

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Tina Rupnik

**ALI JE MOGOČE Z REDNO ŠPORTNO
VADBO ZAVRETI PROCESE STARANJA
SKELETNE MIŠICE?**

Diplomska naloga

Koper, avgust 2013

UNIVERZA NA PRIMORSKEM
FAKULTETA ZA MATEMATIKO, NARAVOSLOVJE IN
INFORMACIJSKE TEHNOLOGIJE

Smer študija

APLIKATIVNA KINEZIOLOGIJA

**ALI JE MOGOČE Z REDNO ŠPORTNO
VADBO ZAVRETI PROCESE STARANJA
SKELETNE MIŠICE?**

Diplomska naloga

MENTOR
doc. dr. Boštjan Šimunič
SOMENTOR
prof. dr. Hans Degens

Avtorica dela
TINA RUPNIK

Koper, avgust 2013

Ime in PRIIMEK: Tina RUPNIK

Naslov diplomske naloge: Ali je mogoče z redno športno vadbo zavreti procese staranja skeletne mišice?

Kraj: Koper

Leto: 2013

Število listov: 54 Število slik: 3 Število tabel: 2

Število prilog: 1 Število strani prilog: 11

Število referenc: 76

Mentor: doc. dr. Boštjan Šimunič

Somentor: prof. dr. Hans Degens

UDK:

Ključne besede: sarkopenija, športniki starostniki, heterogenost kapilar, mišična sestava, vastus lateralis.

POVZETEK: Ali je mogoče z redno športno vadbo zavreti procese staranja skeletne mišice?

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti, koliko lahko s pomočjo športne vadbe vplivamo na morfolgijo mišic v procesu staranja. Naloga vsebuje ugotovitve dosedanjih znanstvenih raziskav in rezultate raziskave, v kateri sem sodelovala v Manchestru med študijsko izmenjavo Erasmus.

V raziskavi je sodelovalo 35 preiskovancev, od tega 9 žensk in 14 moških športnikov starostnikov (eksperimentalna skupina) ter 6 žensk in 6 moških neaktivnih starostnikov (kontrolna skupina). Vzorci biopsij so bili odvzeti iz mišice *vastus lateralis*. Mišičnim vzorcem smo s pomočjo metode, ki temelji na encimu ATP – sintaza, določili mišično sestavo. Razporejenost kapilar je bila določena s tehniko, ki vključuje obarvanje tkiva z lektinom.

Pri analizi podatkov smo uporabili dvofaktorsko analizo variance (2 – way ANOVA). Ugotovili smo, da je heterogenost kapilar statistično značilno večja pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov v primerjavi z eksplozivnimi športniki starostniki ($P = 0,017$) in vzdržljivostnimi športniki starostniki ($P = 0,022$). Dokazali smo, da je številčni delež vlaken tipa II večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki ($P = 0,016$). Številčni delež mišičnih vlaken tipa II se statistično ne razlikuje med eksplozivnimi športniki starostniki in kontrolno skupino neaktivnih

starostnikov ($P = 0,065$). Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je pri eksplozivnih športnikih starostnikih značilno večji kot pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov ($P = 0,035$) in kot pri vzdržljivostnih športnikih starostnikih ($P = 0,006$).

Manjša heterogenost v razporejenosti kapilar pri športnikih starostnikih predvidevano pomeni boljšo oksigenacijo mišičnega tkiva. Obstaja velika verjetnost, da z redno športno vadbo lahko vplivamo na razporejenost kapilar. Dokazali smo statistično značilne razlike v površinskem deležu mišičnih vlaken tipa II, ne pa tudi številčnem deležu teh vlaken, med eksplozivnimi športniki starostniki in kontrolno skupino neaktivnih starostnikov. Velika verjetnost je, da so se razlike pojavile kot posledica anaerobne vadbe.

Name and SURNAME: Tina RUPNIK

Title of bachelor thesis: Is it possible to inhibit the aging process of skeletal muscle by doing regular physical exercise?

Place: Koper

Year: 2013

Number of pages: 54 Number of pictures: 3 Number of tables: 2

Number of appendices: 1 Number of pages in appendix: 11

Number of references: 76

Mentor: doc. dr. Boštjan Šimunič

Co - mentor: prof. dr. Hans Degens

UDK:

Key words: sarcopenia, master athletes, heterogeneity of capillaries, muscle type, vastus lateralis.

ABSTRACT: Is it possible to inhibit the aging process of skeletal muscle by doing regular physical exercise?

The aim of the work was to find out how we can influence the morphology of muscles in the aging process through physical exercise. The work contains the results of previous scientific findings and the results of research in which I participated during an Erasmus exchange in Manchester.

The study involved 35 subjects, 9 female and 14 male master athletes (experimental group), and 6 female and 6 male non - athletes of a similar age (control group). Biopsy samples were taken from the *vastus lateralis* muscle. The muscle type of each sample was determined using a method that detects the enzyme ATP - ase, and the distribution of the capillaries measured using a technique of staining the tissue samples with lectin.

When analyzing the data, we used Two - Factor Analysis of Variance (2 - way ANOVA). We found that the heterogeneity of capillaries in non - athletes is greater than that in both types of master athletes; both those who specialised in high intensity sports (strength athletes) ($P = 0,017$) and those who specialised in endurance sports (endurance athletes) ($P = 0,022$). We have shown that the type II fibre area percentage in the master strength athletes was larger than that in the master endurance athletes ($P = 0,016$). There is no significant difference in the number of type II muscle fibers between non - athletes and master strength athletes ($P = 0,065$). The type II area

percentage muscle fibers in the master strength athletes is significantly higher than in both non - athletes ($P = 0,035$) and master endurance athletes ($P = 0,006$).

We suspect that the more even distribution of capillaries observed in the muscle samples of the master athletes enables better oxygenation of the muscle tissue. There is a high probability that regular exercise influences the distribution of capillaries, given that differences in this parameter occurred between an experimental group of athletes and a control group of non - athletes. We have also found that there are significant differences in the type II fibre area percentage between the master strength athletes and non - athletes, while the overall number of these fibres did not significantly change. These changes are likely to be due to the effect of anaerobic exercise.

IZJAVA O AVTORSTVU DIPLOMSKE NALOGE

Podpisana Tina Rupnik, študentka dodiplomskega študijskega programa 1. stopnje Aplikativna kineziologija,

izjavljam,

da je diplomska naloga z naslovom Ali je mogoče z redno športno vadbo zavreti procese staranja skeletne mišice?

- rezultat lastnega dela,
- so rezultati korektno navedeni in
- nisem kršila pravic intelektualne lastnine drugih.

Soglašam z objavo elektronske verzije diplomske naloge v zbirki »Dela UP FAMNIT« ter zagotavljam, da je elektronska oblika diplomske naloge identična tiskani.

Podpis študentke:



Koper, dne 16. 9. 2013

ZAHVALA

Najlepša hvala mentorju doc. dr. Boštjanu Šimuniču, ki mi je omogočil najboljše pogoje za izdelavo diplomske naloge in mi pomagal, da je to delo dobilo končno obliko. Hvala tudi ostalim profesorjem, ki so pripomogli pri doseganju mojih ciljev. Prav tako hvala somentorju prof. dr. Hansu Degensu, ki me je v času študijske izmenjave v Manchesteru navdušil nad tematiko in mi vedno priskočil na pomoč.

Hvala prijateljem in fantu za spodbudo.

Posebna zahvala za podporo med študijem gre moji družini. Še posebno hvala staršema za vzgled, kako je z močno voljo mogoče doseči, kar si v življenju zadaš.

KAZALO

1	UVOD	1
1.1	Staranje in s staranjem povezani fiziološki procesi	1
1.2	Heterogenost kapilar	4
1.3	Mišična sestava	4
1.4	Vplivi športne vadbe na staranje	6
1.4.1	Vplivi aerobne športne vadbe na staranje.....	7
1.4.2	Vplivi anaerobne športne vadbe na staranje	8
1.5	Razlike med spoloma.....	9
1.6	Individualna variabilnost	9
1.7	Raziskava vpliva športne vadbe pri športnikih starostnikih.....	10
1.7.1	Cilji raziskave	10
1.7.2	Hipoteze	11
2	METODE DELA	12
2.1	Vzorec preiskovancev	12
2.2	Eksperimentalni načrt.....	13
2.3	Merilni postopki	13
2.4	Obdelava ter statistične metode.....	15
3	REZULTATI.....	16
3.1	Lastnosti preiskovancev	16
3.2	Heterogenost kapilar	17
3.3	Mišična sestava	17
3.4	Zaključki in testiranje hipotez	19
4	DISKUSIJA	22
5	ZAKLJUČEK	24
	VIRI	26

KAZALO PRILOG

Priloga 1: Etična odobritev raziskave	1
---	---

KAZALO TABEL

<i>Tabela 1: Telesna masa, višina in indeks telesne mase (ITM) eksplozivnih športnikov starostnikov, vzdržljivostnih športnikov starostnikov ter kontrolne skupine neaktivnih športnikov.</i>	<i>16</i>
<i>Tabela 2: Številski delež mišične sestave (% št) in površinski delež mišične sestave (p %) pri eksplozivnih športnikih starostnikih, vzdržljivostnih športnikih starostnikih in kontrolni skupini neaktivnih športnikov.</i>	<i>19</i>

KAZALO SLIK

<i>Slika 1: Vzorec mišičnega vlakna za določanje mišične sestave in obarvane kapilare. ..</i>	<i>14</i>
<i>Slika 2: Heterogenost kapilar.</i>	<i>17</i>
<i>Slika 3: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II.</i>	<i>18</i>

1 UVOD

Staranje je naraven pojav, ki negativno vpliva na sposobnosti organizma. Negativni učinki staranja napredujejo različno hitro glede na posameznika, kar pomeni, da nekateri lahko ohranijo višji nivo psihofizičnih sposobnosti dalj časa kot drugi ter tako živijo bolj kakovostno življenje. Povprečna življenjska doba se je skozi zgodovinska obdobja spreminjala in tako je napredovala od približno 20 let za neandertalce do približno 80 let za današnjega človeka (Poljšak & Lampe, 2011).

Ena od posledic staranja je progresiven upad funkcionalnih sposobnosti. Dokazano je bilo, da ima gibalna/športna aktivnost pozitiven vpliv na ohranjanje moči in mišične mase skeletnih mišic (Schiaffino & Reggiani, 2011). V splošnem se strokovnjaki osredotočajo na preučevanje genetskih in okoljskih dejavnikov, da bi bolje razumeli vplive, ki jih ima športna vadba na staranje. Širši problem v družbi se z naraščanjem starejšega dela populacije pojavi, ko mora njihovo preživetje podpirati vse manjši odstotek delovno aktivnega prebivalstva. Delovna doba se s časom podaljšuje, vendar posledice staranja, kot so bolezni, omejitve pri gibanju in druge poškodbe, s tem niso odpravljene.

Cilj diplomske naloge je preučitev vpliva gibalno/športne aktivnosti kot enega od dejavnikov, s katerim lahko potencialno omilimo negativne vplive staranja in izboljšamo kakovost življenja posameznika.

1.1 Staranje in s staranjem povezani fiziološki procesi

Upad sposobnosti skeletnih mišic v poznem življenjskem obdobju lahko za posameznika v končni fazi pomeni prestop iz neodvisnega v odvisni življenjski slog. V primeru hospitalizacije je gibanje še bolj omejeno, zato je upad mišične mase takrat pospešen. V primerjavi z izgubo mišične mase je izguba mišične moči večja (Degens, 2007). Strukturne in funkcijske spremembe v mišicah se pri procesu staranja pojavijo v širokem spektru organizmov; od preprostih *Caenorhabditis elegans* do človeške vrste.

Strukturne spremembe vključujejo upad mišične mase, zmanjšano število mišičnih vlaken in spremembe v mišični strukturi (prevladanje mišičnih vlaken tipa I). Posledice teh sprememb so: manjša mišična moč, manjša vzdržljivostna kapaciteta ter večja odpornost na inzulin (Nair, 2005).

Največ študij na temo sarkopenije je presečnih in strokovnjaki opažajo značilne spremembe v mišični sestavi, v različnih življenjskih obdobjih. Ena od raziskav predlaga, da se spremembe znotraj skeletnih mišic, ki negativno vplivajo na fizično zmogljivost posameznika, pojavijo po tridesetem letu starosti (Lexell, Taylor, & Sjostrom, 1988). V drugi presečni raziskavi je bilo ugotovljeno, da je mišična masa precej stabilna do petdesetega leta starosti, nato pa začne postopoma upadati do 1 % letno (Janssen, Heymsfield, Wang & Ross, 2000). V longitudinalni študiji je bil ugotovljen še večji upad mišične mase, in sicer 1,5 % letno po petdesetem letu (Frontera idr., 2000).

Slabše ravnotežje je eden od problemov v starosti (Onambele, Narici & Maganaris, 2006), zato so sposobnosti za preprečevanje padcev omejene. V starostnem obdobju so padci eden najpogostejših vzrokov za poškodbe (Schultz, Ashton-Miller & Alexander, 1997). Izguba mišične moči je hkrati pomemben prediktor tveganja umrljivosti (Newman idr., 2006).

Vzroki za mišično slabenje v starosti so:

- Živčna degeneracija

Staranje je povezano s progresivno izgubo motoričnih nevronov, kar pomeni, da so mišična vlakna vedno manj oživčena. Čeprav je posamezno mišično vlakno oživčeno z več motonevroni, kar minimalizira posledice, je nemogoče popolnoma preprečiti izgubo mišične mase (atrofija), ki nastane kot posledica degeneracije. Nevroni mišičnih vlaken tipa II (hitra vlakna), so vzdraženi manj pogosto v primerjavi z nevroni mišičnih vlaken tipa I (počasna mišična vlakna). Počasna mišična vlakna so aktivirana za opravljanje vsakodnevnih dolgotrajnejših aktivnosti, kot je hoja ali vzdrževanje različnih telesnih položajev. Predpostavljeno je, da manj pogosta aktivacija hitrih mišičnih vlaken, postopoma privede do atrofije (Lexell, Evidence for nervous system degeneration with advancing age, 1997).

- Gibalna športna neaktivnost

Redna športna vadba zavira stopnjo vnetja človeškega organizma v starosti, izboljša antioksidativno zaščito sistema, vodi v povečanje velikosti mišic in moči (Schiaffino & Reggiani, 2011) ter delno prepreči upad funkcij mitohondrijev v mišicah.

- Spremembe v mišičnih proteinih in spremembe v prisotnosti hormonov

Študije posameznih mišičnih vlaken v *in vitro* testih kažejo, da do mišične disfunkcije prihaja zaradi spremenjenih molekul miozina. Slabša obnovljivost miozina lahko poveča verjetnost posttranslacijskih sprememb, kot sta oksidacija in glikacija (Degens, 2007).

S starostjo upade količina anaboličnih hormonov, kot sta rastni faktor IGF-I in testosteron (Bogaert, Van Den Bosch & Robberecht, 2006). Vpliv teh hormonov na organizem se zaradi upada zmanjša. Njihovo delovanje je v veliki verjetnosti omejeno še dodatno, zaradi prisotnosti povečane količine vnetnih citokinov, kot sta TNF- α in IL-6 (Barbieri idr., 2003).

- Omejena diferenciacija miosatelitskih celic

Omejena diferenciacija miosatelitskih celic je najverjetneje posledica spremenjenega delovanja miogenskih nadzornih faktorjev (miogeni faktorji vplivajo na rast in razvoj skeletnih mišičnih vlaken). Mišice se zaradi teh sprememb regenerirajo počasneje pri starostnikih. Če miosatelitske celice odvzete starostniku, izpostavimo serumu mladostnika, je mogoče te pomladiti. To dejstvo dokazuje, da ima okolje satelitskih celic ključni pomen pri zmožnostih diferenciacije miosatelitskih celic. Ena od teorij, ki razlaga spremembe v celičnem okolju narekuje, da do tega prihaja zaradi sistemskega vnetja (Degens, 2007).

1.2 Heterogenost kapilar

Spremembe v mišični sestavi in povprečni velikosti mišičnih vlaken v starosti so povezane s spremembami v kapilarizaciji. Kakovost kapilarne oskrbe mišičnega vlakna je primarno odvisna od: velikosti opazovanega mišičnega vlakna, metabolnih lastnosti mišičnega vlakna in metabolnih lastnosti mišičnih vlaken, ki se nahajajo v neposredni okolici (Degens, 1998).

Veliko raziskav na področju staranja se osredotoča na spremembe v gostoti kapilar ter na razmerje med številom kapilar in mišičnimi vlakni. Malo dosedanjih študij je pozornost posvetilo temu, kako so kapilare v mišičnem tkivu razporejene. Nedokazano ostaja, ali večja heterogenost v razporeditvi negativno vpliva na oksigenacijo tkiva (Degens, Ringnalda & Hoofd, 1994).

Dosedanje raziskave na podganah so pokazale, da je heterogenost nadzorovana med povečevanjem mišičnega volumna vlaken (hipertrofija) za ohranjanje ustrezne prekrvavljenosti (Degens, Deveci, Botto-van Bemden, Hoofd & Egginton, 2006), s staranjem pa se pojavijo tudi razlike v obliki in velikosti mišičnih vlaken (Wüst, Gibbings & Degens, 2009). Posledično lahko spremembe v velikosti mišičnih vlaken pomenijo večjo heterogenost v razporeditvi kapilar (Degens, Morse & Hopman, 2009) in tako potencialno negativno vplivajo na mišično oksigenacijo.

1.3 Mišična sestava

Skeletne mišice sesalcev so po naravi heterogene. Funkcionalna enota motoričnega sistema - motorična enota je sestavljena iz motoričnega nevrona in skupka mišičnih vlaken s podobnimi strukturnimi in funkcionalnimi lastnostmi. Število vlaken v motorični enoti se imenuje inervacijsko število motorične enote. Če je mišica namenjena izvajanju natančnih gibov (npr. premikanje oči), imajo mišice majhne motorične enote in tako majhno inervacijsko razmerje, kar pomeni, da vsak motorični nevron oživčuje majhno število mišičnih vlaken. Če je mišica namenjena bolj grobim gibom (npr. *deltoid*), ta vsebuje večje motorne enote in ima večje inervacijsko razmerje, ker posamezen

motorični nevron oživčuje veliko število mišičnih vlaken - več kot 500 (Basmajian & De Luca, 1985).

Pri večini mišic lahko ločimo: več tipov mišičnih vlaken (počasna mišična vlakna tipa I in hitra mišična vlakna tipa IIa, IIb ter IIx, odvisno od preučevanega subjekta), različno oksidativno kapaciteto (Gollnick, Armstrong, Saubert, Piehl & Saltin, 1972) in različne koncentracije mioglobina (Nemeth & Lowry, 1984). Tradicionalno klasificiranje hitrih in počasnih mišičnih vlaken temelji na preprostih fizioloških parametrih, kot so; čas krčenja mišičnega vlakna, maksimalna napetost mišičnega vlakna in polovica časa sproščanja po krčenju mišičnega vlakna (Nair, 2005).

Počasna mišična vlakna vsebujejo veliko mitohondrijev. Prednost počasnih vlaken je, da so relativno odporna na utrujenost, vendar povečan delež teh vlaken pri starostnikih posledično ne pomeni večje odpornosti na utrujenost. Ena od teorij zagovarja, da povečano utrujenost v starosti najverjetneje povzročajo oslABLJENE funkcije mitohondrijev (Nair, 2005).

Hitra mišična vlakna imajo v primerjavi s počasnimi nižje koncentracije prostega Ca^{2+} v citosolu, kot rezultat hitrega delovanja pufrov znotraj citosola (pufri zmanjšajo količino Ca^{2+} , ki so ob akcijskem potencialu pospešeno prehajali v notranjost celice). Prav tako imajo mišična vlakna tipa II sposobnost sprostiti in uporabiti večje količine Ca^{2+} v krajšem času. Sarkoplazemski retikulum (SR) je bolj razvit, kar pomeni, da vsebuje večje število Ca^{2+} kanalčkov (RyRs), Ca^{2+} črpalk (SERCA) in intraluminalnih pufrov (calsequestrin). Hitra mišična vlakna lahko proizvedejo veliko več moči, v primerjavi s počasnimi, a obenem potrošijo večje količine ATP – ja (adenozin trifosfat) in hitreje privedejo do utrujenosti (Schiaffino & Reggiani, 2011).

Selektivno zaposlovanje motoričnih enot znotraj ene mišice (hitra in počasna mišična vlakna) omogoča, da se ta odziva na najboljši možni način v dani situaciji. Tako je lahko ista mišica uporabna pri opravljanju raznolikih nalog; od nizko intenzivnih aktivnosti (npr. drža) do ponavljajočih submaksimalnih kontrakcij (npr. hoja) in eksplozivnih maksimalnih kontrakcij (npr. skoki, brcanje). Hormoni in živčna aktivnost v veliki meri odločata, kateri tip mišičnih vlaken bo aktiviran (Schiaffino & Reggiani, 2011).

ATP - sintaza je encim, ki povzroči hidrolizo ATP – ja v ADP (adenozin difosfat) ter prosti organski fosfat Pi, in je hkrati pokazatelj hitrosti kontrakcije mišic. V raziskavah se včasih uporabljajo alternativne metode, ki merijo aktivnost več encimov hkrati in spet druge, ki razvrščajo tip mišičnih vlaken na podlagi izooblik težke verige miozina z molekularno tehniko. Prednost zadnje analize je, da lahko določa hibridna mišična vlakna (Enoka, 2002). Na podlagi pH občutljivosti ATP – sintaze so mišična vlakna lahko klasificirana kot tip I, IIa ali IIx z uporabo metod, ki sta jih prva opisala Brooke in Kaiser, leta 1970. Encim ATP – sintaza mišičnih vlaken tipa I je v kislem okolju stabilen, medtem ko pod vplivom baz spremeni strukturo. Ravno nasprotno encim ATP - sintaza mišičnih vlaken tipa IIa spremeni strukturo v bazičnem okolju in ostane stabilen v kislem okolju (Jones, Round & de Haan, 2004).

1.4 Vplivi športne vadbe na staranje

Izraz gibalna/športna aktivnost je individualna ali kolektivna gibalna in/ali športna aktivnost. Gre za namensko gibalno/športno dejavnost, ki je običajno strukturirana in služi krepitvi oziroma izboljševanju posameznikove gibalne učinkovitosti, njegovega zdravja ter splošnega počutja in pripravljenosti (Pišot, Završnik, & Kropej, 2005). Športna vadba vključuje sestavljeno in strukturirano gibalno/športno aktivnost. Ta je običajno nadzirana, njeno vodilo pa je ohranjanje ali razvijanje motorične učinkovitosti, s ciljem doseganja športnega rezultata (Pišot, 2004).

Preučevanje vplivov športne vadbe na telesni in funkcionalni status starostnikov je relativno novo področje znotraj znanstvenih raziskav. Strokovnjake tega področja zanima, kakšne so posledice različnih modelov športne vadbe (anaerobna in aerobna športna vadba) z namenom, da preprečijo ali nadzorujejo različne bolezni ter načrtujejo vadbo v preventivne namene, v primeru funkcionalnih okvar in invalidnosti (Weimo & Wojtek, 2006). Vadba lahko zapozni ali prepreči odpornost na inzulin in s tem pojav metabolnih bolezni, ki sicer povečajo verjetnost za srčnožilno smrt pri starostnikih. Strokovnjaki namreč sklepajo, da športna vadba pozitivno vpliva na ohranjanje funkcij mišičnih mitohondrijev (Nair, 2005).

Živčni sistem izkorišča gibanje za opravljanje gibalnih nalog. Gibalne naloge lahko razdelimo v tri skupine; stabilizacija sklepov pri ohranjanju drže, dolgo – trajajoče in ponavljajoče aktivnosti (npr. respiracija) in hitri ter eksplozivni gibi (npr. skoki, brcanje). Predvidevano je, da so se različni tipi mišičnih vlaken razvili skozi evolucijo glede na aktivnosti, ki so človeku pomagale preživeti (Schiaffino & Reggiani, 2011).

Upad mišične moči in mase se pojavi tako pri nadpovprečno aktivnih starostnikih (plavalci in atleti) kot tudi pri neaktivnih starostnikih (Klitgaard idr., 2006). Športna vadba spodbuja nastajanje mišičnih proteinov tako pri mlajši kot starejši populaciji. Ali imajo različni vadbeni programi drugačen vpliv na različne mišične proteine, ostaja še neraziskano (Nair, 2005).

Življenjska doba podgan je podaljšana, če so te aktivne preko celega življenja. Nasproten učinek aktivnosti na življenjsko dobo je bil opažen pri podganah, ki so začele biti aktivne kasneje v življenju. Ta ugotovitev nakazuje, da obstaja starostni prag, ki odloča, ali bodo učinkih vadbe pozitivni ali negativni (Edington, Cosmas & McCafferty, 1972). Podobnih dokazov pri ljudeh še ni, vendar nekatere študije nakazujejo, da se organizem na vadbo v poznejšem življenjskem obdobju odziva v zmanjšani meri (Kosek, Kim, Petrella, Cross & Bamman, 2006). Redna športna vadba v splošnem ostaja učinkovit način za upočasnitev izgube mišične mase in ohranjanje funkcije pri starostnikih, hkrati pa s temi vplivi podaljšuje kakovost življenja (Degens, 2011).

1.4.1 Vplivi aerobne športne vadbe na staranje

Izboljšanje aerobne kapacitete zmanjša tveganje za srčnožilno smrtnost in pomaga vzdrževati funkcionalno neodvisnost posameznika dalj časa (Shephard, 1994). Aerobna vadba spodbuja mnoge metabolne procese. Ti procesi so aktivirani s pomočjo mišičnih proteinov, na katere ima aerobna vadba neposreden vpliv (Nair, 2005).

Dokazano je, da je ena od posledic aerobne vadbe tudi večja sinteza proteinov v mišicah. Vzdržljivostna kapaciteta naraste zaradi povečanja mitohondrijev v velikosti in številu, večji gostoti kapilar ter zaradi sprememb v mišični sestavi (več mišičnih vlaken tipa I). V nasprotju z anaerobno vadbo se pri vplivu aerobne vadbe ne pričakuje

značilnih sprememb v velikosti mišic in maksimalni moči (Booth, 1991). V isti študiji je bilo ugotovljeno, da ima športna vadba pozitiven vpliv tako na zdrave starostnike, kot na mladostnike (Short, Vittone, Bigelow, Proctor & Nair, 2003). V raziskavi, kjer so bile opazovane spremembe v kapilarizaciji pri odzivu na 12 tednov vzdržljivostne vadbe, je bilo dokazano, da se rast novih krvnih žil (angiogeneza) pojavi tako pri skupini starostnikov (69 ± 7 let) kot tudi mladostnikov (22 ± 1 let). Prav tako so se pri obeh skupinah povečale zmogljivosti mitohondrijev (Murias idr., 2011).

1.4.2 Vplivi anaerobne športne vadbe na staranje

Nadpražna anaerobna vadba vpliva na povečanje volumna mišičnih vlaken, zato obstaja velika verjetnost, da je z anaerobno vadbo pospešena sinteza strukturnih proteinov (Nair, 2005). Hipertrofija je tako ena od najpogosteje opazovanih adaptacij mišic in se pojavi zaradi aktivacije satelitskih celic mišic, ki spodbujajo rast. Proporcionalno je z rastjo mišičnih vlaken spodbujena tudi angiogeneza (McCall, Byrnes, Dickinson & Pattany, 1996).

Dokazano je bilo, da devetdesetletniki, v primerjavi s skupino mladostnikov, z vadbo za moč pridobijo enako ali celo več moči glede na stanje pred in po vadbi. Poleg tega se zmanjša tudi število padcev v starosti (Rittweger, Kwiet & Felsenberg, 2004).

Za razumevanje moči mišic *in vivo* je potrebno upoštevati strukturo mišic, živčno kontrolo agonistov in antagonistov in mišično sestavo. Vendar tudi ko so upoštevani vsi omenjeni faktorji, so očitne neproporcionalne spremembe v moči, glede na velikost mišic kot odgovor na anaerobno vadbo. Za boljše razumevanje teh sprememb so potrebne nadaljnje raziskave na področju vpliva anaerobne vadbe. Neraziskane ostajajo tudi povezave med izboljšanjem motorične kontrole in povečanjem mišične moči (Degens idr., 2009).

1.5 Razlike med spoloma

Čeprav so si mišična vlakna pri sesalcih med spoloma podobna, se pri nekaterih vrstah kažejo razlike v sestavi. Pri človeku so razlike med spoloma značilne v mišični masi, ta pa je med drugim odvisna od količine testosterona. Testosteron se v večjih količinah pojavi pri dečkih v puberteti. Dečki posledično pridobijo na mišični masi hitreje kot deklice. S pomočjo neinvazivne metode tenziomiografije (z metodo je mogoče natančno določiti lastnosti posameznih mišic) je bilo v longitudinalni študiji otrok dokazano, da obstajajo značilne razlike v mišični sestavi med spoloma (sodelovalo je 107 otrok; od tega 53 dečkov, med 9,1 in 13,6 letom). V raziskavi je bilo ugotovljeno, da poleg spola na mišično sestavo med odraščanjem otrok značilno vpliva tudi starost in šport. Vpliv faktorjev je bil dokazan za skeletne mišice *vastus lateralis*, *biceps brachii*, *erector spinae* in *biceps femoris* (Šimunič idr., v tisku).

V primerjavi z ženskim pri moškem spolu obstaja večji površinski delež mišičnih vlaken tipa II kot tipa I. Razlike se pojavijo zaradi hipertrofije mišičnih vlaken tipa II, na katero vpliva povečana količina testosterona. Nasprotno je delež mišičnih vlaken tipa I pri moškemu spolu v primerjavi z ženskim spolom manjši (Welle, Tawil & Thornton, 2008).

1.6 Individualna variabilnost

Pri raziskavah mišičja se ponavadi uporablja le majhen vzorec mišice – vzorec mišičnih vlaken, odvzetih z biopsijo, ponavadi predstavlja 80 – 200 mg mišice. Ko strokovnjaki dokažejo značilne razlike s pomočjo podatkov, pridobljenih iz vzorca, jih zanima, do kakšne mere lahko dobljene rezultate posplošijo na preostalo mišičje.

Značilna individualna odstopanja so opazna, ko primerjamo več vzorcev istega subjekta med seboj. Prav tako so opazne razlike znotraj velike skupine preiskovancev, na primer delež mišičnih vlaken tipa I v *vastus lateralisu* niha od 15 % do 85 %. Skupina, pri kateri je bilo to ugotovljeno, je vključevala posameznike obeh spolov sedečega in aktivnega življenjskega sloga (Simoneau & Bouchard, 1989).

Analiza mišičnih biopsij eno in dvojajčnih dvojčkov je pokazala, da je skoraj 50 % variance pripisane genetskemu faktorju (Simoneau & Bouchard, 1995). Iz podatkov, pridobljenih z analizo mišičnih biopsij atletov, so bile dokazane razlike v površinskem deležu različnih tipov mišičnih vlaken. Pri šprinterjih so prevladovala mišična vlakna tipa II, medtem ko so vzdržljivostni športniki imeli več mišičnih vlaken tipa I (Costill idr., 1976). Neznano ostaja, kolikšen vpliv ima na mišično sestavo športna vadba v primerjavi z genetsko zasnovano (Andersen & Schjerling, 2000).

1.7 Raziskava vpliva športne vadbe pri športnikih starostnikih

Raziskava z naslovom »Vpliv telesne aktivnosti na staranje skeletne mišice« je potekala v Manchestru na univerzi MMU (Manchester Metropolitan University), v prostorih inštituta IRM (Institute for Biomedical Research into Human Movement and Health). Odobrena je bila s strani univerze in inštituta Semmelweis v Budimpešti. V času študijske izmenjave Erasmus, ki je potekala od januarja do junija 2012, sem pri raziskavi sodelovala pod mentorstvom prof. dr. Hansa Degensa, ki je obenem tudi vodil ta projekt. Za izvedbo projekta je bilo potrebno etično dovoljenje (glej prilogo 1). Zahvala gre vsem preiskovancem, ki so privolili v sodelovanje v raziskavi ter celotni skupini, s katero smo sodelovali na tem projektu. Ob koncu študijske izmenjave raziskava še ni bila zaključena, zato je v diplomski nalogi le del podatkov te raziskave.

1.7.1 Cilji raziskave

Cilj raziskave je bil ugotoviti razlike v izbranih parametrih mišic med:

- kontrolno skupino neaktivnih starostnikov in skupino vzdržljivostnih športnikov starostnikov;
- kontrolno skupino neaktivnih starostnikov in skupino eksplozivnih športnikov starostnikov;
- skupino vzdržljivostnih športnikov starostnikov in skupino eksplozivnih športnikov starostnikov.

Naslednji parametri so bili pridobljeni z analizo biopsij:

- heterogenost kapilar;
- mišična sestava;
- površina mišičnih vlaken.

1.7.2 Hipoteze

H 1a: Heterogenost kapilar je pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov večja kot pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov.

H 1b: Heterogenost kapilar je pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov večja kot pri skupini vzdržljivostnih športnikov starostnikov.

H 2a: Številčni delež mišičnih vlaken tipa II je pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov večji kot pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov.

H 2b: Številčni delež mišičnih vlaken tipa II je pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov večji kot pri skupini vzdržljivostnih športnikov starostnikov.

H 3a: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je večji pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov kot pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov.

H 3b: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je večji pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov kot pri skupini vzdržljivostnih športnikov starostnikov.

2 METODE DELA

2.1 Vzorec preiskovancev

Med študijsko izmenjavo Erasmus, leta 2012 v Manchesteru (Manchester Metropolitan University), sem sodelovala pri raziskavi, ki je preučevala vpliv športne vadbe na staranje. Eksperimentalni skupini (9 žensk in 14 moških športnikov starostnikov) so bili vzorci biopsij odvzeti na Veteranskem atletskem evropskem prvenstvu, leta 2010 (Nyiregyhaza, Madžarska). Veterani so športniki, starejši od 35 let, ki sistematično trenirajo z namenom, da tekmujejo v športnih disciplinah, ki so posebej organizirane za starejše odrasle (Scanlan, Dascombe, Reaburn & Osborne, 2008). Kontrolni skupini (6 žensk in 6 moških neaktivnih starostnikov) so bili vzorci biopsij odvzeti v Manchesteru. Nabor kandidatov je bil določen s kriterijem, ki je izključeval ljudi s srčnožilnimi, živčnomišičnimi in respiratornimi boleznimi kot tudi tiste z artritisom in operacijo nog. Ta kriterij je veljal za eksperimentalno in kontrolno skupino. Skupine so bile nato razdeljene glede na spol in status (eksplozivni in vzdržljivostni športniki starostniki). Vzorec merjencev je vseboval posameznike med 20im in 81im letom starosti, povprečna starost vseh merjencev je 53 let.

Tekači na srednje in dolge proge (800 m, maraton), tekmovalci v hitri hoji in atleti več disciplin (peterboj, deseterboj), so bili klasificirani kot *vzdržljivostni športniki*, medtem ko so bili tekači čez ovire (100 – 400 m), skakalci (skok v daljino, troskok, skok v višino) in atleti metalci (kladivo, krogla, kopje, disk) klasificirani kot *eksplozivni športniki starostniki*. Za primerjavo so bile sestavljene naslednje skupine: vzdržljivostne in eksplozivne športnice, vzdržljivostni in eksplozivni športniki ter ženska in moška kontrolna skupina. Odvzem biopsij kontrolne skupine neaktivnih starostnikov je potekal v Manchesteru (Metropolitan University). Wüst in drugi raziskovalci so leta 2009 del podatkov iz kontrolne skupine objavili. Raziskava je bila odobrena s strani univerze Manchester Metropolitan University in inštituta Semmelweis v Budimpešti. Vsak sodelujoči je moral podpisati, da s sodelovanjem v raziskavi soglaša (glej prilogo 1).

2.2 Eksperimentalni načrt

Šlo je za presečno raziskavo, kjer smo merili izbrane parametre mišičnih vlaken kontrolne skupine neaktivnih starostnikov in športnikov starostnikov. Cilj raziskave je bil določiti s starostjo povezane spremembe v kapilarizaciji, tipu mišičnih vlaken, velikosti mišičnih vlaken, ugotoviti, kakšne so razlike teh sprememb med vzdržljivostnimi športniki starostniki, eksplozivnimi športniki starostniki ter kontrolno skupino neaktivnih starostnikov in primerjati te skupine glede na spol.

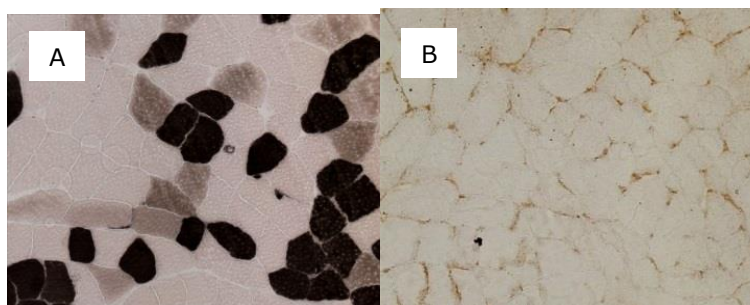
2.3 Merilni postopki

Perkutana biopsija je bila odvzeta na mišici *vastus lateralis* (~ 50 % dolžine mišice). Izvedena je bila s pomočjo lokalne anestezije (2 % lidokaina). Prečne rezine vzorca (10 μm) so bile rezane v napravi cryostat pri -20°C . Vzorce mišičnega tkiva smo položili v pluto in jih shranili v utekočinjenem dušiku pri -80°C .

Z metodo, ki je bila uporabljena za raziskavo (merjenje aktivnosti ATP – sintaze), ni mogoče ločiti med IIX in mešanimi mišični vlakni, zato je bil namen raziskave razlikovati le mišična vlakna tipa I, II in hibridna vlakna. Po izpostavljenosti kislemu okolju se mišična vlakna tipa I obarvajo najtemneje, tip II bele barve in hibridna vlakna sive barve.

Rezine vzorcev so bile najprej postavljene v pufer za 10 minut, ta je vseboval 0,1 M NaAc in 0,1 M KCl s pH 4,55 (pH smo nastavili z očetno kislino). Vzorce smo nato izprali v vodi in jih zatem inkubirali 25 – 30 minut na 37°C v 40 mM glicinu, 20 mM CaCl_2 in 2,5 mM ATP s pH 9,4 (pH je bil nastavljen z NaOH). Vzorce smo po določenem času prestavili v 2 % CoCl_2 za 3 minute, izprali z destilirano vodo in jih obarvali z 2 % $(\text{NH}_4)_2\text{S}$ ter ponovno izprali z vodo.

Slika 1: Vzorec mišičnega vlakna za določanje mišične sestave in obarvane kapilare.



A: Primer mišičnih vlaken iz mišice vastus lateralis 55 let starega moškega, vzdržljivostnega športnika. Iz vzorca je mogoče določiti mišično sestavo s pomočjo encima ATP – sinaze (ta reagira različno glede na pH in je nato obarvan). Temni odseki predstavljajo mišični tip vaken I (počasna mišična vlakna), medtem ko so mišična vlakna tipa II (hitra mišična vlakna) obarvana svetlo in mešana mišična vlakna sivo. B: Zaporedna rezina istega primera, ki je bila obarvana z lektinom, z namenom opazovanja kapilar. Dimenzije: 680 μ m x 540 μ m.

Zaporedne rezine vzorcev so bile obarvane z lektinom (Ahmed, Egginton, Jakeman, Mannion & Ross, 1997). Vzorci so bili fiksirani v acetonu pri 4° C za 15 minut, inkubirani v pufri HEPES za 10 minut, blokirani z 0,1 % BSA znotraj HEPES, inkubirani v HEPES za 5 minut, nato inkubirani za 30 minut v peroksidu za preprečenje obarvanega ozadja, na koncu je sledila še inkubacija vzorcev v biotiniranem lektinu (Ulex Europeus) znotraj HEPES z 1 % BSA za 60 minut. Kapilare smo naredili vidne s pomočjo kompleta substratov Vectasta ABC in DAB (Vector laboratoriji), nato se je vzorce izpralo z vodo in prekrilo z želatinastim glicerolom.

Kapilarizacija je bila analizirana z metodo kapilarnih domen (Degens idr., 2002). Ta metoda omogoča določiti heterogenost kapilar. Razmik je pomemben faktor za oksigenacijo tkiv in z njim merimo razporejenost kapilar znotraj mišice (Degens idr., 2009).

Domene so bile izračunane za posamezne kapilare. Domene kapilar predstavljajo površino vlaken, ki jih oskrbujejo s kisikom. Območje, ki ga oskrbuje ena kapilara, se prekriva z domenami sosednjih kapilar. Oskrba s kisikom je bila izključena iz analize na skrajnih robovih magnetne plošče. Domene so bile izračunane kot površina identičnih navidezni krogov, ki obdajajo posamezne kapilare. Radius določa maksimalno razdaljo, ki jo doseže kisik z difuzijo od kapilare navzven in je logaritemsko normalno porazdeljen,

zato je logSD radiusa, mera heterogenosti za razmik kapilar (Degens, Anderson & Alway, 2002).

Za merjenje koordinat kapilar in obrob je bil uporabljen digitalen tablet (model MMII 1201, Summagraphics, TX), s pomočjo katerega so bili podatki preusmerjeni na računalnik. Presek vlaken je bil pridobljen z obkoljevanjem posameznih vlaken na digitalni plošči.

Mišična sestava je bila izračunana v odstotkih glede na število mišičnih vlaken (število »x« vlaken, deljeno s številom vlaken vseh tipov) in v odstotkih glede na površino mišičnih vlaken (površina, ki jo zajema skupina določenega tipa mišičnih vlaken, deljeno s celotno površino, ki jo zajemajo mišična vlakna vseh tipov). Površina, ki ni bila prekrita z mišičnimi vlakni, je bila definirana kot % nekontraktilnega materiala.

2.4 Obdelava ter statistične metode

Pri pisanju diplomske naloge smo uporabili metodo kompilacije, deskriptivno metodo dela in statistično metodo za obdelavo podatkov.

Za zapisovanje in analizo podatkov, to je primerjava skupin za posamezen parameter, smo uporabili statistični program SPSS in Microsoft Office Excel. Razlike med skupinami bodo izračunane z dvofaktorsko analizo variance (2 - way ANOVA), s faktorji: spol (moški, ženski) in skupina (kontrolna, vzdržljivostna in eksplozivna skupina). Če so se razlike izkazale kot statistično značilne, smo uporabili Tukeyev post hoc test. Podatki so podani kot aritmetična sredina \pm standardni odklon. Statistična pomembnost razlik je bila sprejeta z dvosmernim testom pri 5 % napaki prvega reda (alfa).

3 REZULTATI

3.1 Lastnosti preiskovancev

Iz tabele 1 je razvidno, da so moški statistično značilno težji kot ženske ($P = 0,008$). Telesna masa vzdržljivostnih športnikov je manjša od telesne mase kontrolne skupine neaktivnih starostnikov in od eksplozivnih športnikov starostnikov ($P < 0,05$). Telesna višina ($P = 0,036$) in ITM ($P = 0,033$) sta prav tako statistično značilno večja za moški spol v primerjavi z ženskim.

Tabela 1: Telesna masa, višina in indeks telesne mase (ITM) eksplozivnih športnikov starostnikov, vzdržljivostnih športnikov starostnikov ter kontrolne skupine neaktivnih športnikov.

	Telesna masa	Telesna višina	ITM
	(kg)	(cm)	kg/m ²
Eksplozivni športniki starostniki - skupno	75 ± 12	176 ± 7	24 ± 3
Moški	77 ± 11	177 ± 6	24 ± 3
Ženske	70 ± 14	172 ± 7	24 ± 3
Vzdržljivostni športniki starostniki - skupno	58 ± 12[†]	166 ± 7	21 ± 3
Moški	66 ± 12	169 ± 5	23 ± 4
Ženske	52 ± 9	164 ± 8	19 ± 2
Kontrolna skupina – skupno	74 ± 12	174 ± 8	25 ± 3
Moški	80 ± 12	177 ± 7	26 ± 3
Ženske	67 ± 9	171 ± 9	23 ± 2
Skupaj	70 ± 14	173 ± 8	23 ± 3
Moški	76 ± 12*	176 ± 7**	24 ± 3***
Ženske	63 ± 13	169 ± 9	22 ± 3

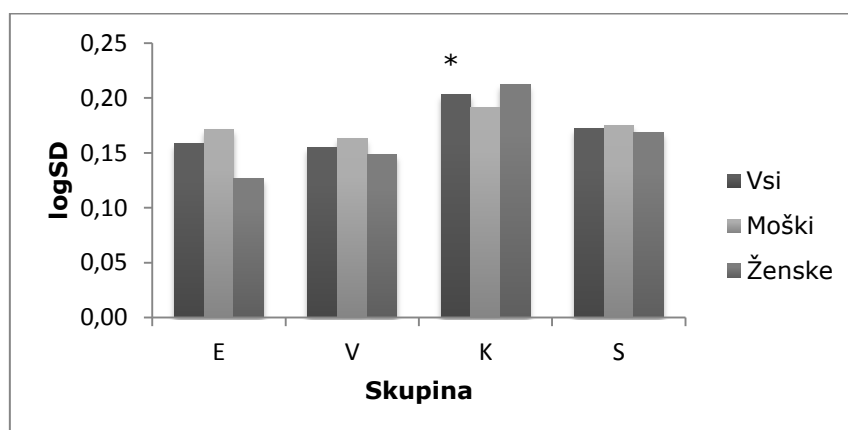
Podatki prikazani kot aritmetična sredina ± standardna deviacija; [†] statistično značilne razlike v primerjavi s kontrolno skupino neaktivnih starostnikov ($P = 0,008$) in eksplozivnimi športniki starostniki ($P = 0,004$); * učinek spola, $P = 0,008$; ** učinek spola, $P = 0,036$; *** učinek spola, $P = 0,033$.

3.2 Heterogenost kapilar

Pri kapilarizaciji smo analizirali logaritme standardnih deviacij (SD) podatkov, ki predstavljajo površine, ki so oskrbovane s kapilarami. Z logaritmi SD smo dobili informacije o razporejenosti kapilar v opazovanem mišičnem tkivu.

Ugotovili smo, da je heterogenost pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov značilno večja v primerjavi z eksplozivnimi športniki starostniki ($P = 0,017$) in v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki ($P = 0,022$). Razlike med eksplozivnimi športniki starostniki in vzdržljivostnimi športniki starostniki niso značilne. Razlike med spoloma niso statistično značilne ($P = 0,421$). Mešanega efekta nismo statistično potrdili ($P = 0,121$).

Slika 2: Heterogenost kapilar.



E – eksplozivni športniki starostniki; V – vzdržljivostni športniki starostniki; K – kontrolna skupina neaktivnih starostnikov; S – skupaj; * različno od eksplozivnih športnikov starostnikov ($P = 0,017$) in od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,022$).

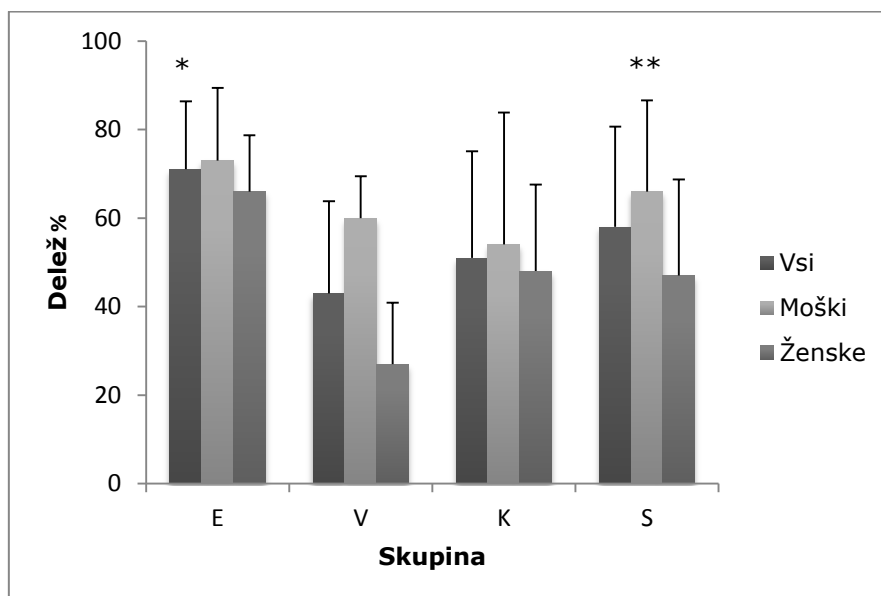
3.3 Mišična sestava

Za številski delež mišičnih vlaken II (št % II) smo ugotovili, da so razlike med skupinami značilne ($P = 0,026$). Tukeyev post hoc test je potrdil, da imajo eksplozivni športniki starostniki statistično značilno več mišičnih vlaken tipa II od vzdržljivostnih športnikov

starostnikov ($P = 0,016$). Eksplozivni športniki starostniki se od kontrolne skupine neaktivnih starostnikov statistično ne razlikujejo ($P = 0,065$). Razlike med spoloma niso statistično značilne ($P = 0,198$). Mešanega efekta nismo mogli statistično potrditi ($P = 0,352$).

Za površinski delež, ki ga pokrivajo mišična vlakna tipa II, smo ugotovili, da so razlike med skupinami statistično značilne ($P = 0,011$). Tukeyev post hoc test je potrdil, da imajo eksplozivni športniki starostniki več vlaken tipa II od kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ($P = 0,035$) in več od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,006$). Ugotovili smo tudi, da imajo moški več vlaken tipa II od žensk ($P = 0,032$). Mešanega efekta spola in športnega udejstvovanja nismo mogli statistično potrditi ($P = 0,265$).

Slika 3: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II.



E – eksplozivni športniki starostniki; V – vzdržljivostni športniki starostniki; K – kontrolna skupina neaktivnih starostnikov; S – skupaj; * različno od kontrolne skupine ($P = 0,035$) in od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,006$); ** različno od ženskega spola ($P = 0,032$).

Za številski delež mišičnih vlaken I (št % I) smo ugotovili, da obstajajo razlike med skupinami ($P = 0,036$). Tukeyev post hoc test je potrdil, da imajo eksplozivni športniki starostniki statistično značilno manj mišičnih vlaken tipa I od kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ($P = 0,056$) in manj od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,030$). Razlike med spoloma niso statistično značilne ($P = 0,171$). Mešanega efekta nismo mogli statistično potrditi ($P = 0,307$).

Za površinski delež, ki ga prekrivajo mišična vlakna tipa I smo ugotovili, da obstajajo razlike med skupinami ($P = 0,016$). Tukeyev post hoc test je potrdil, da imajo eksplozivni športniki starostniki manj mišičnih vlaken tipa I od kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ($P = 0,030$) in manj od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,011$). Ugotovili smo tudi, da imajo moški manj vlaken tipa I od žensk ($P = 0,026$). Mešanega efekta spola in športnega udejstvovanja nismo mogli statistično potrditi ($P = 0,228$).

Tabela 2: Številski delež mišične sestave (% št) in površinski delež mišične sestave (p %) pri eksplozivnih športnikih starostnikih, vzdržljivostnih športnikih starostnikih in kontrolni skupini neaktivnih športnikov.

	št %		p %	
	Tip I	Tip II	Tip I	Tip II
Eksplozivni športniki starostniki - skupno	34 ± 12 †	65 ± 12 ††	28 ± 15 †††	71 ± 15 ††††
Moški	35 ± 13	65 ± 14	26 ± 16	73 ± 16
Ženske	34 ± 5	66 ± 5	34 ± 13	66 ± 13
Vzdržljivostni športniki starostniki - skupno	50 ± 25	50 ± 25	54 ± 21	43 ± 21
Moški	37 ± 14	63 ± 14	37 ± 7	60 ± 9
Ženske	64 ± 28	36 ± 28	71 ± 15	27 ± 14
Kontrolna skupina - skupno	39 ± 21	59 ± 22	49 ± 24	51 ± 24
Moški	36 ± 19	61 ± 22	46 ± 30	54 ± 30
Ženske	42 ± 19	42 ± 25	52 ± 20	48 ± 20

Podatki so prikazani kot aritmetična sredina ± standardna deviacija; št % - številski delež mišičnih vlaken; p % - površinski delež mišičnih vlaken; † različno od vzdržljivostnih športnikov ($P = 0,030$); †† različno od vzdržljivostnih športnikov ($P = 0,016$); ††† različno od vzdržljivostnih športnikov ($P = 0,011$) in kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ($P = 0,031$); †††† različno od vzdržljivostnih športnikov ($P = 0,006$) in kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ($P = 0,035$).

3.4 Zaključki in testiranje hipotez

Diplomska naloga vsebuje 3 hipoteze, ki so najprej opredeljene v uvodu in opisane v poglavjih. Vsaka hipoteza ima *a* trditev, ki se nanaša na primerjavo eksplozivnih športnikov starostnikov in kontrolne skupine neaktivnih starostnikov ter *b* trditev, ki se nanaša na primerjavo vzdržljivostnih športnikov starostnikov in kontrolno skupine

neaktivnih starostnikov ali vzdržljivostnih športnikov starostnikov in eksplozivnih športnikov starostnikov. Potrdili smo pet hipotez od šestih. Odgovori na dane hipoteze so v tem poglavju.

Hipoteza 1a: Heterogenost kapilar je pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov večja kot pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov.

Z dvofaktorsko analizo variance podatkov kapilarnega razmika smo ugotovili, da razlike med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je potrdil, da je heterogenost pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov značilno večja od eksplozivnih športnikov starostnikov ($P = 0,017$), zato smo hipotezo 1a potrdili.

Hipoteza 1b: Heterogenost kapilar je pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov večja kot pri skupini vzdržljivostnih športnikov starostnikov.

Z dvofaktorsko analizo variance podatkov kapilarnega razmika smo ugotovili, da razlike med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je potrdil, da je heterogenost pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov značilno večja od vzdržljivostnih športnikov starostnikov ($P = 0,022$), zato smo hipotezo 1b potrdili.

Hipoteza 2a: Številčni delež mišičnih vlaken tipa II je pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov večji kot pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov.

Z dvofaktorsko analizo variance smo potrdili, da razlike v številčnem deležu mišičnih vlaken tipa II na opazovani površini med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je potrdil, da razlike med eksplozivnimi športniki starostniki in kontrolno skupino neaktivnih starostnikov niso statistično značilne ($P = 0,065$). Ker razlik med skupinama v hipotezi nismo uspeli dokazati, smo hipotezo 2a zavrnil.

Hipoteza 2b: Številčni delež mišičnih vlaken tipa II je pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov večji kot pri skupini vzdržljivostnih športnikov starostnikov.

Z dvofaktorsko analizo variance smo potrdili, da razlike v številčnem deležu mišičnih vlaken tipa II na opazovani površini med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je potrdil, da je številčni delež vlaken tipa II večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih, v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki ($P = 0,016$), zato smo hipotezo 2b potrdili.

Hipoteza 3a: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je večji pri skupini eksplozivnih športnikov starostnikov kot pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov.

Z dvofaktorsko analizo variance površinskega deleža mišičnih vlaken tipa II smo ugotovili, da razlike med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je potrdil, da je površinski delež mišičnih vlaken tipa II značilno večji za eksplozivne športnike starostnike, v primerjavi s kontrolno skupino neaktivnih starostnikov ($P = 0,035$), zato smo hipotezo 3a potrdili.

Hipoteza 3b: Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih kot pri vzdržljivostnih športnikih starostnikih.

Z dvofaktorsko analizo variance površinskega deleža mišičnih vlaken tipa II, smo ugotovili, da razlike med skupinami obstajajo. Tukeyev post hoc test je dokazal, da je površinski delež vlaken tipa II večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki ($P = 0,006$), zato smo hipotezo 3b potrdili.

4 DISKUSIJA

Heterogenost kapilar

Glavna ugotovitev te raziskave je, da so kapilare razporejene bolj enakomerno pri športnikih starostnikih ne glede na skupino (eksplozivni športniki starostniki in vzdržljivostni športniki starostniki), v primerjavi s kontrolno skupino neaktivnih starostnikov. Povečana heterogenost razporejenosti kapilar negativno vpliva na oksigenacijo tkiv (Degens idr., 2006; Degens, Turek, Hoofd, Van't Hof & Binkhorst, 2002). Športniki starostniki imajo kapilare razporejene bolj enakomerno, zato je velika verjetnost, da športna vadba izboljša oksigenacijo mišic, ne glede na spol ali skupino (vzdržljivostni in eksplozivni športniki starostniki). Ugotovitev, da imajo športniki starostniki boljšo razporejenost kapilar, je najpomembnejša novost na področju dosedanjih raziskav. Kot prva je z eksperimentom na človeških vzorcih mišičnega tkiva podprla teoretično domnevo, da udejstvovanje s športom vpliva na razporejenostjo kapilar.

Povprečna površina mišičnih vlaken

Površinski delež mišičnih vlaken tipa I je bil za 21 % večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih v primerjavi s kontrolno skupino neaktivnih starostnikov. Površinski delež mišičnih vlaken tipa II je bil večji pri eksplozivnih športnikih starostnikih v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki. To smo pričakovali glede na raznolikost športnih disciplin: mišična vlakna tipa II so zmožna hitrejšega krčenja kot mišična vlakna tipa I, prav tako imajo mišična vlakna tipa II v povprečju večji površinski delež kot mišična vlakna tipa I. Zaradi teh lastnosti lahko mišična vlakna tipa II proizvedejo večjo moč v primerjavi z mišičnimi vlakni tipa I (Wüst idr., 2009), hkrati pa tudi hitreje privedejo do utrujenosti (Jones idr., 2004).

Ugotovili smo, da imajo moški večji površinski delež mišičnih vlaken kot ženske, ne glede na tip mišičnih vlaken ali skupino. Zanimivo je, da se številski delež mišičnih vlaken glede na spol ne razlikuje, kar pomeni, da so bile razlike med spoloma značilne le v površinskem deležu. Tako smo lahko zaključili, da imajo moški v tej raziskavi večja mišična vlakna kot ženske.

Površina mišičnih vlaken v veliki meri odloča, koliko sile lahko proizvedejo mišice. Manjša mišica proizvede manjšo silo od večje mišice, kar pojasnjuje dejstvo, da so moški v splošnem močnejši od žensk (Yu, Hedstrom, Cristea, Dalen & Larsson, 2007). Raziskava, ki je primerjala biopsije odvzete 8 ženskam in 8 moškim je potrdila povezavo med močjo in velikostjo prečnega preseka mišičnih vlaken. Vzorci biopsij so bili odvzeti iz mišic *biceps brachii* in *vastus lateralis*. Moški so v primerjavi z ženskami značilno močnejši in imajo hkrati značilno večja mišična vlakna v opazovanih mišicah. Podatki nakazujejo, da je večja moč pri moških posledica večjih mišičnih vlaken v primerjavi z ženskami. Neznano ostaja do kakšne mere so razlike pripisane različni količini gibalne/športne aktivnosti v primerjavi s prirojenimi razlikami med spoloma.

5 ZAKLJUČEK

V diplomski nalogi smo opisali strukturne in funkcijske spremembe mišičnega tkiva, ki se pojavijo s staranjem, ter kakšen vpliv ima na te spremembe redna športna vadba. Gibalna športna neaktivnost, spremembe v strukturi mišičnih proteinov in hormonov ter omejena diferenciacija miosatelitskih celic, so nekateri izmed vzrokov mišičnega slabenja, ki se pojavi s staranjem. Kot študentka in bodoča diplomantka aplikativne kineziologije sem več pozornosti namenila vprašanju, koliko lahko na negativne učinke staranja vplivamo s pomočjo športne vadbe. Zanimale so me spremembe, ki se pojavijo znotraj mišičnega tkiva.

Namen diplomske naloge je bil ugotoviti razlike med športniki starostniki in kontrolno skupino neaktivnih starostnikov. Značilne razlike tako lahko v določeni meri pripišemo redni športni vadbi. Redna športna vadba se že priporoča v preventivne namene, vendar ostaja veliko vplivov še neraziskanih. Naš prvi cilj je bil, da ugotovimo, ali redna športna vadba vpliva na razporejenost kapilar. Predvidevali smo, da enakomerna razporeditev kapilar pozitivno vpliva na prekrvavljenost in oksigenacijo mišičnega tkiva. Naš drugi cilj je bil, da boljše razumemo učinke staranja, kot je upad fizičnih zmogljivosti, ki se pojavijo v kasnejšem življenjskem obdobju. Poleg tega so nas zanimali še možni zaščitni učinki športne vadbe na morfologijo mišice v času staranja. Takšna spoznanja bodo na raziskovalnem področju v prihodnje pripomogla k boljšemu razumevanju procesa staranja in vplivu športne vadbe.

Vse podatke v diplomski nalogi smo pridobili iz raziskave, ki je potekala na univerzi Manchester Metropolitan University, kjer sem pri obdelavi podatkov sodelovala v okviru 6 – mesečne izmenjave Erasmus, v letu 2012. Raziskava je prva, ki je na človeških vzorcih mišičnega tkiva dokazala, da obstajajo značilne razlike v razporejenosti kapilar med kontrolno skupino neaktivnih starostnikov in starostniki športniki. Heterogenost kapilar je večja pri kontrolni skupini neaktivnih starostnikov v primerjavi s športniki starostniki, vendar ostaja neznan, do kakšne mere heterogenost vpliva na oksigenacijo mišičnega tkiva. V prihodnje bodo potrebne nadaljne raziskave za boljše razumevanje vpliva športne vadbe na razporejenost kapilar.

Z metodo določanja tipa mišičnih vlaken na podlagi encima ATP - sintaze smo dokazali, da je površinski delež mišičnih vlaken tipa II značilno večji pri eksplozivnih športnikih

starostnikov v primerjavi z vzdržljivostnimi športniki starostniki in kontrolno skupino neaktivnih starostnikov. Obenem smo dokazali, da se številčni delež vlaken med eksplozivnimi športniki starostniki in kontrolno skupino starostnikov značilno ne razlikuje, medtem ko so razlike v deležu značilne. Ta ugotovitev se ujema z dokazi raziskave, ki je preučevala učinke anaerobne vadbe in potrdila, da je večji volumen mišičnih vlaken ena od adaptacij mišic na tovrstno vadbo (McCall idr., 1996).

Gibalna športna neaktivnost je eden od faktorjev, ki vpliva na izgubo mišične mase, ni pa edini, saj se izguba mišične mase pojavi tudi pri dvigovalcih uteži (Degens, 2010). Menim, da staranja ni mogoče ustaviti, velika verjetnost pa je, da je mogoče z redno športno vadbo omilimo procese staranja skeletne mišice. Nadaljne raziskave so potrebne, da bi lahko natančneje določili, kolikšen je lahko vpliv športne vadbe na te procese.

Zaradi invazivnih postopkov je bilo število udeležencev v raziskavi omejeno, še posebej pri kontrolni skupini, zato je potrebno previdno uporabljati ugotovitve te študije. Prav tako so podatki, ki smo jih uporabili za diplomsko nalogo pomanjklivi, ker je raziskava še vedno v teku. Ne glede na to, lahko s pomočjo teh podatkov izpostavimo nekatera verodostojna dejstva o tem, kako starost, spol in tip športne aktivnosti vplivajo na morfologijo mišic.

VIRI

- Ahmed, S., Egginton, S., Jakeman, P., Mannion, A., & Ross, H. (1997). Is human skeletal muscle capillary supply modelled according to fibre size or fibre type? *Experimental physiology*, 82, 231-234.
- Andersen, J., & Schjerling, P. (2000). Muscle, Genes and Athletic Performance. *Scientific American*, 49-55.
- Barbieri, M., Ferrucci, L., Ragno, E., Corsi, A., Bandinelli, S., Bonafe, M., in drugi. (2003). Chronic inflammation and the effect of IGF-I on muscle strength and power in older persons. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 284, 481-487.
- Basmajian, J., & De Luca, C. J. (1985). *Muscles Alive. Their Functions Revealed by Electromyography*. Baltimore: Williams & Wilkins.
- Behnke, B., McDonough, P., Padilla, D., Musch, T., & Poole, D. (2003). Oxygen exchange profile in rat muscles of contrasting fibre types. *The Journal of Physiology*, 549, str. 597-605.
- Bogaert, E. V., Van Den Bosch, L., & Robberecht, W. (2006). Vascular endothelial growth factor in amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases. *Muscle Nerve*, 34, 391-405.
- Booth, F. (1991). Molecular and cellular adaptation of muscle in response to exercise: perspectives of various models. *Physiological Reviews*, 71, 541-585.
- Brooke, M., & Kaiser, K. (1970). Muscle fiber types: how many and what kind? *Archives of neurology*, 23, 369-379.
- Buller, A., Eccles, J., & Eccles, R. (1960). Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speeds of their responses. *The Journal of Physiology*, 150, 417-439.
- Clark, M., Rattigan, S., Eugene, J., Barrett, J., & Vincent, M. (2007). Point:Counterpoint: There is/is not capillary recruitment in active skeletal muscle during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 104, 889-891.
- Condon, K. S., Blau, H., & Thompson, W. (1990). Differentiation of Fiber Types in Aneural Musculature of the Prenatal Rat Hindlimb. *Developmental Biology*, 138, 275-295.

- Condon, K., Silberstein, L., Blaut, H., & Thompson, W. (1990). Development of muscle fiber types in the prenatal rat hindlimb. *Developmental Biology*, 138, 256-274.
- Costill, D., Daniels, J., Evans, W., Fink, W., Krahenbuhl, G., & Saltin, B. (1976). Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. *Journal of Applied Physiology*, 40, 149-154.
- Crow, M., & Kushmerick, M. (1983). Correlated reduction of velocity of shortening and the rate of energy utilization in mouse fast-twitch muscle during a continuous tetanus. 82, 703-720.
- Crow, M., & Stockdale, F. (1986). Myosin expression and specialization among the earliest muscle fibers of the developing avian limb. *Developmental Biology*, 113, 238-254.
- Degens, H. (1998). Age-related changes in the microcirculation of skeletal muscle. *Advances in experimental medicine and biology*, 454, 343-348.
- Degens, H. (2007). Age-related skeletal muscle dysfunction: causes and mechanisms. *The Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 7, 246-252.
- Degens, H. (2010). The role of systematic inflammation in age-related muscle weakness and wasting. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 20: 28-38.
- Degens, H. (2011). Physiopathology of muscle in relation to sarcopenia. *Journal für Mineralstoffwechsel*, 18, 6-7.
- Degens, H., & Alway, S. (2006). Control of muscle size during disuse, disease, and aging. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 94-99.
- Degens, H., Anderson, R., & Alway, S. (2002). Capillarization in skeletal muscle of rats with cardiac hypertrophy. *Medicine and science in sports and exercise*, 34, 258-266.
- Degens, H., Deveci, D., Botto-van Benden, A., Hoofd, L., & Egginton, S. (2006). Maintenance of heterogeneity of capillary spacing is essential for adequate oxygenation in the soleus muscle of the growing rat. *Microcirculation*, 13, 467-476.
- Degens, H., Erskine, R., & Morse, C. (2009). Disproportionate changes in skeletal muscle strength and size with resistance training and ageing. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 9, 123-129.
- Degens, H., Morse, C., & Hopman, M. (2009). Heterogeneity of capillary spacing in the hypertrophied plantaris muscle from young-adult and old rats. *Advances in experimental medicine and biology*, 645, 61-66.

- Degens, H., Ringnalda, B., & Hoofd, L. (1994). Capillarisation, fibre types and myoglobin content of the dog gracilis muscle. *Advances in experimental medicine and biology*, 361, 533-539.
- Degens, H., Turek, Z., Hoofd, L., Van't Hof, M., & Binkhorst, R. (2002). The relationship between capillarisation and fibre types during compensatory hypertrophy of the plantaris muscle in the rat. *Journal of anatomy*, 34, 258-266.
- Degens, H., Yu, F., Li, X., & Larsson, L. (1998). Effects of age and gender on shortening velocity and myosin isoforms in single rat muscle fibres. *Acta Physiologica Scandinavica*, 163, 33-40.
- Dupont-Versteegden, E. (2005). Apoptosis in muscle atrophy: relevance to sarcopenia. *Experimental Gerontology*, 40, 473-481.
- Edington, D., Cosmas, A., & McCafferty, W. (1972). Exercise and longevity: evidence for a threshold age. *The Journals of Gerontology*, 27, 341-343.
- Enoka, R. (2002). *Neuromechanics of human movement*. United States: Human Kinetics.
- Frontera, W., Hughes, V., Fielding, R., Fiatarone, M., Evans, W., & Roubenoff, R. (2000). Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *Journal of Applied Physiology*, 88, 1321-1326.
- Gollnick, P., Armstrong, R., Saubert, C., Piehl, K., & Saltin, B. (1972). Enzyme activity and fibre composition in skeletal muscle of untrained and trained men. *Journal of Applied Physiology*, 33, str. 549, 312-319.
- Greiwe, J., Cheng, B., Rubin, D., Yarasheski, K., & Semenkovic, C. (2001). Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail elderly humans. *Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15, 475-482.
- Holm, L., van Hall, G., Rose, A., Miller, B., Doessing, S., Richter, E., in drugi. (2009). Contraction intensity and feeding effect collagen and myofibrillar protein synthesis rates differently in human skeletal muscle. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*, 298, 257-269.
- Janssen, I., Heymsfield, S., Wang, Z., & Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18-88 yr. *Journal of Applied Physiology*, 89, 81-88.
- Jones, D., Round, J., & de Haan, A. (2004). Skeletal muscle from molecules to movement : a textbook of muscle physiotherapy for sport, exercise and physiotherapy. *Edinburgh: Churchill Livingstone*.

- Kiens, B. (2006). Skeletal Muscle Lipid Metabolism in Exercise and Insulin Resistance. *Physiology Reviews*, 86, 205-243.
- Klitgaard, H., Mannoni, M., Schiaffino, S., Ausoni, S., Gorza, L., Laurent, -W. C., in drugi. (2006). Function, morphology and protein expression of ageing skeletal muscle: a cross-sectional study of elderly men with different training backgrounds. *Acta Physiologica Scandinavica*, 27, 94-99.
- Knierim, J. (2013). *Motor Units and Muscle Receptors*. Najdeno 19. avgusta 2013 na spletnem naslovu <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s3/chapter01.html>
- Kosek, D., Kim, J., Petrella, J., Cross, J., & Bamman, M. (2006). Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older. *Journal of Applied Physiology*, 101, 531-544.
- Lexell, J. (1997). Evidence for nervous system degeneration with advancing age. *Journal of Nutrition*, 127, 1011-1013.
- Lexell, J., Taylor, C., & Sjostrom, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *The Journal of Neuroscience*, 84: 275-294.
- McCall, G., Byrnes, W., Dickinson, A., & Pattany, P. F. (1996). Muscle fiber hypertrophy, hyperplasia, and capillary density in college men after resistance training. *Journal of applied physiology*, 81, 2004-2012.
- McDonough, P., Behnke, B., DJ, P., Musch, T., & Poole, D. (2005). Control of microvascular oxygen pressure in rat muscles comprised of different fibre types. *The Journal of Physiology*, str. 563, 903-913.
- Murakami, S., Fujino, H., Takeda, I., Momota, R., Kumagishi, K., & Ohtsuka, A. (2010). Comparison of Capillary Architecture between Slow and Fast Muscles in Rats Using a Confocal Laser Scanning Microscope. *Acta Medica Okayama*, 1, 11-18.
- Murias, J., Kowalchuk, J., Ritchie, D., Hepple, R., Doherty, T., & Paterson, D. (2011). Adaptations in Capillarization and Citrate Synthase Activity in Response to Endurance Training in Older and Young Men. *The Journals of gerontology*, 9, 957-964.
- Nair, K. (2005). Aging muscle. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81, 953-963.
- Narici, M., & Maganaris, C. (2006). Adaptability of elderly human muscles and tendons to increase loading. *Journal of Anatomy*, 208, 433-443.

- Nemeth, P., & Lowry, O. (1984). Myoglobin levels in individual human skeletal muscle fibres of different types. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 32, 1211-1216.
- Newman, A., Kupelian, V., Visser, M., Simonsick, E., Goodpaster, B. K., Tylavsky, F., in drugi. (2006). Strength, but not muscle mass, is associated with mortality in the health, aging and body composition study cohort. *The Journals of gerontology A*, 61, 72-77.
- Onambele, G., Narici, M., & Maganaris, C. (2006). Calf muscle-tendon properties and postural balance in old age. *Journal of Applied Physiology*, 100, 2048-2056.
- Pette, D., & Staron, R. (1997). Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *International review of cytology*, 170, 143-223.
- Pišot, R. (2004). Vloga in pomen gibalne/športne dejavnosti v šolskem obdobju. *Zdrava šola*, 1, 24-27.
- Pišot, R., Završnik, J., & Kropelj, V. (2005). *Opredelitev problema. V Završnik J. (Ur.) in Pišot R. (Ur.), Gibalna/Športna aktivnost za zdravje otrok in mladostnikov*. Koper: Založba Annales, Univerza na Primorskem, Znanstveno-raziskovalno središče, Inštitut za kineziološke raziskave.
- Poljšak, B., & Lampe, T. (2011). *Proces staranja: vzroki, posledice in ukrepi*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Zdravstvena fakulteta.
- Rafuse, V., Milner, L., & Landmesser, L. (1996). Selective Innervation of Fast and Slow Muscle Regions during Early Chick Neuromuscular Development. *The Journal of Neuroscience*, 16, 6864-6877.
- Rehling, P., Brander, K., & Pfanner, N. (2004). Mitochondrial import and the twin-pore translocase. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 5, 519-530.
- Rittweger, J., Kwiet, A., & Felsenberg, D. (2004). Physical performance in aging elite athletes - Challenging the limits of physiology. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 4, 159-160.
- Rivero, J., Talmadge, R., & Edgerton, V. (1998). Fibre size and metabolic properties of myosin heavy chain-based fibre types in rat skeletal muscle. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 19, 733-742.
- Scanlan, A., Dascombe, B., Reaburn, P., & Osborne, M. (2008). The effects of wearing lower-body compression garments during endurance cycling. *International journal of sports physiology and performance*, 3, 424-438.

- Schiaffino, S., & Reggiani, C. (2011). Fiber types in mammalian skeletal muscles. *Physiological Reviews*, 91, 1447-1531.
- Schultz, A., Ashton-Miller, J., & Alexander, N. (1997). What leads to age and gender differences in balance maintenance and recovery? *Muscle Nerve*, 5, 60-64.
- Sciote, J., Rowleson, A., Hopper, N., & Hunt, N. (1994). Fibre type classification and myosin isoforms in the human masseter muscle. *Journal of the Neurological Sciences*, 126, 15-24.
- Shephard, R. (1994). Aerobic fitness and Health. *Champaign, IL: Human Kinetics*.
- Short, K., Vittone, J., Bigelow, M., Proctor, D., & Nair, S. (2003). Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *American Journal of Physiology*, 286, 92-101.
- Silvan, E., Homko, C., Chen, X., Reece, E., & Boden, G. (1999). Effect of insulin on fat metabolism during and after normal pregnancy. *Diabetes*, 48, 834-838.
- Simoneau, J., & Bouchard, C. (1989). Human variation in skeletal muscle fiber-type proportion and enzyme activities. *American Journal of Physiology*, 257, 567-572.
- Simoneau, J., & Bouchard, C. (1995). Genetic determinism of fiber type proportion in human skeletal muscle. *Physical Activity Sciences Laboratory*, 9, 1091-1095.
- Sjøgaard, G. (1982). Capillary supply and cross-sectional area of slow and fast twitch muscle fibres in man. *Histochemistry and Cell Biology*, 4, 547-555.
- Stockdale, F., & Miller, J. (1987). The cellular basis of myosin heavy chain isoform expression. *Developmental Biology*, 123, 1-9.
- Šimunič, B. in drugi (v tisku). Children TMG.
- Weimo, Z., & Wojtek, C. (2006). *Measurement issues in aging and physical activity*. USA: Human Kinetics.
- Welle, S., Tawil, R., & Thornton, C. (2008). Sex-related differences in gene expression in human. *PLoS ONE*, 3, 1385.
- Woodman, C., Schrage, W., James W. E. Rush, J., Ray, C., Price, E., Hasser, E., in drugi. (2001). Hindlimb unweighting decreases endothelium-dependent dilation and eNOS expression in soleus not gastrocnemius. *Journal of Applied Physiology*, 91, 1091-1098.
- Wüst, R., Gibbings, S., & Degens, H. (2009). Fiber capillary supply related to fiber size and oxidative capacity in human and rat skeletal muscle. *Advances in experimental medicine and biology*, 645, 75-80.

Yu, F., Hedstrom, M., Cristea, A., Dalen, N., & Larsson, L. (2007). Effects of ageing and gender on contractile properties in human skeletal muscle and single fibres. *Acta Physiologica*, 190, 229-241.

PRILOGE

Priloga 1: Etična odobritev raziskave

Appendix III

Application for Ethical Approval for the Use of Humans in Research

In designing research involving humans, investigators should be able to demonstrate that the research is based on sound scientific principles. These criteria will be considered by the Ethics Committee before approving a project. **Please note that ethical approval for studies that involve clinical populations will not be granted unless accompanied by a letter granting ethical approval from the appropriate regional health authority ethics committee.** ALL of the following details must be provided and answered under each subheading, preferably typewritten or word-processed.

1. Name of responsible investigator(s).

Hans Degens Ph.D.

Joern Rittweger, M.D., PhD.

Sally Gilliver

2. Title of investigation.

Skeletal muscle ultra-structure and single muscle fibre function in Master Athletes

3. Is this:
 - (a) a teaching exercise?
 - (b) an undergraduate project?
 - (c) a post-graduate (e.g. M.Sc.) taught project?
 - (d) a staff or PhD programme research project?

Please indicate appropriate description

4. Have the full details of the procedure been appended: Yes/No?
5. Provide a brief description (500 words maximum) and purpose of the investigation. This should include a rationale for the study and a statement of the hypothesis to be tested. It must include information on whether the study is collaborative, replication or new.

Ageing, as it occurs in the general population is a combination of the effects of senescence (i.e. an irreversible biological process), the change towards a more sedentary lifestyle, and effects of co-

morbidity. As a result of ageing, virtually all bodily functions decline, and skeletal muscle is no exception. Its decline is crucially related to the capability to lead a self-sustained life.

Part of the decline in skeletal muscle function during ageing is attributable to a decline in the level of physical activity. In that respect, Master Athletes (MA) constitute a unique population; they train and compete in sports unto very old age, and therefore the effects of reduction in the level of physical activity and co-morbidity on skeletal muscle are relatively small. However, even MA undergo a loss of muscle function, as evidenced by their decline in sport performance (2) and physiological functions such as aerobic capacity and maximum anaerobic power (7; 9). Nevertheless, it has been reported that the age-related decline in VO_{2max} in MA is about half the decline observed in a general population (8).

Surprisingly, however, almost nothing is known about the changes in the ultrastructure of the muscle tissue and the function of single muscle fibres in MA. To the best of our knowledge, there are only two studies that assessed the fibre type composition and aerobic capacity in muscle biopsies from endurance trained MA (3). In that study, there was no evidence of a type-II specific fibre atrophy, a finding that is purported for the general population by many studies (1; 4; 5). Similarly, in a study on single fibre contractile properties in endurance MA the power generating capacity was studied but no young control group was included, and the age of the participants (44 years) was not exceptionally high (Widrick et al., 1996). In summary, there is no clear picture emerging from the available data on endurance MA, and even nothing is known for power MA athletes. It has been shown that the age-related decline in specific tension in single fibres, caused by oxidative damage, was similar to that induced by disuse and could almost entirely be reversed by regular contractions (6). Clearly, it is important to know whether life-long training for distance running or sprinting attenuates the age-related atrophy and decline in muscle function at the single fibre level and oxidative capacity of the muscle.

Therefore, we wish to explore the age-related differences in muscle ultra-structure and single fibre contractile properties in power and endurance MA. We hypothesize, that the age-related fibre atrophy will be mitigated in MA specialised in power events, while in endurance MA in particular the decline in aerobic capacity of the muscle is attenuated. In both cases, however, the age-related decline in single muscle fibre function in terms of mass specific force and power production will be attenuated. We also wish to investigate the impact of the expected differences in muscle ultra-structure and single fibre contractile properties on whole muscle function.

Reference List

1. **Ansved T, Wallner P and Larsson L.** Spatial distribution of motor unit fibres in fast- and slow-twitch rat muscles with special reference to age. *Acta Physiol Scand* 143: 345-354, 1991.
2. **Bortz WM and Bortz WM.** How fast do we age? Exercise performance over time as a biomarker. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 51: M223-M225, 1996.
3. **Coggan AR, Spina RJ, Rogers MA, King DS, Brown M, Nemeth PM and Holloszy JO.** Histochemical and enzymatic characteristics of skeletal muscle in master athletes. *J Appl Physiol* 68: 1896-1901, 1990.
4. **Lexell J and Taylor CC.** Variability in muscle fibre areas in whole human quadriceps muscle: effects of increasing age. *J Anat* 174: 239-249, 1991.
5. **Lexell J, Taylor CC and Sjostrom M.** What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci* 84: 275-294, 1988.
6. **Lowe DA, Warren GL, Snow LM, Thompson LV and Thomas DD.** Muscle activity and aging affect myosin structural distribution and force generation in rat fibers. *J Appl Physiol* 96: 498-506, 2004.
7. **Martin JC, Farrar RP, Wagner BM and Spirduso WW.** Maximal power across the lifespan. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 55: M311-M316, 2000.
8. **Rogers MA, Hagberg JM, Martin WH, III, Ehsani AA and Holloszy JO.** Decline in VO₂max with aging in master athletes and sedentary men. *J Appl Physiol* 68: 2195-2199, 1990.
9. **Runge M, Rittweger J, Russo CR, Schiessl H and Felsenberg D.** Is muscle power output a key factor in the age-related decline in physical performance? A comparison of muscle cross section, chair-rising test and jumping power. *Clin Physiol Funct Imaging* 24: 335-340, 2004.

6. (a) How will the participants be recruited?

Master athletes will be recruited through their National federations, through their newsletters, and through personal contacts of Dr. Rittweger.

Elderly participants will be recruited through the University of the 3rd age. Young control participants will be recruited by signposts on the campus.

(b) Provide details on the number and type of participants likely to be involved?

People older than 60 years of either gender will be recruited and people between 20 and 30 years of age, who will be height- and weight-matched to the participants in the older group.

We will study 6 groups:

1) Master Athletes specialised in Power events (MA-POW)

Inclusion criteria:

- Age above 60
- Continuous (no break > 2 years) history of competitive sports in power events since the age of 20 at regional or higher level
- Currently competing at national or higher level

2) Master Athletes specialised in Endurance events (MA-END)

Inclusion criteria:

- Age between above 60
- Continuous (no break > 2 years) history of competitive sports in endurance events since the age of 20 at regional or higher level
- Currently competing at national or higher level

3) Young Athletes specialised in Power events (YA-POW)

Inclusion criteria:

- Age between 20 and 30
- Weight and height matched to the participants from group MA-POW
- Currently competing at regional or higher level in power events

4) Young Athletes specialised in Endurance events (YA-END)

Inclusion criteria:

- Age between 20 and 30
- Weight and height matched to one of the participants from group MA-END
- Currently competing at regional or higher level in endurance events

5) Presently sedentary older people, formerly specialised in endurance events (SED-END)

Inclusion criteria:

- Age above 60
- Weight- and height-matched to one of the participants of the MA-END group

- Having competed in endurance events at regional or higher levels below the age of 30, but not thereafter
- Currently only recreationally active or sedentary

6) Presently sedentary older people, formerly specialised in power events (SED-POW)

Inclusion criteria:

- Age above 60
- Weight- and height-matched to one of the participants of the MA-POW group
- Having competed in endurance events at regional or higher levels below the age of 30, but not thereafter
- Currently only recreationally active or sedentary

(c) What inclusion and exclusion criteria will be employed in the selection of participants?

Exclusion

1. Any disorder or disability that makes it impossible to do a jump test or to perform isometric knee extension testing
2. Any chronic disease likely to affect the general health (e.g. tumor, chronic inflammatory diseases)
3. Clotting disorders, such as haemophilia or current anticoagulation

(d) What criteria have been employed to determine the number of participants for the study?

Based on the fibre cross-sectional area data in the study by Coggan et al (1990) in endurance trained master athletes we have calculated the number of participants required to detect a 25% difference in fibre cross-sectional area to be 12 per group for a power of 0.8 and a single sided α of 0.05.

7. Likely duration of project and location of study.

We give ourselves 5 years to perform the study. We are aware that it will take a long time to find MA willing to undergo a muscle biopsy. However, we are quite sure to recruit the specified number of participants within the next five years.

The study will take place in the Active lifespan lab and in the Old Physiology lab of the Dept of ESS.

8. Specify the particular procedures that involve human participants.

a) The 'Physical activity for the elderly' (PASE) questionnaire will be used, and a short medical and athletic history will be taken with a self developed questionnaire (as in study 2005/11/08, approved by the Ethical committee) to assess the degree of physical / athletic activity in the different groups, respectively.

b) The peak jumping power will be assessed in 3 counter-movement jumps and in 3 squat jumps starting from a knee angle of 90 deg (full extension = 0 deg) on a ground reaction force platform to assess the muscle power output in the different groups.

c) The maximum voluntary knee extension torque will be assessed at 90 deg knee angle with a Cybex dynamometer in 3 contractions with 2 min rest in between.

d) Vastus lateralis pennation angle and fascicle length will be assessed using ultrasound during the maximum voluntary knee extension, and also at rest.

d) The quadriceps muscle cross-sectional area will be determined at 40% of the length, seen from the knee, of the quadriceps muscle with Magnetic resonance imaging (MRI).

e) Body composition will be determined from a full body scan using Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA).

e) Muscle biopsies will be obtained after local anesthesia from the vastus lateralis muscle of the non-dominant leg at 30% of the femur length from its distal end. After incision through the fascia, a Bergstrom needle will be utilised to harvest a biopsy of approximately 100 mg.

The sample will be divided into two parts, where one will be used for histological analysis, such as fibre type composition, fibre cross-sectional areas and myosin heavy chain composition, and the other part for determination of the contractile properties of single muscle fibres, such as specific tension, shortening velocity and power.

9. Are any novel procedures involved in this study? If so, full details must be attached.

None of the procedures is new.

10. Clearly state all substances to be administered. State their potential hazards, if any, and the precautions to be taken.

Lidocain in 2% concentration, which is widely used for local anaesthesia will be injected subcutaneously. Under rare circumstances, this may lead to cardiovascular reactions. In the worst case, this may lead to cardiac arrhythmia and arterial hypotension. Dr. Rittweger is a qualified M.D., registered with the GMC, and trained in the use of the Automatic Electronic Defibrillator and is therefore capable to deal with this very rare complication.

There is also the potential risk of bleeding and nerve damage during the biopsy. However, due to the anatomy of the central part of the vastus lateralis muscle, this is virtually excluded. To minimise the possible risk of infection the biopsy will be taken under sterile conditions.

11. State the degree of discomfort in terms of apprehension, pain, stress and disturbance in terms of alternation to routine.

The muscle biopsy is experienced as unpleasant by most people. However, there is no pain felt if the local anaesthesia is done well. For up to a week after the biopsy, some people feel a pressure in the muscle that is comparable to the sensation that a bruise would cause.

12. State your experience or that of the supervisor or other investigators in this type of investigation.

Dr. Rittweger has performed several studies applying the jump test, isometric testing, and the proposed questionnaires. He has also personally carried out more than 50 muscle biopsies. Dr. Degens has performed all of the proposed analytical work on the tissue material in many studies.

13. You must indicate clearly that the participant's informed consent will be obtained and, where necessary, in the presence of a parent (for minors only). You must also attach a sample of the informed consent form (typewritten) which will be presented to participants (Appendix IV). In the case of participants with learning difficulties, you must state the procedures that have been undertaken to ensure that the consent is, indeed, informed consent.

14. How and where is the data to be stored?
Will the data be securely stored? Y/N Where?

Data will be stored in electronic format (PASE questionnaire, medical and athletic history, jump test) and as lab sheets (Cybex) in anonymized form. Tissue samples will be stored after anonymisation.

All data backups and paper files will be stored in lockable cabinets.

Will information which could identify participants be coded? Y/N

Will the data be destroyed at the end of the study? Y/N

Informed Consent Form (to be retained by the investigator)

Participant:

Name:

Sex: Male / Female

Date of Birth:

Supervisor/Principal Investigator:

Joern Rittweger, M.D., Ph.D. & Hans Degens, Ph.D.

Ethics Committee Approval Number:

Project Title: Skeletal muscle ultrastructure and single muscle fibre function in Master Athletes

Purpose of study and brief description of procedures.

Master athletes have far better whole body and muscle function than age-matched sedentary people. Although several studies have addressed the question what underlies this maintained muscle function, most studies were limited to fairly young master athletes or lacked a young control group altogether. The aim of the present study is to deepen our understanding about the underlying factors that attenuate/prevent muscle dysfunction during ageing by life-long participation in competitive endurance or power sporting events. In order to do so we will also study competitive young athletes and old sedentary people.

After answering some questions about your athletic and medical histories, we will ask you jump as high as possible on a special platform that measures the ground reaction force during the jump. This measure will provide the jumping power, which has been shown to be a sensitive and discriminative indicator of loss of muscle function during ageing. After this test we will strap you in the chair to perform 3 maximal voluntary muscle contractions, each separated by a 2-s rest period, trying to extend your knee against a fixed bar. This will allow us to assess your thigh muscle strength. Subsequently, we will ask you to quietly lay down in an MRI scanner to determine the size of your thigh muscle, and to lay down in a DXA scanner to determine your body composition. You will experience nothing from these procedures and many people even fall asleep. All of these measurements are non-invasive and without any known risk.

We will then take a tissue sample from your thigh muscle. This will be done under sterile conditions. Before that, you will receive local anaesthesia that prevents the sensation of pain. In very rare occasions, the anaesthesia may cause heart problems. However, there will be medically qualified people around that are trained to treat that complication. Damage to nerves and vessels, which are theoretically possible, are practically excluded because of the site where the tissue sample is taken from (lower central region of the lateral thigh) do not contain nerves and major blood vessels. Although we will take the sample with all the required hygienic precautions, there is a potential risk of infection. You are therefore asked to inspect the site where the sample was taken for signs of reddening and heating, and to report to Dr.Rittweger or Dr. Degens in that case.

It is understood that you can withdraw your consent at any time during the study and discontinue your participation without giving any reason. You may also decide to refuse particular parts of the protocol. No disadvantage to you will arise from any such decision.

All data obtained in this study will be treated confidentially.

Participant Statement

I fully understand what is involved in taking part in this study. Any questions I have about the study, or my participation in it, have been answered to my satisfaction. I understand that I do not have to take part and that I may decide to withdraw from the study at any point without prejudice. I have had my attention drawn to the document 'Ethical Regulations for the Use of Humans in Research'. My concerns regarding this study have been answered and such further concerns as I have during the time of the study will be responded to. It has been made clear to me that, should I feel that these Regulations are being infringed or that my interests are otherwise being ignored, neglected or denied, I should inform the Chair of the Ethics Committee of the Department of Exercise and Sport Science, Manchester Metropolitan University, Hassall Road, Alsager, Cheshire, ST7 2HL who will undertake to investigate my complaint.

Signed Date

I certify that the details of this study have been fully explained and described in writing to and have been understood by him/her and that I consent to his/her participation in this study.

Appendix V

All steps should be taken to obtain informed consent, and all participants should be required to read and sign a document with full details (an Informed Consent Form).

INFORMED CONSENT FORM (ICF)

This must include the following information in the 'Purpose of study and brief description of procedures' section (Appendix IV). This information must also be communicated verbally to all participants in a language which will be understandable to them, in accordance with the requirements of the Helsinki Declaration.

A general statement of the background of the project and its objectives.

An explanation of the procedures, identifying any experimental ones and describing any inherent risks.

A description of any benefits which might be expected.

An offer to answer any questions on procedures and other aspects of the project.

An instruction to the effect that each participant is free to withdraw consent and discontinue participation at any time without prejudice.

An instruction to the effect that, in any questionnaire or interview, each participant is free to refuse answers to specific questions or items.

An instruction to the effect that no disadvantage (in terms of associated services) will arise from any decision to participate or not.

An explanation of the procedures to be used to ensure the confidentiality of all data and information to be derived from the participant. If participants are to be identified by name in a manuscript, then permission for this must be included in the ICF.

Other Information

Any photography, videotaping or audiotaping of participants must be disclosed in the ICF, with information about who is to have custody of such material, who is to have access to it, how the material is to be used, and what is to be done with it when the study is completed.

The ICF must not contain any waiver of legal rights which release (or appear to release) an investigator, project director or institution from liability.

The participant or legally authorised representative shall have their attention drawn to these Regulations, a copy of which MUST be available in the vicinity of the research activity for the participant to study. They should be clearly advised of the complaints procedure. At the bottom of the ICF appears a statement to the above effect and you must ensure that the participant or representative has read and understood the statement. Provision should then be made for the signature of the participant or legally authorised representative, together with the date of signature. For minors (under 18 years of age), one or both parents should sign as appropriate.

Within any manuscript reporting the results of the study, the author need only indicate that informed consent has been obtained from the participant in accordance with these Regulations.

Appendix VI

Department of Exercise and Sport Science Ethics Committee Report Form

Application No:

Title:

Skeletal muscle ultra-structure and single muscle fibre function in Master Athletes

Supervisor/Principal Investigator: Hans Degens Ph.D. & Joern Rittweger, M.D., PhD.

Recommendation:

Acceptable

Not acceptable, see comments:

Potentially acceptable following satisfactory revisions, see comments:

Comments:

Signature:

Return to:

Departmental Research Secretary