

**VOIMAHARJOITUKSEN JA PROTEIINILISÄN AKUUTIT
TESTOSTERONI- JA ANDROGEENIRESEPTORIVASTEET
VANHOILLA MIEHILLÄ**

Tiina Salo

Kandidaatintutkielma
Liikuntafysiologia LFY.A005
Liikuntabiologian laitos
Jyväskylän yliopisto
Työn ohjaajat: Antti Mero ja
Juha Hulmi
Kevät 2007

TIIVISTELMÄ

Salo, Tiina 2007. Voimaharjoituksen ja proteiinilisän akuutit testosteroni- ja androgeenireseptorivasteet vanhoilla miehillä. Liikuntafysiologian kandidaatin-tutkielma. Liikuntabiologian laitos, Jyväskylän yliopisto, 39 s.

Testosteroni vaikuttaa kohdesoluihinsa, kuten lihassoluihin, androgeenireseptoreiden (AR) välityksellä (esim. Lee & Chang 2003) saaden aikaan mm. lisääntyneen lihaksen proteiinisynteesin (esim. Ahtiainen 2006, 24). Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää voimaharjoituksen ja proteiinilisän vaikutus seerumin testosteroniin sekä androgeenireseptoreiden ilmentymiseen mRNA- ja proteiinitasolla vanhoilla miehillä.

Koehenkilöinä oli 24 57–72-vuotiasta miestä, joista kuusi oli kontrollihenkilönä, eikä suorittanut voimaharjoittelua missään vaiheessa. 18 koehenkilöä osallistui ensin 21 viikon mittaiseen ohjattuun voimaharjoitteluun, minkä jälkeen heidät jaettiin proteiini- (n=9) ja plaseboryhmään (n=9). Proteiini- ja plaseboryhmäläiset suorittivat kaksi viikkoa voimaharjoitusjakson jälkeen raskaan voimaharjoituksen (RV), joka sisälsi jalkaprässiliikkeen (5 x 10 toistoa, 2 min palautus). Koehenkilöt nauttivat ryhmästä riippuen joko 250 ml proteiinilisää (sisälsi 15 grammaa heraproteiinia) tai vastaavan määrän plaseboa ennen ja jälkeen RV:n. Koehenkilöt täyttivät ravintopäiväkirjaa viiden päivän ajan ennen RV:n jälkeistä 48 tunnin biopsiaa. Sen sisältö analysoitiin Micro Nutrica ravintoanalyysiohjelman 3.11 versiolla. Seerumin testosteroni ja SHBG mitattiin ennen sekä 0, 15, 30 minuuttia ja 48 tuntia RV:n jälkeen ja tulokset analysoitiin Immunlite® 1000-laitteella. Lihاسبiopsia otettiin sekä ennen että 1 ja 48 tuntia RV:n jälkeen. AR mRNA-tasot analysoitiin käyttäen reaaliaikaista RT-PCR-laitetta ja alkuperäisen tuotteen määrä laskettiin käyttämällä Liun & Saintin (2002) matemaattista menetelmää. AR ilmentyminen proteiinitasolla analysoitiin immunoblottauksella. Tilastollinen analyysi tehtiin SPSS 12.0-ohjelmalla käyttäen toistettujen mittausten varianssianalyysiä.

Ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja kokonais- ja kehon painoon suhteutetussa energiansaannissa minkään ravintoaineen (hiilihydraatti, proteiini ja rasva) kohdalla. Plaseboryhmän totaalitestosteroni ja SHBG:n avulla laskettu vapaa testosteroni nousivat tilastollisesti merkitsevästi välittömästi RV:n jälkeen ($p > 0.01$), mutta proteiiniryhmässä ei nähty samanlaista RV:n vaikutusta. AR mRNA-tasolla oli nouseva suuntaus proteiiniryhmällä ja AR proteiinitasolla plaseboryhmällä RV:n jälkeen, mutta ne eivät olleet tilastollisesti merkitseviä. Proteiiniryhmän 1h RV:n jälkeinen AR mRNA-taso korreloi positiivisesti RV:n jälkeisten (0-30 min) testosteroniarvojen kanssa.

Tutkimus osoitti, että proteiinilisän nauttiminen raskaan voimaharjoituksen yhteydessä lieventää veren testosteronivastetta vanhoilla miehillä. Sen taustalla saattaa olla vähentynyt testosteronin erityis kiveksistä ja/tai lisääntynyt testosteronin otto lihassoluihin. Lisää tutkimusta kaivataan testosteronin ja AR:ien vuorovaikutuksen selvittämiseksi voimaharjoituksen vaikutuksesta sekä vanhoilla että nuorilla miehillä.

Avainsanat: testosteroni, androgeenireseptorit, voimaharjoittelu

SISÄLTÖ

TIIVISTELMÄ

1	JOHDANTO	5
2	MIEHEN SUKUPUOLIHORMONIT	7
2.1	Testosteronin muodostuminen ja kuljetus	7
2.2	Hypotalamus – aivolisäke – kivekset – akseli	9
2.3	Testosteroni ja vanheneminen	11
2.4	Androgeenireseptorit	12
2.4.1	Rakenne ja toiminta	12
2.4.2	Sijainti ja ilmentyminen lihaksissa	12
2.4.3	Testosteronin vaikutus androgeenireseptoreihin lihaksissa	13
3	VOIMAHARJOITTELUN TESTOSTERONIVASTEET	14
3.1	Voimaharjoittelun ja ravintolisän aiheuttamat testosteronivasteet	15
3.2	Nuorten ja vanhojen miesten väliset erot voimaharjoituksen aiheuttamissa testosteronivasteissa	16
4	VOIMAHARJOITTELUN ANDROGEENIRESEPTORIVASTEET	19
4.1	mRNA-tason vasteet	19
4.2	Proteiinitason vasteet	19
5	TUTKIMUKSONGELMAT JA HYPOTEESIT	21
6	MENETELMÄT	24
6.1	Koehenkilöt	24
6.2	Koeasetelma	24
6.3	Aineiston keräys	26
6.4	Aineiston analysointi	26
6.5	Tilastolliset menetelmät	28

7	TULOKSET.....	30
8	POHDINTA.....	34
9	LÄHTEET	37

1 JOHDANTO

Miehillä testosteronia syntetisoivat ja erittävät Leydigin solut kiveksissä (esim. Lee & Chang 2003). Vanhenemisen myötä Leydigin solut vähenevät ja niiden erityskapasiteetti huononee, mikä johtaa lihasmassan ja -voiman vähenemiseen ja nk. andropausiin (esim. Lamberts ym. 1997). Testosteronineritys väheneekin huippuarvoistaan 0,4–1,2 % /vuosi (esim. Juul & Skakkebak 2002)

Androgeenit, kuten testosteroni ja sen metaboliitti dihydrotesteroni, toimivat androgeenireseptoreiden (AR) välityksellä säädellen niiden määrää sekä mRNA- että proteiinitasolla (Lee ja Chang 2003). Androgeenireseptorit sijaitsevat lähellä sarkolemmaa ja tumaa, mikä on hyödyllinen androgeeneille, jotka tulevat lihassolun ulkopuolelta, sitoutuvat androgeenireseptoreihin ja kulkeutuvat sitten tumaan (esim. Hulmi ym. 2007). Testosteronin ja androgeenireseptorin vuorovaikutus saakin aikaan miljöön, joka johtaa tiettyyn vasteeseen, kuten lisääntyneeseen lihaksen proteiinisynteesiin ja näin ollen lihaksen kasvuun (Ahtiainen 2006, 24–25).

Proteiinilisän ja voimaharjoituksen vaikutusta seerumin testosteronipitoisuuteen on tutkittu paljon nuorilla, mutta ei vanhoilla miehillä. Ennen ja jälkeen voimaharjoitusta nautittu ravintolisän onkin todettu johtavan testosteroniarvojen alenemiseen nuorilla miehillä voimaharjoituksen jälkeen. (esim. Kreamer ym. 1998 ja Bloomer ym. 2000.) Ilman ravintolisää tehty voimaharjoitus voi taas jopa nostaa akuutisti seerumin testosteronipitoisuutta, mutta verrattaessa nuoria ja vanhoja miehiä, nuorten miesten testosteroniarvot kohoavat merkitsevästi korkeammalle (esim. Häkkinen & Pakarinen 1995 ja Kreamer ym.1998).

Vasta muutama tutkimus on tehty voimaharjoittelun vaikutuksesta androgeenireseptoreiden ilmentymiseen mRNA- ja proteiinitasolla. Sekä yksittäisen voimaharjoituksen että voimaharjoittelujakson seurauksena androgeenireseptoreiden mRNA-tason ilmentymisen on todettu lisääntyvän (Bamman ym. 2001; Willoughby & Taylor 2004). Proteiinitasolla androgeenireseptorien ilmentyminen vähenee heti voimaharjoituksen jälkeen (Ratamess ym. 2005), mutta nousee alkutilannetta korkeammalle kahden vuorokauden sisällä voimaharjoituksesta (Willoughby & Taylor 2004.) Voimaharjoituksen

jälkeen nautitun ravinnon on kuitenkin todettu lisäävän androgeenireseptoreiden ilmentymistä proteiinitasolla heti voimaharjoituksen jälkeen (Kreamer ym. 2006b).

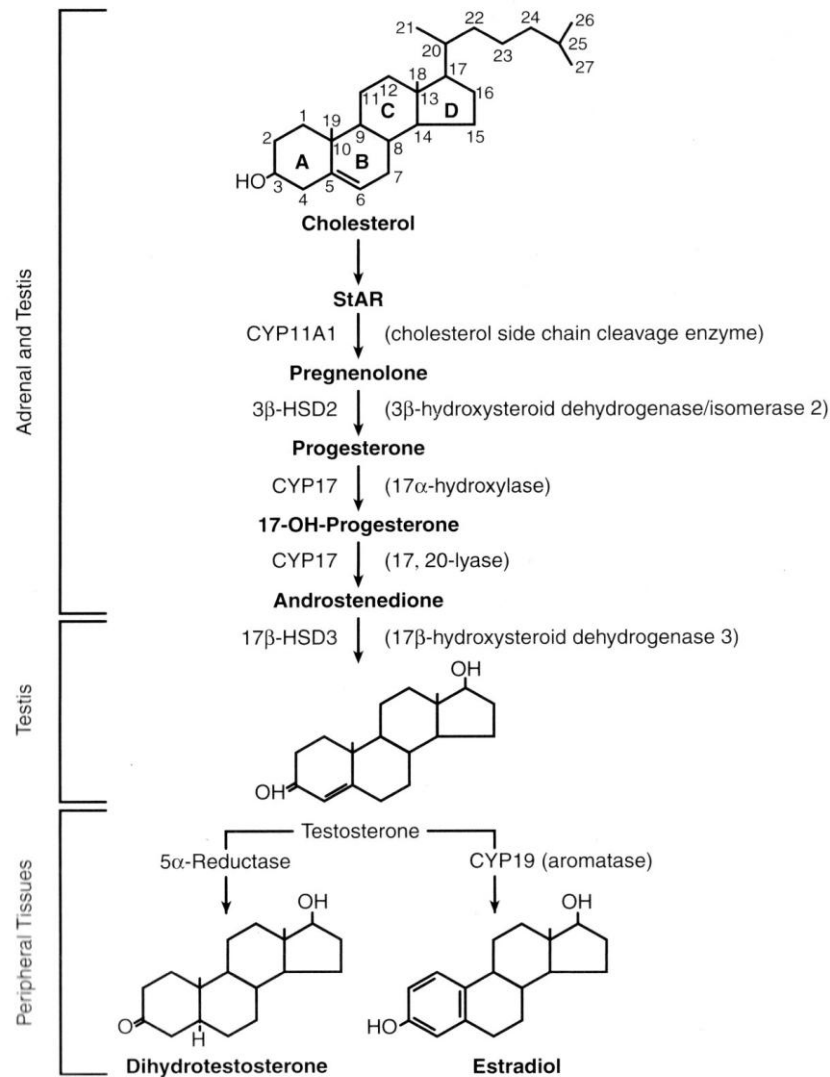
Tämän tutkimuksen tarkoitus on selvittää voimaharjoituksen ja proteiinilisän vaikutus seerumin testosteroniin sekä androgeenireseptoreiden ilmentymiseen mRNA- ja proteiinitasolla vanhoilla miehillä. Kirjallisuuden perusteella hypoteeseiksi asetettiin muun muassa seuraavat muutokset: seerumin totaali- ja vapaa testosteroni nousee akuutisti RV:n jälkeen plaseboryhmällä ja sekä AR mRNA- että AR proteiinitaso nousee akuutisti sekä plasebo- että proteiiniryhmällä RV:n jälkeen.

2 MIEHEN SUKUPUOLIHORMONIT

Hormonit ovat kemiallisia signaaleja, joita eritetään verenkiertoon. Verenkierron kautta ne pääsevät kaikkialle kehoon, mutta vaikuttavat vain tiettyihin kohdesoluihin reseptoreidensa välityksellä. Hormoneja erittävät solut muodostavat sisäeritysrauhasia ja näitä kaikkia yhdessä kutsutaan endokriiniseksi, eli umpierityssystemiksi. (Campbell & Reece 2005, 943 – 944.)

2.1 Testosteronin muodostuminen ja kuljetus

Miehillä testosteronia tuottavat Leydigin solut kiveksissä (Lee & Chang 2003). Testosteronin muodostuminen kolesterolista on esitetty kuvassa 1. Kolesterolia, joka toimii testosteronin prekursoristeroidina, voidaan syntetoida de novo –synteessissä (yksinkertaisista lähtöaineista tapahtuva synteesi) tai sitä voidaan endosytoida plasmasta. Kiveksien on todettu muodostavan testosteronin valmistamiseen vaaditusta kolesterolista puolet de novo –synteessillä. Vastaavasti munasarjat käyttävät lähes pelkästään plasman varastokolesterolia. Luteinisoiva hormoni stimuloi testosteronin valmistamiseen vaadittavia entsyymejä sekä steroidogeenistä akuuttia säätelyproteiinia (StAR), jonka tehtävänä on kuljettaa kolesterolia mitokondrion sisäkalvolle, jossa testosteronisynteesin ensimmäinen vaihe toteutuu. Ensimmäisessä synteessin reaktiossa kolesterolin sivuketju jakautuu CYP11A1:n vaikutuksesta ja muodostuu pregnenolonia. Tämän jälkeen 3β -HSD2 (3β -hydroksisteroididehydrogenaasi) muokkaa se progesteroniksi. CYP17, eli 17α -hydroksylaasi ja $17,20$ -lyyaasi, saa aikaan progesteronin muuttumisen ensiksi 17 -OH-progesteroniksi ja sitten androsteenidioniksi. Kaikki edellä mainitut reaktiot tapahtuvat joko lisämunuaisissa tai kiveksissä. Kiveksissä taas 17β -HSD2 (17β -hydroksisteroididehydrogenaasi 3) muuttaa androsteenidionin testosteroniksi. Periferiassa, kuten androgeenien kohdekudoksissa ja rasvakudoksessa, testosteroni muokataan aktiivisempaan muotoon eli dihydrotestosteroniksi 5α -reduktaasin avulla tai estradioliksi CYP19-aromataasin avulla. Jonkin verran dihydrotestosteronia ja estradiolia muodostuu ja erittyy myös kiveksistä. Testosteronin pääeritysreitti on spermalaskimo. (Griffin & Ojeda 2004, 228.)



KUVA 1. Kolesterolin muokkaus testosteroniksi ja sen metaboliiteiksi (Griffin & Ojeda 2004, 229).

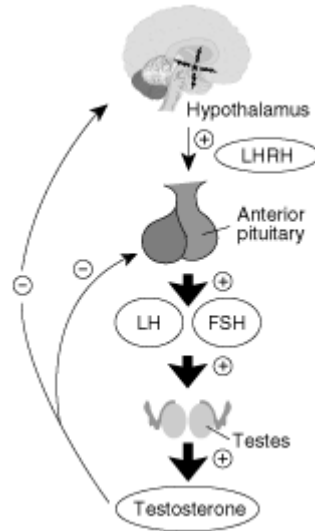
Suurin osa (n. 97-99%) veren seerumissa olevista androgeeneista on sitoutuneena seerumin proteiineihin, kuten albumiiniin (44%) ja sukupuolihormoneja sitovaan globuliiniin (SHBG, sex hormone binding globulin, 54%). Ainoastaan 1-3% androgeeneista on proteiineihin sitoutumattomia (Griffin & Ojeda 2004, 230; Lee & Chang 2003.) Vain vapaat androgeenit voivat diffusoitua kalvojen läpi ja sitoutua androgeenireseptoreihin (Lee & Chang 2003; Ahtiainen 2006, 21). Tiedetään kuitenkin, että mikroverenkierrassa tapahtuu steroidihormonien irtoamista kuljettajaproteiineista, joten steroidihormoneja on tarjolla kudoksiin enemmän, kuin mitä voidaan mitata verinäytteistä. Kudoksesta riippuen hormonien saatavuus soluun riippuu hormonien kuljetusno-

peudesta kapillaareissa, niiden dissosioitumisnopeudesta kuljettajaproteiineista sekä solukalvon läpäisevyydestä. (Griffin & Ojeda 2004, 230.)

2.2 Hypotalamus – aivolisäke – kivekset -akseli

Kuvassa 2. on esitetty hypotalamus – aivolisäke – kives – akseli. Hypotalamuksen etuosan neuronit erittävät luteinisoivan hormonin vapauttajahormonia (LHRH). LHRH kuljetetaan aivolisäkkeeseen porttisuonisysteemiä pitkin, missä se joutuu vuorovaikutukseen aivolisäkkeen etuosan solujen pinnalla sijaitsevien reseptoreiden kanssa. Tämä vuorovaikutus stimuloi luteinisoivan hormonin (LH) ja follikkeleja stimuloivan hormonin (FSH) eritystä. LH:n ja FSH:n erityksen määrä LHRH:n vaikutuksesta on riippuvainen henkilön iästä ja hormonaalisesta tilasta. Gonadotrooppisten reseptoreiden herkkyys LHRH:lle on suuri ihmisen ensimmäisten kuukausien ajan, laskee sitten murrosikään saakka, minkä jälkeen kasvaa ja saavuttaa aikuisiän tason. LHRH:n vaikutuksesta erittyy suhteellisesti enemmän FSH:a kuin LH:a. Sekä LH:ta että FSH:ta erittävät aivolisäkkeen basofiiliset solut. Kumpikin hormoni sisältää samanlaisen α -osan, mutta eron näiden hormonien välillä tekee niiden sisältämä uniikki β -osa, joka määrää niiden immunologiset ja toiminnalliset ominaisuudet. LH:n ja FSH:n reseptorit ovat tyypillisiä G-proteiinikytkentäisiä reseptoreita, joissa on seitsemän solukalvon läpäisevää laskostumaa. LH vaikuttaa Leydigin solujen solukalvon reseptoreihin ja saa näin aikaan cAMP-toisioähetin erittymisen. Toisioähetin ja muiden välivaiheiden jälkeen aktivoituu Leydigin solujen proteiinikinaasi, joka lopulta saa aikaan testosteronin valmistamisen. (Griffin & Ojeda 2004, 236-237.)

Leydigin solujen LH-reseptorien määrä laskee, kun ne altistuvat LH:lle. Väheneminen saavuttaa maksiminsa 24 tuntia altistumisen jälkeen ja määrä palautuu ennalleen useiden päivien kuluttua. Reseptorien vähenemisen johdosta solujen LH-herkkyys pienenee. Pienentyneeseen steroidogeeniseen vasteeseen vaikuttaa reseptoreiden vähenemisen ohella postreseptoriset tapahtumat, koska cAMP ei pysty kompensoimaan huonontunutta LH-herkkyyttä. Leydigin solujen pienentynyt LH-vaste näyttääkin olevan osa kiveksen sisäistä testosteronin erityksen kontrollisysteemiä. (Griffin & Ojeda 2004, 237 – 238.)



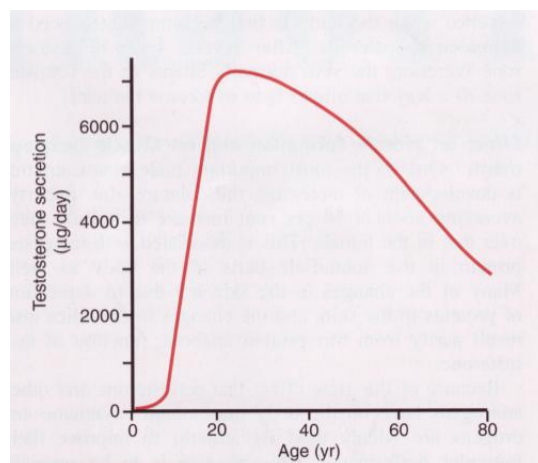
KUVA 2. Hypotalamus – aivolisäke – kivekset – akseli (Emanuele & Emanuele 1998).

FSH:n tiedetään stimuloivan androgeeneja sitovien proteiinien (androgen binding protein, ABP) ja aromataasientsyymikompleksien synteesiä kiveksen Sertolin soluissa. FSH saattaa olla osatekijänä myös steroidogeenisissä vaikuttamalla Leydigin solujen kypsymiseen ja muuntamalla LH:n vaikutusta steroidogeenisiin stimuloimalla parakriinista ja autokriinista eritystä. Useiden muidenkin aineiden, kuten esimerkiksi IGF-I:n ja kortikotropiinia vapauttavan hormonin, on todettu vaikuttavan Leydigin solujen toimintaan, mutta vaikutusten merkitys on epäselvä. (Griffin & Ojeda 2004, 238.)

Luteinisoivan hormonin vapauttajahormonin erityks on jaksottaista ja tapahtuu sykäyksittäin aiheuttaen sekä immunoreaktiivisen että bioaktiivisen LH:n erityksen 8-14 kertaa vuorokaudessa. Myös FSH:n erityks on sykäyksittäistä, mutta se on amplitudiltaan pienempää, koska FSH:n puoliintumisaika on pidempi kuin LH:n. LH:n eritystä säätelee sukupuolihormonien määrä veressä. Sääteley kohdistuu hypotalamukseen säädellen LHRH:n eritystä ja aivolisäkkeeseen säädellen LH:n ja FSH:n eritystä. Testosteronin negatiivinen feedback-kontrolli on esitetty kuvassa 2. Myös testosteronin aineenvaihduntatuotteet estradioli ja dihydrotestosteroni vaikuttavat negatiivisesti varsinkin hypotalamuksen eritykseen. FSH:n eritystä vähentää Sertolin solujen tuottama inhibiini, jonka eritystä lisäävät FSH ja androgeenit. FSH:n eritystä aivolisäkkeestä taas lisää aktiiviini, jota valmistetaan inhibiinin osista silloin, kun inhibiiniä on läsnä vähän. (Griffin & Ojeda 2004, 238-239.)

2.3 Testosteroni ja vanheneminen

Vanhenemiseen liittyy heikentynyt solujen proteiinisynteesikapasiteetti, huonontunut immunitaetti, lisääntynyt rasvamassa, vähentynyt lihasmassa ja -voima sekä luuston mineraalitiheyden lasku. Käytännössä muutokset näkyvät yleisenä fyysisenä heikkoutena, heikentyneenä liikkuvuutena ja tasapainona sekä huonona kestävyyttenä. Vanhuksilla tätä tilaa kutsutaan fyysiseksi hauraudeksi. Lihasten heikkoutta aiheuttavat lihasmassojen ja niiden hermotuksen vanheneminen, nivelrikot ja kroonisesti heikentävät taudit. Näiden ohella passiivinen elämäntapa ja vähentynyt fyysinen aktiivisuus vähentävät lihasvoimaa. Miehillä testosteronin tuotto ja erityös ovat yksi lihasmassaan ja -voimaan vaikuttavista tekijöistä. Muutokset hypotalamus – aivolisäke – kivekset - akselin aktiivisuudessa vaikuttavat vähentävästi seerumin totaalini ja vapaan testosteronin määrään vanhenevilla miehillä. (Lamberts, van den Beld & van der Lely 1997.) Juulin & Skakkebakin (2002) mukaan useiden tutkimusten perusteella on päästy konsensusukseen, että testosteronin erityös vähenee huippuarvoistaan 0,4 – 1,2 % /vuosi (Kuva 3.). Tämä niin kutsuttu andropaussi johtuu vähentyvistä Leydigin soluista ja niiden huonontuneesta erityöskapasiteetista sekä vähentyneestä jaksottaisesta ja stimuloitusta gonadotropiinin erityksestä. Onkin todettu, että yli 60 %:lla terveistä yli 65-vuotiaista miehistä on vapaan testosteronin tasot alle 30–35-vuotiaiden miesten normaaliin tasojen. (Lamberts ym. 1997.)



Kuva 3. Testosteronin erityöksen väheneminen iän myötä miehillä (Guyton & Hall 2000, 293).

2.4 Androgeenireseptorit

2.4.1 Rakenne ja toiminta

Lee ja Chang (2003) kirjoittavat muiden tutkimuksiin viitaten, että veressä vapaina kulkevat androgeenit, testosteroni ja sen metaboliitti 5-alpha-dihydrotesteroni, toimivat androgeenireseptoreiden (AR) välityksellä. Androgeenireseptorit kuuluvat steroidihormonireseptoreiden perheeseen ja koostuvat noin 918 aminohaposta. Androgeenireseptorissa on muuttuva NH₂-terminaaliosa sekä DNA:ta ja ligandeja sitovat osat. Androgeenit säätelevät androgeenireseptorien määrää sekä mRNA- että proteiinitasolla. (Lee & Chang 2003.) mRNA:n säätelyä tapahtuu sekä transkriptio- että transkription jälkeisellä tasolla (Kadi, Bonnerud & Eriksson 2000; Lee & Chang 2003). Leen ja Changin (2003) mukaan proteiinitasolla androgeenireseptorien, kuten muidenkin steroidihormonireseptoreiden, ilmentymisen muutokset johtuvat niiden lyhyestä puoliintumisajasta. He kirjoittavat myös tutkimuksesta, jossa todettiin, että androgeenien ollessa androgeenireseptorien läheisyydessä, ne stabiloivat niitä, jolloin androgeenireseptorien ilmentyminen proteiinitasolla lisääntyy. (Lee & Chang 2003.)

2.4.2 Sijainti ja ilmentyminen lihaksissa

Sinha-Hikim, Taylor, Gonzalez-Cadavid, Zheng ja Bhasin (2004) toteavat tutkimuksessaan, että useat ihmisen vastus lateralis -lihaksen erityyppiset solut sisältävät androgeenireseptoreita, mutta satelliittisolussa ja lihassolujen tumissa niitä ilmenee suurempia määriä. Kadin ym. (2000) tutkimus varmisti selkeästi sen, että androgeenireseptoreita sijaitsee ihmisen lihassolujen tumissa. He todistivat myös, että androgeenireseptoreiden määrä lihasten tumissa on riippuvainen lihaksesta, sillä trapeziuksen androgeenireseptoripitoisuus oli merkitsevästi suurempi kuin vastus lateralisin. (Kadi ym. 2000.) Hulmin ym. (2007) tutkimuksessa selvisi, että sekä nuorten että vanhojen ja sekä harjoitelleiden että harjoittelemattomien miesten vastus lateralisin tyypin I lihassolujen sytoplasman immunofluoresenssivärjäyksen tuottama väri oli voimakkaampi kuin tyypin II lihassolujen. Tutkijat kirjoittavat Tyagin tutkimuksen pohjalta, että ei-ligandiset androgeenireseptorit yleensä sijaitsevat juuri sytoplasmassa.

Tästä tutkijat päättelivät, että tyypin I lihassolut voivat olla vastaanottavaisempia testosteronin vaikutuksille kuin tyypin II lihassolut. Androgeenireseptorien sytoplasmisen värjäys osoitti myös, että väri oli voimakas etenkin lähellä sarkolemmaa. Tutkijoiden mukaan tämä teoreettisesti edullinen sytoplasmisten androgeenireseptorien sijainti lähellä sarkolemmaa ja tumaa on hyödyllinen androgeeneille, jotka tulevat lihassolun ulkopuolelta, sitoutuvat androgeenireseptoreihin ja kulkeutuvat sitten tumaan. (Hulmi, Ahtiainen, Selänne, Volek, Häkkinen, Kovanen & Mero 2007.)

2.4.3 Testosteronin vaikutus androgeenireseptoreihin lihaksissa

Ahtiainen (2006) tiivistää muiden tutkijoiden tutkimustulokset kokonaisuudeksi, jossa testosteronin anaboliset vaikutukset lihakseen välittyvät androgeenireseptoreiden kautta seuraavasti: testosteronin ja androgeenireseptorin vuorovaikutus saa aikaan ympäristön, joka johtaa tiettyyn vasteeseen, kuten lisääntyneeseen lihaksen proteiinisynteesiin. Mahdollinen vaikutusmekanismi on, että testosteroni lisää satelliittisolujen androgeenireseptoritasoja, mikä saattaa lisätä satelliittisolujen herkkyyttä testosteronille. Tämä taas lisää satelliittisolujen määrää. Täten androgeenireseptorit säätelevät androgeenien transkriptiota, mikä saattaa kontrolloida DNA:n kerääntymistä, jota lihaksen kasvu vaatii. (Ahtiainen 2006, 24–25.)

Sinha-Hikim ym. (2004) tutkimuksessa tutkittiin kuuden nuoren miehen vastus lateraalisen lihassoluja ennen ja jälkeen testosteronilisän käytön sekä eristettyjen ihmisen satelliittisoluviljelmien androgeenireseptoripitoisuuksien muutoksia testosteronissa tai dihydrotestosteronissa inkuboitumisen seurauksena. Androgeenireseptorien ilmentyminen testosteronilisän käytön jälkeen lisääntyi merkittävästi basaalitilaan verrattuna. Basaalitilassa lähes kaikki satelliittisoluviljelmän solut sisälsivät androgeenireseptoreita, mutta lihassolujen tumista ainoastaan 50%. Kun solunäytteet altistettiin testosteronille tai dihydrotestosteronille, lihassolujen tumien androgeenireseptoreiden ilmentyminen nousi 76%:iin, mikä muutos oli tilastollisesti merkitsevä. Tutkimuksessa androgeenireseptorien mRNA-taso nousi merkittävästi ja proteiinitasot jopa 2-3 kertaiseksi testosteronin ja dihydrotestosteronin vaikutuksesta. (Sinha-Hikim ym. 2004.)

3 VOIMAHARJOITTELUN TESTOSTERONIVASTEET

Voimaharjoituksen testosteronivasteeseen on todettu vaikuttavan harjoituksen volyyymi ja intensiteetti (Häkkinen & Pakarinen 1995; Gotshalk, Loebel, Nindl, Putukian, Sebastianelli, Newton, Häkkinen & Kreamer 1997; Ratamess, Kreamer, Volek, Maresh, VanHeest, Sharman, Rubin, French, Vescovi, Silvestre, Hatfield, Fleck & Deschenes 2005). Gotshalkin tutkijaryhmän tutkimuksessa seerumin totaalitestosteroniarvot nousivat raskaan voimaharjoituksen jälkeen. Arvot olivat kuitenkin merkitsevästi korkeammat ryhmässä, jossa tehtiin kolme sarjaa yhden sijasta. Arvot pysyivät korkealla kolmen sarjan ryhmäläisillä myös pidempään (30 min) kuin yhden sarjan tehneillä (15 min). (Gotshalk ym. 1997.) Merkitsevä totaalitestosteronin nousu havaittiin usean kyykkysarjan tehneillä miehillä, kun taas yhden sarjan tehneiden arvot laskivat merkitsevästi 45 minuuttia harjoituksen jälkeen. Myös vapaa androgeeni-indeksi oli merkitsevästi alempi yhden sarjan tehneillä heti ja 45 min harjoituksen jälkeen basaalitilaan nähden. Usean sarjan tehneillä taas havaittiin pieni nousu 15 ja 30 minuuttia harjoituksen jälkeen. (Ratamess ym. 2005.) Willoughbyn ja Taylorin (2004) tutkimuksessa sekä seerumin totaalitestosteronin että vapaan androgeeni-indeksin havaittiin nousevan merkitsevästi harjoitusjakson aikana jokaisen kolmen harjoituksen jälkeen. Vapaata androgeeni-indeksiä (testosteroni/SHBG) käytetään epäsuorasti kuvaamaan biologisesti aktiivisen testosteronin määrää. (Willoughby & Taylor 2004.)

Päinvastaisia tuloksia saatiin tutkimuksessa, jossa verrattiin konsentrisen ja eksentrisen voimaharjoituksen aiheuttamia totaalitestosteronivasteita. Tällöin sekä konsentrisen että eksentrisen harjoituksen jälkeen testosteroniarvot pysyivät basaalitilaan nähden matalalla kahdeksan tuntia. Eksentrisen harjoituksen seurauksena ne kuitenkin kohosivat kahdeksan tunnin jälkeen, mutta olivat matalammalla taas 48 tunnin kohdalla. (Bamman, Shipp, Jiang, Gower, Hunter, Goodman, McLafferty & Urban 2001.)

3.1 Voimaharjoittelun ja ravintolisän aiheuttamat testosteronivasteet

Volekin (2004) mukaan useissa tutkimuksissa on todettu, että ennen ja jälkeen voimaharjoitusta nautittu ravinto tai ravintolisä, riippumatta niiden sisällöstä, johtaa pitkittyneeseen testosteroniarvojen alenemiseen voimaharjoituksen jälkeen. Paaston aikana tehty voimaharjoitus taas ei johda yhtä suureen testosteroniarvojen laskuun. (Volek 2004.) Saman ovat todenneet myös Kreamerin ja Bloomerin tutkimusryhmät. Kreamerin ym. tutkimuksessa totaalityestosteroniarvot nousivat tilastollisesti merkitsevästi välittömästi voimaharjoituksen jälkeen sekä proteiini-hiilihydraattilisää että plaseboa nauttineiden ryhmissä, mutta totaalityestosteronimäärät laskivat alle lähtötason kolmantena harjoituspäivänä plaseboryhmäläisillä ja sekä toisena että kolmantena päivänä ravintolisäryhmäläisillä. Totaalityestosteroniarvot olivat kuitenkin merkitsevästi korkeammat plaseboa nauttineilla sekä levossa että 45 minuuttia toisen ja 30 minuuttia kolmannen päivän harjoituksen jälkeen. (Kreamer, Volek, Bush, Putukian & Sebastianelli 1998b.) Bloomerin tutkimusryhmän mukaan testosteroniarvot olivat korkeimmillaan ennen harjoitusta ja 24 tuntia harjoituksen jälkeen sekä plasebo- että erilaisia ravintolisiä nauttineiden testiryhmissä. Yleisesti ottaen he totesivat, että testosteroniarvot laskivat harjoituksen jälkeen, mutta plaseboa nauttineilla ne laskivat merkitsevästi vähemmän aina 4,5 tuntia harjoituksen jälkeiseen aikaan asti. (Bloomer, Sforzo & Keller 2000.)

Vaikka em. tutkimustulokset puhuvat sen puolesta, että ravinnolla ja ravintolisillä on negatiivinen vaikutus testosteroniarvoihin, Kreamer ym. (2006a) ovat saaneet tutkimuksessaan hieman toisenlaisia tuloksia. Seerumin totaalityestosteronin määrä ja vapaa androgeeni-indeksi eivät tässä tutkimuksessa muuttuneet tilastollisesti merkitsevästi ensimmäisen ja toisen viikon jälkeisissä mittauksissa niillä testihenkilöillä, jotka nauttivat aminohappolisää. Plaseboryhmäläisillä oli taas havaittavissa totaalityestosteronin laskeva suuntaus toisen viikon lopussa. Kolmannen viikon lopussa plaseboa saaneilla huomattiin jo merkitsevä seerumin totaalityestosteronin aleneminen, kun taas aminohappolisää saaneilla havaittiin vain laskeva suuntaus. Totaalityestosteroniarvot olivat merkitsevästi korkeammat aminohappo- kuin plaseboryhmäläisillä ensimmäisen, toisen ja kolmannen viikon jälkeen. Vapaa androgeeni-indeksi laski merkitsevästi plaseboryhmäläisillä toisesta viikosta lähtien, kun taas aminohapporyhmäläisillä merkitsevä lasku tapahtui vasta kolmannen viikon lopussa. Koska kaksi ensimmäistä harjoitus-

viikkoa olivat raskaampia kuin kaksi viimeistä, tutkijat päättelivät, että aminohappoli- sä vaikutti säilyttävästi vain testosteronin lepokonsentraatioihin kahden ensimmäisen erittäin raskaan viikon ajan, mutta kun harjoitusintensiiviteettiä laskettiin, myös amino- happoryhmäläisten testosteroniarvot lähtivät laskuun. (Kreamer, Ratamess, Volek, Häkkinen, Rubin, French, Gómez, McGuigan, Scheett, Newton, Spiering, Izquierdo, & Dioguardi 2006a.)

Kreamerin toisen tutkimusryhmän tutkimuksessa voimaharjoittelun todettiin lisäävän totaalitestosteronipitoisuutta välittömästi harjoituksen jälkeen. Harjoituksen jälkeen nautittu ravinto taas alensi totaalitestosteronia. L-karnitiini L-tartraatti –lisän todettiin lisäävän harjoituksen jälkeistä totaalitestosteronin määrää. Vapaassa androgeeni- indeksissä havaittiin merkitsevä kasvu välittömästi harjoituksen jälkeen, kun oli nautit- tu L-karnitiini L-tartraatti –lisää ja vettä. Myös vapaa androgeeni-indeksi laski, jos harjoituksen jälkeen nautittiin ravintoa. (Kreamer, Spiering, Volek, Ratamess, Shar- man, Rubin, French, Silvestre, Hatfield, Van Heest, Vingren, Judelson, Deschenes & Maresch 2006b.) Hulmin, Volekin, Selänteen ja Meron (2005) tekemässä tutkimuksessa seerumin totaalitestosteroni nousi merkitsevästi voimaharjoituksen aikana sekä plase- boa että hiilihydraatti-proteiini-lisää nauttineilla. Heti harjoituksen jälkeen totaalitesto- steroniarvot olivat merkitsevästi korkeammat plaseboryhmäläisillä kuin ravintolisää nauttineilla. (Hulmi ym. 2005.) Niin Hulmin ym. (2005) kuin Kreamerinkin ym. (1998b) tutkimuksessa testosteroniarvo laski basaalitilan tasolle tai sen alle tunnin ku- luessa harjoituksesta. Tutkijoiden mukaan testosteronitason lasku voimaharjoituksen jälkeen saattaa johtua testosteronin synteesin tai erityksen vähenemisestä ja/tai lisään- tyneestä testosteronin vastaanotosta aktiiviseen luurankolihaan. (Hulmi ym. 2005.)

3.2 Nuorten ja vanhojen miesten väliset erot voimaharjoituksen aihe- uttamissa testosteronivasteissa

Kreamer tutkimusryhmineen tutki vapaan ja totaalitestosteronin määrää veren seeru- missa raskaan voimaharjoittelun jälkeen. He havaitsivat sekä 30- että 62-vuotiaiden ryhmissä tilastollisesti merkitsevän nousun lepoarvoihin verrattuna totaalitestosteronin määrässä heti harjoituksen jälkeen. Totaalitestosteroniarvot pysyivät koholla kummas-

sakin ryhmässä 30 minuutin ajan harjoituksen jälkeen. 30-vuotiaiden arvot olivat kuitenkin merkittävästi korkeammat kuin 62-vuotiaiden. Vapaan testosteronin arvot käyttäytyivät samaan tapaan kuin totaalitestosteroniarvot. (Kreamer, Häkkinen, Newton, McCormick, Nindl, Volek, Gotshalk, Fleck, Campbell, Gordon, Farrell & Evans 1998a.) Häkkisen ja Pakarisen (1995) tutkimuksessa oli mukana miehiä 30-, 50- ja 70-vuotiaiden ikäluokissa. 30- ja 50-vuotiaiden miesten testosteroniarvot kasvoivat raskaan voimaharjoituksen jälkeen merkittävästi, kun taas 70-vuotiaiden arvot eivät muuttuneet lähtötasoon nähden. Tutkijoiden mukaan miesten testosteronitasojen nousu oli kuitenkin huomattavasti pienempää kuin aiemmissa tutkimuksissa, jotka oli tehty saman tyyppisillä harjoitteilla, mutta rasituksen määrä oli ollut suurempi. (Häkkinen & Pakarinen 1995.)

Kreamerin ym. (1999) 10 viikon tutkimuksessa totaalitestosteronin lepoarvoissa ei havaittu merkittäviä eroavaisuuksia nuorten ja vanhojen miesten välillä. Vapaan testosteronin lepokonsentraatio oli kuitenkin merkittävästi korkeampi nuorilla miehillä kolmannelta viikosta lähtien. Nuorten miesten seerumin vapaa testosteroni oli myös korkeampi lepotilassa harjoitusjakson lopussa kuin alussa, kun taas vanhoilla miehillä se pysyi muuttumattomana koko tutkimuksen ajan. Ennen harjoitusjakson alkua suoritetun voimatestin jälkeen sekä nuorten että vanhojen miesten totaalitestosteroniarvot nousivat basaalitilaan nähden. Harjoitusjakson lopussa tehdyn voimatestin jälkeen totaalitestosteronin nousu oli merkittävästi suurempi kuin ennen harjoitusjaksoa kummallakin ikäryhmällä. Vapaan testosteronin kohdalla havaittiin merkittävä nousu sekä ennen että jälkeen harjoitusjakson. Nuorten miesten arvot olivat merkittävästi korkeammat kuin vanhojen miesten kaikkina muina aikoina paitsi ennen harjoittelua suoritetun voimatestin. Nuorten miesten harjoitusjakson jälkeistä testiä ennen mitattu vapaa testosteroni oli merkittävästi korkeampi kuin ennen harjoittelua. Samoin käyttäytyivät vanhojen miesten arvot, vaikkakaan ero ei ollut tilastollisesti merkittävä. Tärkeänä löydöksenä tutkijat pitivät sitä, että vaikka vanhojen miesten totaalitestosteronin lepoarvot eivät muuttuneet tutkimuksen aikana, he osoittivat kehittyneitä testosteronin stimuloitavuutta harjoitusjakson seurauksena. (Kreamer, Häkkinen, Newton, Volek, McCormick, Gotshalk, Gordon, Fleck, Campbell, Putukian & Evans 1999.) Samankaltaisia tuloksia, koskien vanhoja miehiä, saatiin 24 viikon harjoittelujakson tuloksena. Tällöin koehenkilöt eivät osoittaneet systemaattisia muutoksia seerumin testosteronissa ja vapaassa testosteronissa koko 24-viikkoisen tutkimuksen aikana. Myöskään en-

nen harjoitusjaksoa suoritettua voimatestin jälkeinen seerumin testosteronitaso ei eronnut basaalitilaan nähden. Kuitenkin, harjoitusjakson jälkeen suoritettu voimatesti sai aikaan tilastollisesti merkitsevän seerumin testosteronitason nousun. Vapaan testosteronin määrä kasvoi merkitsevästi sekä ennen harjoitusjaksoa että sen jälkeen suoritettua voimatestissä. (Häkkinen, Creamer, Pakarinen, Triplett-McBride, McBride, Häkkinen, Alen, McGuigan, Bronks & Newton 2002.)

4 ANDROGEEENIRESEPTORIT

4.1 mRNA-tason vasteet

Kadi ym. (2000) vertasivat tutkimuksessaan harjoittelemattomien, kilpavoimannostajien ja anabolisia steroideja käyttävien kilpavoimannostajien trapeziuksen ja vastus lateralisen lihassolunäytteitä keskenään. Ryhmien välillä ei havaittu eroa vastus lateralisen androgeenireseptoreita sisältävien tumien määrissä. Trapeziuksessa taas kilpavoimannostajien AR-tasot olivat harjoittelemattomia ja anabolisia steroideja käyttävien kilpavoimannostajien AR-tasot muita ryhmiä merkitsevästi korkeammat. Androgeenireseptoritasojen kanssa samaan tapaan ryhmien välillä myös lihaksen tumien määrä erosi. (Kadi ym. 2000.)

Sekä konsentrisen että eksentrisen voimaharjoituksen seurauksena AR mRNA-tasojen on todettu nousevan 48 tuntia harjoituksen jälkeen, kuitenkin enemmän konsentrisen kuin eksentrisen harjoituksen jälkeen (Bamman ym. 2001). Kolmen harjoituskerran harjoittelujakson aikana AR mRNA-tasot olivat korkeammat basaalitilaan nähden 48 tuntia jokaisen harjoituskerran jälkeen. Mitatut AR mRNA-tasot korreloivat sekä seerumin kokonaistestosteronin että vapaan androgeeni-indeksin kanssa. (Willoughby & Taylor 2004.)

4.2 Proteiinitason vasteet

Proteiinitasolla on havaittu androgeenireseptorien merkitsevää lisääntymistä voimaharjoitusjakson seurauksena. Proteiinitasot analysoitiin 48 tuntia harjoituksen jälkeen, jolloin kolmannen harjoituksen jälkeen androgeenireseptoripitoisuus nousi jopa 202 %. Proteiinitasot korreloivat mitattujen seerumin testosteroniarvojen kanssa. Myös myofibrillien proteiinitaso nousi kolmannen harjoituksen jälkeen verrattuna muihin ajankohtiin, mikä saattaa olla yhteydessä androgeenireseptorien ilmentymisen lisääntymiseen, jota esiintyi, kun seerumin testosteronin määrä kasvoi. (Willoughby & Taylor 2004.)

Ratamess ym. (2005) tutki ensimmäisenä eri voimaharjoitteluprotokollien akuuttia androgeenireseptorivastetta proteiinitasolla. Yhden sarjan tehneillä ei havaittu merkittävää eroa basaalitilaan nähden, mutta merkitsevä aleneminen tapahtui usean sarjan tehneillä miehillä tunti harjoituksen jälkeen. Tutkijoiden mukaan tämän aiheutti luultavasti voimaharjoittelun aiheuttama yleinen proteiinikatabolia. Yhden sarjan tehneiden androgeenireseptoripitoisuus korreloi vapaan androgeeni-indeksin kanssa. (Ratamess ym. 2005.)

Yksistään kolmen viikon L-karnitiini L-tartraatti –lisän nauttimisen on todettu lisäävän androgeenireseptoripitoisuutta vastus lateraliksessa. L-karnitiini L-tartraatti –lisän ja voimaharjoituksen sekä välittömästi harjoituksen jälkeen nautitun ravinnon vaikutuksesta androgeenireseptoripitoisuus kasvoi enemmän kuin, jos nautittiin ainoastaan vettä harjoituksen jälkeen. Voimaharjoituksen jälkeen ravinnon ja L-karnitiini L-tartraatti –lisän tai plasebon nauttiminen nosti androgeenireseptoripitoisuutta harjoitusta ennen vallinneeseen tilaan nähden. (Kreamer ym. 2006b.)

5 TUTKIMUSONGELMAT JA HYPOTEESIT

Tutkimusongelma 1.

Ensimmäisenä tutkimusongelmana on selvittää raskaan voimaharjoituksen akuutti vaikutus seerumin totaalitestosteronitasoon vanhoilla miehillä. Tarkastelun kohteena on kaksi ryhmää, joista toinen nautti heraproteiinivalmistetta ja toinen plaseboa välittömästi ennen ja jälkeen raskaan voimaharjoituksen.

Seerumin totaalitestosteronitasojen on todettu laskevan miehillä vanhenemisen myötä (Lamberts ym. 1997). Tutkimuksesta riippuen raskaan voimaharjoituksen on todettu akuutisti lisäävän seerumin totaalitestosteronipitoisuutta 30 minuuttia harjoituksen jälkeen basaalitilaan nähden (Kreamer ym. 1997) tai sitten mitään merkitseviä muutoksia ei ole havaittu (Häkkinen & Pakarinen 1995). Häkkinen ym. 2002 totesivat pitkäaikaisen voimaharjoittelun lisäävän vanhojen miesten totaalitestosteronivastetta akuutisti raskaaseen voimaharjoitukseen.

Ennen ja jälkeen raskaan voimaharjoituksen nautitun ravinnon on todettu lisäävän akuutisti (0-5 min harjoituksen jälkeen) seerumin totaalitestosteronipitoisuutta voimaharjoitelleilla nuorilla miehillä (Hulmi ym. 2005; Kreamer ym. 1998b), mutta totaalitestosteronitaso on laskenut alle lähtötason tämän ajan jälkeen (Hulmi ym. 2005; Kreamer ym. 1998b; Bloomer ym. 2000). Kirjallisuuden perusteella voidaankin esittää seuraavat hypoteesit tässä vanhoille miehille tehtävässä tutkimuksessa:

1. hypoteesi: voimaharjoittelujakson jälkeinen raskas voimaharjoitus nostaa välittömästi harjoituksen jälkeen totaalitestosteronitasoa sekä proteiinia että plaseboa nauttineilla koehenkilöillä.
2. hypoteesi: proteiinia nauttineiden koehenkilöiden totaalitestosteronitaso laskee välittömästi harjoituksen jälkeen suoritettua mittauksen jälkeen alle basaalitilan tason.
3. hypoteesi: plaseboa nauttineiden totaalitestosteronitaso pysyy koholla harjoituksen jälkeen jokaisessa mittauksessa aina 30 minuuttiin asti.

Tutkimusongelma 2.

Toisena tutkimusongelmana on selvittää raskaan voimaharjoituksen akuutti vaikutus vastus lateraloksen AR mRNA-pitoisuuteen sekä korreloivatko mitatut seerumin totaalitestosteroniarvot AR mRNA-pitoisuuksien kanssa.

AR mRNA-tason on todettu olevan merkitsevästi lähtötasoa korkeampi 48 tuntia raskaan voimaharjoituksen jälkeen nuorilla miehillä (Bamman ym. 2000; Willoughby & Taylor 2004). Merkitsevä korrelaatio seerumin testosteronin ja AR mRNA-tason välillä löydettiin Willoughbyn ja Taylorin (2004) tutkimuksessa. Aikaisempia tutkimustuloksia AR mRNA-tasosta tunti voimaharjoituksen jälkeen tai ravinnon ja voimaharjoituksen yhteisvaikutuksista AR mRNA-tasoon ei ollut tutkielman kirjoitushetkellä saatavilla.

4. hypoteesi: AR mRNA-taso nousee raskaan voimaharjoituksen seurauksena sekä proteiini- että plaseboryhmäläisillä.
5. hypoteesi: seerumin totaalitestosteroni korreloi AR mRNA:n kanssa sekä proteiini- että plaseboryhmällä.

Tutkimusongelma 3.

Kolmannen tutkimusongelman tehtävänä on selvittää voimaharjoituksen akuutti vaikutus vastus lateraloksen androgeenireseptorien ilmentymiseen proteiinitasolla sekä korreloivatko mitatut seerumin totaalitestosteronitasot AR-proteiinin kanssa.

Androgeenireseptoreiden proteiinitason ilmentymisen on todettu tutkimuksesta riippuen olevan basaalitilaan nähden matalampi, johtuen luultavasti voimaharjoituksen aiheuttamasta yleisestä proteiinikataboliasta, (Ratamess ym. 2005) tai korkeampi (Kreamer 2006b) tunti raskaan voimaharjoituksen jälkeen. Basaalitilaan nähden lisääntyttä AR proteiinin ilmentymistä havaittiin 48 tuntia voimaharjoituksen jälkeen Willoughbyn & Taylorin (2004) tutkimuksessa. 48 tuntia voimaharjoituksen jälkeen mitattu AR proteiinin ilmentyminen myös korreloi merkitsevästi seerumin totaalitestosteronin kanssa (Willoughby & Taylor 2004). Kreamer ym. (2006b) totesivat ravinnon nauttimisen lisäävän AR proteiinin ilmentymistä enemmän kuin plasebon nauttimisen tunti harjoituksen jälkeen.

6. hypoteesi: AR proteiinin ilmentyminen on basaalitilaan nähden alhaisempi yhden tunnin mutta korkeampi 48 tunnin kohdalla plaseboryhmällä.
7. hypoteesi: AR:ien ilmentyminen proteiinitasolla on basaalitilaan nähden korkeampi sekä yhden että 48 tunnin kohdalla proteiiniryhmällä.
8. hypoteesi: AR proteiinin ilmentyminen korreloi seerumin totaalitestosteronin kanssa sekä proteiini- että plaseboryhmällä.

6 MENETELMÄT

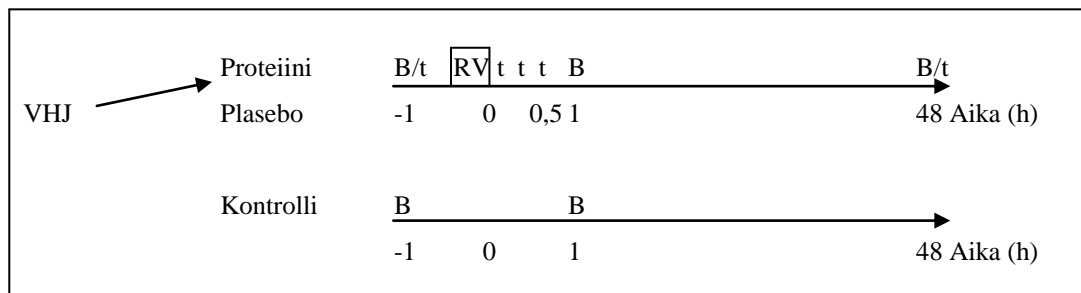
6.1 Koehenkilöt

Koehenkilöinä oli 24 miestä (ikä $62,7 \pm 5,3$ vuotta). Heistä 18 harjoitteli ensin 21 viikkoa kontrolloidusti osana laajempaa tutkimusta, minkä jälkeen heidät jaettiin satunnaisesti joko proteiini- ($n=9$) tai plasebo-ryhmään ($n=9$) tätä tutkimusta varten. Pitkän ja kontrolloidun harjoittelujakson ansiosta koehenkilöiden edeltävä harjoittelukokemus oli erittäin hyvin standardoitu. Kontrollihenkilöinä oli kuusi miestä. Kaikki koehenkilöt olivat kohtuullisen aktiivisia liikkujia ja olivat viime vuosina osallistuneet matalaintensiteettisiin harrastuksiin kuten kävelyyn, pyöräilyyn ja uintiin. Jokaiselle tutkimukseen osallistuneelle koehenkilölle tehtiin lääkärintarkastus ennen harjoittelujaksoa. Koehenkilöitä informoitiin tarkasti tutkimuksen kulusta sekä tutkimuksen mahdollisesti aiheuttamista riskeistä ja kivusta. Tutkimukselle oli saatu Jyväskylän yliopiston eettisen toimikunnan lausunto.

6.2 Koeasetelma

Voimaharjoittelujakso. Voimaharjoitus toteutettiin kahdesti viikossa 21 viikon ajan valvonnan alaisena. Jokaisessa harjoituksessa käytettiin seuraavia harjoitteita: kaksi liikettä jalan ojentajille, jalkaprässi, polven ojennusliike, jalan koukistus sekä polven koukistus. Harjoitusohjelma sisälsi harjoitteita myös muille lihasryhmille, kuten rinta ja hartiat, yläselkä, keskivartalon ojentajat ja koukistajat, kädet, nilkan ojentajat sekä lantion lähentäjät ja loitontajat. Vastusta lisättiin progressiivisesti 40%:sta 85%:iin 1RM:stä. Voimaharjoittelujakson aikana sarjojen määrä kasvoi 2-3:sta 3-5:een ja toistojen määrä väheni 15-20:stä 5-6:een. Kontrolliryhmän jäsenet eivät suorittaneet voimaharjoittelua missään vaiheessa, mutta he jatkoivat normaaleja liikuntatottumuksiaan koko tutkimuksen ajan. Voimaharjoittelujakson jälkeen koehenkilöillä oli kahden viikon tauko ennen raskasta voimaharjoitusta, jonka yhteydessä tämä tutkimus suoritettiin.

Raskas voimaharjoitus (RV). Raskas voimaharjoitus sisälsi kahden jalan jalkaprässisuorituksen David 210-laitteessa (David Fitness and Medical). Voimaharjoitus alkoi kahden minuutin lämmittelyllä polkupyöräergometrillä. Itse jalkaprässisuoritus alkoi 70° polvikulmasta ja päättyi konsentrisen työnnön jälkeen täyteen 180°:een polvien ojennukseen, minkä jälkeen paino laskettiin takaisin paikoilleen eksentrisellä lihas-työllä. Jalkaprässiliikettä suoritettiin kymmenen toistoa viidessä sarjassa (5 x 10). Sarjojen välillä pidettiin kahden minuutin palautus. Vastus asetettiin harjoituksen edetessä sen mukaan, että kukin koehenkilö pystyi suorittamaan 10 liikettä jokaisessa sarjassa. Jos vastus oli liian suuri, koehenkilöä avustettiin hieman viimeisissä nostoissa. Liikkeen suoritusnopeus pyrittiin pitämään samana koko suorituksen ajan. Tutkimuksen kulku on esitetty kuvassa 4.



KUVA 4. Tutkimuksen kulku. VHJ = 21 viikon voimaharjoittelujakso, B = biopsia, t = veri-näyte testosteronin määrittämiseksi, RV = raskas voimaharjoitus.

Ravinto. Koehenkilöt nauttivat normaalia ravintoa koko harjoittelujakson ajan. Koehenkilöt täyttivät ravintopäiväkirjaa kolme vuorokautta ennen RV:ta, RV:n päivänä sekä vuorokauden RV:n jälkeen. Ensimmäinen lihasbiopsia otettiin kolmen tunnin paaston jälkeen. Proteiiniryhmäläiset eivät saaneet nauttia paljon proteiinia sisältävää ruokaa viisi tuntia ennen ensimmäisen biopsian ottoa.

Koehenkilöt nauttivat välittömästi ennen ja jälkeen RV:n 250 ml:aa joko proteiinilisää tai plaseboa. Plasebo ei sisältänyt ollenkaan kaloreita, mutta maistui ja näytti samalta kuin proteiinilisä, joka sisälsi 15 grammaa heraproteiini-isolaattia, josta laktoosi ja rasva oli poistettu.

6.3 Aineiston keräys

Lihاسبiopsia. Lihاسبiopsia otettiin kaikilta proteiini- ja plaseboryhmäläisiltä 30 minuuttia ennen sekä 1 ja 48 tuntia RV:n jälkeen. Biopsiat otettiin vastus lateralislihaksesta, polvilumpion ja isomman trochanterin puolesta välistä alueelta, jossa lihas on paksuimmillaan ja, jossa ei ole suuria hermoja tai verisuonia. Sekä 30 minuuttia ennen että 48 tuntia jälkeen RV:n näytteet otettiin vasemmasta jalasta ja 1 tunti RV:n jälkeen näyte oikeasta jalasta. Kuudelta kontrolliryhmäläiseltä otettiin kaksi biopsiaa. Biopsian oton välissä kontrollihenkilöt lepäsivät kaksi tuntia. Tämä kahden tunnin jakso oli verrokkina ajalle, jolloin harjoitusryhmän henkilöt ensin lepäsivät 30 minuuttia, tekivät noin 30 minuutin harjoituksen ja sen jälkeen vielä lepäsivät tunnin ennen 1 tunti jälkeen RV:n biopsiaa. Lihasnäytteet puhdistettiin näkyvistä side- ja rasvakudoksista ja jäädytettiin välittömästi nestemäisessä työssä ja varastoitiiin – 80 °C:seen.

Verinäytteiden otto. Seerumin testosteronitasojen analysointia varten otettiin verinäyte kyynärvarren laskimosta ennen RV:ta, 0, 15 ja 30 minuuttia sekä 48 tuntia RV:n jälkeen. Verinäytteet säilytettiin – 80 °C:ssa analysointia varten.

6.4 Aineiston analysointi

Ravinto. Päiväkirjojen perusteella analysoitiin kunkin koehenkilön ravinnon saanti ja koostumus Micro Nutrica ravintoanalyysiohjelman 3.11 versiolla.

Totaali RNA:n eristys ja cDNA synteesi. Lihاسبiopsiat homogenoitiin FastPrep (Bio101 Systems, USA) – putkissa, jotka sisälsivät Lysing Matrix D:tä (Q-Biogene, USA). Totaali RNA eristettiin 40–50 mg:sta lihaskudosta fenoli- ja guanidiiniisoyaniitti-liuoksella käyttäen Trizol-reagenssia (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) valmistajan ohjeiden mukaan. RNA-konsentraatio määritettiin perustuen näytteen absorbanssiin 260 nm aallonpituudella (optical density, OD). RNA todettiin puhtaaksi DNA:sta, kun OD₂₆₀/OD₂₈₀ oli noin 2,0 jokaisessa näytteessä. Suoritettu geelielektroforeesi näytti, että eristetty RNA oli ehjää. Viisi µg totaali RNA:ta käänteistranskrip-

toitiin cDNA:ksi valmistajan ohjeiden mukaan 50 µl:ssa High Capacity cDNA Archive Kittä (Applied Biosystems, Foster City, CA,USA).

Reaaliaikainen RT-PCR. Androgeenireseptorien sekä housekeeping geeni GAPDH:n (=geeni, jonka ilmentyminen pysyy samana tutkittavassa tilanteessa) mRNA-pitoisuus määritettiin käyttämällä ABI 7300 reaaliaikaista RT-PCR – laitetta (Applied Biosystems, Foster City, CA,USA). PCR-ajo suoritettiin käyttäen Oligomer Oy:n (Helsinki, Suomi) syntetisoimia primereita eli alukkeita ja niille fluoresoivaa SYBR green – leimaa (QuantiTect, Qiagen, Crawley, UK). Primereiden sekvenssit olivat seuraavat 5'-päästä 3'-päähän: AR eteenpäin TTGTCCACCGTGTGTCTTCTTCTGC ja AR taaksepäin TGCACTTCCATCCTTGAGCTTGGC. Jokainen näyte ajettiin kolminkertaisena ja kaikkien koehenkilöiden eri ajankohtien näytteet ajettiin aina samassa ajossa. Ajon jälkeen nähtiin ainoastaan yksi piikki jokaisen tuotteen sulamiskäyrässä, mikä tarkoittaa, että ainoastaan haluttu cDNA monistui PCR:ssä. AR mRNA-pitoisuudet normalisoitiin GAPDH:n suhteen.

AR mRNA:n määrä. Alkuperäisen AR mRNA:n määrä laskettiin käyttämällä Liun ja Saintin (2002) kehittämää ja validoimaa matemaattista mallia. Malli ottaa huomioon monistustehokkuuden PCR:ssä sykli sykliltä. (Liu & Saint, 2002). SigmaPlot – käyränsovitusohjelmaa (versio 9.0, Systat Software inc., Richmond, CA, USA) käytettiin Liun ja Saintin (2002) matemaattisen menetelmän käytön mahdollistamiseksi.

Androgeenireseptorien proteiinitason määrittäminen. Jokainen näyte (noin 20 – 30 mg) homogenoitiin 4 %:ssa Müllerin puskuriliuoksessa. Homogenaatti sentrifugoitiin sitten 4 °C:ssa 15 minuutin ajan 13000 kierrosta/minuutti. Supernatantin proteiinikonsentraatio määritettiin käyttämällä Lowryn menetelmää (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) Koko homogenaatin kaikkien proteiinien kokonaiskonsentraatio analysoitiin jokaisesta näytteestä viisinkertaisesti, jotta tulokset olisivat mahdollisimman luotettavia. Tämän määrittäksen perusteella otettiin näytteestä 40µg proteiinia ja se liuotettiin näytepuskuriin. Edellä mainittu näyte ja näytepuskuri inkuboitiin tämän jälkeen 15 minuuttia 65 °C:ssa 40µg proteiinipuskuriliuoksessa. Proteiinielektroforeesi suoritettiin 8 % polyagrylaamidigeelissä (Novex® Pre-Cast Gel, Invitrogen inc., Carlsbad, CA, USA) 25°C:ssa 1h 45 minuuttia teholla 125 voltia. Proteiinit siirrettiin sen jälkeen sähköisesti PVDF-kalvolle (Hybond-P, Amersham BioSciences) immunoblottauksella (western blotting)

4 °C:ssa yön yli. Proteiinien siirtymisen onnistuminen geeliltä PVDF-kalvolle todettiin Ponsau S-värjäyksellä. Kalvo pestiin sen jälkeen TBS-liuoksella ja blokattiin BSA:lla tunnin ajan 25 °C:ssa. Primäärinen kanin AR-vasta-aine (Ab3510, Abcam, UK) lisättiin kalvolle ja annettiin inkuboitua tunnin ajan 25 °C:ssa. Pesun jälkeen kalvoa inkuboitiin yhtä kauan sekundäärivasta-aineiuoksessa (goat anti-rabbit, G21234, Molecular Probes) ja sen jälkeen luminolissa (ECL Plus, Amerhan BioSciences). Tämän jälkeen kalvo altistettiin X-ray –filmille, jotta tulokset saatiin näkyviin. Androgeenireseptoriproteiinien kvantifointiin käytettiin densitometriskannausta (Personal Densitometer SI, Molecular Dynamics). Analysoidut AR-vyöhykkeet varmennettiin AR:ien positiivisella kontrollilla, eli kaupallisella tuotteella, jossa tiedettiin olevan todella paljon AR:ita (T47D Cell Lysate, Santa Cruz Bio Technology). (Hulmi ym. 2007.)

Seerumin testosteroni ja SHBG:n määrittäminen. Verinäytteistä analysoitiin testosteroni- ja sukupuolihormoneja sitovan globuliinin (SHBG) tasot immunometrisellä kemiluminesenssimetodilla Immunlite® 1000-laitteella (DPC, Los Angeles, CA, USA). Sensitiivisyys testosteronin määrittämiselle on 0,5 nmol/l ja CV (CV = variaatiokerroin) 5,7 % sekä SHBG:lle 0,2 nmol/l ja CV 2,4 %. Vapaan testosteronin määrä laskettiin totaali-testosteronin ja SHBG:n konsentraatioiden avulla. Totaalin ja vapaan testosteronin tulokset esitetään kuvissa korjaamattomassa muodossa plasman volyymin suhteen. Tulokset korjattiin kuitenkin myös suhteessa plasman volyyymiin, jotta voitiin varmistaa, että plasman volyymi ei selittänyt muutoksia.

6.5 Tilastolliset menetelmät

Keskiarvojen, keskihajonnan (SD), keskivirheiden (SE) ja Pearsonin korrelaatiokerroimien laskemiseksi käytettiin standardeja tilastomenetelmiä. Keskiarvo laskettiin jokaisen ryhmän (proteiini-, plasebo- ja kontrolliryhmä) jäsenen tuloksista kaikissa mitattavissa suureissa (ravinto, testosteroni, AR mRNA ja AR proteiinitaso). Keskihajontaa käytettiin kuvattaessa ravinnon sisältöä ja keskivirhettä muiden muuttujien kohdalla.

Raskaasta voimaharjoituksesta (RV) saatu data analysoitiin toistettujen mittausten varianssianalyysillä (General Linear Model, GLM, repeated measures). Analyysiin käytettiin SPSS 12.0-ohjelmaa. Ravinto-muuttujaa tarkasteltiin ryhmien välillä, jolloin ryhmittelevänä tekijänä toimi ravintolisä (proteiini vs. plasebo). Muiden muuttujien kohdalla (testosteroni, AR mRNA ja AR proteiini) tarkasteltiin ryhmän sisäisiä muutoksia mittauspäivän eri ajanhetkinä (testosteroni: ennen sekä välittömästi, 15 min ja 30 min ja 48 h RV:n jälkeen; AR mRNA ja AR proteiini: ennen sekä 1 h ja 48 h RV:n jälkeen). Samalle koehenkilölle suoritettujen mittausten tuli korreloida keskenään (tarkasteltiin Pearsonin korrelaatiokertoimen avulla), jotta sfäärisyys-oletus toteutui (Atkinson 2001). Sfäärisyyttä tarkasteltiin ja kontrolloitiin Atkinsonin (2001) esille nostamien menetelmien mukaan. Parillisen t-testin tulokset korjattiin Holm-Bonferroni korjausmenetelmällä. Holm-Bonferroni post hoc-testejä käytettiin, jotta nähtiin testosteronin, AR mRNA:n ja AR proteiinin väliset yhteydet. (Atkinson 2002.) Tulos katsottiin merkitseväksi kun $p \leq 0,05$. Testosteronia, AR mRNA:ta ja AR proteiinia koskevat tulokset suhteutettiin niin, että ennen RV:ta mitattu arvo oli kaikilla ryhmillä 1.

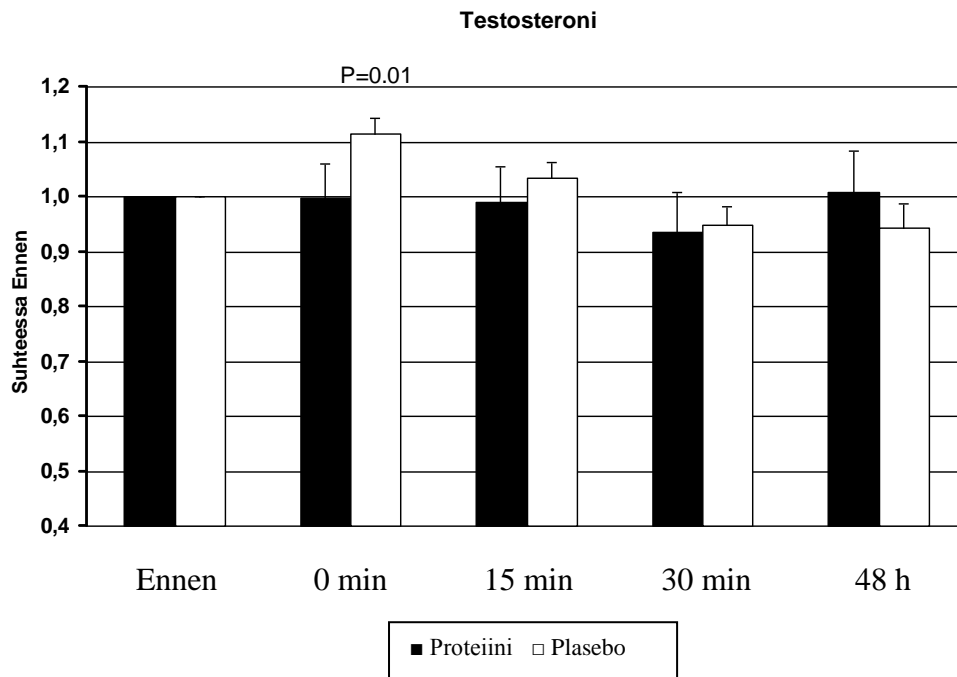
7 TULOKSET

Ravintopäiväkirja-analyysi. Proteiini- ja plaseboryhmäläisten välillä ei ollut tilastollisesti merkitseviä eroja kokonais- ja kehon painoon suhteutetussa energiansaannissa minkään ravintoaineen (hiilihydraatti, proteiini ja rasva) kohdalla ennen 1 tunti ennen RV:n biopsiaa tai sen jälkeen ennen 48 tuntia RV:n jälkeen biopsiaa. ($p>0.23$). (Taulukko 1.)

Taulukko 1. Ruokapäiväkirjan perusteella lasketut ravintoarvot viiden päivän keskiarvoina. Arvot ovat keskiarvoja \pm SD. E = energia, kg = kehon massa. (mukaillen Hulmi ym. 2007.)

Viiden päivän keskiarvo		
Muuttuja	Proteiini	Plasebo
E (1000kJ)	8.0 \pm 2.2	7.8 \pm 1.9
E (kJ/kg)	95.8 \pm 24.3	99.6 \pm 27.2
Prot (%E)	18.8 \pm 2.4	19.4 \pm 3.0
Prot (g/kg)	1.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.3
HH (%E)	47.9 \pm 3.6	50.6 \pm 5.1
HH (g/kg)	2.7 \pm 0.7	3.0 \pm 0.8
Rasva (%E)	28.4 \pm 4.7	28.8 \pm 3.6
Rasva (g/kg)	0.8 \pm 0.3	0.8 \pm 0.3

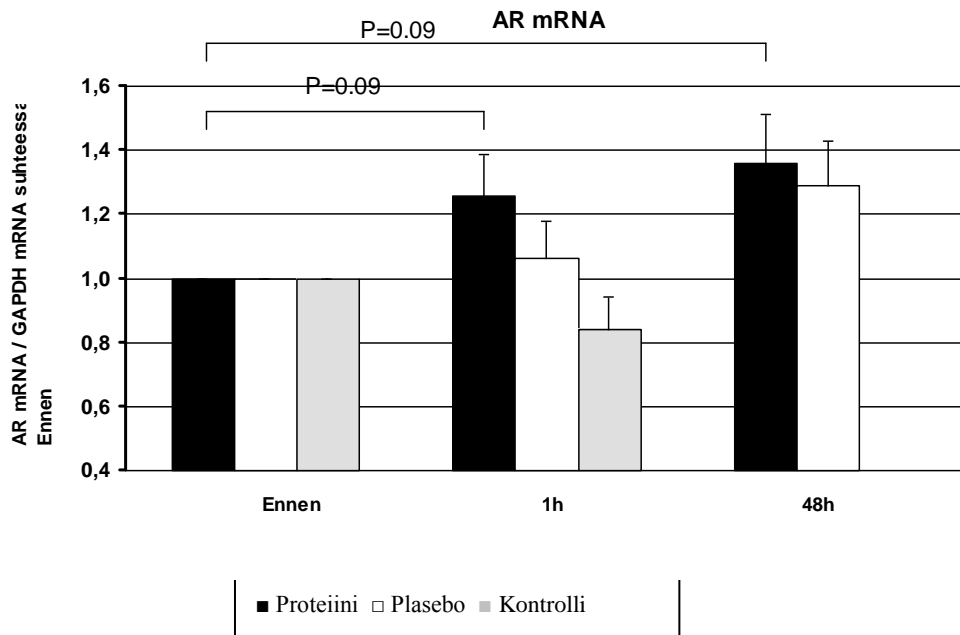
Seerumin totaali- ja vapaatestosteroni. Plaseboryhmän ennen RV:ta otetun verinäytteen seerumin totaalitestosteroni oli 12,70 nmol/l (SE 1,14) ja proteiiniryhmän 14,27 nmol/l (SE 1,40). Plaseboryhmän totaalitestosteroni nousi tilastollisesti merkitsevästi välittömästi RV:n jälkeen ($p>0.01$). Totaalitestosteroniarvot olivat koholla myös 15 minuuttia RV:n jälkeen, minkä jälkeen arvot laskivat lähtötasolle. Proteiiniryhmässä ei nähty samanlaista RV:n vaikutusta totaalitestosteroniarvoihin, vaan arvot pysyivät samassa kuin RV:ta ennen suoritettussa mittauksessa. (Kuva 5.) Vapaan testosteronin arvot käyttäytyivät samalla tavalla kuin totaalitestosteronin arvot (ei kuvaa).



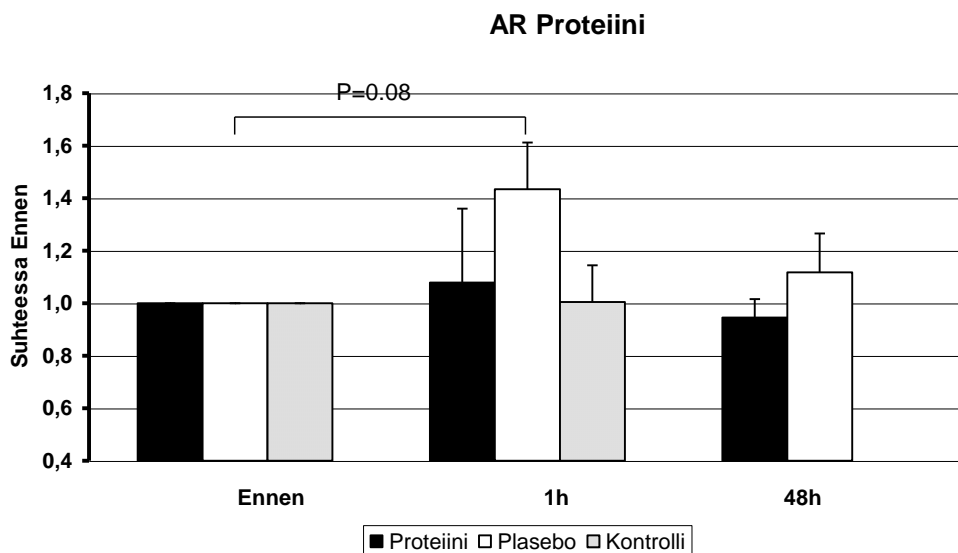
KUVA 5. Testosteroni suhteessa ennen RV:ta tehtyyn mittaukseen (mukailen Hulmi ym. 2007).

Lihaksen androgeenireseptoreiden mRNA-tasot. Kontrollihenkilöiden AR mRNA-tasot eivät muuttuneet kahden tunnin levon aikana. Proteiiniryhmän AR mRNA-taso oli yksi ja 48 tuntia RV:n jälkeen suuntaa-antavasti ($p=0.09$) korkeampi kuin RV:ta ennen. mRNA Plaseboryhmän AR mRNA-taso pyrki myös hieman nousemaan, mutta nousu oli vähäisempää kuin proteiiniryhmässä, eikä se näin ollen ollut tilastollisesti merkitsevää. (Kuva 6.)

Lihaksen androgeenireseptoreiden proteiinitasot. Kontrolliryhmän AR-proteiinitaso pysyi muuttumattomana kahden tunnin levon aikana. Plaseboryhmässä AR-proteiinitaso oli korkeampi RV:n jälkeen basaalitilaan nähden, mutta ero oli vain suuntaa-antava ($p=0.08$). Plaseboryhmän Ennen- ja 1h jälkeen-mittausta verrattaessa $p=0.08$. Proteiiniryhmässä AR:ien proteiinitaso pysyi samana. (Kuva 7.)



KUVA 6. AR mRNA suhteessa RV:ta ennen tehtyyn mittaukseen (mukaiillen Hulmi ym. 2007).



KUVA 7. AR proteiini suhteessa ennen RV:ta tehtyyn mittaukseen. (mukaiillen Hulmi ym. 2007).

Muuttujien väliset korrelaatiokertoimet. Proteiiniiryhmässä yksi tunti RV:n jälkeen suoritetun mittauksen AR mRNA:n muutos korreloi positiivisesti RV:n jälkeen mitat-

tujen seerumin totaalitestosteroniarvojen kanssa: välittömästi (0 min) RV:n jälkeen ($r=0.816$, $p=0.007$), 15 min RV:n jälkeen ($r=0.656$, $p=0.007$) ja 30 minuuttia RV:n jälkeen ($r=0.80$, $p=0.02$). Muita merkitseviä korrelaatiokertoimia ei ollut.

8 POHDINTA

Päätulokset. Tutkimuksen keskeisimmät tulokset olivat, että plaseboryhmän vapaa- ja totaalitestosteronitaso nousi välittömästi RV:n jälkeen. Sekä proteiini- että plaseboryhmän AR mRNA-tasolla oli nouseva suuntaus RV:n vaikutuksesta. Plaseboryhmällä oli samoin nouseva trendi AR proteiinin ilmentymisessä. Proteiiniryhmässä yksi tunti RV:n jälkeen suoritetun mittauksen AR mRNA:n muutos korreloi positiivisesti RV:n jälkeen mitattujen seerumin totaalitestosteroniarvojen kanssa.

Proteiinilisä ja testosteroni. Tässä tutkimuksessa heraproteiinilisän nauttiminen (15 grammaa ennen ja jälkeen) pienensi vanhojen miesten seerumin totaalitestosteronivastetta RV:een. Bloomer ym. (2000) raportoivat samanlaisia tuloksia tutkittuaan nuoria miehiä käyttäen erilaisia ravintoprotokollia (normaali ruoka, hiilihydraattilisä tai hiilihydraattiproteiinilisä) voimaharjoituksen yhteydessä. Samankaltaisiin tuloksia nuorilla miehillä tehdyistä tutkimuksista raportoivat myös Hulmi ym. (2005), Creamer ym. (1998b) ja Creamer ym. (2006b) sillä erotuksella, että heidän tutkimuksissaan välitön (0-5 min) vaste RV:een oli totaalitestosteronin nousu, minkä jälkeen se laski alle basaalitilan tason. Totaalitestosteronin lasku saattaa johtua osittain siitä, että nautittu ravintolisä ohjaa verenkiertoa enemmän ruuansulatuskanavaan, mikä voi vähentää testosteronin eritystä kiveksistä. Voimaharjoittelun ja ravinnon vaikutuksesta testosteronin katabolia saattaa lisääntyä sekä luteinisoivan hormonin erityksessä ja testosteronia kuljettavien proteiinien määrä laskea, mitkä omalta osaltaan voivat vaikuttaa testosteronitasojen laskuun. Myös testosteronin synteesi saattaa vähentyä sen vuoksi, että ravintoaineita, kuten kolesterolia, ohjataan työtä tekeviin lihaksiin energiansaamista varten, eikä kiveksiin testosteronin valmistusta varten. Yksi selittävä tekijä totaalitestosteronin laskussa voisi olla myös se, että testosteronia otetaan työtä tekeviin lihassoluihin enemmän, jolloin sen konsentraatio seerumissa laskee. Tätä selitystä tukee tässä sekä Willoughbyn ja Taylorin (2004) tutkimuksessa löydetty korrelaatio seerumin testosteronin ja AR mRNA:n välillä samoin, kuin raportoidut yhteydet seerumin testosteronin ja AR proteiinin välillä (Willoughby & Taylor 2004; Creamer ym. 2006b). Selvä yhteys testosteronin ja AR:ien ilmentymisen välillä in vitro -tutkimuksessa on myös raportoitu (Sinha-Hikim ym. 2004). Tässä tutkimuksessa yhteyttä seerumin testosteronin

ja AR proteiinin välillä ei kuitenkaan löydetty. Voikin olla, että proteiinin lisäksi myös hiilihydraattia tarvittaisiin, kuten Kreamer ym. (2006b) käyttivät tutkimuksessaan, jotta merkitsevä yhteys testosteronin ja AR proteiinin välille löydettäisiin.

Proteiinilisä ja AR mRNA. Proteiinilisällä oli suurempi taipumus kuin plasebolla lisätä AR mRNA:n ilmentymistä sekä tunti että 48 tuntia RV:n jälkeen. Aikaisemmissa ilman proteiinilisää tehdyissä tutkimuksissa on kuitenkin havaittu jopa tilastollisesti merkitsevä AR mRNA-tason nousu raskaan voimaharjoituksen jälkeen nuorilla miehillä (Bamman ym. 2001; Willoughby & Taylor 2004). Voikin olla mahdollista, että vanhoilla miehillä AR mRNA-tason vaatisi suuremman kuormituksen kuin nuorilla miehillä tai sitten AR mRNA-tason vaste vain hiipuu iän myötä. Koska tässä tutkimuksessa proteiinilisä aiheutti suuremman nousujohteisuuden AR mRNA:ssa kuin plasebo, lisää tutkimusta kaivattaisiin ravintolisien ja voimaharjoituksen yhteisvaikutuksesta AR mRNA:han.

Proteiinilisä ja AR proteiini. Proteiinilisä ei vaikuttanut RV:n jälkeiseen AR proteiinivasteeseen, mutta plasebolla havaittiin olevan AR proteiinin ilmentymistä lisäävä suuntaus tunti harjoituksen jälkeen. Merkitsevän nousun tunti RV:n jälkeen AR mRNA-vasteessa sekä ravintoa että plaseboa nauttineiden ryhmissä havaitsivat Kreamer ym. (2006b). Päinvastaisia tuloksia samoilla koehenkilöillä mutta ilman proteiinilisää tehdystä tutkimuksesta esittivät Ratamess ym. (2005). Tällöin raska voimaharjoitus alensi merkitsevästi AR proteiinin ilmentymistä tunti RV:n, mikä saattoi tutkijoiden mukaan johtua voimaharjoituksen lisäämästä yleisestä proteiinkataboliasta. Saattaakin olla, että voimaharjoituksen kestolla on suuri merkitys androgeenireseptorien ilmentymiseen sekä mRNA- että proteiinitasolla, koska Kreamerin ym. (2006b) voimaharjoituksen kesto oli kolme kertaa pidempi (1,5h) kuin tässä ja Ratamessin ym. (2004) tutkimuksessa käytetty voimaharjoitusprotokolla (0,5h). Voimaharjoitukseen kuluvan ajan yhteyttä AR mRNA- ja proteiinivasteeseen onkin syytä tutkia tulevaisuudessa.

Yhteenveto. Tämän tutkimuksen mukaan proteiinin nauttaminen ennen ja jälkeen RV:n pienentää RV:n aiheuttamaa testosteronivastetta, mutta sillä on vain vähäinen vaikutus androgeenireseptorien ilmentymiseen mRNA- ja proteiinitasolla vanhoilla

miehillä. Proteiinin nauttiminen RV:n yhteydessä tuotti kuitenkin positiivisen korrelaatiokertoimen seerumin testosteronin ja AR mRNA-tason välille ja näin ollen toimi yhdistävänä tekijänä näiden kahden muuttujan välillä. Lisää tutkimusta kuitenkin kaivataan sekä testosteronin ja AR:ien vuorovaikutuksen selvittämiseksi voimaharjoituksen yhteydessä että erityyppisten ravintolisien ja eripituisten voimaharjoitusten vaikutuksista androgeenireseptoreiden ilmentymiseen sekä nuorilla että vanhoilla miehillä.

LÄHTEET

- Ahtiainen, J. P. 2006. Neuromuscular, Hormonal and Molecular Responses to Heavy Resistance Training in Strength Trained Men. Jyväskylä: University of Jyväskylä.
- Atkinson, G. 2002. Analysis of Repeated Measurements in Physical Therapy Research: Multiple Comparisons Amongst Level Means and Multi-Factorial Designs. *Physical Therapy in Sport* 3, 191 – 203.
- Bamman, M.M., Shipp, J.R., Jiang, J., Gower, B.A., Hunter, G.R., Goodman, A., MvLafferty, jr., C.L., & Urban, R.J. 2001. Mechanical Load Increases Muscle IGF-I and Androgen Receptor Concentrations in Humans. *American Journal of Physiological Endocrinology & Metabolism* 280, E383 – E390.
- Bloomer, R. J., Sforzo G. A., & Keller B. A. 2000. Effects of Meal Form and Composition on Plasma Testosterone, Cortisol, and Insulin Following Resistance Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 10, 415 – 424.
- Campbell, N. A. & Reece J. B. 2005. *Biology*. Benjamin Cummings, USA.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2000. *Textbook of Medical Physiology*. W. B. Saunders Company, USA.
- Emanuele, M. E. & Emanuele, N. V. 1998. Alcohol and the Male Reproductive System. <http://pubs.niaaa.nih.gov/publications/arh25-4/282-287.htm> 13.3.07.
- Gotshalk, L. A., Loebel, C. C., Nindl, B. C., Putukian, M., Sebastianelli W. J., Newton, R. U., Häkkinen, K., & Kreamer, W. J. 1997. Hormonal Responses of Multiset Versus Single-set Heavy-resistance Exercise Protocol. *Canadian Journal of Applied Physiology* 22, 244 – 255.
- Griffin, J. E. & Ojeda, S. R. 2004. *Textbook of Endocrine Physiology*. Oxford University Press, USA.
- Hulmi, J. J., Volek, J. S., Selänne, H., & Mero, A. A. 2005. Protein Ingestion Prior to Strength Exercise Affects Blood Hormones and Metabolism. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 37, 1990 – 1997.
- Hulmi, J. J., Ahtiainen, J. P., Selänne H., Volek, J. S., Häkkinen, K., Kovanen, V., & Mero, A. A. 2007. Type-I Fibre Specific Expression of Androgen Receptors in

Human Skeletal Muscle and Effects of Protein Ingestion With Resistance Exercise. Lähetetty julkaistavaksi.

- Häkkinen, K., Kreamer, W. J., Pakarinen, A., Triplett-McBride, T., McBride, J.M., Häkkinen, A., Alen, M., McGuigan, M.R., Bronks, R., & Newton, R.U. 2002. Effects of Heavy Resistance/Power Training on Maximal Strength, Muscle Morphology, and Hormonal Response Patterns in 60 – 75-year-old Men and Women. *Canadian Journal of Applied Physiology* 27, 213 – 231.
- Häkkinen, K. & Pakarinen, A. 1995. Acute Hormonal Responses to Heavy Resistance Exercise in Men and Women at Different Ages. *International Journal of Sports Medicine* 16, 507 – 513.
- Juul, A. & Kakkebak, N. E. 2002. Androgens and the Aging Male. *Human Reproductive Update* 8, 423 – 433.
- Kadi, F., Bonnerud, P., & Eriksson, A. 2000. The Expression on Androgen Receptors in Human Neck and Limb Muscles: Effects of Training and Self-Administration of Androgenic-Anabolic Steroids. *Histochemistry of Cell Biology* 113, 25 – 29.
- Kreamer, W. J., Häkkinen, K., Newton, R. U., Nindl, B. C., Volek, J. S., McCormick, M., Gotshalk, Gordon, S.E., L. A., Fleck, S. J., Campbell, W. W., Putukian, M., & Evans, W. J. 1999. Effects of Heavy-Resistance Training on Hormonal Response Patterns in Younger vs. Older Men. *Journal of Applied Physiology* 87, 982 – 992.
- Kreamer, W. J., Häkkinen, K., Newton, R. U., McCormick, M., Nindl, B. C., Volek, J. S., Gotshalk, L. A., Fleck, S. J., Campbell, W. W., Gordon, S. E., Farrell, P. A., & Evans, W. J. 1998a. Acute Hormonal Responses to Heavy Resistance Exercise in Younger and Older Men. *European Journal of Applied Physiology* 77, 206 – 211.
- Kreamer, W. J., Ratamess, N. A., Volek, J. S., Häkkinen, K., Rubin, M. R., French, D. N., Gómez, A. L., McGuigan, M. R., Scheett, T. P., Newton, R. U., Spiering, B. A., Izquierdo, M., & Dioguardi, F. S. 2006a. The Effects of Amino Acid Supplementation on Hormonal Responses to Resistance Training Overreaching. *Metabolism Clinical and Experimental* 55, 282 – 291.
- Kreamer W., Spiering B., Volek J., Ratamess N., Sharman M., Rubin M., French D., Silvestre R., Hatfield D., Heest J., Vingren J., Judelson D., Deschenes M., and Maresh C. 2006b. Androgenic Responses to Resistance Exercise: Effects of

- Feeding and L-Carnitine. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 38, 1288 – 1296.
- Kreamer, W. J., Volek, J. S., Bush, J. A., Putukian, M., & Sebastianelli W. J. 1998b. Hormonal Responses to Consecutive Days of Heavy-resistance Exercise With or Without Nutritional Supplementation. *Journal of Applied Physiology* 84. <http://jap.physiology.org/cgi/content/full/85/4/1544>. 28.04.2006.
- Lamberts, S.W., van dan Beld, A.W., & van der Lely, A-J. 1997. The Endocrinology of Aging. *Science* 278. <http://www.sciencemag.org/cgi/reprint/278/5337/419.pdf> 29.11.2006.
- Lee, D.K. & Chang, C. 2003. Endocrine Mechanisms of Disease. Expression and Degradation of Androgen Receptor: Mechanism and Clinical Implication. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88, 4043 – 4054.
- Ratamess, N. A., Kreamer, W.J., Volek, J.S., Maresh, C.M., VanHeest, J.L., Sharman, M.J., Rubin, M.R., French, D.N., Vescovi, J.D., Silvestre, R., Hatfield, D.L., Fleck, S.J., & Deschenes, M.R. 2005. Androgen Receptor Content Following Heavy Resistance Exercise in Men. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 93, 35 – 42.
- Sinha-Hikim, I., Taylor, W.E., Gonzales-Cadavid. N.F., Zheng, W., & Bhasin, S. 2004. Androgen Receptor in Human Skeletal Muscle and Cultured Muscle Satellite Cells: Up-Regulation by Androgen Treatment 89, 5245 – 5255.
- Volek, J.S. 2004. Influence of Nutrition on Response to Resistance Training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36. <http://gateway.uk.ovid.com/gw2/ovidweb.cgi>. 28.10.2006.
- Willoughby, D.S. & Taylor, L. 2004. Effects of Sequential Bouts of Resistance Exercise on Androgen Receptor Expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36, 1499 – 1506.