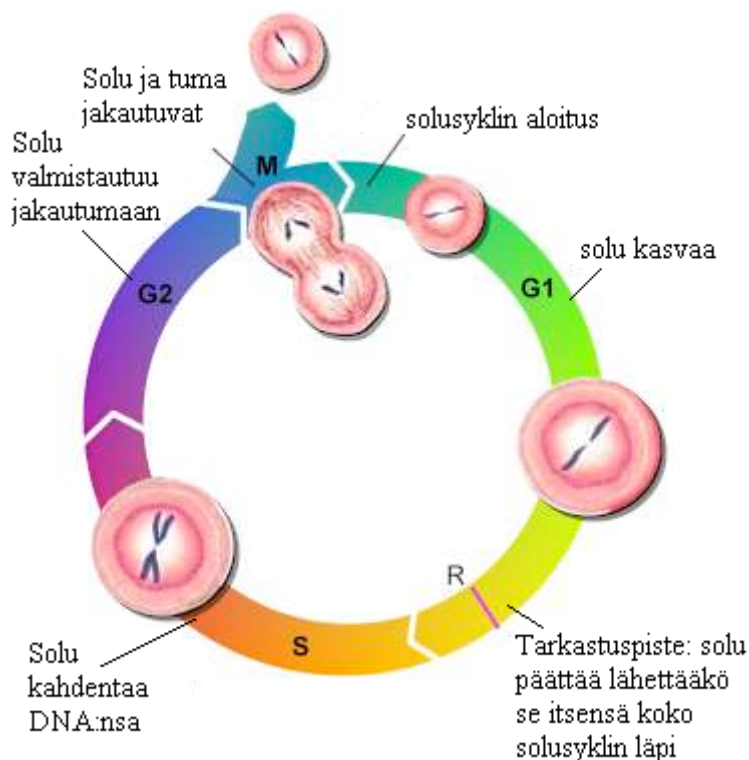
Heraproteiini oli alun perin juuston valmistuksessa syntyvä sivutuote, jonka ajateltiin olevan jätettä. Kun heran ravitsemukselliset sovellukset löydettiin, alettiin heraa tuottaa juuston valmistuksen yhteydessä käyttötuotteeksi. Hera on sekoitus useita eri proteiineja ja peptidejä, joita ovat muun muassa α -laktalbumiini, β -laktoglobuliini, immunoglobuliinit, lysosyyymi, laktoferrini, laktoperoksidaasientsyyymi, glykomakropeptidit, laktoosi ja mineraalit. Nimitys heraproteiini tai hera tarkoittaa siis yleensä useita eri heraproteiineja. Maidon proteiineista noin 20 % on heraa ja 80 % kaseiinia. (Marshall 2004.) Heran proteiineilla ja peptideillä on monia terveydelle edullisia vaikutuksia mm. immuniiteetin, painonhallinnan sekä oksidatiivisten vaurioiden ehkäisyn suhteen (Ha & Zemel 2003).

Heran välttämättömien aminohappojen pitoisuus on suuri. Lisäksi useimpiin muihin proteiininlähteisiin verrattuna herassa on runsaasti erityisesti välttämättömiä haaraketjuisia aminohappoja, leusiinia, isoleusiinia sekä valiinia. (Marshall 2004.) Leusiini on erityisesti keskeinen tekijä proteiinisynteesin translaation aloitusvaiheessa (Ha & Zemel 2003).

3 SOLUSYKLI

Solusykli on solun elämänvaihe, jonka aikana solu jakautuu kahdeksi uudeksi soluksi. Solusyklillä on kaksi päävaihetta. Ensimmäinen eli S vaihe kestää noin 10–12 tuntia ja tällöin solu kahdentaa DNA:nsa. Toinen vaihe, M vaihe on alle tunnin kestoinen ja pitää sisällään kromosomien erottelun, tuman jakautumisen eli mitoosin sekä solukomponenttien jakautumisen, sytokineesin. (Alberts ym. 2002, 984; Mooren & Völker 2005, 20.)

Solusyklissä on S- ja M vaiheiden lisäksi G_0 , G_1 ja G_2 vaiheet. G_0 vaihe on passiivinen tila, jossa kasvua ei tapahdu. G_1 ja G_2 ovat välivaiheita, joiden aikana tarvittavia komponentteja kuten RNA:ta, proteiineja ja entsyymejä syntetisoidaan ja kerätään käytettäväksi seuraavaa vaihetta varten. G_1 , S ja G_2 vaiheita kutsutaan yhteisnimellä välivaihe, kun taas M vaihe voidaan eritellä kuuteen alavaiheeseen, joilla jokaisella on oma morfologinen luonteensa (Kuvio 1). (Mooren & Völker 2005, 20.)



KUVIO 1. Solusykli (mukaeltu Mooren & Völker 2005, 20).

M vaiheen alavaiheet ovat profaasi, prometafaasi, anafaasi, telofaasi ja sytokineesi. Profaasin aikana kromosomit tiivistyvät sekä sentriolit alkavat liikkua tuman vastakkaisille puolille. Prometafaasin aikana mikrotubulukset muodostavat mitosisukkulan ja kromosomit kiinnittyvät siihen. Metafaasissa kromosomit asettuvat jakotasoon solun keskilinjaan. Anafaasissa tytärokromatidit vetäytyvät erilleen kohti solun vastakkaisia päitä. Telofaasissa tytärtumat syntyvät, kun tumakotelo muodostuu uudelleen. Lopputuloksena on sytokineesi, jossa kaksi geneettisesti identtistä tytärsolua muodostuu. (Mooren & Völker 2005, 20.)

Tarkoituksenmukaisen kasvun stimuloinnin jälkeen, G_0 solut voivat siirtyä solusyklin aikaiseen G_1 vaiheeseen. Samoin G_1 solut ilman ulkoista kasvustimulaatiota voivat poistua G_0 vaiheeseen. Kasvustimulaatio on oltava, jotta solu siirtyy G_1 vaiheeseen ja kasvaa. Stimulaatiota ei kuitenkaan enää tarvita kahden kolmanneksen G_1 vaiheesta jälkeen solusyklin etenemiseen. Tämä rajapiste jakaa solusyklin kasvutekijästä riippuvaan vaiheeseen (aikainen G_1 vaihe) sekä kasvutekijästä riippumattomaan vaiheeseen (myöhäisestä G_1 vaiheesta M vaiheeseen). Kun solu on saanut aloitusstimulaation, se voi suorittaa jäljellä olevan kasvusyklin mitooseen saakka ilman kasvutekijöiden tai mitogeenien läsnäoloa. (Mooren & Völker 2005, 20.)

Normaalisti solut eivät etene vaiheesta seuraavaan ellei aiemman vaiheen tapahtumia ole huolellisesti suoritettu loppuun. Solujen kulku läpi solusyklin on siis kontrolloitua. Kontrollointi tapahtuu asteittain. Solusyklissä on kaksi niin sanottua tarkastuspistettä: (1) G_1 vaiheesta S vaiheeseen sekä (2) G_0 vaiheesta M vaiheeseen. Solusykliä säätelevät tietyt proteiinit, joita kutsutaan sykliineiksi. Eri sykliinit ilmentyvät vain tietyssä vaiheessa solusykliä. Tällöin ne aiheuttavat muutoksen tarkoituksenomaisessa solusyklin vaiheessa. Ne myös aktivoivat seuraavassa vaiheessa tarvittavat proteiinit sekä oman tuhoutumisensa. (Alberts ym. 2002, 993; Heino & Vuento 2004, 251; Mooren & Völker 2005, 20.)

Sykliinien säätelytoiminta perustuu siihen, että ne sitoutuvat Cdk-proteiiniin (cyclin-dependent kinases, sykliineistä riippuvaiset kinaasit). Normaalisti Cdk-proteiinit ovat passiivisia, mutta yhdistyessään sykliiniin ne muodostavat aktiivisen sykliini/Cdk – yhdistymän. Solusyklin säätely tapahtuu tämän kinaasin fosforyloidessa solun proteiineja ja siten ohjaamalla niiden toimintaa. Aktiiviset sykliini/Cdk-yhdistymät fosforyloivat

kohdesolun kriittisiä seriini- ja treoriinikohtia kohdeproteiinissa, jotka stimuloivat geenien ilmentymistä. G_1 vaiheessa ilmentyvät sykliini D ja sykliini E, S vaiheesta aina M vaiheeseen asti ilmentyy sykliini A, ja M vaiheen sykliini on sykliini B. Sykliini-cdk –komplekseja säätelee sykliini- ja cdk-inhibiittorien vaihteleva ilmentyminen. Kaksi cdk-inhibiittoriperhettä on mukana solusyklin kontrolloinnissa. Cip/Kip perheeseen kuuluu p21 ja p27, jotka toimivat solusyklin eri kohdissa. Nämä cdk inhibiittorit ovat kohdentuneet cdk2:een, cdk4:een ja cdk6:een. Toiseen perheeseen kuuluu cdk4:n inhibiittori geenit (INK4), p16^{INKa} ja p19^{ARF}. (Mooren & Völker 2005, 20.)

Sykliini D/Cdk – yhdistymän tärkeimpiä tehtäviä on aloittaa solusyklin etenemisen kannalta tärkeän säätelyproteiinin, retinoblastoomaproteiinin (pRB) fosforyloiminen. Tämä proteiini säätelee solujen siirtymistä G_1 vaiheesta S vaiheeseen. Fosforyloitumattomassa muodossaan pRB on sitoutuneena E2F-nimisen transkriptiotekijään ja estää sen toimintaa. Kun E2F vapautuu pRB:stä fosforylaation seurauksena, se aktivoi sykliini E:n geenin ilmentymisen. pRB:n fosforyloituminen tehostuu sykliini E/cdk:n toimesta, ja näin ollen E2F-aktiivisuus lisääntyy edelleen. E2F aktivoi myös S vaiheessa tarvittavia geenejä, kuten sykliini A:ta. (Heino & Vuento 2004, 252.)

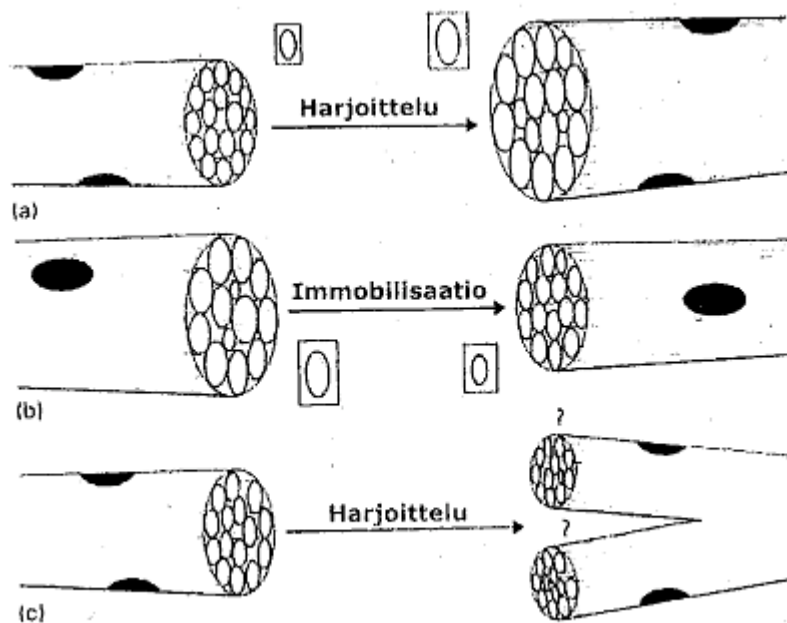
4 HYPERTROFIA JA SEN SÄÄTELY

4.1 Lihaksen rakenne

Luurankolihas koostuu lihassoluista, jotka ovat hyvin isoja, halkaisijaltaan noin 20–100 μm ja ulottuvat usein koko lihaksen päästä päähän. Lihassolut sisältävät satoja tuhansia tumia. Lihassolujen tumat ovat ellipsin muotoisia, noin 10 μm pitkiä ja ne sisältävät geneettisen informaation proteiinien synteesiä varten. Lihassolujen tuman lukumäärän on havaittu korreloivan lihassolukoon kanssa. (Thornell ym. 2003.) Lihassolut koostuvat saumamaisista supistuvista komponenteista, myofibrilleistä, jotka ovat halkaisijaltaan noin 1–2 μm , ja joita ympäröi sarkoplasminen kalvosto. Myofibrillit muodostavat sarkomeereja, jotka koostuvat järjestäytyneistä proteiinifilamenteista. Sarkomeerit puolestaan muodostuvat useista proteiineista, jotka ovat mukana joko suoraan lihassupistuksessa tai sitten rakenteellisina proteiineina. Lihassupistukseen osallistuvista proteiineista tärkeimpiä ovat aktiini ja myosiini. Aktiini- ja myosiiniproteiinifilamenttien välille muodostuu poikittaissiltoja luurankolihasen supistuessa. Aktiini- ja myosiinifilamentit liukuvat niin sanotusti lomittain toisiinsa nähden, mikä vaatii energiaksi ATP:tä. (Goldspink & Harridge 2003; Nelson & Cox 2005, 184–185.)

Luurankolihasiston kokonaisuus kehon painosta on noin 45 % terveillä aikuisilla miehillä ja noin 35 % terveillä aikuisilla naisilla. Kuitenkin esimerkiksi kehonrakentajilla suhteellinen osuus voi olla jopa 60 %, mikä todistaa, että luurankolihasistolla on suuri muuntautumiskyky. Se pystyy muuttamaan sen toiminnallisia, rakenteellisia ja aineenvaihdunnallisia ominaisuuksia vasteena aktivaatiolle ja/tai kuormitukselle. (Roy ym. 1991.) Kaikkiaan luurankolihaseseen kohdistuviin muutoksiin vaikuttavat mekaaniset, hormonaaliset ja ravitsemukselliset tekijät (Harridge 2007). Luurankolihasen adaptoituminen tarkoittaa, että lihas sopeutuu suoriutumaan sen tyyppisestä fyysisestä aktiivisuudesta, jota siltä vaaditaan (Goldspink & Harridge 2003). Kuvio 2 havainnollistaa luurankolihasen rakenteellista adaptoitumista erilaisiin tilanteisiin. Kohdassa a) kuvataan voimaharjoittelun seurauksena tapahtuvaa lihassolujen hypertrofiaa. Voimaharjoittelu aiheuttaa myös voiman kasvua, kun taas kestävyysharjoittelu tyypillisesti lisää mitokondrioiden ja kapillaarien tiheyttä lihaksessa vaikuttaen joko vähän tai ei ollenkaan

lihaksen kokoon (MacDougall 2003). Kohdassa b) kuvataan puolestaan tilannetta, jossa lihasta ei kuormiteta normaalisti esimerkiksi pitkittyneen vuodelevon tai immobilisaation takia. Tällöin tapahtuu lihaksen atrofiaa (lihaksen poikkipinta-ala pienenee lihassolujen pienentyessä) ja muun muassa sitä kautta myös lihasten heikkenemistä. Vaikutukset, joita kuormitus tai immobilisaatio aiheuttaa havaitaan spesifisti niissä lihaksissa, joita muutos koskee. (Harridge 2007.)



KUVIO 2. Voimaharjoittelun ja immobilisaation aiheuttama rakenteellinen adaptaatio lihassoluissa. a) harjoittelun aiheuttama lihassolujen koon kasvu, b) immobilisaation ja lihassolujen koon pienentyminen ja c) harjoittelun mahdollisesti aiheuttama lievä lihassolujen lukumäärän kasvu eli hyperplasia. (mukaeltu MacDougall 1986.)

Lihassolut eivät ole kaikki samanlaisia, vaan ne poikkeavat toisistaan nopeudessa, kestävyudessa sekä vahvuudessa. Lihassolutyyppejä voidaan määrittää niissä sijaitsevien myosiiniraskasketjuproteiinien (MyHC) eri isoformien avulla. Nisäkkäiden lihassoluista on löydetty tähän mennessä kymmenen MyHC isoformia. (Moss ym. 1995; Pette & Staron 1997.) Ihmisillä on havaittu olevan kolmea nopeaa lihassolutyyppiä (tyyppi Iia, tyyppi Iix ja tyyppi Iib) sekä yhtä hidasta lihassolutyyppiä, tyyppiä I (Smerdu ym. 1994). Tyyppin Iib lihassoluja on havaittu ihmisellä vain erittäin vähän ja harvoissa lihaksissa (Fitts & Widrick 1996). Tyyppi I on hitain, mutta kestävin. Tyyppi Iia on nopea ja melko kestävä. Tyyppi Iix on nopein ja vahvin, mutta nopeasti väsyvä (Pette 2002). Yleensä lihassolutyyppejä I, Iia ja Iix löytyy jokaisesta luurankolihaksesta, mutta niiden jakauma riippuu lihaksen toiminnallisesta roolista (Ross & Pawlina 2006, 283).

4.2 Proteiinien synteesi ja hajoaminen

Lihaskudos on suurin proteiinien varasto elimistössä, joten sillä on tärkeä tehtävä aineenvaihdunnallisena varastona. Erikoisolosuhteissa, kuten nälkiintymisessä tai kriittisessä sairaudessa, näitä lihaksen aineenvaihdunnallisia varastoja saatetaan tarvita. Suurin osa ihmisistä on typpitasapainossa eli lihasmassa pysyy lähes vakiona. Tällöin proteiinisynteesin ja proteiinien hajotuksen välillä vallitsee tasapaino. (Harridge 2007.) Lihashypertrofia vaatii positiivista proteiinitasapainoa, joka saavutetaan proteiinisynteesiä lisäämällä tai proteiinien hajotusta vähentämällä (Rennie ym. 2004).

Proteiineja syntetisoidaan vasteena kehon tarpeeseen. Tämä tapahtuu tumassa DNA-molekyylien sisältämän spesifin informaation eli geenin avulla. Geeni siis mielletään DNA-jouston toiminnalliseksi yksiköksi, joka sisältää yhden tai useamman proteiinilajin synteisiin tarvittavan informaation kyseisen proteiinin primaarirakenteesta. Proteiinisynteesin ensimmäinen vaihe eli transkriptio tapahtuu tumassa ja siinä muodostetaan lähetti-RNA:ta. DNA:n ohjaama RNA-polymeraasi muodostaa DNA-säikeelle RNA-kopion, sitten, että RNA:n emäkset muodostavat emäspareja DNA:n emästen kanssa. (Heino & Vuento 2007, 44–45.)

Toisessa vaiheessa, translaatiossa, siirtäjä-RNA kuljettaa solulimaan ribosomien pinnalle sellaisia aminohappoja, jotka vastaavat lähetti-RNA:n emäspätkää halutulle aminohapolle. Aminohappoketjua muokataan vielä translaation jälkeen. (Heino & Vuento 2007, 46–47.) Yleisesti ottaen transkriptio on erittäin tärkeä proteiinien synteesin säätelijä (Layman 2002). Luurankolihasproteiinisynteesiä rajoittava sekä lyhyen aikavälin säätelevä tekijä näyttää kuitenkin olevan translaatiovaihe, ja erityisesti sen aloitus (Welle ym. 1999; Gautsch ym. 1998). Lisääntyneen lihassyiden myofibrillien proteiinisynteesin tärkein välittävä tekijä näyttääkin olevan tehokkaampi lähetti-RNA:n translaatio proteiiniksi (Welle ym. 1999; Chesley ym. 1992).

Jo yksittäinen voimaharjoitus aloittaa adaptaatioprosessin luurankolihasmassassa. Pysyviä muutoksia varten tarvitaan toistuvaa voimaharjoitusten suorittamista. Proteiinisynteesi saattaa jopa heikentyä voimaharjoituksen aikana, mutta se nousee palautuksen aikana ja

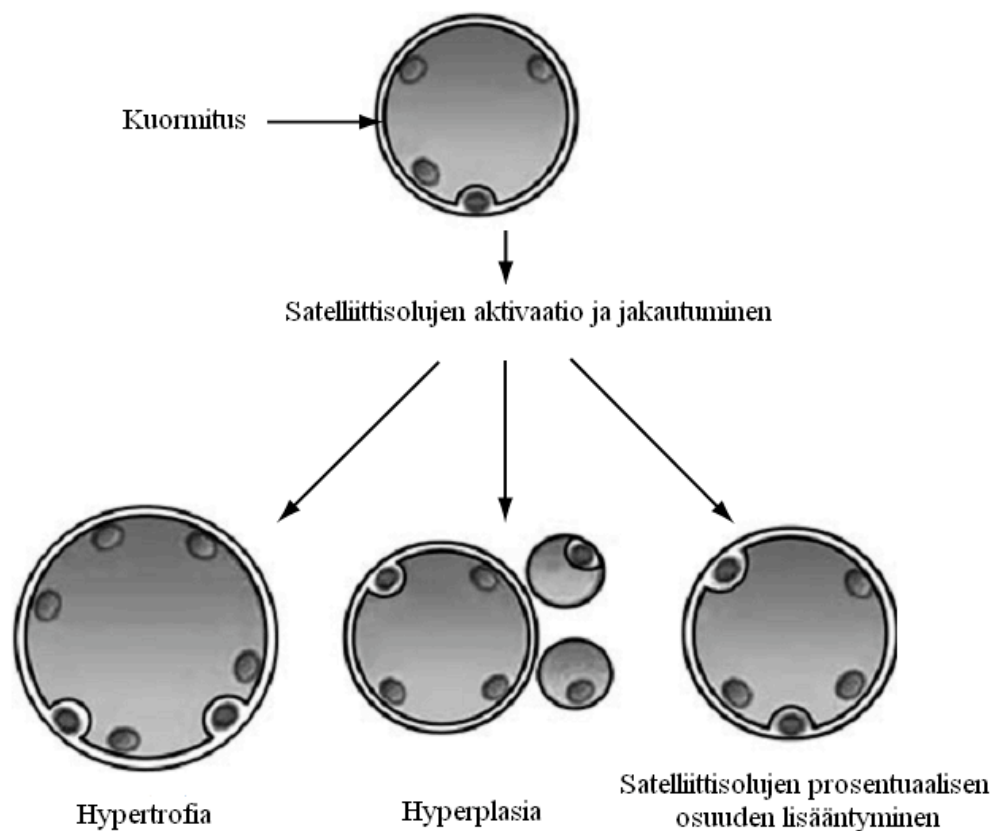
on koholla noin 24–48 tuntia kovan lihasmassan kasvuun tähtäävän voimaharjoituksen jälkeen. (Dreyer ym. 2006; MacDougall ym. 1995; Phillips ym. 1997.) Lihasproteiinien nettotasapainon (synteesi-hajotus) kannalta on tärkeää, että proteiinipitoista ravintoa saadaan voimaharjoituksen yhteydessä (Biolo ym. 1997).

Proteiinien hajotus koostuu lähinnä proteiinien hydrolyysistä alkuperäisiksi aminohapoiksi ja niiden jatkohajotuksesta. Proteolyttisiä eli proteiineja hajottavia entsyymejä tarvitaan proteiinien hajotuksessa. Proteiinien hyvälaatuisuus on tärkeää. Soluilla onkin useita valikoivia mekanismeja, joilla tuhotaan esimerkiksi synteesissä väärin laskostuneita tai myöhemmin vioittuneita proteiineja. Esimerkiksi paastotilassa proteiineilla on merkittävä tehtävä aminohappovarastoina. Näitä aminohappovarastoja voidaan hajottaa, mistä saadaan tuotettua tärkeää energiaa. Solujen proteiineja hajotetaankin aminohapoiksi ja korvataan uusilla proteiineilla jatkuvasti. Proteiinien hajotusta ei pidä ajatella pelkästään ”katabolisena”, lihasta surkastavana tapahtumana. Esimerkiksi voimaharjoituksen yhteydessä tutkimuksissa usein havaittu ilmiö on, että mitä enemmän voimaharjoitus aiheuttaa lihasproteiinien hajotusta, sitä enemmän niitä myös syntetisoidaan. (Tipton & Wolfe 2001.)

4.3 Satelliittisolut

On epäselvää, minkä mekanismin kautta joidenkin kasvutekijöiden lisääntynyt ilmentyminen aiheuttaa hypertrofiaa. Mutta todennäköistä on, että yksi osallinen tekijä on satelliittisolujen erilaistuminen ja kehittyminen. (Goldspink & Harridge 2003.) Lihaksen satelliittisolut ovat joukko erilaistumattomia yksitumaisia myogeenisiä soluja, jotka vastaavat syntymän jälkeisestä lihasten kasvusta (Chargè & Rudnicki 2004; McCroskery 2003). Ne ovat normaalissa vahingoittumattomassa lihaksessa mittoosin suhteen uinuvia, mutta tuottavat useita myogeenisiä markkereita (McCroskery 2003). Satelliittisolut sijaitsevat lihassolun ulkopinnalla tyvikalvon ja sarkolemman välissä. Niille ominaisia morfologisia piirteitä ovat suurempi tuma-syttoplasma – suhde, pienempi soluelinpitoisuus sekä pienempi tumakoko. (Chargè & Rudnicki 2004.) Uusien lihassolujen tumien pääasiallisena lähteenä ovat satelliittisolut (Rennie ym. 2004).

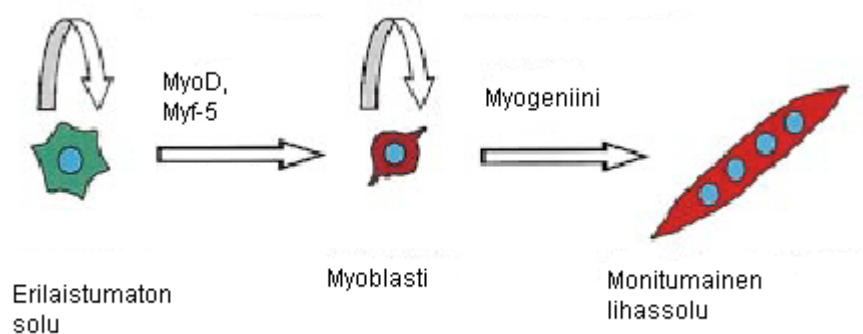
Useat tutkijat ovat havainneet, että ihmisen lihaksessa tuma-sytoplasma – suhde säilyy varsin muuttumattomana erilaisissa kasvuolosuhteissa. Ihmisen lihaksessa lihassolun tumien (myonuclei) lukumäärä ja lihassolun läpimitta korreloivat. Näyttää siis siltä, että yksittäinen tuma pystyy ylläpitämään kiinteän määrän sytoplasmamateriaalia. Tuma-sytoplasma – suhde näyttää olevan kaksinkertainen tyypin II lihassoluissa verrattuna tyypin I lihassoluihin. Eläinkokeilla on todistettu, että normaalin kasvun ja kehityksen aikana lihassolujen kasvu johtuu uusien tumien lisäämisestä, jotka saavat alkunsa satelliittisolupopulaatiosta. (Folland & Williams 2007.) Kadi ym. (1999a ja 1999b) osoittivat, että voimanostajien satelliittisolujen ja lihassolujen tumien lukumäärä oli suurempi verrattuna harjoittelemattomiin kontrolleihin. Folland ja Williams (2007) totesivat ihmistutkimusten perusteella, että aluksi hypertrofia johtuu lihassolujen tumien hallitsemman alueen kasvusta sekä näiden tumien sytoplasmisten proteiinien lisääntymisestä. Mutta, koska tuma-sytoplasma – suhde säilyy lihaksessa kasvuolosuhteissa muuttumattomana, tulee tumien lukumäärän kasvaa, jotta lihas pystyy jatkamaan kasvua. Nämä uudet lihassolujen tumat ovat peräisin satelliittisoluista (Kuvio 3).



KUVIO 3. Lihassolun tumien ja satelliittisolujen rooli luurankolihasen laajentumisessa (mukaeltu Thornell ym. 2003.)

Rosenblatt ja Parry (1992) esittivät satelliittisolujen aktivaation tarpeen lihashypertrofi-alle säteilytyksen avulla. Heikolla γ - säteilyllä blokattiin satelliittisolujen kypsyminen, jolloin lihaksen koko eikä lihassolujen tumien määrä kasvanut vasteena funktionaaliselle ylikuormitukselle rottien lihaksissa. Rajoittunut kypsymiskapasiteetti sekä satelliittisolujen määrän lasku normaalin ikääntymisen myötä saattaa ilmetä surkastumisena sekä heikkona uudelleen muodostumiskykynä (Rennie ym. 2004). Satelliittisolujen lukumäärän ei ajatella rajoittavan hypertrofiaa normaalissa luurankolihasessa edes ikääntyneillä, joskin kroonisilla anabolisten steroidien käyttäjillä saattaa satelliittisolujen määrä vaikuttaa hypertrofiaa rajoittavasti (Thornell ym. 2003).

Satelliittisolut aktivoituvat, kun lihas vaurioituu. Tällöin ne ajautuvat solusykliin ja tuottavat myogeenisiä säätelytekijöitä (myogenic regulatory factors, MRFs). Myogeeniset säätelytekijät ovat MyoD-perheeseen kuuluvia bHLH transkriptiotekijöitä, jotka ohjaavat satelliittisolujen aktivointia ja erilaistumista. MyoD-geeniperheeseen kuuluu useita samantapaisia geenejä. Poikkijuovaisessa lihaksessa olevat satelliittisolut määräytyvät joko MyoD- tai Myf-5 – geenin toimesta kehityslinjalle, jossa niistä muodostuu myoblasteja eli osittain erilaistuneita lihassoluja. Myogeeniini, joka on välttämätön lihassolujen erilaistumiselle, ohjaa myoblastien erilaistumista myosyyteiksi eli täysin erilaistuneiksi monitumaisiksi lihassoluiksi (Kuvio 4). (Heino & Vuento 2004, 293.)



KUVIO 4. Poikkijuovaisien lihassolujen erilaistumisen säätely (mukaeltu Heino & Vuento 2004, 293).

Hiirillä toteutetuissa myogeeniinin poistogeenitutkimuksissa on havaittu, että myogeeniinin kokonaan puuttuessa lihaksessa ei tapahdu mitään toiminnallista kehittymistä (Nabeshima ym. 1993; Olson & Klein 1993).

4.4 Kasvutekijät

4.4.1 Myostatiini

Myostatiini (growth and differentiation factor 8) on TGF- β -sytokiiniproteiinien luokkaan kuuluva lihaksen kasvua inhiboiva proteiini (McPherron ym. 1997). Lihaksen kasvua inhiboiva vaikutus perustuu ainakin osittain siihen, että se vähentää satelliittisolujen lisääntymistä ja erilaistumista. Näin ollen myös lihassolujen tumien määrä sekä proteiinisynteesi vähenevät (Welle ym. 2006). Myostatiini näyttää lisäävän myös proteiinien hajotusta (McFarlane ym. 2006). Myostatiinia on löydetty pääosin kehittyvästä lihaksesta, mutta eläinkokeiden perusteella myostatiinin lähetti-RNA:ta ja proteiinia on myös muissa kudoksissa (Joulija-Ekaza & Cabello 2006). Tämän hetken tietämyksen mukaan myostatiinin vaikutus näyttäisi olevan ainakin osittain endokriininen. Myostatiini siis erittyisi kudoksista, kuten lihaksesta, ensin vereen ja sieltä edelleen kohdekudoksiin, kuten luurankolihasiin ja rasvakudokseen. Ihmisillä veren kautta vaikuttavan myostatiinin rooli ei välttämättä ole yhtä tärkeä kuin joillain eläimillä, koska ihmisillä myostatiinin pitoisuus on tämän hetken tietämyksen mukaan pieni. (Hill ym. 2002.)

Myostatiini löydettiin alun perin karjaeläimiltä, joilla havaittiin huomattavaa lihasmassan kasvua. Näillä massiivisilla karjaeläimillä oli mutaatio myostatiinigeenin kohdalla (McPherron ym. 1997). McPherron ym. (1997) vahvistivat hiirillä toteutetussa poistogeenitutkimuksessa, että huomattava hypertrofia johtuu nimenomaan myostatiinigeenin mutaatiosta. Tästä lähtien myostatiinia on pidetty uutena ja ainutlaatuisena lihasmassan kasvua negatiivisesti säätelevänä tekijänä, koska myostatiini -/- hiirillä esiintyi dramaattista sekä laajalle levinnyttä kasvua luurankolihasen massassa. Luonnollisia myostatiinigeenin mutaatioita on havaittu karjaroduilla kuten Belgian Blue – rodulla. (McPherron ym. 1997.) Viime aikoina on osoitettu, että myös ihmisillä myostatiinigeenin mutaatiot ovat mahdollisia (Schuelke ym. 2004).

Lihasten kasvusta johtuvaa hiiren kehon massan kasvua aiheuttaa sekä myostatiinigeenin poisto että sen aktiivisuuden estäminen, jotka johtavat lihasten kasvuun (Joulija-Ekaza & Cabello 2006). McPherron ym. (1997) osoittivat, että homotsygoottiset myostatiinipoistogeeniset hiiret (myostatiini -/-) ovat 30 % suurempia heterotsygoottisiin

(toinen alleeli normaali) ja villeihin (molemmat alleelit normaaleja) verrokkeihin nähden 3-6 kuukauden ikäisinä. Luurankoliuksen massan kasvu oli homotsygoottisilla hiirillä levinnyt laajalti koko kehon alueelle. Yksittäiset lihakset painoivat 2-3 kertaa enemmän homotsygoottisilta hiirillä kuin heterotsygoottisilla hiirillä. Tutkimuksissa, joissa myostatiinigeenin aktiivisuus estettiin, havaittiin hiirten lihasmassassa merkittävää kasvua, mutta ei niin suurta kuin myostatiinipoistogeenisillä hiirillä tehdyissä tutkimuksissa (Lee & McPherron 2001; Yang ym. 2001).

Hiirillä on myös tutkittu, johtuuko myostatiinigeenin poistosta tai aktiivisuuden estämisestä aiheutuva luurankoliuksen kasvu hyperplasiasta vai hypertrofiasta. Histologiset analyysit myostatiinipoistogeenisistä hiiristä osoittavat, että suurin osa luurankolihasmassan kasvusta johtuu lihassolujen hyperplasiasta. (McPherron ym. 1997). Leen ja McPherronin (2001) mukaan sekä lihassolujen määrä (+ 40 %) että halkaisija (+ 21 %) kasvoivat. Monien tutkimusten yhteenvedona voidaan sanoa, että alhainen tai keskikertainen myostatiinigeenin inhibiittori aiheuttaa lihashypertrofiaa hiirillä, kun taas totaalinen myostatiinigeenin poisto johtaa myös hyperplasiaan (Joulia-Ekaza & Cabello 2006).

Myostatiinin sijoitusteoriit

TGF- β superperheen tunnusmerkit (signaalisekvenssi eritykselle, proteolyttinen prosessointikohta ja karboksi-terminaalinen alue, joka sisältää yhdeksän kysteiniiniähdettä) löytyvät kaikki myostatiinin rakenteesta. Kysteiniinisolmu onkin olennainen osa TGF- β perheeseen kuuluvan molekyylin toimintaa. Myostatiini on 376 aminohaposta syntetisoitunut proteiini, johon kuuluu signaaliketju, N-terminaalinen propeptidialue ja C-terminaalialue, joka on molekyylin aktiivinen osa. (McPherron ym. 1997.)

Vereen myostatiini vapautetaan mahdollisesti inaktiivisessa tilassa sitoutuneena myostatiinin propeptidiin (Lee & McPherron 2001). Noin 70 % myostatiinista on sitoutuneena seerumissa (Hill ym. 2002). Myös muut seerumin proteiinit pystyvät sitoutumaan myostatiiniin, ja näin ollen estämään sen välittömät vaikutukset. Myostatiinia siis esiintyy inaktiivisessa tilassa, jolloin se on sitoutuneena myostatiinin propeptidiin, FLRG:hen (follistatin-like related gene), GASP-1:een (growth and differentiationfactor-associated serum protein-1), hSGT:hen (human small glutamine-rich tetratricopeptide repeated-containingprotein), T-cap:iin tai follistatiiniin. (Joulia-Ekaza & Gabello 2006.)

Aktiivinen myostatiini sitoutuu aktiviini tyypin II reseptoriin (ActRIIB), joka sitten rekrytoi ja aktivoi transfosforylaation avulla tyypin I reseptorit (ALK4 ja ALK5). Tästä seuraa Smad2 ja Smad3 aktivointi. Nämä muodostavat yhdistelmän Smad4:n kanssa ja tämä yhdistelmä siirtyy sytoplasmasta tumaan, jossa se aktivoi kohdegeenin transkriptiota. Tällä signaalireitillä on havaittu olevan kaksi inhibiittoria, Smad7 ja Smurf1. (Joulia-Ekaza & Gabello 2006.)

Solusyklin kontrollointi ja myoblastien lisääntymisen estäminen

Riippumatta tutkimusmenetelmästä myostatiinin on todettu inhiboivan myoblastien kasvua. Myostatiinin vaikutuksen alaisena myoblastit kasaantuvat solusyklin G_0/G_1 ja G_2 vaiheisiin, ja näin ollen solujen määrä vaiheessa S vähenee. Cdk:t, niihin liittyvät sykliinit ja cdk-inhibiittorit (CKI:t) kontrolloivat solujen kehityskulkua solusyklin eri vaiheissa. Myostatiinin aikaansaama myoblastien kasaantuminen G_0/G_1 ja G_2 vaiheisiin on yhteydessä CKI p21:n lähetti-RNA:n ja proteiinien ilmentymisen lisääntymiseen, Cdk2-tasojen laskuun sekä retiniblastooman (Rb) hyperfosforyloidun muodon vähentämiseen. Cdk-inhibiittori p21 on osallisena solusyklin pysähtymisessä sekä G_1 että G_2/M vaiheisiin. CDK Rb on pääasiallisena lähteenä solusyklin G_1 vaiheessa. Se vaikuttaa sitoutumalla ja tukahduttamalla eräiden transkriptiotekijöiden (pääosin E2F-DP1 kompleksin) aktiivisuutta. Cdk:den avulla tapahtuva Rb:n fosforylaatio fysikaalisesti vapauttaa E2F-DP1:n tästä negatiivisesta rajoitteesta, jolloin S-vaiheelle spesifien geenien transkriptio on mahdollista. p21:n lisääntyminen inhiboiden Rb:n fosforylaatiota sykliini/cdk kompleksin avulla vastavaikuttaa Rb/E2F-DP1 jakaumaan. Näin ollen myostatiinin vaikutuksesta myoblastit kasaantuvat solusyklin G_0/G_1 vaiheeseen ja lakkaavat kasvamisesta. (Joulia-Ekaza & Gabello 2006.)

Myostatiinin vaikutusta lihasten erilaistumiseen on myös tutkittu. Myoblasteissa, joissa on myostatiinia normaalia enemmän, on havaittu monitumaisten myotuubien muodostumisen tukahtumista. (Joulia ym. 2003; Rios ym. 2002.) Myostatiinin vaikutuksen myoblastien erilaistumiseen, on havaittu olevan yhteydessä MyoD:een, myogeeniin ja Myf-5 proteiinin tasojen laskuun. (Joulia ym. 2003; Rios ym. 2002.)

4.4.2 IGF-1

Insuliininkaltaisella kasvutekijä 1:llä, IGF-1:llä, on akuutteja anabolisia vaikutuksia proteiini- ja hiilihydraattiaineenvaihduntaan sekä pitkäaikaisia vaikutuksia satelliittisolujen kasvuun sekä erilaistumiseen. IGF-1 on pieni, 70 aminohaposta koostuva peptidi, jonka erityis tapahtuu pääosin maksasta kasvuhormonin kontrolloimana. Myös muut kudokset, kuten lihaskudos, voivat erittää IGF-1:tä paikallisesti. (Harridge 2007; Mooren & Völker 2005, 295.) Rotilla suora IGF-1 infuusio aiheuttaa huomattavaa hypertrofiaa (Adams & McCue 1998). Colemanin ym. (1995) hiirillä toteutetussa tutkimuksessa suoran infuusion lisäksi lihaksen paikallisen lisääntyneen IGF-1:n tuoton havaittiin aiheuttavan merkittävää lihashypertrofiaa. Samoin useissa soluviljelytutkimuksissa, jotka on toteutettu hiirten tai rottien solulinjoilla, on todettu, että IGF-1 lisää lihassolujen poikkipinta-alaa, vähentää proteiinien hajoamista, lisää aminohappojen sisäänottoa luurankolihakseen sekä stimuloi proteiinisynteesiä. (Bodine ym. 2001b; Florini ym. 1996; Rommel ym. 2001.) Samankaltaisia hypertrofisia vaikutuksia on havaittu myös ihmisten soluilla tehdyissä IGF-1 tutkimuksissa: IGF-1:n on todettu lisäävän lihassolujen poikkipinta-alaa, tumien lukumäärää sekä MyHC:n määrää lihaksessa (Jacquemin ym. 2004).

IGF-1:tä erittyy luurankolihaksissa fyysisen harjoituksen ja/tai lihasvaurion ja hormonien stimuloimana. Ihmisen lihassoluissa on havaittu kolmea eri IGF-1:tä: IGF-1Ea:ta, IGF-1Eb:tä sekä MGF:ää (IGF-1c:tä). MGF:ää (mechano growth factor) ilmentyy mekaanisen ärsytyksen seurauksena. IGF-1Ea on samankaltainen IGF-1:n kanssa ja olennainen proteiinisynteesin lisäämisessä. IGF-1b:n merkitystä ihmisillä ei vielä tiedetä, mutta eläimillä tehdyssä tutkimuksessa se toimii kuten MGF. (Hameed ym. 2003; Goldspink & Harridge 2003; Harridge 2007.) IGF-1:n lähetti-RNA tasoissa on havaittu nousua välittömästi yhden sarjan kuormituksen jälkeen joissakin tutkimuksissa (Bamman ym. 2001; Hameed ym. 2003; Kim ym. 2005a), mutta toisissa ei (Hameed ym. 2003; Psilander ym. 2003). Vankkumattomampaa näyttöä on IGF-1 lähetti-RNA tasojen ja proteiini tasojen noususta pitkäaikaisen voimaharjoittelun tuloksena (Hameed ym. 2004; Kvorning ym. 2007; Petrella ym. 2006; Singh ym. 1999).

Rommel ym. (2001) osoittivat, että IGF-1 lisää proteiinisynteesiä aktivoimalla Akt/mTOR signaalintireitin aktiivisuutta. Myös mTOR:ista alavirranpuoleinen proteiinikinaasi p70^{S6K} on avainasemassa IGF-1:n signaloinnin säätelyssä (Baar & Esser

1999). IGF-1 vaikuttaa lihaksen kasvuun pleiotrofisesti, eli se aktivoi satelliittisolujen kypsymistä kiihdyttämällä niiden kehittymistä G₁- ja S-vaiheiden aikana, kasvattamalla proteiinisynteesiä, vähentämällä proteiinien hajoamista ja vähentämällä solukuolemia. IGF-I viestittää satelliittisolujen kypsymistä vähentämällä p27^{Kip1} proteiinin pitoisuutta aktivoimalla fosfatidyli-inositio 3'-kinaasin (P13K)/proteiini kinaasi B (PKB/Akt) signalointia. p27Kip1 kasvu inhiboi myös cdk2:ta, aiheuttaen myöhäisen G₁ -vaiheen pysähtymisen satelliittisolusykliissä. (Chakravarthy ym. 2000.)

4.5 Akt -signalointi

Akt/mTOR signalointireitti on ratkaiseva säätelijä lihaksen hypertrofiassa ja se voi estää lihaksen atrofiaa rotilla (Bodine ym. 2001a). Akt:lla (toiselta nimeltään PKB, protein kinase B) on siis havaittu olevan keskeinen rooli luurankoliuksen hypertrofian ja atrofian säätelyssä jyrsijöillä. Akt aktivoituu solunsisäisten signalointireittien seurauksena, joihin liittyy IGF-1 sekä PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase). Akt:n myötävirtainen kohde on GSK3 β (glycogen synthase kinase 3 β). Kun Akt fosforyloi GSK3 β :n, GSK3 β vapautuu inhiboimasta translaation aloitustekijää eIF2B:tä. Akt fosforyloi ja aktivoi myös mTOR:a (mammalian target of rapamycin), p70^{S6K}:ta sekä fosforyloi ja vapauttaa PHAS-1/4E-BP1:n estävistä vaikutuksistaan. p70^{S6K}:n fosforylointi aiheuttaa sellaisen reitin aktivoinnin, joka edistää proteiinisynteesiä kun taas PHAS-1/4E-BP1:n fosforylointi aiheuttaa sellaisen reitin aktivoinnin, joka edistää translaation aloitusta. Näin ollen sekä Akt/GSK3 β että Akt/mTOR signalointireitit ovat tärkeitä lihaksen hypertrofian kannalta. (Léger ym. 2006.) Soluviljelmä- ja jyrsijätutkimuksilla farmakologisia ja/tai geeni-inhibitio tekniikoita käyttäen on havaittu, että MAFbx:n ja MuRF1:n transkriptio-naalista säätelyä kontrolloi Akt/Foxo signalointireitti. MAFbx (toiselta nimeltään atrogin-1) ja MuRF1 ovat lihakselle spesifejä E3 ubikitiini ligaaseja, joilla on olennainen rooli lihaksen atrofiasa. (Latres ym. 2005, Sandri ym. 2004.) MAFbx:n ja MuRF1:n toiminnallinen merkitys atrofiasa on todennettu hiirien poistogeenitutkimuksella. Hiiret, joilta puuttui jompikumpi näistä geeneistä, pystyivät ylläpitämään lihasmassansa uudelleen hermotuksen jälkeen. Myös MAFbx:n ja MuRF1:een vaikuttavat (AKT/Foxo -signalointireitti) Foxo – proteiinit on havaittu merkityksellisiksi. (Bodine ym. 2001b.)

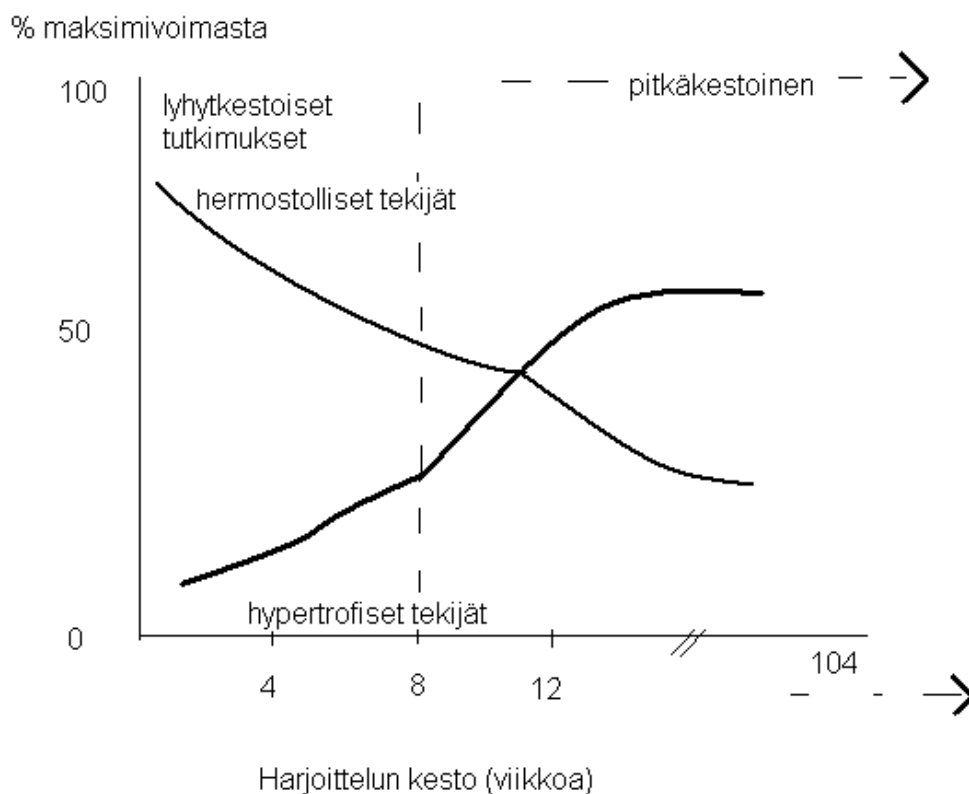
5 VOIMAHARJOITTELUN PITKÄAIKAISET VASTEET - HYPERTROFIA

Kuvantamismenetelmillä, kuten magneettikuvaus, tietokonetomografia ja ultraääni, on havaittu, että jo muutamien kuukausien säännöllinen voimaharjoittelu aiheuttaa lihasten koon kasvua eli lihashypertrofiaa (Folland & Williams 2007). Voimaharjoittelu harjoittelemattomilla saa ensin aikaan nopeaa voimatason nousua, joka johtuu pääosin hermostollisesta kehitymisestä. Hermostollisen kehitysvaiheen jälkeen lihasten kasvu eli lihashypertrofia on jo mittausmenetelmien avulla mahdollista havaita. Pitkäkestoisella 8-12 viikon säännöllisellä voimaharjoittelulla on havaittu olevan lihaksen anatomista poikkipinta-alaa kasvattavaa vaikutusta. (Garfinkel & Carafelli 1992, Housh ym. 1992, Tracy ym. 1999, Abe ym. 2000.) Voimakkaan vastusharjoittelujakson aikana myofibrillien proteiinisynteesi lisääntyy harjoiteltavissa lihaksissa. Kun proteiinisynteesi on suurempaa kuin proteiinien hajoaminen, voi lihaksessa tapahtua hypertrofiaa. Ravitsemus on oleellista voimaharjoittelun yhteydessä sillä muuten proteiinisynteesi on vähäisempää kuin proteiinien hajoaminen eikä kehitystä pääse tapahtumaan.

Hypertrofia on voimakkainta harjoittelun kahden ensimmäisen kuukauden ajan. Tämän jälkeen lihashypertrofia tasaantuu tai hidastuu. (Narici ym. 1996.) Kehonrakentajilla toteutetussa harjoittelututkimuksessa 24 viikon hauislihasharjoittelujakson aikana kehonrakentajien hauislihaksen anatomisessa poikkipinta-alassa ei tapahtunut muutosta (Alway ym. 1992).

5.1 Neuraaliset vasteet

Voimaharjoittelu aiheuttaa harjoittelemattomalle ensimmäisten 2-8 harjoitteluviikon aikana voimatason nousua. Tämä johtuu erityisesti siitä, että kyky aktivoida motorisia yksiköitä paranee harjoittelun alkuvaiheessa. Harjoittelija oppii käyttämään voimaa paremmin erilaisissa vastusharjoitteissa. Harjoittelun alussa onkin voimantuoton kasvun todettu johtuvan pääosin lihaksen tahdonalaisen aktivoinnin kasvamisesta (Kuvio 5). (Kraemer ym. 1996.)



KUVIO 5. Teoreettinen malli voimaharjoittelun hermostollisista ja hypertrofisista tekijöistä (mukaeltu lähteestä Kraemer ym.1996).

5.2 Hypertrofiset vasteet

Lihasmassan kehittäminen ja ylläpito riippuu kuuden tekijän vuorovaikutuksesta: 1) genetiikka 2) fyysinen aktiivisuus 3) ravitsemus 4) kasvutekijät ja hormonaaliset tekijät 5) hermoston aktivointi ja 6) ympäristötekijät. Lihasta tulee ylikuormittaa, jotta hypertrofiaa voi tapahtua. Iällä ei ole todettu olevan suurta merkitystä lihassolujen harjoitusaптаatiolle. Lihasten on todettu vastaavan harjoitteluun hypertrofisesti käytännössä samalla tavalla vanhoilla kuin nuorillakin. (McArdle ym. 2001, 529–533.)

Proteiinisynteesi. Voimakkaan vastusharjoittelujakson aikana myofibrillien proteiinisynteesi lisääntyy harjoitettavissa lihaksissa. Huippunsa proteiinisynteesi saavuttaa

mahdollisesti noin 24 tuntia harjoituksen jälkeen, mutta se pysyy kiihtyneenä 36–48 tuntia. Proteiinien hajoamista tapahtuu samaan aikaan proteiinisynteesin kanssa, mutta suhteellisesti vähemmän kuin proteiinisynteesiä. Yhteisvaikutuksena on, että proteiinitasapaino kasvaa. Kiihtynyt proteiinisynteesi johtuu pääosin tehostuneesta lähetti-RNA:n translaatiovaiheesta. (MacDougall 2003.) Proteiinisynteesin kiihtymisen vuoksi kasvaa myofibrillien pinta-ala ja lukumäärä, mutta myofibrillien pakkaustiheydessä ei tapahdu muutosta (MacDougall 1986).

Sidekudos. Koko lihaksen poikkipinta-ala kasvaa, kun yksittäisten lihassolujen koko kasvaa. Yksittäisen lihassolun kasvu johtuu myofibrillien koon ja määrän kasvusta. Poikkipinta-alan kasvuun vaikuttaa lihassolun kasvun lisäksi myös lihaksen sidekudoksen kasvu. (Häkkinen 1990, 73.) Sidekudoksen kasvu on kuitenkin vain pienenä osana lihaskasvua, sillä sen määrä lihaksessa on noin 13 %, joten sen kapasiteetti vaikuttaa lihaskoon kasvuun on tämän takia vähäinen (MacDougall ym. 1984).

Ravitsemus ja hormonit hypertrofiassa. Proteiinitasapainon paraneminen lihasharjoituksessa todettiin jo edellä. Kuitenkin jos ravintoaineiden saanti on puutteellista, proteiinitasapaino pyysyy negatiivisena eli katabolisena lihasharjoituksesta huolimatta. Aminohappojen saatavuus on erityisen tärkeää. Näin voidaan maksimoida proteiinisynteesin stimulointi ja tuottaa suurta lihasanaboliaa. Proteiinisynteesiä ja hypertrofiaa säätelevät hormoneista erityisesti insuliini ja testosteroni. Insuliini inhiboi proteiinien hajoamisen lisääntymistä. Proteiinisynteesissä insuliinilla on niin sanotusti salliva rooli. Harjoitusta ennen tulisi saada hiilihydraatteja ja aminohappoja, sillä harjoituksen aikana verenkierto lisääntyy ja aminohapot pääsevät tällöin nopeasti rakennusaineiksi. Juuri ennen harjoitusta nautitut hiilihydraatit ja aminohapot ovatkin tämän syyn takia havaittu tehokkaammiksi kuin heti harjoituksen jälkeen nautitut. (Tipton & Wolfe 2001.)

Lihassoluhypertrofia. Ihmistutkimuksissa lihassoluhypertrofiaa voidaan ainoastaan arvioida lihassolunäytteitä ottamalla, ja tämän vuoksi raportoidut tulokset ovat hyvin vaihtelevia keskimääräisestä lihassoluhypertrofiasta pitkäaikaisen voimaharjoittelun seurauksena. (Folland & Williams 2007.) Hypertrofiaa voidaan havaita sekä hitaissa että nopeissa lihassoluissa. Tutkimuksissa suhteellinen nopeiden eli tyypin II lihassolujen hypertrofia on yleensä ollut suurempaa kuin hitaiden eli tyypin I lihassolujen hypertrofian voimaharjoittelun seurauksena. (MacDougall 2003.) Lihassolujen hypertrofia

kasvattaa myös lihaksen poikkipinta-alaa, mikä parantaa lihaksen maksimivoimaa (Häkkinen 1990, 56–60). Kuuden kuukauden hauislihasharjoittelu kasvatti tyyppin I lihassoluja 27 % ja tyyppin II lihassoluja 33 % (MacDougall ym. 1980), kun taas 14 viikon hauislihasharjoittelu aiheutti keskimäärin 16 % lihassolukasvun (Aagaard ym. 2001). Syitä raportoitujen tulosten vaihteluun voi olla lihassolunäytteiden näytteenottokohdan vaihtelu, yksilöllinen vaste harjoitteluun sekä erot harjoittelun ärsykeissä (Folland & Williams 2007).

Hyperplasia. Ihmisillä hyperplasiaa ei ole pystytty todistamaan menetelmällisten vaikeuksien vuoksi, mutta joissain eläintutkimuksissa harjoittelun seurauksena tapahtuneesta hyperplasiasta on näyttöä (Fleck & Kraemer 2004, 83).

6 IKÄÄNTYMISEN VAIKUTUKSET VOIMAAN JA LIHAKSEN KOKOON

Lihasmassan väheneminen ikääntymisen myötä on tunnettu ilmiö (sarkopenia). Koska luurankolihasiston toiminnan heikkeneminen aiheuttaa heikkoutta, työkyvyttömyyttä sekä estää ikääntyneitä selviämään itsenäisesti, on tärkeää ymmärtää solutason ilmiöt, jotka johtavat ikääntyvien toiminnan häiriöihin. Yksilöllisen vaihtelun on todettu olevan suurta ja yksimielisyyteen ikääntymisen vaikutuksista luurankolihasien rakenteeseen ja toimintaan ei ole päästy. (Thornell ym. 2003.)

Voima saavuttaa huippunsa 20–30 vuoden iässä ja säilyy muuttumattomana tai laskee hieman siitä eteenpäin seuraavat 20 vuotta. Iän tästä lisääntyessä alkaa jyrkempi lasku maksimaalisessa voimassa sekä miehillä että naisilla. (Frontera ym. 1991, Häkkinen & Häkkinen 1991, Narici ym. 1991, Porter ym. 1995, Häkkinen ym. 1996, Häkkinen ym. 1998a.) Kolmestakymmenestä ikävuodesta kahdeksankymmeneen ikävuoteen lasku maksimaalisessa voimassa on jopa 30–40 %. Ikään sidonnainen lasku maksimaalisessa voimassa vaihtelee hieman lihasryhmittäin. Alaraajojen lihasten voiman lasku näyttäisi olevan suurempaa kuin yläraajojen. Tämä johtunee siitä, että alaraajojen käyttäminen vähenee enemmän kuin yläraajojen vanhoilla ikäryhmillä. (Frontera ym. 1991.)

Useat tutkimukset kuitenkin osoittavat, että ikääntyvien sarkopeniaa voidaan estää. Voimat kehittyvät ikääntyneillä säännöllisen voimaharjoittelun myötä. Monet tutkimukset osoittavat, että ikääntyneillä (60–98 -vuotiailla) voimat kehittyvät jopa kaksi kertaa viikossa harjoiteltaessa sekä miehillä että naisilla. (Häkkinen 2003.) Vasteena voimaharjoittelulle ikääntyvillä on havaittu useiden tutkimusten perusteella lihashypertrofiaa (Harridge ym. 1999, Häkkinen ym. 1998b, Tracy ym. 1999). Nuoriin verrokkeihin nähden absoluuttinen hypertrofia on pienempää ikääntyvillä, johtuen todennäköisesti ikääntyvien lihasten pienemmästä koosta. Ristiriitaista on, onko suhteellisessa hypertrofiassa eroa nuorten ja ikääntyvien välillä. (Folland & Williams 2007.) Petrella ym. (2006) tutkivat voimaharjoittelun vaikutuksia lihassoluhypertrofiaan nuorilla ja vanhoilla miehillä. Nuorilla miehillä lihassoluhypertrofia oli kaksinkertainen vanhoihin miehiin verrattuna.

7 VOIMAHARJOITTEULUN VAIKUTUKSET MYOSTATIINIIN JA SIIHEN LIITTYVIIN GEENEIHIN

Voimaharjoittelun vaikutusta myostatiinin lähetti-RNA -tasoihin on tutkittu. Yhdeksän viikon konsentrisen voimaharjoittelun yhteydessä havaittiin laskua myostatiinin lähetti-RNA ilmentymisessä. Myostatiinin lähetti-RNA -taso laski 37 %:a nuorilla sekä vanhoilla miehillä ja naisilla. (Roth ym. 2003.) Kymmenen viikon hypertrofinen eksentris-konsentrinen voimaharjoittelujakso aiheutti 18–45 -vuotiailla miehillä verenkierron myostatiinipitoisuuden laskua (keskimäärin 20 %), mutta ei muutosta anabolisista ominaisuuksista tunnetussa IGF-1 verenkierron pitoisuuksissa. Osalla koehenkilöistä (n = 11) harjoittelu kohdistui koko kehoon ja osalla (n = 6) pelkästään hauislihakseen, mutta harjoittelun vaikutukset myostatiiniin olivat molemmilla ryhmillä hyvin samankaltaisia. (Walker ym. 2004.) Kimin ym. tutkimuksessa (2007) 16 viikkoa kestävä voimaharjoittelu vähensi myostatiinin lähetti-RNA-tasoa 52 %. Laskua oli havaittavissa kaikilla koehenkilöillä lihasten hypertrofian määrästä riippumatta. Mukana tutkimuksessa oli nuoria sekä vanhoja, naisia ja miehiä. Tutkimuksessa myostatiinin proteiinitasoa seerumissa ja lihaksessa ei pystytty ennustamaan lähetti-RNA-tasojen perusteella. Yhteyttä voimaharjoittelun aiheuttaman lihasten kasvun ja lähetti-RNA -tasojen välillä ei myöskään havaittu.

Myös rotilla toteutetussa lyhykestoisessa tutkimuksessa neljän päivän sekä konsentrisen, eksentrisen että isometrisen hermostimulaation avulla aiheutettu voimaharjoittelu vähensi myostatiinin lähetti-RNA tasoa merkitsevästi (2–8-kertaisesti) sekä kohotti IGF-IEa:n ja MGF:n lähetti-RNA tasoa merkitsevästi. Tässä tutkimuksessa havaittiin, että eksentrisellä harjoittelulla on suurempi potentiaali aiheuttaa myostatiinin ilmentymisen laskua verrattuna konsentriseen harjoitteluun. (Heinemeier ym. 2007.)

Willoughby (2004a ja 2004b) päinvastoin raportoi, että kovaintensiteettinen voimaharjoittelu (12 viikkoa, 3 kertaa viikossa, sisältäen sekä eksentristä että konsentrista harjoittelua) aiheuttaa kasvua myostatiinin lähetti-RNA:n ja proteiinin ilmentymisessä sekä lisää seerumin myostatiinin määrää. Tähän liittyi myostatiinin sitojaproteiinin FLRG:n tason nousua veressä, joka luultavimmin estää myostatiinia sitoutumasta aktiviini IIB -

reseptoriin. Näin ollen myostatiinin kulkureitti keskeytyisi ja kohdegeenin transkriptiota ei pääsisi tapahtumaan.

Wagnerin ym. (2002) ja Whittermoren ym. (2003) tutkimuksissa myostatiinin puutteesta aiheutunut lihasmassan kasvu ei aiheuttanut suhteessa kasvuun samansuuruisia voiman lisäystä. Hiirillä tehdyssä tutkimuksessa jopa havaittiin, että myostatiinin puute heikentää voimantuottoa (Amthor ym. 2006). Vinttikoirilla myostatiinin mutaatiolla havaittiin kuitenkin positiivinen vaikutus urheilupäätökseen (Mosher ym. 2007), jossa jo yhden toimivan myostatiinialleelin menetys paransi merkittävästi sprinttisuoritusta.

8 TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESEIT

Tutkimuksen tarkoitus. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää miten pitkäaikainen voimaharjoittelu heraproteiinilisällä tai ilman vaikuttaa myostatiinin, myostatiinin sitojaproteiinin (FLRG) ja myostatiinin reseptoriproteiinin (aktiviini Iib) sekä solusykliä säätelevien tekijöiden (MyoD:n, myogeniinin, Cdk2:n, p21:n ja MAFbx:n) lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja ikääntyneillä miehillä. Tarkoituksena oli tutkia, miten pitkäaikainen voimaharjoittelu, proteiinilisällä tai ilman, vaikuttaa lihassoluhypertrofiaan nuorilla ja ikääntyneillä miehillä.

Tutkimusongelma 1. Miten voimaharjoittelu vaikuttaa myostatiinin, myostatiinin sitojaproteiinin FLRG:n ja myostatiinin reseptoriproteiinin aktiviini Iib:n, solusykliä säätelevien tekijöiden (MyoD:n, myogeniinin, Cdk2:n ja p21:n) sekä atrofiaproteiinin MAFbx:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla miehillä vanhoihin verrattuna?

Hypoteesi 1. Pitkäaikainen voimaharjoittelu aiheuttaa myostatiinin lähetti-RNA -tason laskua ja/tai myostatiinin sitojaproteiinin FLRG:n lähetti-RNA – tason nousua (Roth ym. 2003; Walker ym. 2004; Kim ym. 2007; Willoughby 2004a ja 2004b).

Tutkimusongelma 2. Miten voimaharjoittelu yhdistettynä heraproteiinilisän käyttöön vaikuttaa myostatiinin, myostatiiniin sitotuja proteiinin FLRG:n ja myostatiinin reseptoriproteiinin aktiviini Iib:n, solusykliä säätelevien tekijöiden (MyoD:n, myogeniinin, Cdk2:n ja p21:n) sekä atrofiaproteiinin MAFbx:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla miehillä vanhoihin verrattuna?

Hypoteesi 2. Proteiinien nauttiminen voimaharjoittelun aikana vaikuttaa myostatiinin ja cdk2:n lähetti-RNA -tasojä nostavasti akuutin tutkimusnäytön perustella ihmisillä (Hulmi ym. 2008.)?

Tutkimusongelma 3. Miten maksimivoima kehittyy nuorilla miehillä vanhoihin nähden?

Hypoteesi 3. Nuorten miesten maksimivoiman suhteellinen kehittyminen on suurempaa vanhoihin nähden (Petrella ym. 2006).

9 MENETELMÄT

9.1 Koehenkilöt

Tutkimuksen koehenkilöinä oli 27 vanhaa miestä sekä 31 nuorta miestä. Koehenkilöillä ei ollut aiempaa taustaa säännöllisestä voimaharjoittelusta, mutta muuta aiempaa liikunnallista taustaa ei kontrolloitu. Kaikki koehenkilöt olivat terveitä ja vapaaehtoisesti tutkimuksessa mukana ja olivat antaneet kirjallisen suostumuksensa tutkimukseen, jonka paikallinen yliopiston eettinen toimikunta oli hyväksynyt. Koehenkilöt olivat tietoisia kaikista tutkimuksen aiheuttamista riskeistä ja haitoista. He tiesivät myös, että he saivat keskeyttää tutkimuksessa mukanaolon missä tahansa vaiheessa ilman minkäänlaisia jälkiseuraamuksia. Tutkimus suoritettiin Helsingin julistusta (Declaration of Helsinki) noudattaen.

Koehenkilöiden valintakriteerit olivat seuraavat 1) ei aiempaa säännöllistä voimaharjoittelustaustaa, 2) pystyi sitoutumaan kuuden kuukauden kestoiseen tutkimukseen, 3) ikä 19–34 tai yli 50 vuotta, 4) pituus 165–185 cm, 5) paino 60–90 kg, 6) BMI < 30, 7) ei kasvissyöjiä, 8) ei säännöllisiä ravintolisien tai farmakologisten aineiden käyttäjiä, 9) ei neuromuskulaarisia tai kardiovaskulaarisia sairauksia. Taulukossa 2 on esitetty nuorten miesten taustatiedot ryhmittäin. Ennen 21 viikkoa kestävästä voimaharjoittelututkimuksesta kaikki vanhat miehet kävivät lääkärintarkastuksessa, eikä kellekään heistä ollut vasta-aiheita suorittaa raskasta voimaharjoittelua.

Tutkimuksen koehenkilöinä olleet vanhat miehet olivat keski-ikäisiä tai ikääntyneitä (ikä 57–72 vuotta). Nuoret miehet olivat iältään 19–34 vuotta. Nuoret ja vanhat miehet arvottiin erillisiin heraproteiini-, plasebo- ja kontrolliryhmiin, siten että ryhmät olivat tasaisia iän, kehonpainon ja jalkaprässin 1RM-tuloksen suhteen (Taulukko 2).

TAULUKKO 2. Koehenkilöiden taustatiedot ryhmittäin (keskiarvo \pm keskihajonta SD).

	Muuttuja	Proteiiniryhmä	Plaseboryhmä	Kontrolliryhmä
Nuoret	n	11	10	10
	Ikä (vuotta)	25,0 \pm 5,2	27,2 \pm 3,0	24,9 \pm 2,7
	Paino (kg)	76,1 \pm 7,6	74,7 \pm 8,5	75,7 \pm 8,1
	Pituus (cm)	182,2 \pm 6,2	181,0 \pm 5,8	182,6 \pm 4,8
	Jalkaprässin maksimivoima suhteessa omaan painoon (kg/kg)	2,1 \pm 0,4	2,2 \pm 0,4	2,2 \pm 0,4
Vanhat	n	9	9	9
	Ikä (vuotta)	61,4 \pm 4,3	62,1 \pm 4,2	66,5 \pm 7,1
	Paino (kg)	85,8 kg \pm 9,4	79,6 \pm 3,2	72,1 \pm 9,8
	Pituus (cm)	176,1 \pm 5,7	176,7 \pm 3,2	170,0 \pm 6,8
	Jalkaprässin maksimivoima suhteessa omaan painoon (kg/kg)	2,4 \pm 0,6	2,3 \pm 0,2	2,1 \pm 0,3

9.2 Koeasetelma

Tutkimukseen kuuluvat mittaukset tehtiin Jyväskylässä liikuntabiologian laitoksen laboratorioissa Vivecalla sekä Keski-Suomen magneettikeskuksessa Jyväskylässä. Tutkimukseen liittyvä kuntosaliharjoittelu tehtiin Jyväskylässä liikunta- ja terveystieteiden tiedekunnan kuntosalilla. Tutkimus koostui neljästä mittausjaksosta: ensimmäisistä alkumittauksista, toisista alkumittauksista, välimittauksista sekä loppumittauksista. Ensimmäiset alkumittaukset tehtiin ennen koehenkilöiden arvontaa eri ryhmiin, jotta nähtäisiin, että nämä ryhmät olisivat lähtötilanteessa ominaisuuksiltaan tasaisia, ja siten vertailukelpoisia jatkossa. Ensimmäisten alkumittausten tarkoituksena oli myös totuttaa koehenkilöt testeihin ja näin ollen estää oppimisen vaikutukset tuloksiin.

Tutkimus oli asetelmaltaan niin sanottu kaksoissokkokoe, jossa tutkijat sekä koehenkilöt olivat tietämättömiä, kumpi kahdesta harjoitteluryhmästä sai proteiinilisää ja kumpi plaseboa. Koehenkilöt arvottiin satunnaisesti kolmeen ryhmään (taulukot 2 ja 3): kontrolliryhmään (KON), proteiiniryhmään (PROT) sekä plaseboryhmään (PLA). PROT- sekä PLA – ryhmät harjoittelivat kuntosalilla ohjatusti 21 viikkoa kaksi kertaa viikossa. Heti ennen ja jälkeen jokaisen harjoituksen koehenkilöt nauttivat juoman tietämättä kumpaa juomaa joivat. Taulukossa 3 on esitetty proteiini- ja plasebojuomien sisällöt. KON – ryhmä jatkoi normaalia elämäänsä 21 viikon ajan, rajoituksena oli, etteivät KON – ryhmäläiset saaneet tehdä voimaharjoittelua tutkimuksen aikana. Koehenkilöt eivät syöneet mitään juoman lisäksi tuntia ennen harjoitusta. Koehenkilöt olivat syömättä puoli tuntia jokaisen harjoituksen päätyttyä.

TAULUKKO 3. Proteiini- ja plasebojuomien sisällöt.

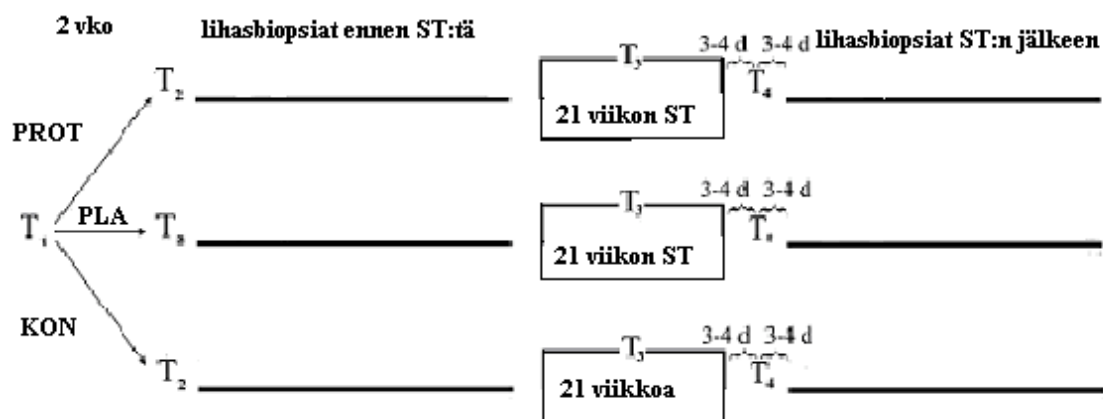
PROTEIINIJUOMA		PLASEBOJUOMA	
Ainesosat		Ainesosat	
vesi	93,71	vesi	99,6
makeutusaine, asesulfaami-K	0,02	makeutusaine, asesulfaami-K	0,02
trinatriumsitraatti	0,2		
heraprot. isolaatti Protarmor 907 LSI	6	kasantaanikumi	0,3
aromi	0,05	aromi	0,05
väri beetta-karoteeni	0,02	väri beetta-karoteeni	0,02

Ensimmäiset alkumittaukset (T_1). Ensimmäisiin alkumittauksiin kuului voimatestit ja antropometria. (Kuvio 6).

Toiset alkumittaukset (T_2). Toiset alkumittaukset aloitettiin kunkin koehenkilön kohdalla kaksi viikkoa ensimmäisten alkumittausten päättymisestä. Toisiin alkumittauksiin kuului voimatestit, antropometria, ruokapäiväkirjan täyttö sekä lihassolunäyte. (Kuvio 6).

Välimittaukset (T_3). Välimittaukset ajoittuvat harjoittelujakson puoliväliin eli 10,5 viikon kohdalle harjoittelun alkamisesta. Kontrolliryhmä mitattiin harjoitteluryhmien kanssa samaan aikaan. Välimittauksiin kuului voimatestit, antropometria ja ruokapäiväkirjan täyttö. (Kuvio 6).

Loppumittaukset (T_4). Loppumittaukset tehtiin 21 viikon harjoittelun jälkeen. Kontrolliryhmä mitattiin harjoitteluryhmien kanssa samaan aikaan. Loppumittauksiin kuului voimatestit, antropometria ja ruokapäiväkirjan täyttö. Lihassolunäyte otettiin viimeisenä, 4-6 päivää voimatestien jälkeen. (Kuvio 6).



KUVIO 6. Tutkimuksen koeasetelma. ST = kuntosaliharjoittelujakso, PROT = proteiiniiryhmä, PLA = plaseboryhmä, KON = kontrolliryhmä.

9.3 Kuntosaliharjoittelu

Kuntosaliharjoittelujakso (ST, kuvio 6) kesti 21 viikkoa ja sisälsi kaksi harjoitusta viikkoa kohden. Harjoitusten välillä vaadittiin vähintään kahden päivän tauko. Jokaisessa harjoituksessa oli mukana ohjaaja, joka tiesi harjoittelun vaatimukset. Jokainen harjoitus sisälsi seuraavat liikkeet: kaksi harjoitusta reiden ojentajalihaksille, bilateraallinen jalkaprässi sekä bilateraallinen polven ojennus ja bilateraallinen polven koukistus. Harjoitteleohjelma sisälsi myös harjoitteita, jotka kuormittivat muita vartalon päälihaksiryhmiä, kuten rinta- ja olkapäänseutu, yläselkä, vartalon ojentajat ja koukistajat, käsivarren ojentajat ja koukistajat, nilkan ojentajat sekä lonkan lähentäjät ja loitontajat. Pääpaino harjoittelussa oli kuitenkin tutkimuksen pääasiallisena kohteena olleella ulommalla reisilihaksella. Ulomman reisilihaksen rakennetta ja toimintaa on tutkittu eniten. Jotta tämän tutkimuksen tuloksia voidaan tulkita verrattuna muihin tutkimuksiin mahdollisimman hyvin, oli tutkimuksen pääasiallisena kohteena ulompi reisilihas. Harjoittelu suoritettiin 40–85 % kuormilla yhden toiston maksimista progressiivisesti. Sarjojen määrä nousi alun 2-3 sarjaan lopun 3-5 sarjaan. Toistojen määrä taas laski alun 15–20 toistosta lopun 5-6 toistoon 21 viikon voimaharjoittelujakson aikana. Kaikissa harjoitteissa kuormat määritettiin yksilöllisesti jokaisen harjoituksen aikana 21 viikon ajan.

9.4 Aineiston keräys

9.4.1 Antropometria

Pituus mitattiin 0,1 cm:n tarkkuudella seinään asetetulla mittanauhalla. Paino ja rasvaprosentti mitattiin yön yli kestäneen paaston jälkeen. Paino mitattiin 0,1 kg:n tarkkuudella kalibroidulla henkilövaakalla. Rasvaprosentti mitattiin neljän ihopoimun (olkavarran ojentaja-, hauislihas-, lavalanus- ja suoliluun harjanteen ihopoimut) menetelmällä ihopoimupihdeillä. Rasvaprosentin mittaaja oli sama jokaisessa mittauksessa. Rasvaprosentti määritettiin Durnin & Womersleyn (1974) yhtälöiden perusteella laaditun muunnostaulukon mukaisesti.

9.4.2 Ravinto

Ravintomuuttajat kerättiin ruokapäiväkirjojen avulla. Ruokapäiväkirjaa täytettiin viisi vuorokautta kerrallaan. Koehenkilöitä opastettiin syömään mahdollisimman normaalisti ruokapäiväkirjan täytön ajan, merkitsemään ylös kaikki mitä on syönyt ja juonut jakson aikana mahdollisimman tarkkaan (myös määrät) sekä asettamaan ruokapäiväkirjan täyttöjakson siten, että vähintään yksi päivä on joko lauantai tai sunnuntai. Ruokapäiväkirjaan tuli merkata myös mihin kellon aikaan ja missä (kotona, ravintola) on kunkin aterian nauttinut.

9.4.3 Lihassolunäyte

Kokenut lääkäri otti kaikkien koehenkilöiden lihassolunäytteet steriileissä olosuhteissa. Saman koehenkilön molemmat näytteet (pre ja post) otettiin samaan vuorokauden aikaan. Lihassolunäyte otettiin ulommasta reisilihaksesta suoliluun etuyläkärjen ja polven ulomman nivelraon välisen etäisyyden puolivälistä noin 2,5 senttimetrin syvyydestä. Ensimmäisellä mittauskerralla lääkäri tarkisti mittauskohdan ultraäänilaitteella varmistukseen, ettei neula osu verisuoniin tai hermoihin. Koehenkilö piti jäätä näytteenottokohdassa 15 minuuttia ennen puudutusta. Tämän jälkeen lääkäri puudutti Lidocain - paikallispuudutteella näytteenottokohdan. Puudutteen annettiin vaikuttaa 5-10 minuut-

tia, jolloin näytteenottokohdassa pidettiin taas jäätä. Näytteenottoa puhdistettiin huolellisesti amisept -puhdistusaineella. Avustaja antoi lääkärille kirurgin veitsen steriilisti. Lääkäri leikkasi ihoon noin 1 cm pituisen viillon, josta Bergströmin 5 mm lihassolunäyteneula saatiin lihakseen. Avustaja antoi lääkärille lihassolunäytteenottoneulan sekä letkun. Letkun päässä oli ruisku, jolla imettiin neulaan saatu lihassolunäyte syvemmälle neulan sisälle. Lääkäri antoi neulan sisältöineen toiselle avustajalle, joka tarkasti näytteen koon sekä laadun ja asetti sen blokille. Lääkäri laittoi tämän jälkeen haavaan perhosteipin sekä liimasiteen. Palat RNA määrittelyä varten jäädytettiin heti nestemäisellä typellä ja ne varastoitiin -80 °C pakkaseen analysointiin saakka. Lihassolukokoa varten tarvittu blokkipala jäädytettiin nestemäisellä typellä -160 °C:een jäädytetyllä isopentaanilla vähintään viiden sekunnin ajan näytteen nopean jäätyksen mahdollistamiseksi.

9.4.4 Voimatestit

Voimatesteissä koehenkilö lämmitteli viisi minuuttia polkupyöräergometrillä. Lämmittelyn jälkeen tehtiin kolme maksimaalista suoritusta isometrisessä jalkaprässilaitteessa 107° polvikulmalla minuutin palautuksilla. Tarkoituksena oli tuottaa mahdollisimman paljon voimaa mahdollisimman nopeasti kolmen sekunnin aikana. Tämän jälkeen etsittiin bilateraalin dynaamisen jalkaprässin maksimi 3-5 yrityksellä. Laitteena oli David 200 ja polvikulmien tuli olla alle 70°. Jokaisen yrityksen välissä pidettiin yhden minuutin palautus. Isometrinen penkkipunnerrusmaksimi mitattiin myös David 210 – laitteessa istuen. Kyynärvarret olivat 90° kulmassa olkavarsiin nähden ja olkavarret suoraan sivuille suunnattuna vartalosta. Kolme suoritusta tehtiin siten, että voimaa tuotettiin mahdollisimman paljon ja mahdollisimman nopeasti. Jokaisen yrityksen välissä pidettiin yhden minuutin palautus. Tuloksissa käytettiin kaikista voimatesteistä parasta suoritusta. Jokaista koehenkilöä kannustettiin maksimaaliseen suoritukseen samalla tavalla kaikissa mittauksissa.

9.5 Aineiston analysointi

9.5.1 Ruokapäiväkirjat

Ruokapäiväkirjat analysoitiin Nutrica 3.11 – ohjelmalla. Tuloksiin eriteltiin kokonaisenergian saanti (1000kJ), kokonaisenergian saanti painoon suhteutettuna (kJ/kg), proteiinien saanti painoon suhteutettuna (g/kg), hiilihydraattien saanti painoon suhteutettuna (g/kg) sekä rasvojen saanti painoon suhteutettuna (g/kg).

9.5.2 Lihassolunäytteen analysointi

Totaali RNA eristys ja cDNA synteesi. Lihassolunäytteet homogenisoitiin FastPrep (Bio101 Systems) putkissa, jotka sisälsivät Lysing Matrix D:tä (Q-Biogene). Totaali RNA erotettiin noin 20 mg:n lihaskudosnäytteestä monofaasisella liuoksella, joka sisälsi fenolia ja guanidi isosyaniittia (Trizol –reagenssi Invitrogen, Carlsbad, CA) valmistajan ohjeiden mukaisesti. OD₂₆₀/OD₂₈₀ -suhde oli 1,8 ja geelielektroforeesin perusteella eristys tuotti vapaata DNA:ta sekä ei-hajonnutta RNA:ta. Kolme mikrogrammaa totaali-RNA:ta käännettiin komplementaariseksi DNA:ksi (cDNA). Valmistajan ohjeiden mukaisesti 50 µg:n totaalitylavuudesta käyttäen High Capacity cDNA Archive kittiä (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Real-time RT-PCR. Lähetti RNA ilmentymisen tasot määritettiin reaaliaikaisella real-time reverse transkriptaasi polymeerasiketjureaktiolla (RT-PCR), joka perustuu Taq polymeerin 5 nukleaasin aktiivisuuteen. Käytössä oli Abi Prism 7200 Sequence Detector System (Applied Biosystems, Foster City, CA). Jokaisen koehenkilön kaikki näytteet ajettiin yhtäaikaisesti, jotta pystyttiin suorittamaan suhteellista vertailua. Käytetyt sondit, alukkeet ja koettimet oli suunniteltu ennalta (primerit ja probet) sekä validoitu Applied Biosystems'in toimesta. Geenipankin hankintanumerot ja Applied Biosystems assayn ID:t olivat seuraavat: NM 005259 ja Hs00193363_m1(myostatiini), NM 001106 ja Hs00609603_m1 (aktiviini Iib), NM 005860 ja Hs00610505_m1 (FLRG), NM 002478 ja Hs00159528_m1 (MyoD), NM 002479 ja Hs00231167_m1 (myogeniini), NM_078467.1 ja Hs00355782_m1 (p21), NM_052827.1 ja Hs00608082_m1 (cdk2),

NM002046 ja Hs99999905_m1 (GAPDH), NM_148177.1, NM_058229.2 ja Hs00369714_m1 (MAFbx). Kaikille geeneille käytettiin identtistä PCR sykliä: 50 °C 2 minuuttia, 95 °C 10 minuuttia, ja 37–45 sykliä geenistä riippuen 95 °C 15 sekuntia ja 60 °C 1 minuutti (Applied Biosystems). GAPDH lähetti RNA:ta käytettiin endogeenisenä kontrollina. GAPDH lähettiRNA:n käyttö validoitiin toisen housekeeping geenin 18sRNA:han nähden. GAPDH/18sRNA oli vakaa kaikissa aikakohdissa, joka näytti GAPDH:n käyttökelpoisuuden housekeeping geeninä tässä asetelmassa. Lisäksi suhteessa totaali-RNA:han GAPDH ei muuttunut 21 viikon seurantajakson aikana ($p > 0,05$). Geenien transkriptiotulokset laskettiin Liu ja Saint (2002) matemaattisen mallin mukaan. Tämä malli ottaa huomioon sykli per sykli PCR monistumistehokkuudet ja sen on todettu olevan validi tutkittaessa geenitranskription alkuperäistä määrää. SigmaPlot:a (versio 9.0, Systat Software inc., Richmond, CA) käytettiin real-time RT-PCR-monistuskäyrän sovittamiseen Liu ja Saint (2002) menetelmässä. Analyysin sisäiset CV %:t olivat RT-PCR ajossa kolmoiskappalenäytteille seuraavat: GAPDH (5,8 %), myostatiini (9,3 %), FLRG (14,3 %), aktiviini reseptori Iib (7,9 %), p21 (9,1 %), cdk2 (8,9 %), myogeeniini (7,6 %), MyoD (10,6 %) ja MAFbx (9,3 %).

Lihassolutyypit ja lihassolukoko. Kryostaatilla (-20°) leikattiin 10 µm paksuisia poikkileikkeitä lihassolunäytteistä. Lihassolutyypit (I, Iia, Iib ja Iic) määritettiin histokemiallisella ATPaasi – värjäyksellä (Brooke & Kaiser 1970). Eri lihassolutyypit eroteltiin käyttäen neljää eri preinkubaatioliuosta; pH 4,2, pH 4,6, pH 9,4 ja pH 10,3. Tilastollisiin analyyseihin tyyppin II lihassolujen kaikki alatyypit yhdistettiin, koska eri alatyyppejä oli niin vähäinen määrä. Tuloksissa vertailtiin lihassolutyypin keskiarvoisen koon muutosta 21 viikon seurantajakson aikana. Lihassolujen rajat määritettiin anti-dystrofiini vasta-aineen avulla. Tallennetut kuvat määritettävistä poikkileikkeistä analysoitiin Tema Image-Analysis System –laitteen (Scan Beam) avulla. Mikroskoopin sisältävää videokoppia (Olympus BX 50) ja värivideokameraa (Sanyo High Resolution CCD) käytettiin jokaisen lihassolutyypin keskiarvoisten pinta-alojen laskemiseen.

9.5.3 Maksimivoima

Voimien mittauksessa käytettiin Cambridge Electronic Designing Power 1401 tiedonkeruulaitteistoa. Analogidigitaalismuuntimen kautta voimat muunnettiin digitaaliseen muotoon tietokoneelle Signal 2.15 ohjelmaan. Signal 2.15 – ohjelman keräystaajuus oli 2000 Hz ja sen avulla analysoitiin maksimivoimat. Luotettavuusanalyysi tehtiin vertailemalla ensimmäisiä alkumittauksia ja toisia alkumittauksia. Ryhmien sisäiset korrelaatiokertoimet olivat tutkimuksen koehenkilöille (n = 31) 0,97 isometriselle jalkaprässille ja 0,98 konsentrisen jalkaprässin 1RM:lle sekä isometriselle penkkipunnerrukselle.

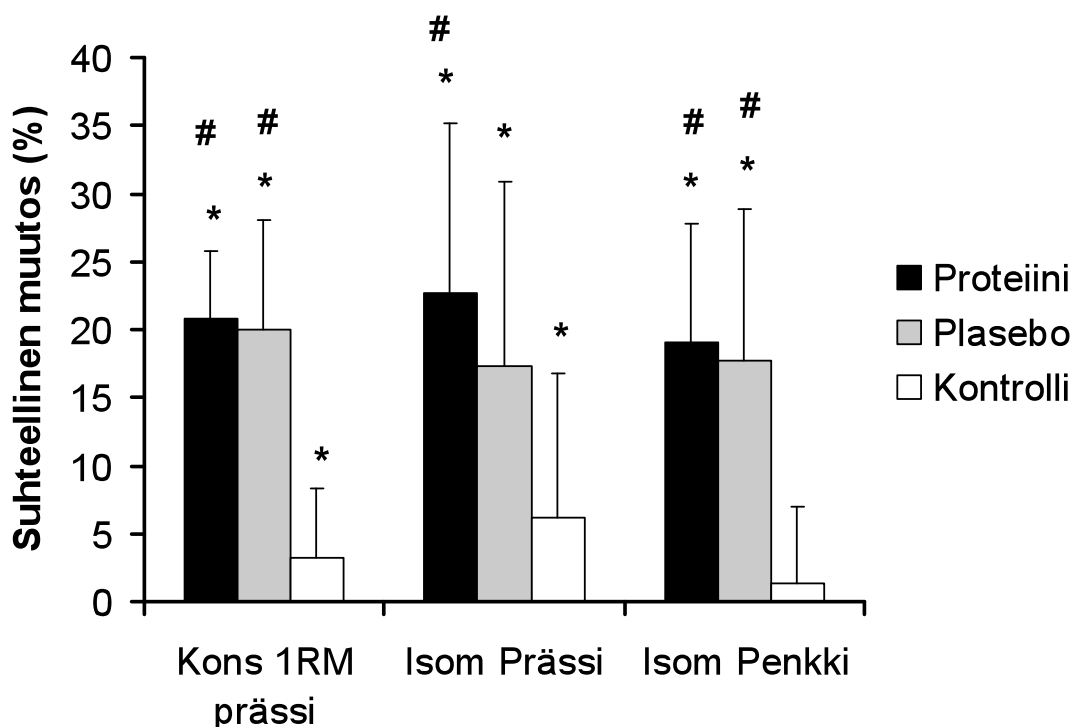
9.6 Tilastolliset menetelmät

Keskiarvojen, keskihajontojen (SD) ja keskivirheiden (SE) laskemiseen käytettiin perinteisiä tilastollisia menetelmiä. Ryhmien välisiä eroja tutkittiin toistomittausten ANOVA:lla. Holm-Bonferronin post hoc -testiä käytettiin vaikutusten paikallistamiseen kuten Atkinson (2002) on ehdottanut. Ryhmien sisäisiä eroja tutkittiin yhden otoksen t-testin avulla. Analyysit suoritettiin SPSS-ohjelman versioiden 12.0 sekä 14.0 avulla. Merkitsevyyden rajaksi asetettiin $p \leq 0,05$.

10 TULOKSET

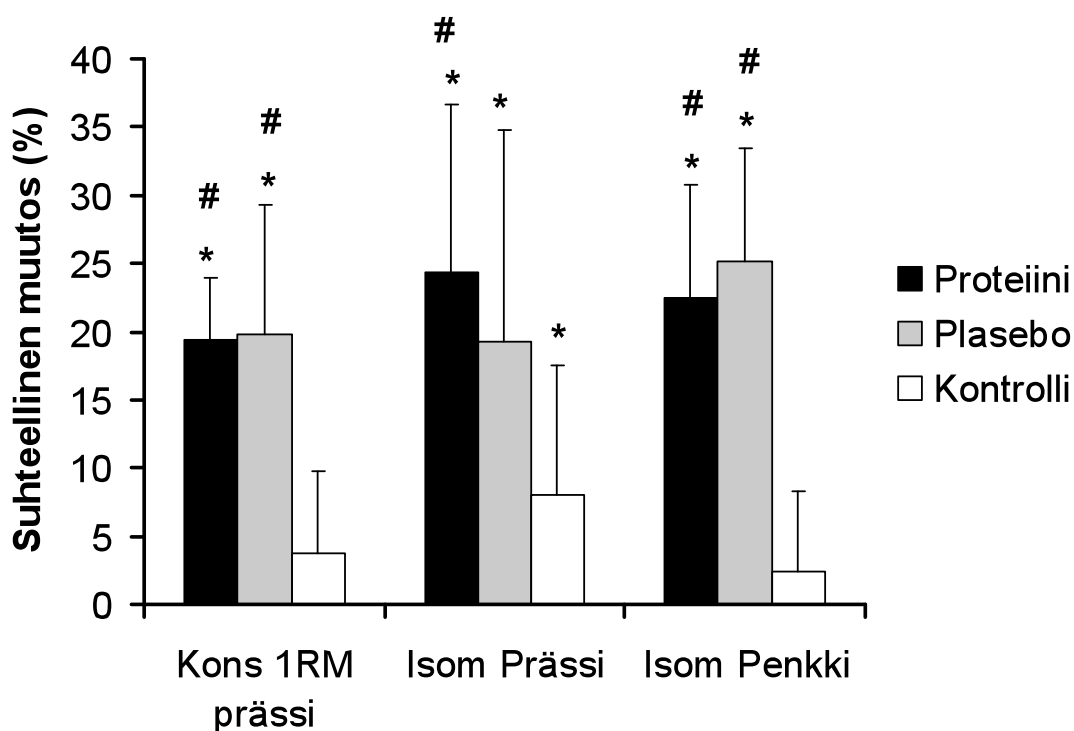
10.1 Voima

Konsentrisessa 1RM:ssä, isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa sekä isometrisen penkkipunnerruksen maksimituloksessa havaittiin kasvua 21 viikon seurantajakson aikana sekä proteiini- (PROT) ($p < 0,01$) että plaseboryhmissä (PLA) ($p < 0,01$) nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä. PROT-ryhmällä konsentrisen 1RM:n maksimitulos nousi 160 kg:sta 193 kg:n ja PLA-ryhmällä 156 kg:sta 186 kg:n. Isometrisen jalkaprässin maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 3277 N:sta 4054 N:iin ja PLA-ryhmällä 3094 N:sta 3589 N:iin. Isometrisen penkkipunnerruksen maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 689 N:sta 827 N:iin ja PLA-ryhmällä 661 N:sta 783 N:iin. Myös kontrolliryhmällä (KON) havaittiin kasvua konsentrisen 1RM:ssä ($p = 0,04$) ja isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa ($p = 0,02$) 21 viikon seurantajakson aikana. Kuviossa 7 on esitetty voimien kehittyminen prosentteina 21 seurantaviikon aikana nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä ryhmittäin ja tilastollisesti merkitsevät erot PROT- ja KON-ryhmien sekä PLA- ja KON-ryhmien välillä. Taulukossa 4 on esitettyinä ryhmien välisten erojen p-arvot.



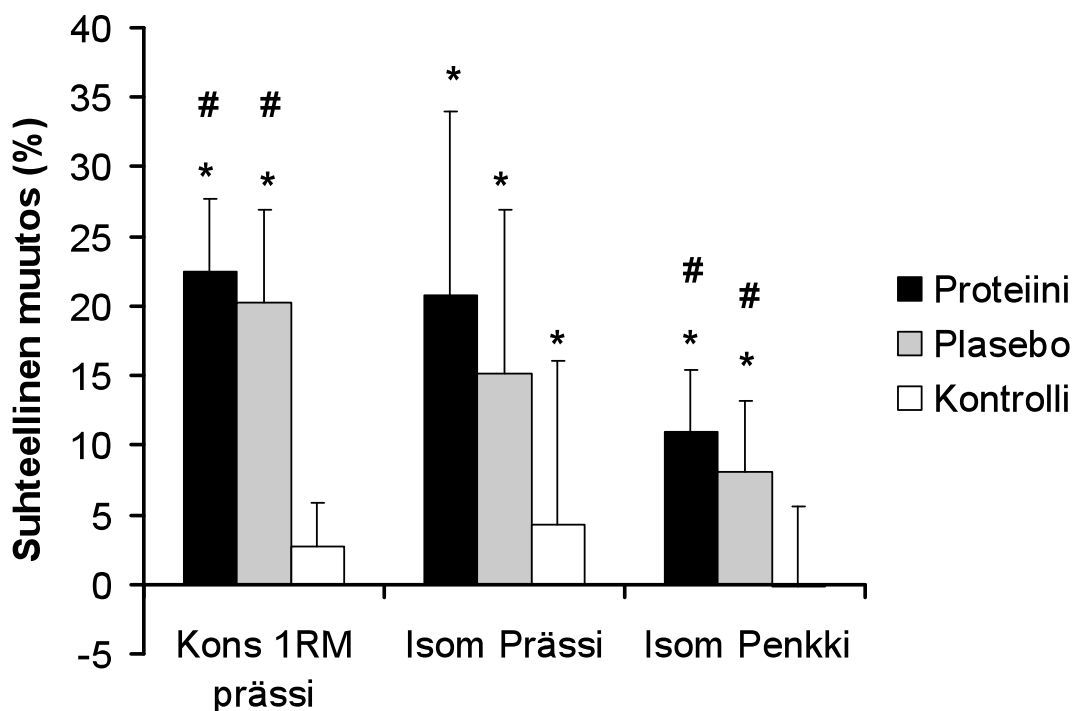
KUVIO 7. Voimien kehittyminen 21 seurantajakson aikana (%) kaikilla. Tähti (*) merkitsee Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$. Ruudukko (#) merkitsee ruudukon alla olevan ryhmän sekä kontrolliryhmän välillä olevaa Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

Nuoria ja vanhoja erikseen tarkasteltaessa nuorten miesten konsentrisessa 1RM:ssä, isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa sekä isometrisen penkkipunnerruksen maksimituloksessa havaittiin kasvua 21 viikon seurantajakson aikana sekä PROT- ($p < 0,01$) että PLA-ryhmissä ($p < 0,01$). PROT-ryhmällä konsentrisen 1RM:n maksimitulos nousi 169 kg:sta 201 kg:n ja PLA-ryhmällä 164 kg:sta 195 kg:n. Isometrisen jalkaprässin maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 3961 N:sta 4957 N:iin ja PLA-ryhmällä 3624 N:sta 4163 N:iin. Isometrisen penkkipunnerruksen maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 655 N:sta 804 N:iin ja PLA-ryhmällä 783 N:sta 783 N:iin. Myös KON-ryhmällä ($p = 0,04$) havaittiin kasvua isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa 21 viikon seurantajakson aikana. Kuviossa 8 on esitetty nuorten miesten voimien kehittyminen prosentteina 21 seurantaviikon aikana ryhmittäin ja tilastollisesti merkitsevät erot PROT- ja KON-ryhmien sekä PLA- ja KON-ryhmien välillä. Taulukossa 4 on esitetty ryhmien välisen erojen p-arvot.



KUVIO 8. Nuorten miesten voimien kehittyminen 21 seurantajakson aikana (%). Tähti (*) merkitsee Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$. Ruudukko (#) merkitsee ruudukon alla olevan ryhmän sekä kontrolliryhmän välillä olevaa Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

Samoin havaittiin vanhojen miesten konsentrisessa 1RM:ssä, isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa sekä isometrisen penkkipunnerruksen maksimituloksessa kasvua 21 viikon seurantajakson aikana sekä PROT- ($p < 0,01$) että PLA-ryhmissä ($p \leq 0,01$). PROT-ryhmällä konsentrisen 1RM:n maksimitulos nousi 150 kg:sta 183 kg:n ja PLA-ryhmällä 147 kg:sta 177 kg:n. Isometrisen jalkaprässin maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 2442 N:sta 2951 N:iin ja PLA-ryhmällä 2497 N:sta 2782 N:iin. Isometrisen penkkipunnerruksen maksimitulos nousi PROT-ryhmällä 743 N:sta 869 N:iin ja PLA-ryhmällä 719 N:sta 784 N:iin. Kuviossa 9 on esitetty vanhojen miesten voimien kehittyminen prosentteina 21 seurantaviikon aikana ryhmittäin ja tilastollisesti merkitsevät erot PROT- ja KON-ryhmien sekä PLA- ja KON-ryhmien välillä. Taulukossa 4 on esitetty ryhmien välisten erojen p-arvot.



KUVIO 9. Vanhojen miesten voimien kehittyminen 21 seurantajakson aikana (%). Tähti (*) merkitsee Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$. Ruudukko (#) merkitsee ruudukon alla olevan ryhmän sekä kontrolliryhmän välillä olevaa Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

Proteiini-, plasebo- ja kontrolliryhmien väliset erot. Taulukossa 4 on esitetty PROT-, PLA- ja KON -ryhmien välisten erojen p - arvot. Kuvioista 7, 8 ja 9 näkyvät merkitsevyyksien suunnat. Proteiini-ryhmällä kaikki voima-arvot kasvoivat merkitsevästi ($p < 0,05$) enemmän kuin kontroleilla nuorilla miehillä ja vanhoilla miehillä kaikki paitsi isometrinen jalkaprässi, jossa havaittiin tilastollinen trendi ($p = 0,07$). Plaseboryhmällä vastaavasti voima kehittyi merkitsevästi kontrolliryhmään verrattuna sekä nuorilla että vanhoilla miehillä kaikissa paitsi isometrisessä jalkaprässissä. Täten proteiini-ryhmällä isometrinen jalkaprässivoima kehittyi merkitsevästi sekä nuorilla miehillä että nuoret ja vanhat yhdistettynä, kun taas plasebolla vastaavaa kehittymistä kontrolliryhmään verrattuna ei havaittu. Proteiinin ja plasebon välillä ei ollut kuitenkaan merkitsevää eroa voiman kehitymisessä ($p > 0,05$). Ainoastaan tilastollinen trendi havaittiin kun nuoret ja vanhat yhdistettiin isometrisessä jalkaprässissä ($p = 0,10$).

TAULUKKO 4. Ryhmien väliset p -arvot nuoret ja vanhat miehet erikseen sekä kaikki koehenkilöt yhdistettynä. P – arvot ovat Holm Bonferronin mukaisesti korjattuja.

		PROT vs. KON	PLA vs. KON	PROT vs. PLA
Kaikki	Kons 1RM	p<0,01	p<0,01	0,43
	Isom Prässi	p<0,01	0,07	0,10
	Isom Penkki	p<0,01	p<0,01	0,44
Nuoret	Kons 1RM	p<0,01	p<0,01	0,71
	Isom Prässi	0,03	0,23	0,17
	Isom Penkki	p<0,01	p<0,01	0,80
Vanhat	Kons 1RM	p<0,01	p<0,01	0,49
	Isom Prässi	0,07	0,25	0,30
	Isom Penkki	p<0,01	p<0,01	0,80

Nuorten ja vanhojen miesten väliset erot. Taulukossa 5 on esitetty nuorten ja vanhojen miesten voimamuuttujien muutokset sekä nuorten ja vanhojen miesten erojen p-arvot. Konsentrisen 1RM:n kehittyminen oli samanlaista nuorilla ja vanhoilla miehillä voimaharjoittelujakson aikana ($p > 0,50$). Sen sijaan isometrisessä jalkaprässissä ja penkkipunnerruksessa voima kehittyi enemmän nuorilla vanhoihin verrattuna (PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä, $p < 0,05$). Isometrinen penkkipunnerrus kehittyi nuorilla enemmän vanhoihin nähden myös PROT- ja PLA-ryhmät eriteltyinä ($p < 0,05$).

TAULUKKO 5. Voimamuuttujien muutokset (%) 21 viikon seurantajakson aikana nuoret ja vanhat miehet eriteltyinä. Nuorten ja vanhojen miesten erojen p-arvot. P – arvot ovat Holm Bonferronin mukaisesti korjattuja.

		PROT	PLA	KON	PROT & PLA
Kons 1RM	Nuoret	19,3 ± 4,7	19,8 ± 9,5	3,7 ± 6,1	19,6 ± 7,2
	Vanhat	22,5 ± 5,2	20,3 ± 6,7	2,7 ± 3,2	21,4 ± 5,9
	p -arvo	0,50	0,90	0,90	0,97
Isom Prässi	Nuoret	24,3 ± 12,3	19,3 ± 15,5	8,0 ± 9,5	21,9 ± 13,8
	Vanhat	20,8 ± 13,2	15,2 ± 11,7	4,2 ± 11,8	18,0 ± 12,5
	p -arvo	0,55	0,55	0,55	0,02
Isom Penkki	Nuoret	22,5 ± 8,3	25,2 ± 8,3	2,4 ± 5,9	23,7 ± 8,2
	Vanhat	11,0 ± 4,4	8,0 ± 5,1	0,1 ± 5,7	9,4 ± 4,9
	p -arvo	<0,01	<0,01	0,38	<0,01

10.2 Ravinto

PROT- ja PLA-ryhmien välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja ($p > 0,01$) kokonaisenergiassa, kokonaisenergiassa painoon suhteutettuna, proteiinien saannissa, hiilihydraattien saannissa eikä rasvojen saannissa nuorilla eikä vanhoilla. Nuorten miesten ravintomuuttajat ovat esitetty taulukossa 6 ja vanhojen miesten taulukossa 7. Taulukossa 8 on esitetty ravintoarvojen p-arvot ryhmittäin.

TAULUKKO 6. Nuorten miesten ravintomuuttajat ($ka \pm sd$). E = kokonaisenergia, Prot = proteiinit, CHO = hiilihydraatit.

Muuttuja	Viikko 0		Viikko 10,5		Viikko 21	
	Proteiini	Plasebo	Proteiini	Plasebo	Proteiini	Plasebo
E (1000kJ)	10,4 ± 1,6	9,6 ± 2,0	10,5 ± 2,1	9,7 ± 3,2	10,2 ± 0,3	11,6 ± 3,2
E (kJ/kg)	136,6 ± 20,3	131,2 ± 20,9	139,3 ± 34,3	125,4 ± 37,1	145,7 ± 11,9	154,8 ± 36,7
Prot (g/kg)	1,4 ± 0,3	1,3 ± 0,3	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,5	1,7 ± 0,4	1,5 ± 0,4
CHO (g/kg)	3,9 ± 0,6	3,7 ± 0,7	4,0 ± 0,8	3,5 ± 1,0	3,4 ± 0,7	4,4 ± 1,1
Rasva (g/kg)	1,2 ± 0,3	1,2 ± 0,3	1,1 ± 0,4	1,1 ± 0,4	1,5 ± 0,3	1,3 ± 0,4

TAULUKKO 7. Vanhojen miesten ravintomuuttajat ($ka \pm sd$). E = kokonaisenergia, Prot = proteiinit, CHO = hiilihydraatit.

Muuttuja	Viikko 0		Viikko 10,5		Viikko 21	
	Proteiini	Plasebo	Proteiini	Plasebo	Proteiini	Plasebo
E (1000kJ)	7,9 ± 1,3	7,4 ± 1,6	8,7 ± 2,0	8,0 ± 1,6	8,7 ± 2,2	7,5 ± 1,8
E (kJ/kg)	95,7 ± 17,5	94,3 ± 22,3	108,7 ± 34,5	103,1 ± 22,6	107,7 ± 30,4	96,4 ± 25,2
Prot (g/kg)	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,3	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,4	1,1 ± 0,3
CHO (g/kg)	3,8 ± 0,7	2,7 ± 0,9	3,1 ± 1,2	3,0 ± 0,9	3,1 ± 1,1	2,8 ± 0,7
Rasva (g/kg)	0,7 ± 0,2	0,7 ± 0,2	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,3	0,9 ± 0,2	0,8 ± 0,3

TAULUKKO 8. Ravintomuuttajien P-arvot ryhmittäin viikosta 0 viikkoon 10,5 ja viikosta 0 viikkoon 21. E = kokonaisenergia, Prot = proteiinit, CHO = hiilihydraatit. Pallo (○) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

	E (1000kJ)	E (kJ/kg)	Prot (g/kg)	CHO (g/kg)	Rasva (g/kg)
Nuoret Proteiini 0 vs. 10,5	0,77	0,99	0,67	0,78	0,68
Nuoret Proteiini 0 vs. 21	0,89	0,95	0,47	0,64	0,55
Nuoret Plasebo 0 vs. 10,5	0,92	0,69	0,29	0,75	0,41
Nuoret Plasebo 0 vs. 21	0,12	0,24	0,36	0,15	0,92
Vanhat Proteiini 0 vs. 10,5	0,34	0,28	0,19	0,44	0,20
Vanhat Proteiini 0 vs. 21	0,23	0,17	0,07	0,39	0,07
Vanhat Plasebo 0 vs. 10,5	0,07	0,05	0,01	0,19	0,40
Vanhat Plasebo 0 vs. 21	0,71	0,55	0,16	0,62	0,31

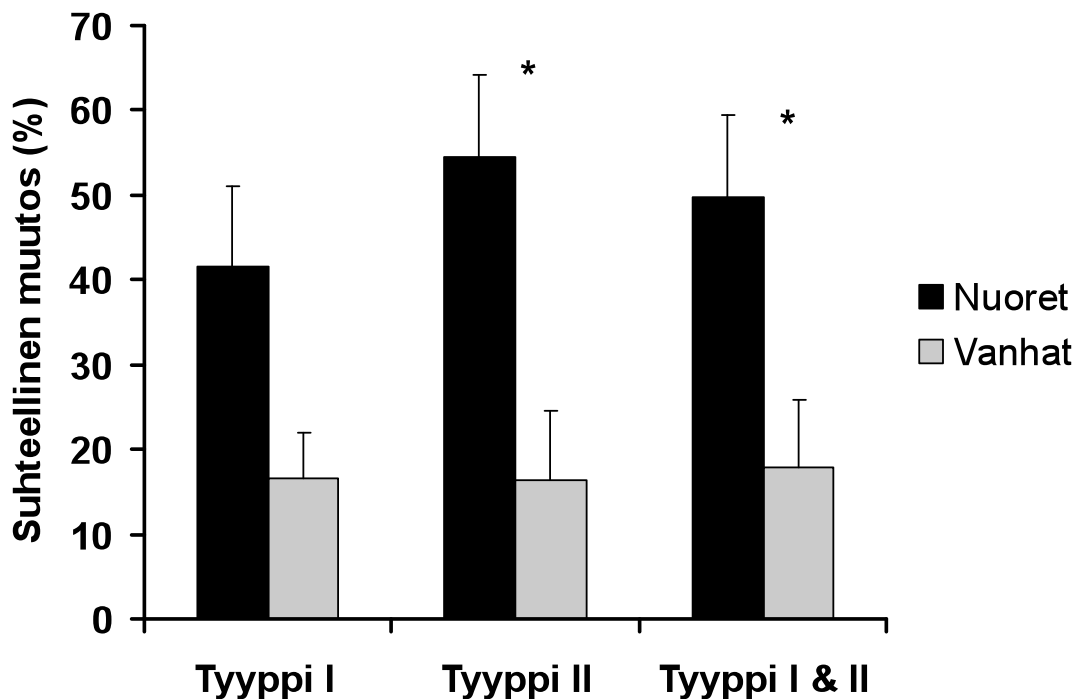
10.4 Lihassolukoko

Taulukkoon 9 on koottu 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneet lihassolujen keskiarvoisten kokojen muutokset (%) ryhmittäin sekä lihassolutyypeittäin p -arvoineen.

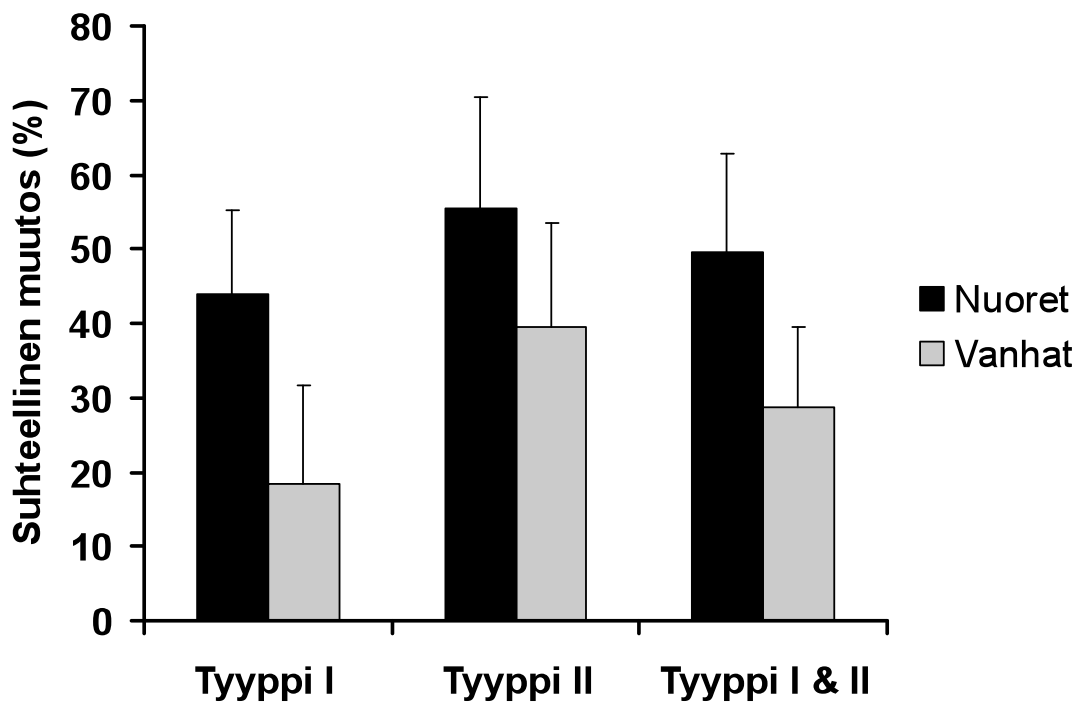
TAULUKKO 9. 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneet lihassolujen keskiarvoisten kokojen muutokset (%) P-arvoineen lihassolutyypeittäin ja ryhmittäin. Tähti (*) merkitsee Holm-Bonferronilla korjattua tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

	Tyyppi I		Tyyppi II		Tyypit I&II	
	Muutos-%	p-arvo	Muutos-%	p-arvo	Muutos-%	p-arvo
Nuoret PROT	41,5 ± 9,7	< 0,01*	54,4 ± 9,9	< 0,01*	49,7 ± 9,9	< 0,01*
Nuoret PLA	44,0 ± 11,4	< 0,01*	55,6 ± 14,9	< 0,01*	49,7 ± 13,0	< 0,01*
Vanhat PROT	18,5 ± 13,1	0,03*	39,5 ± 14,0	0,12	28,8 ± 10,7	0,10
Vanhat PLA	16,7 ± 5,3	0,27	16,3 ± 8,4	0,07	17,9 ± 7,9	0,07
Kaikki PROT	31,9 ± 7,0	< 0,01*	39,7 ± 8,5	< 0,01*	37,5 ± 8,0	< 0,01*
Kaikki PLA	36,1 ± 9,2	< 0,01*	50,6 ± 11,0	< 0,01*	43,3 ± 9,8	< 0,01*
Nuoret PROT&PLA	42,8 ± 7,3	< 0,01*	55,0 ± 8,9	< 0,01*	49,7 ± 8,1	< 0,01*
Vanhat PROT&PLA	17,5 ± 6,0	0,02	26,6 ± 8,3	0,02	22,7 ± 6,3	< 0,01*
KON	4,0 ± 2,4	0,15	6,0 ± 9,1	0,66	4,5 ± 5,0	0,46

Nuorten ja vanhojen miesten eroja lihassolutyypeittäin on esitetty kuvioissa 10 ja 11. Tilastollisesti merkitsevä ero havaittiin PROT-ryhmillä tyypissä II ($p = 0,02$) sekä tyypeissä I ja II yhdistettynä ($p < 0,05$) nuorten (54,4 %; 49,7 %) ja vanhojen välillä (39,5 %; 28,8 %). Tyypissä I ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa nuorten ja vanhojen miesten välillä ($p = 0,08$). PLA-ryhmillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa tyypissä I ($p = 0,21$), tyypissä II ($p = 0,53$) eikä tyypeissä I ja II yhdistettynä ($p = 0,35$).

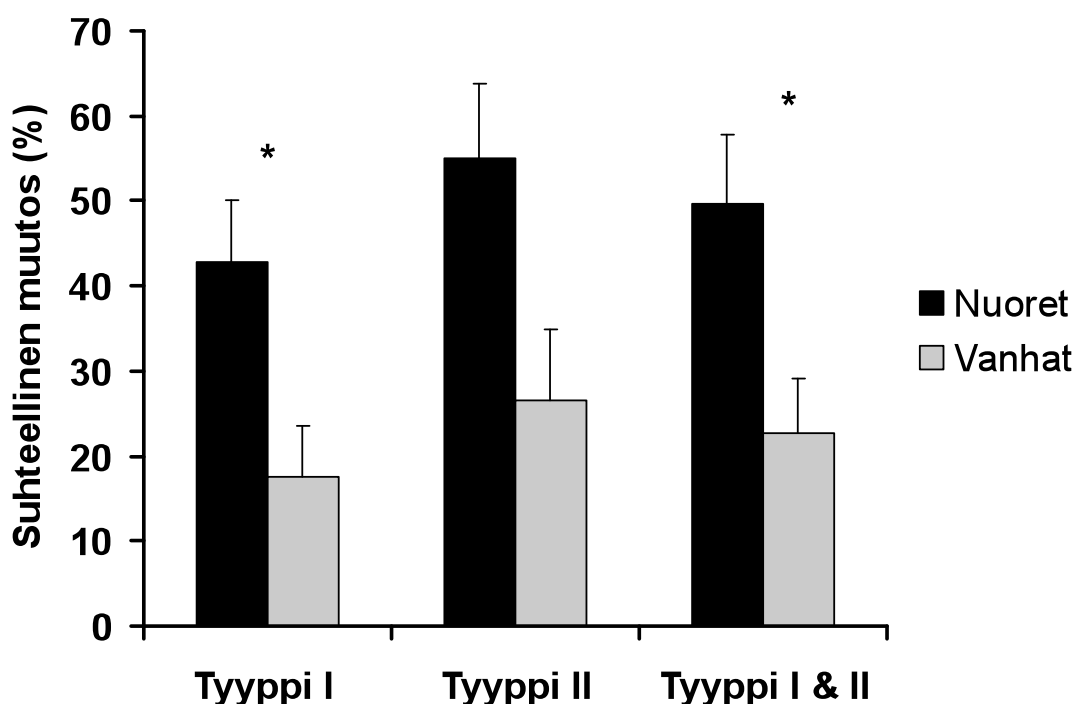


KUVIO 10. Nuorten ja vanhojen miesten erot lihassolutyypeittäin lihassolujen keskiarvoisen koon muutoksissa 21 viikon seurantajakson aikana PROT-ryhmillä (ka ± se). Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien (nuoret ja vanhat) välillä $p < 0,05$.



KUVIO 11. Nuorten ja vanhojen miesten erot lihassolutyypeittäin lihassolujen keskiarvoisen koon muutoksissa 21 viikon seurantajakson aikana PLA-ryhmillä (ka ± se).

Kuviossa 12 on esitettyä nuorten ja vanhojen miesten erot PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä. Tilastollisesti merkitsevä ero havaittiin tyypissä I ($p = 0,04$) ja tyypeissä I ja II yhdistettynä ($p = 0,04$) nuorten (42,8 %; 49,7 %) ja vanhojen (17,5 %; 22,7 %) miesten välillä. Tyypissä II havaittiin ainoastaan tilastollinen trendi ($p = 0,06$) nuorten ja vanhojen miesten välillä.



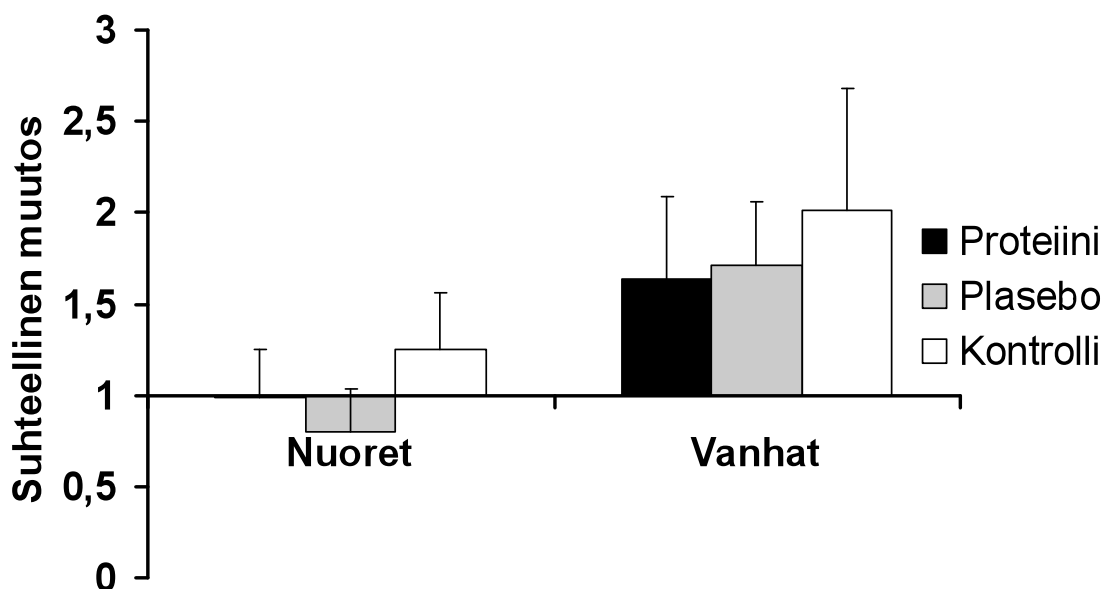
KUVIO 12. Nuorten ja vanhojen miesten erot lihassolutyypeittäin lihassolujen keskiarvoisen koon muutoksissa 21 viikon seurantajakson aikana PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä ($ka \pm se$). Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien (nuoret ja vanhat) välillä $p < 0,05$.

10.5 Lihasten lähetti-RNA-tasot

Luvuissa 10.5.1–10.5.8 on kuvioden avulla esitettyä ryhmien sisäiset erot lähetti-RNA – tasoissa. Luvussa 10.5.9 on taulukoiden ja kuvioden avulla esitettyä lähetti-RNA – tasojen ryhmien väliset erot. Luku 10.5.9 sisältää kaksi eri osiota, joista ensimmäinen käsittelee PROT-, PLA- ja KON-ryhmien välisiä eroja ja jälkimmäinen nuorten ja vanhojen miesten välisiä eroja. Kontrollikoehenkilöillä ei havaittu merkitsevää muutosta missään tutkituissa lähetti-RNA – tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana.

10.5.1 Myostatiini

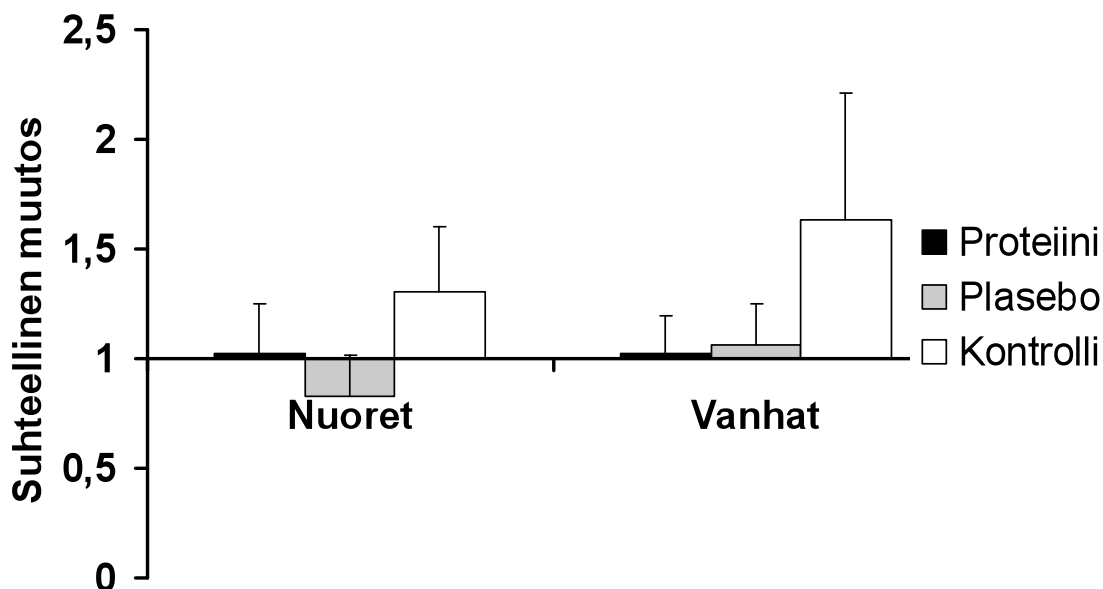
Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkittävästi myostatiinin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,32$) eikä vanhoilla ($p = 0,59$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,09$, vanhat: $p = 0,12$). Kuviossa 13 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten myostatiinin lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet (SE:t) 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkittävästi myostatiinin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä PROT- ($p = 0,71$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,33$).



KUVIO 13. Suhteelliset muutokset myostatiinin lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon harjoittelun seurauksena nuorilla ja vanhoilla miehillä. 1 = ei muutosta.

10.5.2 Aktiviini Iib -reseptori

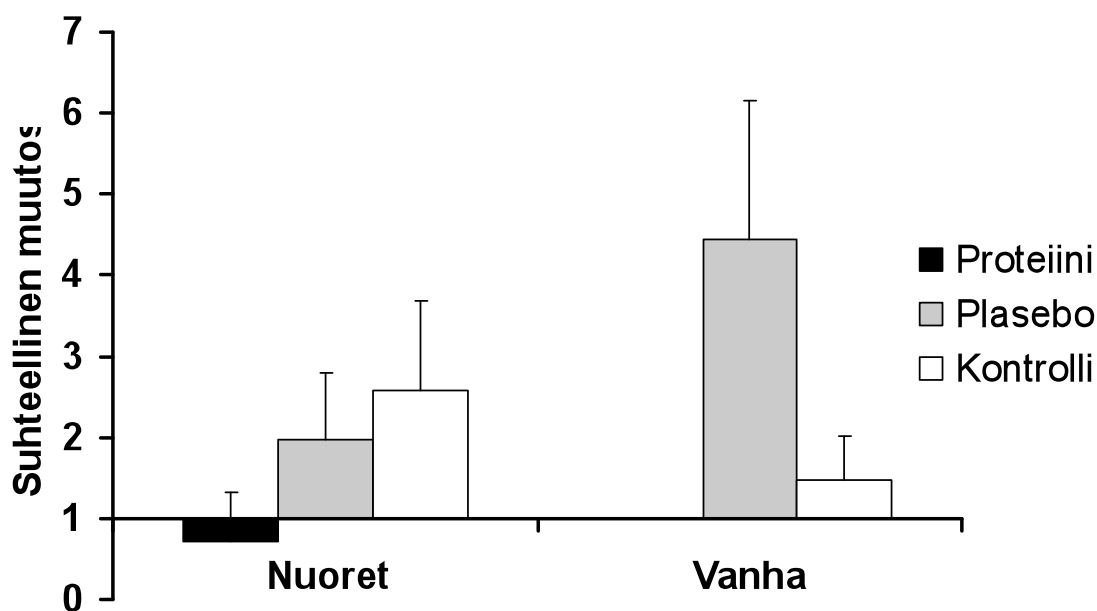
Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi aktiviini Iib -reseptorin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,40$) eikä vanhoilla ($p = 0,67$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,15$, vanhat: $p = 0,59$). Kuviossa 14 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten aktiviini Iib -reseptorin lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkitsevästi aktiviini Iib -reseptorin lähetti-RNA -tasoihin nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä PROT- ($p = 0,32$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,12$).



KUVIO 14. Suhteelliset muutokset aktiviini Iib -reseptorin lähetti-RNA -tasoiissa 21 viikon harjoittelun seurauksena. 1 = ei muutosta.

10.5.3 FLRG

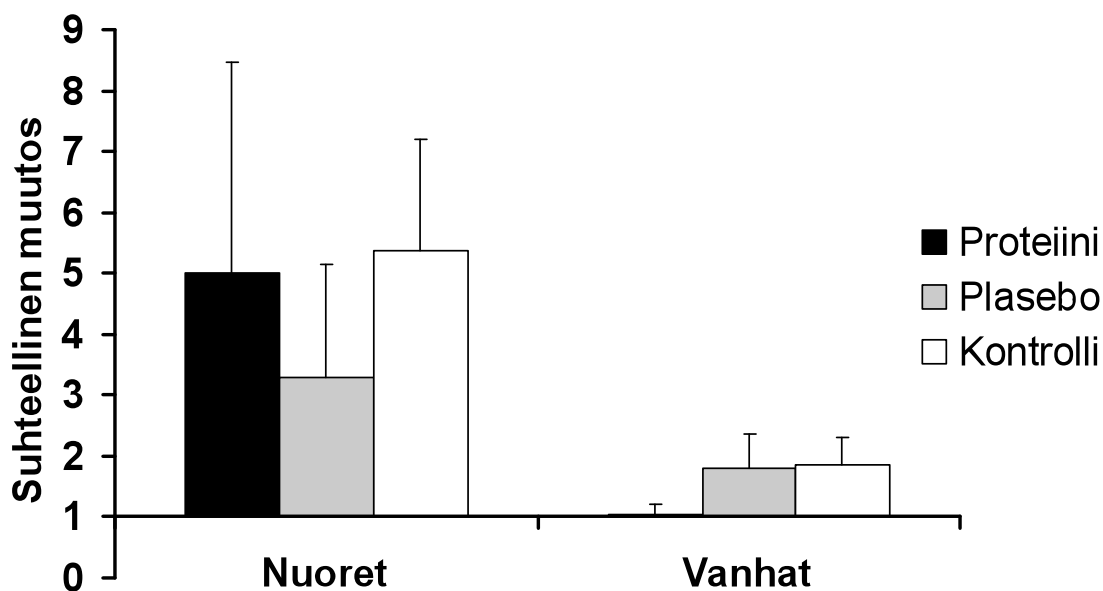
Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi FLRG:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,66$) eikä vanhoilla ($p = 0,08$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,53$, vanhat: $p = 0,06$). Kuviossa 15 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten FLRG:n lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkitsevästi FLRG:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT- ($p = 0,33$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,62$).



KUVIO 15. Suhteelliset muutokset FLRG:n lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta.

10.5.4 MyoD

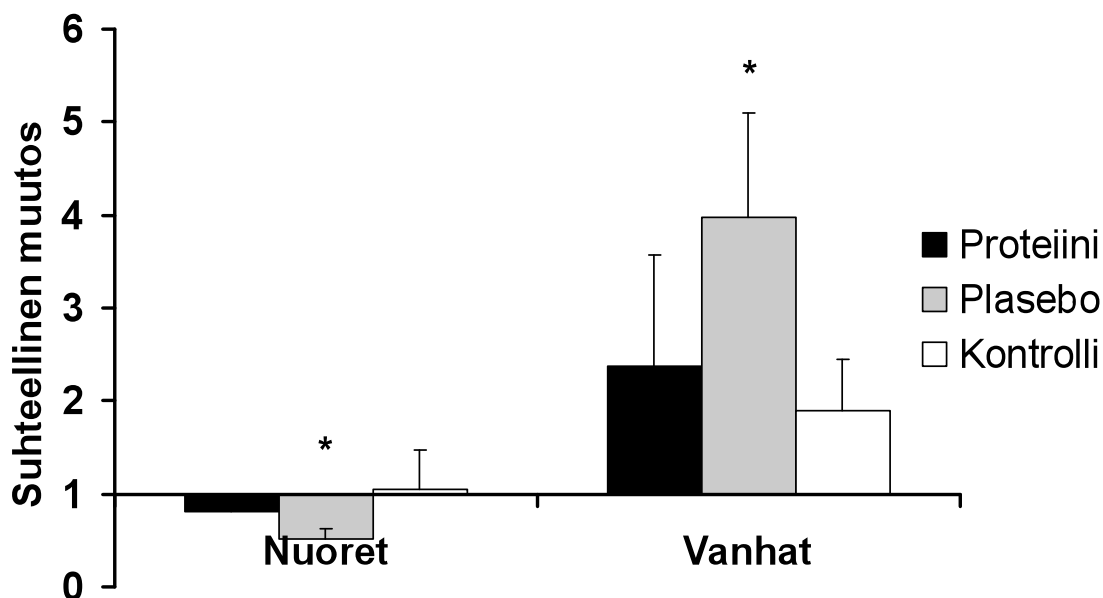
Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi MyoD:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,84$) eikä vanhoilla ($p = 0,59$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,61$, vanhat: $p = 0,55$). Kuviossa 16 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten MyoD:n lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkitsevästi MyoD:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT- ($p = 0,72$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,82$).



KUVIO 16. Suhteelliset muutokset MyoD:n lähetti-RNA -tasoiissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta.

10.5.5 Myogeniini

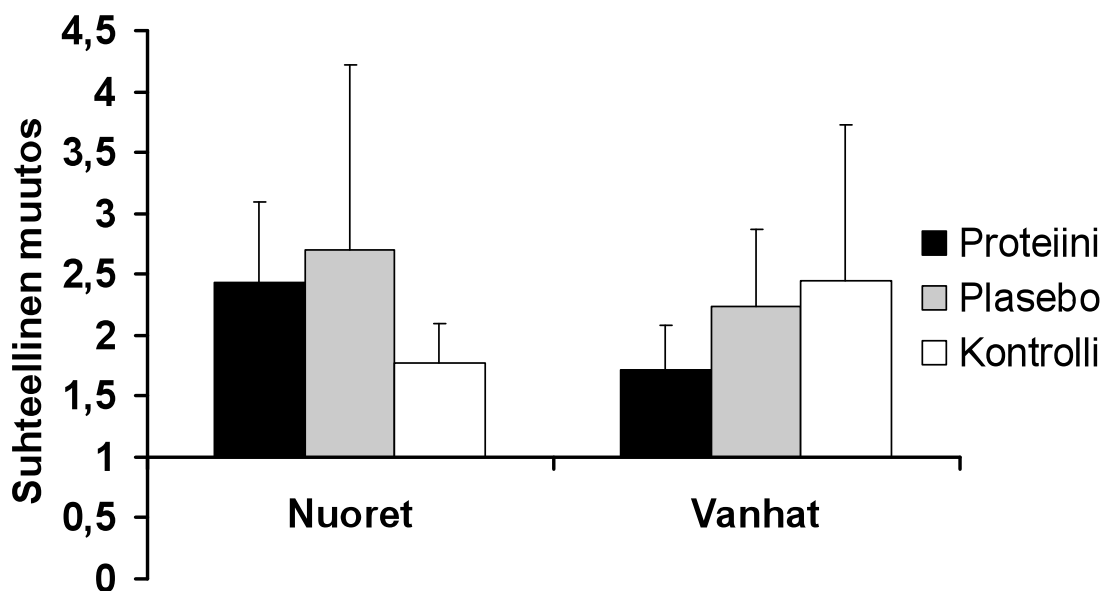
Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi myogeniinin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,13$) eikä vanhoilla ($p = 0,32$) PROT-ryhmässä. Voimaharjoittelujakso laski myogeniinin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,02$), ja nosti vanhoilla ($p < 0,01$) PLA-ryhmässä. Kuviossa 17 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten myogeenin lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkitsevästi myogeniinin lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT- ($p = 0,52$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,77$).



KUVIO 17. Suhteelliset muutokset myogeniinin lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta. Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

10.5.6 p21

Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi p21:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,11$) eikä vanhoilla ($p = 0,16$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,67$, vanhat: $p = 0,09$). Kuviossa 18 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten p21:n lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu nosti p21:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT-ryhmässä ($p = 0,03$), mutta ei vaikuttanut merkitsevästi PLA-ryhmässä ($p = 0,76$).

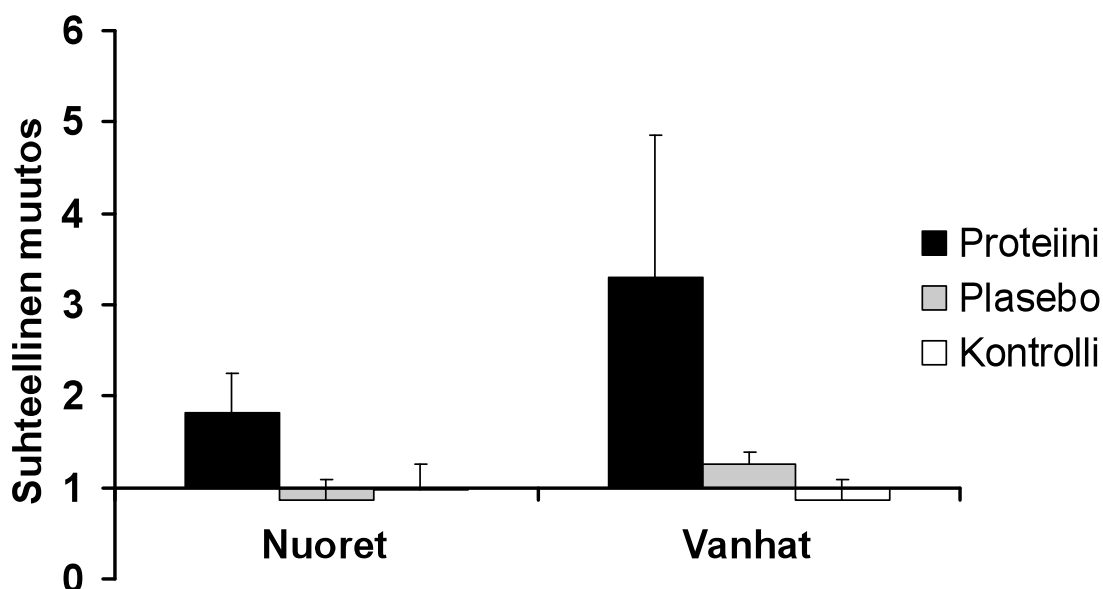


KUVIO 18. Suhteelliset muutokset p21:n lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta.

10.5.7 Cdk2

Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkitsevästi cdk2:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,24$) eikä vanhoilla ($p = 0,26$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,15$, vanhat: $p = 0,11$). Kuviossa 19 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten cdk2:n lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet

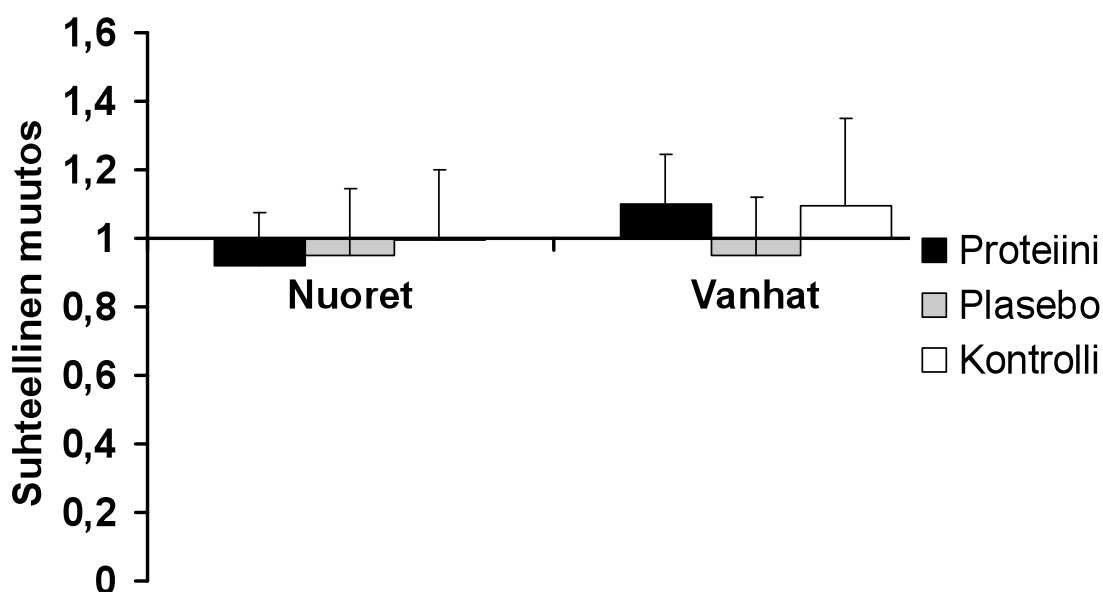
21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkittävästi cdk2:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT- ($p = 0,09$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,27$).



KUVIO 19. Suhteelliset muutokset cdk2:n lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta.

10.5.8 MAFbx

Voimaharjoittelujakso ei vaikuttanut merkittävästi MAFbx:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ($p = 0,31$) eikä vanhoilla ($p = 0,91$) PROT-ryhmässä eikä myöskään PLA-ryhmässä (nuoret: $p = 0,28$, vanhat: $p = 0,35$). Kuviossa 20 on esitetty eriteltynä nuorten ja vanhojen miesten MAFbx:n lähetti-RNA-tasojen suhteelliset muutokset sekä niiden keskivirheet 21 viikon seurantajakson aikana PROT-, PLA- ja KON-ryhmissä. Voimaharjoittelu ei vaikuttanut merkittävästi MAFbx:n lähetti-RNA-tasoihin nuorilla ja vanhoilla yhdistettynä PROT- ($p = 0,37$) eikä PLA-ryhmässä ($p = 0,16$).



KUVIO 20. Suhteelliset muutokset MAFbx:n lähetti-RNA -tasoissa 21 viikon seurantajakson aikana. 1 = ei muutosta.

10.5.9 Ryhmien väliset erot

Proteiini-, plasebo- ja kontrolliryhmien väliset erot. PROT-, PLA- ja KON-ryhmien väliset erot ovat esitettyinä taulukoissa 10, 11 ja 12. Kuvioista 13–20 näkyvät merkitsevyyksien suunnat. Nuorilla miehillä (taulukko 10) ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja eri ryhmien välillä, ainoastaan tilastollinen trendi ($p = 0,06$) cdk2:n lähetti-RNA – tasoissa PROT- ja PLA-ryhmien välillä. Vanhoilla miehillä (taulukko 11) havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero PROT- ja PLA-ryhmien välillä FLRG:n lähetti-RNA – tasoissa ($p < 0,01$) sekä tilastollinen trendi cdk2:n lähetti-RNA – tasoissa PLA- ja KON-ryhmien välillä. Muissa lähetti-RNA – tasoissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja eri ryhmien välillä. Nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero ($p = 0,03$) PROT- ja KON-ryhmien välillä cdk2:n lähetti-RNA – tasoissa sekä tilastollinen trendi PRTO- ja PLA-ryhmien välillä. Muissa lähetti-RNA – tasoissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja eri ryhmien välillä.

TAULUKKO 10. PROT-, PLA- ja KON-ryhmien väliset erojen p – arvot nuorilla miehillä.

	PROT vs. PLA	PROT vs. KON	PLA vs. KON
Myostatiini	0,29	0,92	0,35
Aktiviini IIb -reseptori	0,28	0,84	0,38
FLRG	0,89	0,70	0,54
MyoD	0,82	0,47	0,37
Myogeniini	0,31	0,75	0,60
p21	0,25	0,82	0,33
cdk2	0,06	0,13	0,67
MAFbx	0,81	0,92	0,76

TAULUKKO 11. PROT-, PLA- ja KON-ryhmien väliset erojen p – arvot vanhoilla miehillä.

Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

	PROT vs. PLA	PROT vs. KON	PLA vs. KON
Myostatiini	0,59	0,95	0,66
Aktiviini IIb -reseptori	0,84	0,60	0,53
FLRG	<0,01*	0,19	0,11
MyoD	0,42	0,16	0,65
Myogeniini	0,10	0,85	0,11
p21	0,65	0,99	0,72
cdk2	0,47	0,16	0,06
MAFbx	0,42	0,73	0,76

TAULUKKO 12. PROT-, PLA- ja KON-ryhmien väliset erojen p – arvot nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä. Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

	PROT vs. PLA	PROT vs. KON	PLA vs. KON
Myostatiini	0,54	0,99	0,62
Aktiviini IIb -reseptori	0,54	0,52	0,27
FLRG	0,26	0,38	0,94
MyoD	0,93	0,26	0,30
Myogeniini	0,89	0,91	0,83
p21	0,39	0,87	0,50
cdk2	0,05	0,03*	0,81
MAFbx	0,58	0,93	0,67

Nuorten ja vanhojen miesten väliset erot. Taulukoissa 13–15 on esitettyä 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneet muutosprosentit lähetti-RNA – tasoissa nuorilla ja vanhoilla miehillä erikseen. PROT-ryhmällä (taulukko 13) ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja nuorten ja vanhojen miesten välillä, ainoastaan tilastollinen trendi myogeniinin lähetti-RNA – tasoissa ($p = 0,08$). PLA- sekä PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä havaittiin tilastollisesti merkitsevät erot nuorten ja vanhojen miesten välillä myostatiinin (PLA: $p = 0,03$, PROT&PLA: $p = 0,02$) ja myogeniinin (PLA: $p < 0,01$, PROT&PLA: $p < 0,01$) lähetti-RNA –tasojen muutoksissa. Muissa lähetti-RNA –tasojen muutoksissa ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja nuorten ja vanhojenmiesten

välillä. Alla on esitettyä kuvioiden (21, 22 ja 23) avulla lähetti-RNA -tasojen muutokset PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä keskeisimpien muuttujien osalta.

TAULUKKO 13. PROT-ryhmän nuorten ja vanhojen miesten suhteelliset muutokset (% \pm ka \pm se) 21 viikon seurantajakson aikana lähetti-RNA -tasoissa sekä nuorten ja vanhojen miesten väliset p-arvot PROT-ryhmillä.

	Nuoret	Vanhat	
	Muutos-%	Muutos-%	p -arvo
Myostatiini	-0,9 \pm 25,2	63,4 \pm 45,7	0,27
Aktiiviini IIb	2,1 \pm 22,9	6,0 \pm 19,4	0,63
FLRG	44,2 \pm 60,5	-28,8 \pm 30,6	0,62
MyoD	63,5 \pm 76,8	3,0 \pm 19,1	>0,99
Myogeniini	-19,1 \pm 17,3	138,1 \pm 118,7	0,08
p21	143,7 \pm 66,3	71,8 \pm 37,0	0,65
cdk2	81,7 \pm 43,4	229,3 \pm 156,0	0,73
MAFbx	-7,8 \pm 15,1	9,8 \pm 14,6	0,34

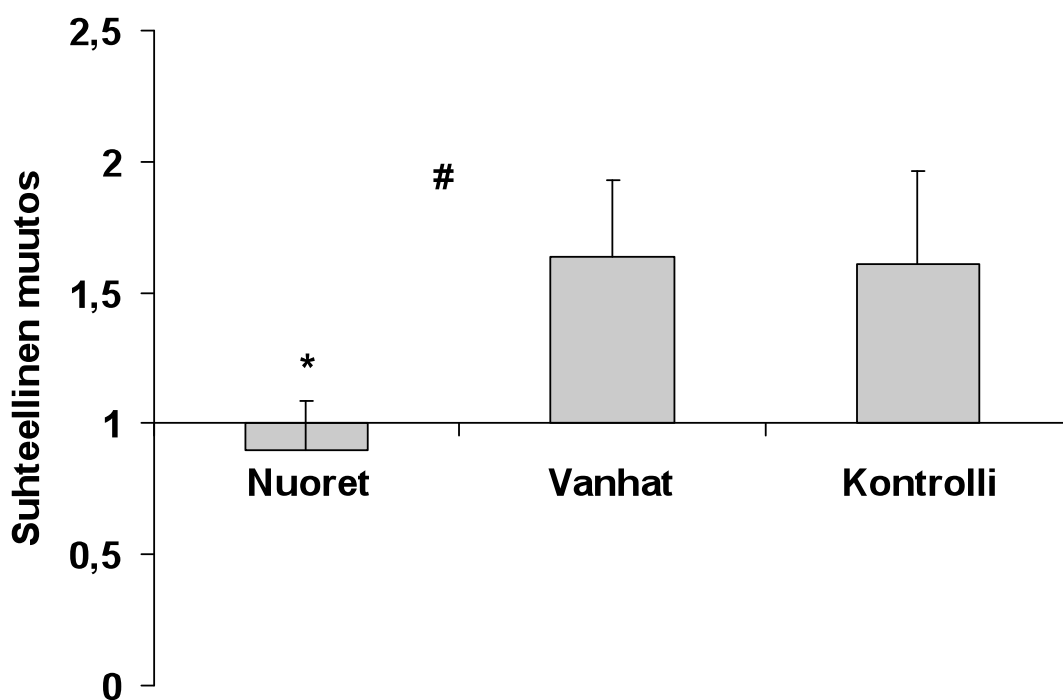
TAULUKKO 14. PLA-ryhmien nuorten ja vanhojen miesten suhteelliset muutokset (% \pm ka \pm se) 21 viikon seurantajakson aikana lähetti-RNA -tasoissa sekä nuorten ja vanhojen miesten väliset p-arvot PLA-ryhmillä. Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

	Nuoret	Vanhat	
	Muutos-%	Muutos-%	p -arvo
Myostatiini	-19,8 \pm 23,6	71,0 \pm 34,7	0,03*
Aktiiviini IIb	-17,0 \pm 18,2	6,0 \pm 19,4	0,38
FLRG	97,1 \pm 78,6	343,6 \pm 172,3	0,11
MyoD	230,3 \pm 184,7	80,0 \pm 55,8	0,48
Myogeniini	-49,1 \pm 12,1	316,8 \pm 118,1	<0,01*
p21	170,3 \pm 152,1	123,0 \pm 64,5	0,27
cdk2	-13,7 \pm 22,8	24,8 \pm 14,5	0,09
MAFbx	-5,2 \pm 19,4	-5,0 \pm 17,0	0,56

TAULUKKO 15. PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä nuorten ja vanhojen miesten suhteelliset muutokset (% \pm ka \pm se) 21 viikon seurantajakson aikana lähetti-RNA -tasoissa sekä nuorten ja vanhojen miesten väliset p-arvot PROT- ja PLA-ryhmät yhdistettynä. Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa $p < 0,05$.

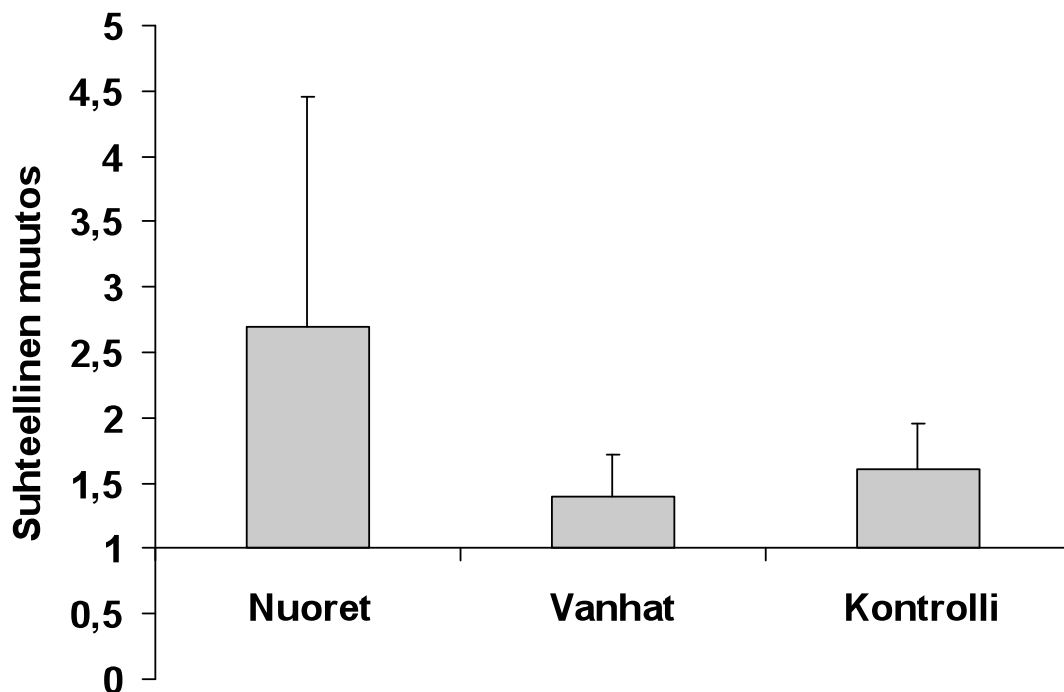
	Nuoret	Vanhat	
	Muutos-%	Muutos-%	p -arvo
Myostatiini	-10,3 \pm 16,9	67,2 \pm 29,0	0,02*
Aktiiviini IIb	-7,9 \pm 14,7	4,2 \pm 13,6	0,32
FLRG	72,2 \pm 52,9	180,7 \pm 112,7	0,57
MyoD	170,2 \pm 175,2	43,7 \pm 31,7	0,42
Myogeniini	-34,1 \pm 10,8	222,4 \pm 83,6	<0,01*
p21	157,0 \pm 80,8	97,4 \pm 36,6	0,45
cdk2	34,0 \pm 26,2	127,1 \pm 80,0	0,14
MAFbx	-6,5 \pm 12,0	2,4 \pm 11,0	0,28

Myostatiini plasebo- ja proteiiniryhmät yhdistettyinä. Kuvioissa 21 on esitettyä 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä myostatiinin lähetti-RNA -tasoissa PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. Kontrolliryhmä on yhdistetty siten, että sekä nuoret että vanhat miehet ovat samassa ryhmässä. Nuorten ja vanhojen miesten välillä havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero ($p = 0,02$). Nuorten myostatiinin lähetti-RNA – tasot laskivat tilastollisesti merkitsevästi ($p = 0,04$) 21 viikon seurantajakson aikana



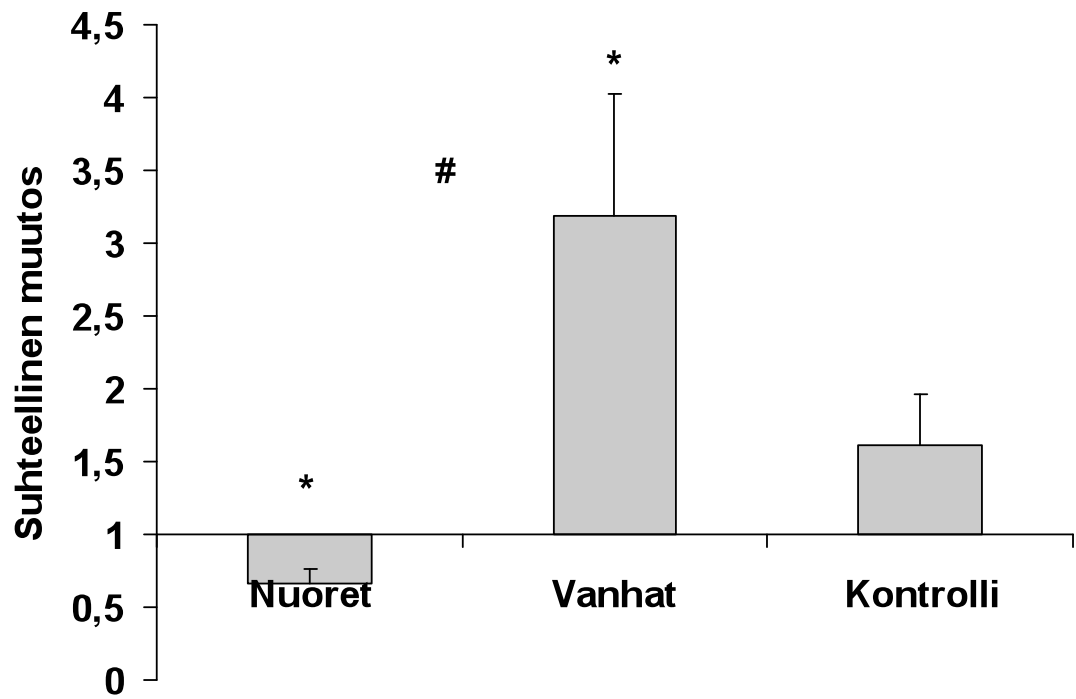
KUVIO 21. 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä MyoD:n ilmentymisessä PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. 1 = ei muutosta. Tähti (*) merkitsee tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien (nuoret ja vanhat) välillä $p < 0,05$.

MyoD plasebo- ja proteiiniryhmät yhdistettyinä. Kuvioissa 22 on esitettyä 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä MyoD:n lähetti-RNA – tasoissa PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. Kontrolliryhmä on yhdistetty siten, että sekä nuoret että vanhat miehet ovat samassa ryhmässä. Tilastollisesti merkitsevää eroa nuorten ja vanhojen miesten välillä ei havaittu ($p = 0,42$).



KUVIO 22. 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä MyoD:n ilmentymisessä PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. 1 = ei muutosta.

Myogeeniini plasebo- ja proteiiniryhmät yhdistettyinä. Kuvioissa 23 on esitettyä 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä myogeeniinin lähetti-RNA – tasoissa PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. Kontrolliryhmä on yhdistetty siten, että sekä nuoret että vanhat miehet ovat samassa ryhmässä. Nuorten ja vanhojen miesten havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero ($p < 0,01$). Nuorilla myogeeniinin lähetti-RNA – tasot laskivat merkitsevästi ($p < 0,01$) ja vanhoilla vastavasti nousivat ($p < 0,01$) 21 viikon seurantajakson aikana.



KUVIO 23. 21 viikon seurantajakson aikana tapahtuneiden muutosten erot nuorten ja vanhojen välillä MyoD:n ilmentymisessä PLA- ja PROT-ryhmät yhdistettyinä. 1 = ei muutosta.

11 POHDINTA

Päätulokset

Tutkimuksen tärkeimmät löydökset olivat, että nuorten miesten lihassoluhypertrofia oli merkitsevästi voimakkaampaa tyypissä I sekä tyypeissä I ja II yhdistettynä verrattuna vanhoihin miehiin. Lihassolujen lisäksi isometrinen jalkojen ojennus sekä yläraajojen voimaa mittaava isometrinen penkkipunnerrusvoima kasvoi merkitsevästi enemmän nuorilla kuin vanhoilla miehillä. Lähetti-RNA – tasojen osalta tutkimuksen tärkeimmät löydökset olivat, että 21 viikon seurantajakson aikana myostatiini laski nuorilla miehillä merkitsevästi sekä satelliittisolujen erilaistumista säätelevä myogeniini laski nuorilla ja nousi vanhoilla merkitsevästi. Toisessa myogeenisessä säätelytekijässä MyoD:ssä havaittiin, että nuorilla sen lähetti-RNA – tasot nousivat 21 viikon seurantajakson aikana, mutta vanhoilla pysyivät samalla tasolla. Sekä myostatiinissa että myogeniinissä havaittiin merkitsevät erot nuorten ja vanhojen miesten välillä.

Voima

Kaikki voimamuuttajat (konsentrinen 1RM, isometrinen jalkaprässi ja isometrinen vinopenkki) kasvoivat merkitsevästi sekä nuorilla että vanhoilla miehillä sekä proteiini- että plaseboryhmillä. Nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä sekä vanhoilla miehillä kaikki voimamuuttajat (konsentrinen 1RM, isometrinen jalkaprässi ja isometrinen vinopenkki) kasvoivat enemmän proteiiniryhmällä kuin plaseboryhmällä. Nuorilla miehillä ainoastaan isometrisen jalkaprässin maksimitulos kasvoi enemmän proteiiniryhmällä kuin plaseboryhmällä. Kuten oletettiin, nuorilla ja vanhoilla ei havaittu eroa konsentrisessa 1RM:ssä eikä isometrisen jalkaprässin maksimituloksessa proteiini- eikä plaseboryhmillä.

Nuorten miesten isometrisen jalkaprässin ja penkkipunnerruksen maksimitulokset parantivat merkitsevästi enemmän kuin vanhojen miesten. Vanhojen miesten isometrisen penkkipunnerruksen maksimivoima ei kasvanut niin paljoa kuin nuorten. Syynä tähän voi olla, että vanhojen miesten yläraajojen voimatasot olivat lähtötasoltaan paremmat verrattuna alaraajojen voimatasoihin (Frontera ym. 1991). Näin ollen yläraajojen voimien kasvu ei ole ollut niin suurta kuin alaraajojen.

Kontrolliryhmällä havaittiin merkitsevä ero isometrisessä jalkaprässissä nuorilla miehillä. Vaikka tutkimuksen alussa järjestettiin ensimmäiset alkumittaukset, kontrolliryhmällä on saattanut tapahtua oppimista. Toisaalta missään muussa voimamuuttujassa vastaavaa tilastollisesti merkitsevää muutosta ei havaittu, joten tätä kontrolliryhmässä havaittua tilastollista merkitsevyyttä voidaan pitää sattumana. On toki mahdollista, että kontrolliryhmän muutama maksimaalinen puristus on kasvattanut maksimivoimantuottoa.

Ravinto

Ravintomuuttujissa ei tapahtunut juurikaan muutoksia testiryhmillä tutkimuksen aikana. Ainoa tilastollisesti merkitsevä ero ($p = 0,01$) havaittiin vanhoilla miehillä plaseboryhmässä viikosta 0 viikkoon 10,5. Vastaavaa tilastollista eroa ei kuitenkaan havaittu samalla ryhmällä viikosta 0 viikkoon 21. Nuorilla miehillä proteiinien saanti oli yleisesti ottaen hieman korkeampaa verrattuna vanhoihin miehiin. Osaltaan tällä saattaa olla hienoinen vaikutus siihen, että vanhojen miesten lihassoluhypertrofia oli alhaisempaa kuin nuorien miesten.

Lihassolukoot ja lihaksen poikkipinta-ala

Kuten Folland & Williams (2007) kokosivat yhteenvetona, eläinkokeilla on todistettu normaalin kasvun ja kehityksen aikana tapahtuva lihassolujen kasvun johtuvan uusien tumien lisäämisestä, jotka saavat alkunsa satelliittisolupopulaatiosta. Uusien tumien lisääntyminen aiheuttaa sytoplasman lisääntymisen, sillä kuten myös ihmisen lihaksessa on havaittu, eri kasvuolosuhteissa tuma-sytoplasma – suhde pysyy suhteellisen muuttumattomana. Tämän lihassoluhypertrofian katsotaan olevan myös ensimmäinen merkki totumisesta pitkäaikaiseen voimaharjoitteluun (Goldspink & Harridge 2003). Lihassoluhypertrofiaa sekä koko lihaksen poikkipinta-alan kasvua on havaittu vasteena voimaharjoittelulle kaikilla ikäryhmillä ja sukupuolesta riippumatta (Fiatarone ym. 1994; Kossek ym. 2006).

Tässä pitkäaikaisessa tutkimuksessa havaittiin selkeästi, että nuorilla miehillä 21 viikon voimaharjoittelu proteiinilisällä tai ilman aiheuttaa sekä tyypin I että tyypin II lihassolujen hypertrofiaa. Vanhoilla miehillä kasvua tapahtui myös, mutta tilastollisesti merkitsevä kasvu havaittiin ainoastaan proteiiniryhmällä tyypin I lihassoluissa. Nuorilla miehillä lihassoluhypertrofia oli voimakkaampaa kaikissa lihassolutyypeissä proteiini-, plasebo- sekä proteiini- ja plaseboryhmillä yhdistettynä. Samankaltaisia tuloksia on saanut

mm. Kosek ym. (2006) tutkimuksessaan, jossa koehenkilöt harjoittelivat kolme kertaa viikossa 16 viikon ajan. He havaitsivat myös, että nuorten miesten lihassoluhypertrofia oli suurempaa kuin vanhojen. Toisaalta esimerkiksi Roth ym. (2001) ei havainnut nuorten ja vanhojen miesten satelliittisolujen suhteellisten osuuksien muutoksissa eroja yhdeksän viikkoa kestäneen kolme kertaa viikossa harjoittelua sisältävän voimaharjoittelun seurauksena. Mahdolliset erot lihassoluhypertrofiassa eri ikäryhmillä voimaharjoittelun seurauksena johtunevat käytettävästä harjoitteluohjelmasta (eli harjoitusintensiteetistä, -määrästä sekä tiheydestä). Ikääntyvillä harjoituksesta palautuminen saattaa olla hitaampaa nuoriin verrattuna. On mahdollista että liian kova intensiteettiinen ja liian usein toistuva voimaharjoittelu ei kehitä vanhoja miehiä samalla tavalla kuin nuoria, sillä vanhojen miesten palautuminen harjoituksesta on hitaampaa.

Tämän tutkimuksen tulokset viittaavat siihen, että vanhoilla miehillä on heikentynyt vaste lihassoluhypertrofialle verrattuna nuoriin miehiin. Valitettavasti rahoitussyistä tässä tutkimuksessa ei tutkittu vanhojen miesten lihaksen poikkipinta-alaa, mikä olisi ollut mielenkiintoista, sillä on mahdollista, että vanhoilla miehillä lihasten mahdollisen poikkipinta-alan kasvun selittäisi mahdollisen hyperplasian ja lihassoluhypertrofian yhteisvaikutus. Nuorten miesten lihaksen poikkipinta-alaa tutkittiin, ja siinä havaittiin tilastollisesti merkitsevä kasvu sekä proteiini- että plaseboryhmillä ulommassa reisilihaksessa ja koko nelipäisessä reisilihaksessa. Lihaksen poikkipinta-alan kasvuun vaikuttaa lihassoluhypertrofia lisäksi myös sidekudoksenkasvu, mutta sen merkitys on vähäinen (MacDougall ym. 1984).

Vanhoilla miehillä havaittiin nuoriin miehiin verrattuna heikentyneen lihassoluhypertrofian lisäksi merkitsevästi heikompaan voimatason kasvuun sekä isometrisessä jalkaprässin että penkkipunnerruksen maksimituloksissa. Lihashypertrofian ja voimatason nousun välillä on tunnetusti lineaarinen yhteys, joten tämä viittaisi siihen, että vanhoilla miehillä koko lihaksen poikkipinta-ala ei ole kasvanut yhtä paljon kuin nuorilla miehillä.

Tässä tutkimuksessa voimaharjoittelua tehtiin 21 viikon ajan kaksi kertaa viikossa. Muissa tutkimuksissa (esim. Roth ym. 2001), joissa nuorten ja vanhojen välillä ei ole havaittu eroja lihassoluhypertrofiassa, on harjoiteltu kolme kertaa viikossa. On siis mahdollista, että ikääntyvillä miehillä kaksi kertaa viikossa tehtävä voimaharjoittelu ei riitä kehittämään lihassoluhypertrofiaa (merkitsevästi). Toisaalta Petrella ym. (2006)

havaitivat, että nuorilla lihassoluhypertrofia oli kaksinkertainen vanhoihin miehiin nähden 16 viikkoa kestäneen (kolme kertaa viikossa) voimaharjoittelujakson seurauksena.

Lähetti-RNA-tasot

Myostatiinin lähetti-RNA-tasot laskivat merkitsevästi nuorilla miehillä proteiini- ja plaseboryhmät yhdistettyinä. Nuorten ja vanhojen miesten välillä havaittiin merkitsevä ero myostatiinin lähetti-RNA – tasojen muutoksissa. Aiemmissä tutkimuksissa on havaittu myös myostatiinin pitoisuuksien laskua voimaharjoittelun seurauksena (Roth ym. 2003; Walker ym. 2004; Kim ym. 2007). Rothin ym. (2003) tutkimuksessa oli mukana sekä nuoria että vanhoja miehiä, ja heillä havaittiin yhtä suuret laskut myostatiinin lähetti-RNA – tasoissa yhdeksän viikon voimaharjoittelun seurauksena. Syynä tähän voi olla, että Rothin ym. (2003) tutkimuksessa koehenkilöt harjoittelivat kolme kertaa viikossa, kun taas tässä tutkimuksessa koehenkilöt harjoittelivat ainoastaan kaksi kertaa viikossa. Tämä viittaisi jo edellä mainittuun seikkaan, että vanhoilla miehillä kaksi kertaa viikossa tehtävä voimaharjoittelu ei ole riittävää aiheuttamaan muutoksia lihassoluhypertrofiassa eikä siihen yhteydessä olevaan lihaksen kasvua negatiivisesti säätelevän myostatiinin lähetti-RNA – tasoissa. Vastaavasti nuorilla miehillä kaksi kertaa viikossa tehtävä voimaharjoittelu on riittävää aiheuttamaan edellä mainittuja muutoksia. Myös ristiriitaista tutkimustietoa myostatiinin lähetti-RNA – tasojen muutoksista voimaharjoittelun seurauksena on havaittu (Willoughby 2004b). Tässä tutkimuksessa havaittiin, että myostatiinin lähetti-RNA – tasot nousivat voimaharjoittelun seurauksena. Syynä tällä eroavaisuudelle on todennäköisesti biopsianottamisen ajankohta. Willoughbyn (2004b) tutkimuksessa biopsia otettiin 15 minuuttia harjoituksen jälkeen kun taas tässä tutkimuksessa biopsia otettiin 4-6 päivää harjoituksen jälkeen.

Plaseboryhmillä myostatiinin sitojaproteiinin FLRG:n lähetti-RNA -tasoja nousi sekä nuorilla että vanhoilla. Vaikka hajonta tällä muuttujalla olikin suurta, voidaan prosentuaalisesti suurista muutoksista päätellä, että voimaharjoittelu nostaa FLRG:n lähetti-RNA-tasoja. Kuitenkin voimaharjoittelu ja proteiinilisiä laskivat FLRG:n lähetti-RNA-tasoja nuorilla ja ei aiheuttanut lainkaan muutosta vanhoilla miehillä. Voimaharjoittelun aiheuttama nousu FLRG:n lähetti-RNA -tasossa viittaisi siihen, että myostatiinin sitoutuminen aktiiviini IIB -reseptoriin estyisi, ja näin ollen myostatiinin kulkureitti keskeytyisi ja kohdegeenin transkriptiota ei pääsisi tapahtumaan (Willoughby 2004a ja 2004b).

Vanhoilla miehillä havaittiin merkitsevä ero proteiini- ja plaseboryhmien välillä FLRG:n lähetti-RNA – tasoissa. Plaseboryhmällä FLRG:n lähetti-RNA – tasot nousivat, kun taas proteiini-ryhmällä ne pysyivät lähes samana 21 viikon seurantajakson aikana. Willoughbyn (2004a ja 2004b) aiemmissa tutkimuksissa havaittiin, että voimaharjoittelu nostaa FLRG:n lähetti-RNA – tasoja. Tämä tutkimus tukee aiempaa löydöstä. Voimaharjoittelulla ja proteiinilisällä taas ei näytä tämän tutkimuksen perusteella olevan vaikutusta FLRG:n lähetti-RNA – tasoihin.

MyoD ja myogeeniini säätelevät satelliittisolujen erilaistumista. Tässä tutkimuksessa havaittiin, että nuorilla etenkin proteiini-ryhmällä MyoD:n lähetti-RNA -tasot nousivat enemmän kuin vanhoilla. Plaseboryhmälläkin nuorten MyoD:n lähetti-RNA -tasot nousivat enemmän kuin vanhoilla. Myogeeniinissä havaittiin merkitsevä lasku nuorilla plaseboryhmässä, mutta merkitsevä nousu vanhoilla miehillä plaseboryhmässä. Myogeeniinissä havaittiin myös merkitsevä ero nuorten ja vanhojen miesten välillä lähetti-RNA – tasojen muutoksissa. MyoD on satelliittisolujen erilaistumisen säätelyketjussa ennen myogeeniiniä. Näin ollen on oletettavaa, että juuri MyoD:n määrän nousu on satelliittisolujen erilaistumisen kiihtymisen kannalta ratkaisevaa. Tämä oletamus tukee tämän tutkimuksen tulosta, jonka mukaan vanhoilla miehillä (joilla MyoD:n lähetti-RNA -tasot eivät nousseet niin paljoa kuin nuorilla) lihassoluhypertrofiaa ei tapahtunut niin paljoa kuin nuorilla miehillä, vaikka vanhoilla PLA -ryhmässä myogeeniinin lähetti-RNA – tasot nousivat. Aiemmin on tutkittu nuorten ja vanhojen miesten välisiä eroja akuutin voimaharjoituksen seurauksena kasvutekijöiden sekä myogeenisten säätelytekijöiden lähetti-RNA – tasoihin. Tutkimuksessa havaittiin, että myogeeniinin lähetti-RNA –tasot nousivat akuutin harjoituksen seurauksena, mutta tämä vaste oli heikentynyt ikääntyneillä. MyoD:n vasteet eivät olleet niin ilmeiset. (Kim ym. 2005b.) Samoin tässä tutkimuksessa muutokset MyoD:n lähetti-RNA – tasoissa olivat vähäisemmät verrattuna myogeeniiniin, jossa havaittiin selkeästi tilastollisesti merkitseviä eroja. Aiemmin on myös havaittu, että myogeenisten säätelytekijöiden vasteet lihaksen korjausprosessissa ovat rajoittuneet ikääntyneillä. Tämä johtunee myogeenisten säätelytekijöiden kohonneista basaaliarvoista. (Kosek ym. 2006.) Osasyynä sille, että tässä tutkimuksessa vanhojen miesten myogeeniinin lähetti-RNA – tasot nousivat saattaa olla ikääntyneiden kohonnut basaalitaso myogeenisillä säätelytekijöillä. Nousu ei välttämättä johdu voimaharjoittelusta vaan ikääntymisestä. Kosek ym. (2006) havaitsi, että nuorilla voimaharjoittelu nosti enemmän myogeeniinin ja myf-5:n lähetti-RNA – tasoja vanhoihin verrat-

tuna, mutta MyoD:ssä ei ollut eroja ikäryhmien välillä. Ristiriita Kosek ym. (2006) tuloksien ja tämän tutkimuksen tuloksissa johtunee biopsian ajankohdasta. Kosekin ym. (2006) tutkimuksessa biopsia otettiin 24 tuntia viimeisen harjoituksen jälkeen, kun taas tässä tutkimuksessa biopsia otettiin 4-6 päivää viimeisen harjoituksen jälkeen. On siis mahdollista, että Kosekin ym. (2006) tutkimuksen tulokset eivät kerro puhtaasti voimaharjoittelun vaikutuksista lähetti-RNA – tasoihin vaan mukana on akuuttiakin vaikutusta.

Myostatiinin aiheuttaa myoblastien kasautumista solusyklin G_0/G_1 ja G_2 vaiheisiin. Tähän liittyy CKI p21:n lähetti-RNA:n ja proteiinien ilmentymisen lisääntymistä sekä Cdk2 lähetti-RNA -tasojen laskua. (Joulia-Ekaza & Gabello 2006.) Tässä tutkimuksessa havaittiin, että 21 viikon voimaharjoittelu ja proteiinilisän nauttiminen aiheuttaa cdk2 lähetti-RNA-tasojen nousua sekä nuorilla että vanhoilla. Suurista keskivirheistä huolimatta voidaan sanoa, että voimaharjoittelu ja proteiinilisän nauttiminen nostaa solusykliä säätelevän cdk-proteiinin cdk2:n lähetti-RNA -tasoja. Tällöin solusyklin läpivieminen saattaa parantua, kun tätä syklistä proteiinia on enemmän saatavilla. On siis mahdollista, että proteiinin nauttiminen voimaharjoitusten yhteydessä saattaa lisätä cdk2:n geenin ilmentymistä voimaharjoittelujakson aikana. Tilastollinen trendi havaittiin nuorilla miehillä ja nuorilla ja vanhoilla miehillä yhdistettynä proteiini- ja plaseboryhmien välillä cdk2:n lähetti-RNA – tasojen muutoksissa. p21:n lähetti-RNA – tasot nousivat kaikilla koehenkilöillä merkitsevästi PROT – ryhmällä. Voimaharjoittelu ja proteiinilisä näyttäisivät siis nostavan solusyklin säätelytekijöiden (cdk2 ja p21) lähetti-RNA – tasoja, kun taas pelkää voimaharjoittelu ei.

MAFbx on lihaksen atrofiaan liittyvä geeni. Aiemmin Léger ym. (2006) on tutkinut MAFbx:n sekä toisen E3 ubikitiini ligaasin MuRF1:n lähetti-RNA -tasoja. Tutkijat havaitsivat vastoin hypoteesiaan, että kahdeksan viikon voimaharjoittelujakso nosti merkittävästi MAFbx:n ja MuRF1:n lähetti-RNA -tasoja, jotka laskivat ennalleen kahdeksan viikon kontrollijakson (detraining) aikana. Tässä tutkimuksessa nuorilla miehillä sekä proteiini- että plaseboryhmillä MAFbx:n lähetti-RNA – tasot laskivat 21 seurantajakson aikana. Nuorten miesten kontrolliryhmällä 21 viikon seurantajakson aikana ei tapahtunut juurikaan muutosta. Näyttäisi siltä, että pitkäaikaisempi 21 viikon voimaharjoittelujakso proteiinilisällä tai ilman laskisi hieman lähetti-RNA – tasoja nuorilla miehillä.

Tutkimuksen ongelmia

Lihاسبiopsiatutkimuksissa on yleisesti ongelmana, että tutkittava lihasnäyte on hyvin pieni osa suurta lihasta. Vaikka lihasnäyte otettiin samasta kohtaa ennen ja jälkeen 21 viikon seurantajaksoa, ei voida sulkea pois mahdollisuutta, että muutokset johtuvat lihasnäytteen näytteenottokohdan muuttumisesta. Minimoidaksemme tämän mahdollisuuden käytimme tässä tutkimuksessa ultraäänikuvaa, jotta näytteenottokohdat olisivat hyvin lähellä toisiaan. Lihاسبiopsia on kuitenkin paras invasiivinen menetelmä tutkia lihassolutason muutoksia ihmisellä. Lähetti-RNA-tasojen suurista keskivirheistä voidaan päätellä, että vasteet lähetti-RNA-tasojen muutoksille voimaharjoittelun seurauksena ovat hyvin yksilöllisiä. Tutkimalla erityisesti satelliittisolujen käyttäytymistä olisi voitu havaita enemmän muutoksia lähetti-RNA – tasoissa.

Johtopäätökset

Lihassolukoko ja osittain myös voima kasvoivat enemmän 21 viikon voimaharjoittelun jälkeen nuorilla vanhoihin miehiin verrattuna, mutta proteiinin nauttimisella voimaharjoitusten yhteydessä ei ollut näihin vaikutusta. Suurentuneeseen voiman ja lihassolujen koon kehittymiseen olivat mahdollisesti yhteydessä myostatiini, MyoD ja myogeeniini, joiden 21 viikon voimaharjoittelujakson aiheuttamat lähetti-RNA – tasojen muutokset erosivat nuorilla ja vanhoilla miehillä. Koska lihashypertrofian katsotaan lähtevän lihassoluhypertrofiasta, jonka taas ajatellaan käsittävän lihassolujen tumien lisääntymiseen (satelliittisolupopulaatiosta) liittyvän sytoplasman lisääntymisen, on selvää, että solusykli- ja satelliittisolujen kypsyminen on olennainen osa lihashypertrofiaa. MyoD:n rooli satelliittisolujen erilaistumisessa on kiistatta olennainen. Tässä tutkimuksessa havaitut erot MyoD:n lähetti-RNA -tasoissa nuorten ja vanhojen miesten välillä (nuorilla MyoD:n lähetti-RNA-tasot nousivat enemmän) ovat yhteydessä nuorten ja vanhojen miesten välillä (nuorilla lihassoluhypertrofia suurempaa) havaittuhin lihassoluhypertrofian eroihin. Myogeeniin lähetti-RNA – tasot vastaavasti nousivat vanhoilla miehillä ja laskivat nuorilla miehillä. On mahdollista, että tämä johtuu ikääntyvien kohonneista myogeenisten säätelytekijöiden basaaliarvoista. Ero nuorten ja vanhojen miesten välillä lihassoluhypertrofiassa on selkeästi yhteydessä nuorten ja vanhojen miesten välillä havaittuihin eroihin myostatiinissa. Myostatiini nousi vanhoilla miehillä ja laski nuorilla miehillä. Koska myostatiini säätelee negatiivisesti lihaksen kasvua, tukee tämä havainto nuorten voimakkaampaa lihassoluhypertrofiaa sekä osittaisesti voimakkaampaa voimien

kasvua 21 viikon voimaharjoittelun seurauksena. Plasebo- ja proteiiniasetelmassa ei havaittu juurikaan eroja. Lisää tutkimusta tarvitaan, jotta proteiinilisän ja/tai voimaharjoittelun aiheuttaman lihassoluhypertrofian mekanismit selkeytyisivät.

LÄHTEET

- Aagaard, P., Andersen J., Dyhre-Puolsen, P., Leffers, A., Wagner, A., Magnusson, S., Halkjaer-Kristensen, J. & Simonsen, E. 2001. A mechanism for increased contractile strength of human pinnate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *Journal of Physiology* 534, 613–623.
- Abe, T., DeHoyos, D. Pollock, M. & Garzarella, L. 2000. Time course for strength and muscle thickness changes following upper and lower body resistance training in men and women. *European Journal of Applied Physiology* 81, 174-180.
- Adams, G. & McCue, S. 1998. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *Journal of Applied Physiology* 84, 1716-1722.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. 2002. *Molecular biology of the cell*. 4. painos. Garland Science, Taylor & Francis Group, New York, U.S.A.
- Alway, S.E., Grumbt, W.H., Stray-Gundersen, J. & Gonyea, W.J. 1992. Effects of resistance training on elbow flexors of highly competitive bodybuilders. *Journal of Applied Physiology* 72, 1512-1521.
- Amthor, H., Nicholas, G., McKinnel, I., Kemp, C.F., Sharma, M., Kambadur, R. & Patel, K. 2004. Follistatin complexes myostatin and antagonises myostatin-mediated inhibition of myogenesis. *Developmental Biology* 270, 19–30.
- Atkinson, G. 2002. Analysis of repeated measurements in physical therapy research: multiple comparisons amongst level means and multifactorial design. *Physical Therapy in Sport* 3, 191–203.
- Baar, K. & Esser, K. 1999. Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *The American Journal of Physiology* 276, C120-127.
- Bamman, M., Shipp, J., Jiang, J., Gower, B., Hunter, G., Goodman, A., McLafferty, C. & Urban, R. 2001. Mechanical load increases muscle IGF-I and androgen receptor mRNA concentrations in humans. *American Journal of Physiology* 280, E383-E390.
- Biolo, G., Tipton, K.D., Klein, S. & Wolfe, R.R. 1997. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *American Journal of Physiology* 273, E122-E129.
- Bodine, S.C., Stitt, T.N., Conzalez, M., Kline, W.O., Stover, G.L., Bauerlein, R., Zlotchenko, E., Scrimgeour, A., Lawrence, J.C., Glass, D.J. & Yancopoulos, G.D. 2001a. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature Cell Biology* 3, 1014–1019.
- Bodine, S.C., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, V.K., Nunez, L., Clarke, B.A., Poueymirou, W.T., Panaro, F.J., Na, E., Dharmarajan, K., Pan, Z.Q., Valenzuela, D.M., DeChiara, T.M., Stitt, T.N., Yancopoulos, G.D. & Glass, D.J. 2001b. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 294, 1704-1708.
- Chakravarthy, M.V., Abraha, T.W., Schwartz, R.J., Fiorotto, M.L., Booth, F.W. 2000. Insulin-like growth factor-I extends in vitro replicative life span of skeletal muscle satellite cells by enhancing G1/S cell cycle progression via the activation of phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signalling pathway. *Journal of Biological Chemistry* 275, 35942-35952.

- Chargè, S. & Rudnicki, M. 2004. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiological Reviews* 84, 209-238.
- Chesley, A., MacDougall, J.D., Tarnopolsky, M.A., Atkinson, S.A. & Smith, K. 1992. Changes in human muscle protein synthesis after resistance exercise. *Journal of Applied Physiology* 73(4), 1383-1388.
- Coleman, M., DeMayo, F., Yin, K., Lee, H., Geske, R., Montgomery, C. & Shwartz, R. 1995. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *The Journal of Biological Chemistry* 270, 12109-12116.
- Colgan, M. 1993. Optimum sports nutrition: your competitive edge. Advanced Research Press, New York.
- Dreyer, H.C., Fujita, S., Cadenas, J.G., Chinkes, D.L., Volipi, E. & Rasmussen, B.B. 2006. Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *Journal of Physiology* 576(2), 613-624.
- Durnin, J.V.G.A. & Womersley, J. 1974. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16-72 years. *British Journal of Nutrition* 32, 77-97.
- Fiatarone, M.A., O'Neill, E.F., Ryan, N.D., Clements, K.M., Solares, G.R., Nelson, M.E., Roberts, S.B., Kehayias, J.J., Lipstz, L.A. & Evans, W.J. 1994. Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *New England Journal of Medicine* 330, 1769-1775.
- Fitts, R. H. & Widrick, R. H. 1996. Muscle mechanics: Adaptations with exercise-training. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 24, 427-473.
- Fleck, S.J. & Kraemer, W.J. 2004. Designing Resistance Training Programs. 3. painos. *Human Kinetics*.
- Florini, J.R., Ewton, D.Z. & Coolican, S.A. 1996. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. *Endocrine reviews* 17, 481-517.
- Folland, J. & Williams A. 2007. The adaptations to strength training morphological and neurological contributions to increased strength. *Sports Medicine* 2, 145-168.
- Frontera, W.R., Hughes, V.A., Lutz, K.J. & Evans, W.J. 1991. A cross-sectional study of muscle strength and mass in 45- to 78-yr-old men. *Journal of Applied Physiology* 73, 2517-2523.
- Garfinkel, S. & Cafarelli, E. 1992. Relative changes in maximal force, EMG, and muscle cross-sectional area after isometric training. *Medicine & Science in Sports and Exercise* 24, 1220-1227.
- Gautsch, T.A., Anthony, J.C., Kimball, S.R., Paul, G.L., Layman, D.K. & Jefferson, L.S. 1998. Availability of eIF4E regulates skeletal muscle protein synthesis during recovery from exercise. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 274, C406-C414.
- Goldspink, G. & Harridge, S.D. 2003. Cellular and molecular aspects of adaptation in skeletal muscle. Teoksessa Komi, P.V. (Toim.) *Strength and Power in Sport*. Blackwell Science Ltd, UK, 231-251.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. 2000. *Textbook of Medical Physiology*. W.B. Saunders Company, U.S.A.
- Ha, E. & Zemel, M.B. 2003. Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *Journal of Nutritional Biochemistry* 14, 251-258.
- Hameed, M., Lange, K., Andersen, J., Schjerling, P., Kjaer, M., Harridge, S. & Goldspink, G. 2004. The effect of recombinant human growth hormone and resist-

- ance training on IGF-I mRNA expression in the muscles of elderly men. *The Journal of Physiology* 555, 231–240.
- Hameed, M., Orrell, R.W., Cobbold, M. Goldspink, G. & Harridge, S. 2003. Expression of IGF-I splice variants in young and old human skeletal muscle after high resistance exercise. *The Journal of Physiology* 547, 247–254.
- Harridge, S. 2007. Plasticity of human skeletal muscle: gene expression to in vivo function. *Experimental Physiology* 92, 783-797.
- Harridge, S., Kryger, A. & Stensgaard, A. 1999. Knee extensor strength, activation and size in very elderly people following strength training. *Muscle Nerve* 22, 831-839.
- Heinemeier, K.M., Olsen, J.L., Schjerling, P., Haddad, F., Langberg, H, Baldwin, K.M. & Kjaer, M. 2007. Short-term strength training and the expression of myostatin and IGF-I isoforms in rat muscle and tendon: differential effects of specific contraction types. *Journal of Applied Physiology* 102, 573-581.
- Heino, J. & Vuento, M. 2004. *Solubiologia*. WSOY, Porvoo.
- Heino, J. & Vuento, M. 2007. *Biokemian ja solubiologian perusteet*. WSOY Oppimateriaalit Oy, Helsinki.
- Hill, J.J. Davies, M.V., Pearson, A.A., Wang, J.H, Hewick, R.M., Wolfman, N.M. & Qiu, Y. 2002. The myostatin propeptide and the follistatin-related gene are inhibitory binding proteins of myostatin in normal serum. *Journal of Biological Chemistry* 277, 40735-40741.
- Hoffman, J.R. & Falvo, M.J. 2004. Protein - which is best? *Journal of Sports Science and Medicine* 3, 118-130.
- Housh, D., Housh, T., Johnson, G. & Chu, W. 1992. Hypertrophic response to unilateral concentric isokinetic resistance training. *Journal of Applied Physiology* 73, 65-70.
- Hulmi, J.J., Kovanen, V., Lisko, I., Selänne, H. & Mero, A. 2008. The effects of whey protein on myostatin and cell cycle-related gene expression responses to a single heavy resistance exercise bout in trained older men. *European Journal of Applied Physiology* 102, 205-213.
- Häkkinen, K. 1990. *Voimaharjoittelun perusteet: vaikutusmekanismit, harjoitusmenetelmät ja ohjelmointi*. Gummerus kirjapaino Oy, Jyväskylä.
- Häkkinen, K. 2003. Ageing and neuromuscular adaptation to strength training. *Teoksessa Komi, P.V. (Toim.) Strength and Power in Sport*. Blackwell Science Ltd, UK, 409–425.
- Häkkinen, K., Alen, M., Kallinen, M., Izquierdo, M., Jokelainen, K., Lassila, H., Mälkiä, E., Kraemer, W.J. & Newton, R.U. 1998a. Muscle CSA, force production, and activation of leg extensors during isometric and dynamic actions in middle-aged and elderly men and women. *Journal of Aging and Physical Activity* 6, 232–247.
- Häkkinen, K. & Häkkinen, A. 1991. Muscle cross-sectional area, force production and relaxation characteristics in women at different ages. *European Journal of Applied Physiology* 62, 410–414.
- Häkkinen, K., Kallinen, M., Izquierdo, M., Jokelainen, K., Lassila, H., Mälkiä, E., Kraemer, W.J., Newton, R. U. & Alen, M. 1998b. Changes in agonist-antagonist EMG, muscle CSA, and force during strength training in middle-aged and older people. *Journal of Applied Physiology* 84, 1341–1349.
- Häkkinen, K., Kraemer, W.J., Kallinen, M., Linnamo, V., Pastinen, U.-M. & Newton, R.U. 1996. Bilateral and unilateral neuromuscular function and muscle cross-

- sectional area in middle-aged and elderly men and women. *Journals of Gerontology: Biological Sciences and Medical Sciences* 51A, B21-B29.
- Jacquemin, V., Furling, D., Bigot, A., Butler-Browne, G.S. & Mouly, V. 2004. IGF-1 induces human myotube hypertrophy by increasing cell recruitment. *Experimental Cell Research* 299, 148–158.
- Joulia, D., Bernardi, H., Garandel, V., Rabenoelina, F., Vernus, B. & Cabello, G. 2003. Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and differentiation by myostatin. *Experimental Cell Research* 286, 263–275.
- Joulia-Ekaza, D. & Gabello, G. 2006. Myostatin regulation of muscle development: Molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Experimental Cell Research* 312, 2401–2414.
- Kadi, F., Eriksson, A., Holmner, S. Butler-Browne G.S. & Thornell, L.E. 1999a. Cellular adaptations of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochemistry and Cell Biology* 111, 189-195
- Kadi, F., Eriksson, A., Holmner, S., Thornell, L.E. 1999b. Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 31, 1528-1534.
- Kim, J-s., Cross, J.M. & Bamman, M.M. 2005a. Impact of resistance loading on myostatin expression and cell cycle regulation in young and older men and women. *American Journal of Physiology* 288, E1110-E1119.
- Kim, J-s., Kosek, D.J., Petrella, J.K., Cross, J.M. & Bamman, M.M. 2005b. Resting and load-induced levels of myogenic gene transcripts differ between older adults with demonstrable sarcopenia and young men and women. *Journal of Applied Physiology* 99, 2149-2158.
- Kim, J-s., Petrella, J.K., Cross, J.M. & Bamman, M.M. 2007. Load-mediated downregulation of myostatin mRNA is not sufficient to promote myofiber hypertrophy in humans: a cluster analysis. *Journal of Applied Physiology* 103, 5, 1488-1495.
- Kosek, D.J., Kim, J-s., Petrella, J.K., Cross, J.M. & Bamman, M.M. 2006. Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. *Journal of Applied Physiology* 101, 531-544.
- Kraemer, W. J., Fleck, S. J. & Evans, W. J. 1996. Strength and power training: Physiological mechanism of adaptation. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 24, 363-397.
- Kvorning, T., Andersen, M., Brixen, K., Schjerling, P., Suetta, C. & Madsen, K. 2007. Suppression of testosterone does not blunt mRNA expression of myoD, myogenin, IGF, myostatin or androgen receptor post strength training in humans. *Journal of Physiology* 95, 1038–1044.
- Latres, E., Amini, A.R., Amini, A.A., Griffiths, J., Martin, F.J., Wei, Y., Lin, H.C., Yancopoulos, G.D. & Glass, D.J. 2005. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) inversely regulates atrophy-induced genes via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) pathway. *Journal of Biological Chemistry* 280, 2737-2744.
- Layman, D.K. 2002. Role of leucine in protein metabolism during exercise and recovery. *Canadian Journal of Applied Physiology* 27, 646-662.
- Lee, S-J., McPherron, A. 2001. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 9306-9311.
- Léger, B., Cartoni, R., Praz, M., Lamon, S., Deriaz, O., Crettenand, A., Gobelet, C., Rohmer, P., Konzelmann, M., Luthi, F. & Russell, A. 2006. Akt signalling

- through GSK-3, mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Journal of Physiology* 576.3, 923-933.
- Lemon, P. 2000. Beyond the zone: protein needs of active individuals. *Journal of American College of Nutrition* 19, 513S-521S.
- Liu, W. & Saint, A. 2002. Validation of a quantitative method for real-time PCR kinetics. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 294, 347-353.
- MacDougall, J.D. 1986. Morphological changes in human skeletal muscle following strength training and immobilization. Teoksessa Jones, N. L., McCartney, N. & McComas, A.L. *Human Muscle Power*. 1986. Human Kinetics, Champaign, Illinois, 269-288.
- MacDougall, J.D. 2003. Hypertrophy and Hyperplasia. Teoksessa Komi, P.V. (Toim.) *Strength and Power in Sport*. Blackwell Science Ltd, UK, 252-264.
- MacDougall, J.D., Elder, G.C.B, Sale, D.G., Moroz, J.R. & Sutton, J.R. 1980. Effects of strength training and immobilization on human muscle fibers. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 43, 25-34.
- MacDougall, J.D., Gibala, M.J., Tarnopolsky, M.A., MacDonald, J.R., Interisano, S.A. & Yarasheski, K.E. 1995. The time course for elevated muscle protein synthesis following heavy resistance exercise. *Canadian Journal of Applied Physiology* 20, 480-486.
- MacDougall, J.D., Sale, D.G., Always, S.E. & Sutton, J.R. 1984. Muscle fiber number in triceps brachii in bodybuilders and control subjects. *Journal of Applied Physiology* 57(5), 1399-1403.
- Marshall, N.D. 2004. Therapeutic applications of whey protein. *Alternative medicine review* 9(2), 136-156.
- Maughan, R.J. & Burke, L.M. 2002. *Sports nutrition*. Blackwell Science Ltd.
- McCroskery, S., Thomas, M., Maxwell, L., Sharma, M. & Kambadur, R. 2003. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *The Journal of Cell Biology* 162(6), 1135-1147.
- McArdle, W. D., Katch, F.I. & Katch, V. L. 2001. *Exercise Physiology – Energy, Nutrition and human performance*. 5. painos. Lippincott Williams & Wilkins.
- McFarlane, C., Plummer, E., Thomas, M., Hennebry, A., Ashby, M. Ling, N., Smith, H. Sharma, M. Kambadur, R. 2006. Myostatin induces cachexia by activating the ubiquitin proteolytic system through an NF-kappaB-independent, FoxO1-dependent mechanism. *Journal of Cell Physiology* 209, 501-514.
- McPherron, A. C., Lawler, A. M. & Lee, S. J. 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387, 83-90.
- Mooren, F. & Völker, K. 2005. *Molecular and cellular exercise physiology*. Human Kinetics, USA.
- Mosher, D.S., Quignon, P., Bustamante, C.D., Sutter, N.B., Mellersh, C.S., Parker, H.G. & Ostrander, E.A. 2007. A Mutation in the myostatin gene increases muscle mass and enhances racing performance in heterozygote dogs. *PLoS Genetics* 3, e79.
- Moss, R. L., Diffie, D. M. Greaser, M. L. 1995. Contractile properties of skeletal muscle fibers in relation to myofibrillar protein isoforms. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 126, 1-63.
- Nabeshima, Y., Hanaoka, K., Hayasaka, M., Esumi, E., Li, S., Nonaka, I. & Nabeshima, Y. 1993. Myogenin gene disruption results in perinatal lethality because of severe muscle defect. *Nature* 364, 532-535.
- Narcini, M., Bordini, M. & Cerretelli, P. 1991. Effect of aging on human adductor pollicis muscle function. *Journal of Applied Physiology* 71, 1227-1281.

- Narici, M., Hoppeler, H., Kayser, B., Landoni, L., Claasesen, H., Gavardi, C., Conti, M. & Cerretelli, P. 1996. Human quadriceps cross-sectional area, torque and neural activation during 6 months strength training. *Acta Physiologica Scandinavica* 157, 175-186.
- Nelson, D.L. & Cox, M.M. 2000. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 3. painos. Worth Publishers, New York.
- Olson, E. & Klein, W. 1993. Muscle deficiency and neonatal death in mice with a targeted mutation in the myogenin gene. *Nature* 364, 501-535.
- Petrella, K., Kim, J., Cross, J., Kosek, D. & Bamman, M. 2006. Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *American Journal of Physiology* 291, E937-E946.
- Pette, D. 2002. The adaptative potential of skeletal muscle fibers. *Canadian Journal of Applied Physiology* 27, 423-228.
- Pette, D. Staron, R. S. 1997. Mammalian skeletal muscle fiber type transition. *News in Physiological Sciences*, 8, 153-157.
- Phillips, S.M., Tipton, K.D., Aarsland, A., Wolf, S.E. & Wolfe, R.R. 1997. Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *American Journal of Physiology* 273(1), E99-E107.
- Porter, M.M., Vandervoort, A.A. & Lexell, J. 1995. Aging of human muscle: structure, function and adaptability. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* 5, 129-142.
- Psilander, P., Damsgaard, R. & Pilegaard, H. 2003. Resistance exercise alters MRF and IGF-I mRNA content in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology* 95, 1038-1044.
- Rennie, M., Wackerhage, H., Spangenburg, E. & Booth, F. 2004. Control of the size of the human muscle mass. *Annual Review of Physiology* 66, 799-828.
- Rios, R., Carneiro, I., Arce, V. & Devesa, J. 2002. Myostatin is an inhibitor of myogenic differentiation. *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 282, C993-999.
- Rommel, C., Bodine, S.C., Clarke, B.A., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, T.N., Yancopoulos, G.D. & Glass, D.J. 2001. Mediation of IGF-I induced skeletal muscle hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. *Nature Cell Biology* 3, 1009-1013.
- Rosenblatt, J.D. & Parry, D.J. 1992. Gamma irradiation prevents compensatory hypertrophy of overloaded mouse extensor digitorum longus. *Journal of Applied Physiology* 73, 2538-2543.
- Ross, M. H. & Pawlina, W. 2006. *Histology a text and atlas with correlated cell and molecular biology*. 5. painos. Lippincott Williams & Wilkins.
- Roth, S.M., Martel, G.F., Ivey, F.M., Lemmer, J.T., Tracy, B.L., Metter, E.J., Hurley, B.F. & Roger, M.A. 2001. Skeletal muscle satellite cell characteristics in young and older men and women after heavy resistance strength training. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 56, B240-B247.
- Roth, S.M., Martel, G.F., Ferrell, R.E., Metter, E.J., Hurley, B.F. & Rogers, M.A. 2003. Myostatin gene expression is reduced in humans with heavy-resistance strength training: A brief communication. *Experimental Biology and Medicine* 228, 706-709.

- Roy, R.R., Baldwin, K.M. & Edgerton, V.R. 1991. The plasticity of skeletal muscle: effects of neuromuscular activity. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 19, 269–312.
- Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skurk, C., Calabria, E., Picard, A., Walsh, K., Schiaffino, S., Lecker, S.H. & Goldberg, A.L. 2004. Foxo transcription factors induce atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell* 117, 399–412.
- Schuelke, M., Wagner, K., Stolz, L., Hübner, C., Riebel, T., Kömen, W., Braun, T., Tobin, J. & Lee, S. 2004. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *The New England Journal of Medicine* 350, 2682–2688.
- Singh, M., Ding, W., Manfredi, T., Solares, G., O'Neill, E., Clements, K., Ryan, N., Kehayias, J., Fielding, R. & Evans, W. 1999. Insulin-like growth factor I in skeletal muscle after weight-lifting exercise in frail elders. *The American Journal of Physiology* 277, E135–E143.
- Smerdu, V., Karsch-Mizrachi, I., Campione, M., Leinwand, L. & Schiaffino, S. 1994. Type IIx myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIb fibers of human skeletal muscle. *American Journal of Physiology: Cell Physiology*, 267, C1723–C1728.
- Tarnopolsky, M., Atkinson, S., MacDougall, J., Chelsey, A., Phillips, S. & Swartz, T. 1992. Evaluation of protein requirements for trained strength athletes. *Journal of Applied Physiology* 73, 1986–1995.
- Thornell, L.E., Lindstrom, M., Renault, V., Mouly, V., Butler-Browne, G.S., 2003. Satellite cells and training in the elderly. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports and Exercise* 13, 48–55.
- Tipton, K.D. & Wolfe, R.R. 2001. Exercise, protein metabolism and muscle growth. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 11, 109–132. Human Kinetics Publisher, Inc.
- Tracy, B., Ivey, F., Hurlbut, D., Martel, G., Lemmer, J., Siegel, E., Metter, E., Fozard, J., Fleg, J. & Hurley, B. 1999. Muscle quality: II. Effects of strength training in 65- to 75yr-old men and women. *Journal of Applied Physiology* 86, 195–201.
- Valtion ravitsemusneuvottelukunta. 2005. Suomalaiset ravitsemussuositukset – ravinto ja liikunta tasapainoon. Edita Prima Oy: Helsinki. Saatavilla pdf-muodossa osoitteessa: <URL:<http://wwwb.mmm.fi/ravitsemusneuvottelukunta/FIN11112005.pdf>>, viitattu 12.2.2008.
- Wagner, K.R., McPherron, A.C., Winik, N. & Lee, S.J. 2002. Loss of myostatin attenuates severity of muscular dystrophy in mdx mice. *Annals of Neurology* 52, 832–836.
- Wagenmakers, A.J.M. 2001. Amino acid metabolism in exercise. Teoksessa Maughan, R.J. (toim.) *Nutrition in Sport: the Encyclopedia of Sports Medicine*. Blackwell Sciences Ltd, 119.
- Walker, K.S., Kambadur, R., Sharma, M. & Smith, H. 2004. Resistance training alters plasma myostatin but not IGF-I in healthy men. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36, 787–793.
- Watt, P.W., Corbett, M.E. & Rennie, M.J. 1992. Stimulation of protein synthesis in pig skeletal muscle by infusion of amino acids during constant insulin availability. *American Journal of Physiology* 263(3 Pt1), E453–E460.
- Welle, S., Bhatt, K. & Thornton, C. 1999. Stimulation of myofibrillar synthesis by exercise is mediated by more efficient translation of mRNA. *Journal of Applied Physiology* 86, 1220–1225.

- Welle, S., Bhatt, K. & Pinkert, C.A. 2006. Myofibrillar protein synthesis in myostatin-deficient mice. *American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism* 290, E409-E415.
- Whittemore, L.A., Song, K., Li, X., Aghajanian, J., Davies, M., Girgenrath, S., Hill, J.J., Jalenak, M., Kelley, P., Knight, A., Maylor, R., O'Hara, D., Pearson, A., Quazi, A., Ryerson, S., Tan, X.Y., Tomkinson, K.N., Vldman, G.M., Widom, A., Wright, J.F., Wudyka, S., Zhao, L. & Wolfman, N.M. 2003. Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 300, 965–971.
- Willoughby, D.S. 2004a. Effects of an alleged myostatin-binding supplement and heavy resistance training on serum myostatin, muscle strength and mass, and body composition. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 14, 461-472.
- Willoughby, D. S. 2004b. Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36, 574-582.
- Yang, J., Ratovitski, T., Brady, P. Solomon, M., Wells, K. & Wall, R. 2001. Expression of myostatin pro domain results in muscular transgenic mice. *Molecular Reproduction and Development* 60, 351-361.