

**Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΘΞΕΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΤΑΣΕΙΣ ΣΤΗΝ  
ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΜΥΪΚΗΣ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑΣ ΣΕ ΝΕΑΡΑ  
ΚΑΙ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΑ ΑΤΟΜΑ**

του

Σπυρίδωνα Μεθενίτη

Μεταπτυχιακή Διατριβή που υποβάλλεται στο καθηγητικό σώμα για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων απόκτησης του μεταπτυχιακού τίτλου του Διατμηματικού Μεταπτυχιακού Προγράμματος «Άσκηση και Ποιότητα Ζωής» των Τμημάτων Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού του Δημοκρίτειου Παν/μίου Θράκης και του Παν/μίου Θεσσαλίας στην κατεύθυνση «Πρόληψη-Παρέμβαση-Αποκατάσταση»

Κομοτηνή

2010

Εγκεκριμένο από το Καθηγητικό σώμα.

---

1<sup>ος</sup> Επιβλέπων. Φατούρος Ιωάννης, Επικ. Καθηγητής

---

2<sup>ος</sup> Επιβλέπων. Τερζής Γεράσιμος, Επικ. Καθηγητής

---

3<sup>ος</sup> Επιβλέπων. Τζιαμούρτας Αθανάσιος, Επικ. Καθηγητής



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ  
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 9152/1

Ημερ. Εισ.: 17/01/2011

Δωρεά: \_\_\_\_\_

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

572.6

ΜΕΘ



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σπυρίδων Μεθενίτης. Η επίδραση της οξείας άσκησης με αντιστάσεις στην ενεργοποίηση του μηχανισμού μυϊκής υπερτροφίας σε νεαρά και ηλικιωμένα άτομα (Με την επίβλεψη του Επίκουρου Καθηγητή κ. Φατούρου Ιωάννη)

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν να διερευνήσει τις μεταβολές στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k, S6 και άλλων σηματοδοτικών μορίων, μετά από οξεία άσκηση αντιστάσεων σε νεαρά και ηλικιωμένα άτομα. Οχτώ νεαρά ( $21,8 \pm 2,1$  ετών), και δέκα ηλικιωμένα απροπόνητα άτομα (5 άνδρες and 5 γυναίκες,  $68,5 \pm 7,9$  ετών) συμμετείχαν στην παρούσα έρευνα. Μυϊκές βιοψίες ελήφθησαν με βελόνα από τον έξω πλατύ μηριαίο μυ, πριν και 30 λεπτά μετά από άσκηση αντιστάσεων (5 σειρές των 6ΜΑΕ). Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της mTOR, p70S6k, S6, AMPK, p38 α,β,δ και της p38γ αυξήθηκαν σημαντικά και στις δύο ομάδες, 30 λεπτά μετά την άσκηση αντιστάσεων ( $p < 0,01$ ). Υψηλότερη αύξηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6 βρέθηκε στα νεαρά σε σχέση με τα ηλικιωμένα άτομα ( $p < 0,01$ ). Το ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας που κατείχαν οι μυϊκές ίνες τύπου Ια ήταν υψηλότερο στα νεαρά άτομα ( $53,6 \pm 11,2$  % vs.  $30,5 \pm 9,5$  %,  $p < 0,01$ ). Το ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας που κατείχαν οι μυϊκές ίνες τύπου Ια συσχετιζόταν σημαντικά με το ποσοστό αύξησης της p70S6k ( $r = 0,79$ ,  $p < 0,001$ ) και της p38 γ ( $r = 0,65$ ,  $p < 0,005$ ) όταν όλα τα άτομα υπολογίστηκαν σαν μια ομάδα. Επίσης, οι ηλικιωμένες γυναίκες είχαν χαμηλότερο ποσοστό εγκάρσιας επιφάνειας που κατείχαν οι ίνες τύπου ΙΙ ( $40 \pm 11$  % vs.  $59,2 \pm 15$  %,  $p = 0,06$ ) και χαμηλότερη ποσοστιαία αύξηση της p70S6k σε σχέση με τους ηλικιωμένους άνδρες ( $p < 0,05$ ). Τα αποτελέσματα, της παρούσας έρευνας αναδεικνύουν ότι η αύξηση της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών αυτών, μετά από άσκηση αντιστάσεων, στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων παρεμποδίζεται σε σχέση με τα νεαρά άτομα και ίσως αυτό να οφείλεται στο μικρότερο ποσοστό των ινών τύπου Ια που κατέχουν τα ηλικιωμένα άτομα.

Λέξεις – Κλειδιά: πρωτεϊνσύνθεση, μυϊκές ίνες, μοριακά μονοπάτια

## ABSTRACT

Spyridon Methenitis. The effect of acute resistance exercise in activation of muscle hypertrophy molecular mechanism on young and old individuals  
(With the supervision of Assistance Professor Fatouros Ioannis)

The purpose of the present study was to investigate alterations in the phosphorylation state of p70S6k, S6 and other molecular intermediates after a single resistance exercise stimulus in young and old individuals. Eight young males ( $21.8 \pm 2.1$  yrs), and ten older untrained subjects (5 males and 5 females,  $68.5 \pm 7.9$  yrs) participated in this study. Muscle biopsies from vastus lateralis were obtained before and 30 minutes after leg press exercise with 5 sets of 6RM. Phosphorylated levels of mTOR, p70S6k, S6, AMPK, p38  $\alpha, \beta, \delta$  and p38 $\gamma$  were significantly increased in both young and elderly subjects, 30 min after resistance exercise ( $P < 0.01$ ). Higher levels of p70S6k and S6 phosphorylation were found in young compared with the older individuals ( $P < 0.01$ ). The percentage of muscle area occupied by type IIa fibers was significantly higher in the young group ( $53.6 \pm 11.2$  % vs.  $30.5 \pm 9.5$  %,  $P < 0.01$ ). The percentage of muscle area covered by type IIa fibers was significantly correlated with the increase in the phosphorylation of p70S6k ( $r = 0.79$ ,  $P < 0.001$ ) and p38 $\gamma$  ( $r = 0.65$ ,  $P < 0.005$ ) when all subjects were considered as a group. Moreover, older females tended to have a lower percentage of type II fiber area ( $40 \pm 11$  % vs.  $59.2 \pm 15$  %,  $P = 0.06$ ) and a lower increase in p70S6k phosphorylation compared with old males ( $P < 0.05$ ). These results suggest that the phosphorylation of key-signaling molecules, such as the p70S6k, after resistance exercise in skeletal muscles of older individuals is hampered compared with young adults and this might be related with a lower percentage of type IIa muscle fibers in the older subjects.

Key – Words: protein synthesis, muscle fibers, signaling

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η άσκηση και κυρίως η άσκηση αντιστάσεων, στην εποχή μας αποτελεί αδιαμφισβήτητο μέσω «θεραπείας» και αναστροφής της εκφύλισης του μυϊκού ιστού, της ατροφίας και της μείωσης τόσο της δύναμης όσο και της παραγόμενης ισχύος, κυρίως των μεγάλων και σημαντικών μυϊκών ομάδων, που παρατηρείται στα ηλικιωμένα άτομα. Οι επιδράσεις, όμως, της άσκησης αντιστάσεων είναι διαφορετικές ανάμεσα στα ηλικιωμένα άτομα. Ίσως αυτό να οφείλεται σε διαφορετική ανταπόκριση των μοριακών παραγόντων που συμβάλουν στην αύξηση της μυϊκής υπερτροφίας, αν και το θέμα αυτό δεν έχει διερευνηθεί ακόμα. Το πρόβλημα αυτό είναι που με οδήγησε στην παρούσα μελέτη.

Ξεκινώντας τις ευχαριστίες στους ανθρώπους που με βοήθησαν στην ολοκλήρωση αυτής της εργασίας, θα ήθελα να αρχίσω από τον κ. Φατούρο Ιωάννη, Επίκουρο Καθηγητή του Τ.Ε.Φ.Α.Α. του Δ.Π.Θ., για τις εύστοχες παρατηρήσεις του και τους γόνιμους προβληματισμούς του στην διάρκεια εκπόνησης της διατριβής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στον κ. Τερζή Γεράσιμο, Επίκουρο Καθηγητή των Τ.Ε.Φ.Α.Α. του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, διότι χωρίς την συμβολή του μέσα από την καθημερινή μας επικοινωνία, την καθοδήγηση του και τέλος τις συμβουλές-οδηγίες του πάνω στα θέματα του ερευνητικού προβληματισμού και σχεδιασμού από την αρχή της ενασχόλησης μου με το θέμα μέχρι και την στιγμή που γράφτηκε αυτή η εργασία, η παρούσα έρευνα δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Τζιαμούρτα Αθανάσιο, Επίκουρο Καθηγητή του Τ.Ε.Φ.Α.Α. του Π.Θ. και την κ. Μαντά Παναγιώτα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Ιατρικής Σχολής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, για την επιστημονική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας διατριβής.

Οφείλω να ευχαριστήσω τους 18 εθελοντές που πήραν μέρος στο πείραμα και ιδιαίτερα τα ηλικιωμένα άτομα, για την βοήθεια που μου πρόσφεραν.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Αναστασία για την αμέριστη συμπαράσταση που μου προσέφερε σε όλη την περίοδο που χρειάστηκε για την ολοκλήρωση του μεταπτυχιακού μου και ιδιαίτερα της διατριβής αυτής. Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου, και ιδιαίτερα στους γονείς μου για την ηθική και υλική συμπαράσταση που μου προσέφερε στη διάρκεια αυτής της μελέτης.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	ii
ABSTRACT .....	iii
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	iv
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	v
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	viii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ.....	ix

### I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα ηλικιωμένα άτομα .....	1
Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στη λιπώδη μάζα .....	2
Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στην δομή και μικροδομή των μυών .....	3
Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στις ορμόνες .....	5
Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών .....	6
Προβλήματα που επέρχονται λόγω της μυϊκής ατροφίας στα ηλικιωμένα άτομα.....	7
Η επίδραση της άσκησης στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων.....	8
Το πρόβλημα-Σημασία της έρευνας.....	12
Σκοπός της έρευνας .....	13
Υποθέσεις της έρευνας.....	13
Περιορισμοί και οριοθετήσεις της έρευνας.....	14
Λειτουργικοί ορισμοί.....	14

### II. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

Γενικά για το μοριακό μονοπάτι της παραγωγής πρωτεϊνών .....	17
Η ενεργοποίηση του μονοπατιού μέσω της ασκησιογενούς αύξησης της IGF-1 .....	17
Ενεργοποίηση και λειτουργία του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR .....	18

Η δράση της AKT.....	19
Η δράση της mTOR.....	20
Η rictor–mTOR.....	21
Η raptor–mTOR.....	22
Η δράση της p70S6k.....	22
Η δράση της S6.....	23
Η δράση της AMPK .....	24
Το μοριακό μονοπάτι της MAPK.....	25
Το μονοπάτι της μυϊκής ατροφίας .....	27
Ορμονικές μεταβολές των ηλικιωμένων ατόμων .....	29
Αλλαγές στη δομή και μικροδομή των μυών των ηλικιωμένων ατόμων .....	30
Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων...31	
Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μοριακού μονοπατιού της MAPK στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων.....32	
Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης της AMPK στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων .....	34
Διαφορές στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες .....	34
Προσαρμογές της άσκηση στη δομή και μικροδομή των μυών των ηλικιωμένων ατόμων .....	35
Προσαρμογές της άσκησης στο μοριακό μονοπάτι της AKT- mTOR.....	37
Προσαρμογές του μοριακού μονοπατιού της MAPK κατά την άσκηση.....	42
Προσαρμογές της AMPK κατά την άσκηση .....	44

### III. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Δείγμα.....	46
Ο σχεδιασμός της έρευνας.....	47
Μέτρηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών.....	48
Μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου .....	51
Αξιολόγηση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας .....	51
Καταγραφή διατροφικών συνηθειών.....	52
Προσδιορισμός των 6 μέγιστων επαναλήψεων (6 RM) .....	52



Τελική φάση της πειραματικής διαδικασίας – λήψη βιοψιών.....	54
Άμεση προετοιμασία δειγμάτων μετά την λήψη βιοψίας.....	56
Προετοιμασία των δειγμάτων για τις αναλύσεις.....	57
Ανάλυση της ιστοχημικής χρώσης της ΑΤΡασης.....	58
Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν.....	58
Διαδικασία πραγματοποίησης της χρώσης της ΑΤΡάσης.....	59
Ανάλυση των δειγμάτων μετά την χρώση της ΑΤΡάσης.....	60
Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών.....	63
Στατιστική ανάλυση.....	67
IV. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
Σύγκριση των εγκάρσιων επιφανειών, των ποσοστών και των περιοχών των ινών των δοκιμαζόμενων.....	69
Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών.....	69
Συσχετίσεις.....	77
V. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	80
VI. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	86
VII. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	87



**ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ**

<b>Πίνακας 1.</b> Περιγραφικά στοιχεία δοκιμαζόμενων .....	47
<b>Πίνακας 2.</b> Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των ηλικιωμένων δοκιμαζόμενων .....	50
<b>Πίνακας 3.</b> Φυσική κατάσταση των ηλικιωμένων δοκιμαζόμενων .....	52
<b>Πίνακας 4.</b> Οι 6ΜΑΕ των δοκιμαζόμενων.....	53
<b>Πίνακας 5.</b> Αριθμός, εγκάρσιες επιφάνειες και ποσοστά ιών των συμμετεχόντων .....	62
<b>Πίνακας 6.</b> Διάμετρος μυϊκών ιών και παράγοντες ατροφία / υπερτροφίας των ηλικιωμένων συμμετεχόντων .....	63

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

<b>Σχήμα 1.</b> Το μοριακό μονοπάτι της AKT-mTOR .....	24
<b>Σχήμα 2.</b> Η δράση της AMPK.....	25
<b>Σχήμα 3.</b> Το μοριακό μονοπάτι της MAPK .....	27
<b>Σχήμα 4.</b> Το μοριακό μονοπάτι της ατροφίας .....	29
<b>Σχήμα 5.</b> Ο σχεδιασμός της έρευνας .....	48
<b>Σχήμα 6.</b> α) το DXA, β) τοποθέτηση εξεταζόμενου για την μέτρηση όλου του σώματος.....	49
<b>Σχήμα 7.</b> α) Το μηχάνημα άσκησης που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα, β) Τρόπος εκτέλεσης της άσκησης.....	53
<b>Σχήμα 8.</b> Χρονοδιάγραμμα τελικής φάσης της πειραματικής διαδικασίας.....	54
<b>Σχήμα 9.</b> Λήψη βιοψίας.....	54
<b>Σχήμα 10.</b> α) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,3 β) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,6.....	58
<b>Σχήμα 11.</b> Σύγκριση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών, ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα.....	70
<b>Σχήμα 12.</b> Σύγκριση της ποσοστιαίας μεταβολής των επιπέδων φωσφορυλίωσης, μετά την άσκηση με αντιστάσεις, ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα.....	72
<b>Σχήμα 13.</b> Σύγκριση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. ....	74
<b>Σχήμα 14.</b> Σύγκριση της ποσοστιαίας μεταβολής των επιπέδων φωσφορυλίωσης, μετά την άσκηση με αντιστάσεις, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. ....	76
<b>Σχήμα 15.</b> Συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p38 γ, μετά την άσκηση, και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου Ια. ....	78
<b>Σχήμα 16.</b> Συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά την άσκηση, και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου Ια. ....	78
<b>Σχήμα 17.</b> Συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k και της p38 γ .....	79
<b>Σχήμα 18.</b> Συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά την άσκηση, και της ηλικίας όλων των δοκιμαζόμενων.....	79

## Η ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΟΞΕΙΑΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΜΕ ΑΝΤΙΣΤΑΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΟΥ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΜΥΪΚΗΣ ΥΠΕΡΤΡΟΦΙΑΣ ΣΕ ΝΕΑΡΑ ΚΑΙ ΗΛΙΚΙΩΜΕΝΑ ΑΤΟΜΑ

### *Τα ηλικιωμένα άτομα*

Το προσδόκιμο ζωής στη σημερινή κοινωνία έχει επεκταθεί σε σχέση με τους προηγούμενους αιώνες (Wickelgren, 1996). Ο άνθρωπος σήμερα ζει και πάνω από τα 90 έτη. Αυτό συμβαίνει διότι στη σημερινή εποχή η ιατρική επιστήμη έχει εξελιχθεί, με αποτέλεσμα ασθένειες που μέχρι πριν από μερικά χρόνια θεωρούνταν ανίατες, στην σημερινή εποχή να έχουν εκλείψει. Παράλληλα, τόσο οι φαρμακευτικές αγωγές όσο και η ποιότητα της διατροφής του σημερινού ανθρώπου προσφέρουν καλύτερες συνθήκες διαβίωσης και επιτρέπουν την μακροζωία του ανθρώπου (Wickelgren, 1996).

Όμως ο ανθρώπινος οργανισμός με το πέρασμα των ετών φθείρεται (Evans, 1995). Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι αν και ο μέσος όρος του προσδόκιμου ζωής του ανθρώπου αυξάνεται, δεν συμβαίνει το ίδιο και με την ποιότητα της ζωής τους (Evans, 1995). Μάλιστα όσο μεγαλύτερο γίνεται ένα άτομο τόσο πιο πολύ μειώνεται η ποιότητα της ζωής του (Dutta & Hadley, 1996; Dutta, Hadley & Lexell, 1997).

Το γήρας είναι συνδεδεμένο με την μείωση της άλυπης μάζας (μυϊκός και συνδετικός ιστός δηλ.), την αύξηση της λιπώδους μάζας και την μυϊκή αδυναμία, τα οποία είναι ένδειξη μείωσης της σκελετικής μυϊκής μάζας (Flynn et al., 1992). Η μείωση της μάζας των σκελετικών μυών ονομάζεται ατροφία, ενώ η μεγάλη μείωση της μυϊκής μάζας στα ηλικιωμένα άτομα ονομάζεται σαρκοπενία (Rosenberg, 1989). Με τον όρο αυτόν δηλώνεται η διαδικασία απώλειας μυϊκής μάζας από τον οργανισμό και η αντικατάστασή της από λιπώδη ιστό. Συνήθως παρουσιάζεται μετά την έκτη δεκαετία της ζωής του ανθρώπου και έχει αυξητική τάση, δηλαδή με το πέρασμα των ετών γίνεται όλο και πιο εμφανής η μείωση της μάζας των μυών. Μάλιστα, σύμφωνα με τους Lexell, Taylor και Sjöstrom (1988), κατά την όγδοη δεκαετία η μυϊκή μάζα είναι περίπου στο 60% σε σχέση με αυτήν που είχε το άτομο κατά την δεύτερη δεκαετία της ζωής του.

Οπότε γίνεται αντιληπτό το μέγεθος του προβλήματος, αν ληφθεί υπόψη και ότι οι σκελετικοί μύες αποτελούν το 40% του συνολικού σωματικού βάρους και το 70% των συνολικών κυττάρων του ανθρώπινου σώματος (Nair, 2000).

Σύμφωνα με τους Lee και συνεργάτες (2006), οι γυναίκες φαίνεται να χάνουν λιγότερο όγκο μύος, έναντι των ανδρών. Σε ενίσχυση αυτού, οι Hedstrom και συνεργάτες (2007) αναφέρουν ότι υπάρχει διαφορά ανάμεσα στα φύλα, τόσο σε επίπεδο ολόκληρου του μύος, όσο και σε επίπεδο μυϊκών ινών. Όπως αναφέρουν στο άρθρο τους, υπάρχουν διαφορές στη μείωση του όγκου (area) των μυϊκών ινών τύπου II, το οποίο διαπιστώθηκε στους άνδρες και όχι στις γυναίκες.

Έχει διαπιστωθεί ότι σημαντικός παράγοντας που οδηγεί σε μυϊκή ατροφία είναι η μειωμένη φυσική δραστηριότητα, σε οποιαδήποτε μορφή της. Ωστόσο ακόμα και τα ηλικιωμένα άτομα τα οποία είναι φυσικά δραστήρια και ασχολούνται με την άσκηση, είναι περίπου 20% λιγότερο δραστήρια σε σχέση με άτομα νεαρότερης ηλικίας (Morse et al., 2004). Αυτό είναι σημαντικό, γιατί υπάρχουν ενδείξεις ότι η μειωμένη άσκηση οδηγεί στην απόπτωση των μυϊκών ινών (Allen et al., 1997), αν και αυτό έχει διαπιστωθεί μόνο σε ποντίκια μέχρι τώρα.

### *Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στη λιπώδη μάζα*

Μέσα από την βιβλιογραφία προκύπτει ότι τα αίτια της εμφάνισης της ατροφίας στα ηλικιωμένα άτομα είναι ένα περίπλοκο θέμα. Παράλληλα οι αλλαγές στη σύσταση του σώματος που επέρχονται με το γήρας είναι πολυδιάστατες και επηρεάζονται από ορμονικές δυσλειτουργίες, αλλοιώσεις στον μεταβολισμό των πρωτεϊνών και από την μυϊκή ατροφία (Bross, Javanbakht & Bhasin, 1999).

Μια από τις σημαντικότερες αλλαγές που επέρχονται με το πέρασ των ετών στο ανθρώπινο σώμα είναι αυτή της μείωσης της άλυπης μάζας με την ταυτόχρονη αύξηση του ποσοστού του λίπους. Ο Forbes (1999) βρήκε ότι υπάρχει μεγάλη μείωση στο ποσοστό της άλυπης μάζας καθώς ο άνθρωπος μεγαλώνει, και μάλιστα διαπίστωσε ότι ακόμα και τα άτομα τα οποία διατηρούν το σωματικό βάρος τους σταθερό έχουν μια απώλεια της τάξης του 1,5 Kg άλυπης μάζας ανά δεκαετία. Οι Gallagher και συνεργάτες (2000) χρησιμοποιώντας σωματικές αναλύσεις μέσω του DXA, διαπίστωσαν ότι υπάρχει μια μείωση της τάξης του 2-3% μέσα σε 4,7 χρόνια στη μάζα των σκελετικών μυών αυτών των ατόμων. Η μείωση αυτή δεν υφίσταται μόνο στον όγκο του μύος αλλά και στον συνολικό αριθμό των μυϊκών ινών.

Εκτός από την παραπάνω αντικατάσταση, στα ηλικιωμένα υπάρχει και ενδομυϊκή αύξηση του ποσοστού του λίπους και των μη συσταλτών στοιχείων (Forsberg et al., 1991; Overend et al., 1992). Όμως η αύξηση του λίπους δεν είναι η ίδια για όλους τους μύες του ανθρώπινου σώματος. Έχει παρατηρηθεί ότι με το πέρας των ετών υπάρχει αύξηση του ενδομυϊκού λίπους της τάξης του 27%, 45%, και 81%, στους καμπήρες-εκτεινόντες μύες των χεριών και στους πελματιαίους καμπήρες αντίστοιχα (Rice et al., 1989). Οι Overend και συνεργάτες (1992) διαπίστωσαν αύξηση 59% στα μη συσταλτά στοιχεία στον τετρακέφαλο μύ των ηλικιωμένων ατόμων. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η αύξηση του ενδομυϊκού λίπους συσχετίζεται με την μειωμένη δύναμη των τετρακεφάλων (Sipilä & Suominen, 1994). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέλειψαν και οι Visser και συνεργάτες (2002), όπου στη μελέτη τους πάνω σε ηλικιωμένα άτομα διαπίστωσαν ότι τα άτομα που είχαν λιγότερο ενδομυϊκό λίπος, είχαν μεγαλύτερη μυϊκή δύναμη.

#### *Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρας της ηλικίας στην δομή και μικροδομή των μυών*

Με την πάροδο της ηλικίας διαπιστώνονται αλλαγές στην αρχιτεκτονική δομή του μύος. Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξαν οι Narici και συνεργάτες (2003), όπου συνέκριναν την δομή του γαστροκνημίου ανάμεσα σε ηλικιωμένα και νεαρά άτομα. Αυτό που διαπίστωσαν είναι ότι η ατροφία/σαρκοπενία δεν ευθύνεται μόνο για την μείωση των σαρκομερίων, λόγω της απώλειας των μυϊκών ινών, αλλά και για την μείωση που παρατηρείται στον αριθμό των εν σειρά σαρκομερίων μέσα στην ίδια μυϊκή ίνα σε σχέση με τα νεαρά άτομα. Σημαντικό είναι ότι οι μυϊκές ίνες τύπου II είναι αυτές που επηρεάζονται περισσότερο από αυτήν την κατάσταση (Fiatarone-Singh et al., 1999; Lexell & Downham, 1992; Trappe et al., 2003). Παράλληλα έχει βρεθεί ότι τα μυϊκά δεμάτια των ηλικιωμένων ατόμων είναι κατά 10-16% μικρότερα σε όγκο στον γαστροκνήμιο μυ σε σχέση με τα αντίστοιχα των νεαρών ατόμων (Kubo et al., 2003; Morse et al., 2005; Narici et al., 2003).

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, από την βιβλιογραφία διαπιστώνεται ότι με την πάροδο των χρόνων υπάρχουν αλλαγές στον τύπο των μυϊκών ινών. Όμως τα αποτελέσματα είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν έρευνες οι οποίες δείχνουν την αύξηση των αργών μυϊκών ινών, τύπου I, (Nikolic et al., 2001; Lexell & Taylor, 1991) και άλλες που υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει καμία σημαντική αλλαγή (Monemi et al., 1998). Το μειονέκτημα σε αυτές τις έρευνες ήταν το μικρό δείγμα ηλικιωμένων ατόμων που

εξέταζαν, με αποτέλεσμα να μην δίνουν τις απαραίτητες πληροφορίες πάνω στο θέμα αυτό.

Έχει διαπιστωθεί ότι η μυϊκή ατροφία των ινών δεν είναι ένα ομογενοποιημένο φαινόμενο (Andersen, 2003). Δηλαδή η μυϊκή ατροφία δεν επηρεάζει όλες τις μυϊκές ίνες του μυός. Παρατηρείται λοιπόν το φαινόμενο ότι υπάρχουν μυϊκές ίνες οι οποίες έχουν κανονικό σχήμα και όγκο, δηλ. όπως στα νεαρά άτομα, ενώ άλλες γειτονικές ίνες διαπιστώνεται να είναι πολύ μικρότερες. Μια εξήγηση για αυτό το φαινόμενο μπορεί να είναι οι αλλαγές που επέρχονται στο νευρικό σύστημα, που στην περίπτωση των μυών, οδηγούν στο «θάνατο» του κινητικού νευρώνα με αποτέλεσμα την απόπτωση του μυϊκού κυττάρου (Narici & Maganaris, 2006). Όμως έχει διαπιστωθεί ότι αυτό το γεγονός μετριάζεται με την διαδικασία της μερικής επανανεύρωσης των μυϊκών ινών από παραπλήσιους νευράξονες. Εντούτοις, αυτή η διαδικασία δεν μπορεί να αντισταθμίσει ολοκληρωτικά το πρόβλημα της απονεύρωσης των μυϊκών ινών (Lexell, 1997). Άλλη μια αιτία αυτού του φαινομένου είναι, κατά τους Dirks και Leeuwenburgh (2005), η απόπτωση. Δηλαδή ο μηχανισμός οργανωμένου και προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που διαδραματίζει βασικό ρόλο στη μορφογένεση, στην ανάπτυξη του μυϊκού ιστού και στην ανοσοποιητική λειτουργία των μυϊκών κυττάρων. Σημαντικό ρόλο σε αυτό διαδραματίζει ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α), ο οποίος μόλις προσκολληθεί στην κυτταρική μεμβράνη ενεργοποιεί την διαδικασία νέκρωσης, με αποτέλεσμα την διακοπή των κυτταρικών λειτουργιών και τέλος τον κυτταρικό «θάνατο» (Dirks & Leeuwenburgh, 2005). Παράλληλα οι Dirks και Leeuwenburgh (2005), στο άρθρο τους, αναφέρουν ότι τα μιτοχόνδρια των κυττάρων, θεωρούνται ως ο κυρίως ρυθμιστής της απόπτωσης τα οποία, μέσω διάφορων μοριακών μονοπατιών, όπως της απελευθέρωση του C-κυτοχρώματος μέσα στο κυτταρόπλασμα ή μέσω απελευθέρωσης των προ-αποπτικών πρωτεϊνών, προκαλούν κατάπτωση του DNA των μυϊκών ινών.

Τα τριχοειδή αγγεία επηρεάζονται επίσης από την ηλικία. Κατά τους Frontera και συνεργάτες (2000) υπάρχει σημαντική μείωση των τριχοειδών αγγείων, μείωση η οποία γίνεται μεγαλύτερη αν ληφθεί υπόψη η αναλογία τριχοειδών αγγείων / μυϊκών ινών. Αν όμως ληφθεί υπόψη η μείωση του μεγέθους των μυϊκών ινών (εγκάρσια επιφάνεια) των ηλικιωμένων, τότε δεν διαπιστώνεται σημαντική διαφορά ανάμεσα στα τριχοειδή αγγεία των ηλικιωμένων και των νέων (Coggan et al., 1992). Όμως αυτό το συμπέρασμα είναι αντικρουόμενο. Υπάρχουν έρευνες οι οποίες έχουν δείξει ότι υπάρχει μείωση (Degens et al., 1994; Haidet & Parsons, 1991), άλλες οι οποίες δεν διαπίστωσαν καμία αλλαγή



(Brown, Ross & Holloszy, 1992; Chilibeck et al., 1997; Mitchell, Byrnes & Mazzeo, 1990), ενώ άλλες που διαπίστωσαν ακόμα και αύξηση (Davidson et al., 1999; Kano et al., 2002). Για αυτά τα αντικρουόμενα συμπεράσματα ίσως να ευθύνεται και το διαφορετικό επίπεδο της φυσικής δραστηριότητας του κάθε ανθρώπου (Chilibeck et al., 1997). Παράλληλα το μεγάλο ποσοστό των οξειδωτικών ινών, που παρατηρείται στα άτομα αυτά, μπορεί να ευθύνεται για αυτό το αποτέλεσμα (Mitchell, Byrnes & Mazzeo, 1990).

Μια εξήγηση της μείωσης του μυϊκού όγκου, ίσως να είναι και οι αλλαγές που έχουν διαπιστωθεί στον αριθμό των δορυφορικών κυττάρων (Hawke & Garry, 2001). Τα δορυφορικά κύτταρα είναι υπεύθυνα για την διόρθωση των κατεστραμμένων μυϊκών ινών ενώ διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην υπερτροφία του μυός (Conboy et al., 2003; Hawke & Garry, 2001). Κατά τους Roth και συνεργάτες (2000a), η συγκέντρωση των δορυφορικών κυττάρων φαίνεται να διατηρείται μέχρι την 7<sup>η</sup> δεκαετία της ζωής του ανθρώπου. Όμως μέσα από έρευνα που έχει γίνει σε πολύ ηλικιωμένα άτομα, έχει βρεθεί να υπάρχει μείωση του αριθμού των δορυφορικών κυττάρων των μυών τους (Conboy et al., 2003). Αποτέλεσμα αυτής της μείωσης είναι η μη παραγωγή νέων μυϊκών πυρήνων (myonuclei), με επακόλουθο την μη σωστή αντικατάσταση των τραυματισμένων μυϊκών ινών (Conboy et al., 2003).

#### *Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στις ορμόνες*

Οι Kraemer και συνεργάτες (1999), ύστερα από την έρευνα τους, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στις συγκεντρώσεις καθώς και στην λειτουργικότητα των ορμονών καθώς ο άνθρωπος μεγαλώνει. Δύο είναι οι μηχανισμοί οι οποίοι λαμβάνουν χώρα και προκαλούν τις παραπάνω αλλαγές. Ο ένας μηχανισμός είναι αυτός της απότομης μείωσης των αναβολικών διαδικασιών, ενώ ο άλλος είναι αυτός της αύξησης των καταβολικών (Doherty, 2003).

Από τα αποτελέσματα έρευνας πάνω στο θέμα της ατροφίας, διαπιστώθηκε ότι η μείωση του όγκου των μυών αποδίδεται και στην μείωση των αυξητικών ορμονών, όπως των ινσουλινομιμητικών αυξητικών παραγόντων (insulin like grow factor), εν συντομία IGFs, (Barton-Davis et al., 1998). Με την μείωση τόσο της ποσότητας όσο και της απόδοσης των IGFs, τα ηλικιωμένα άτομα δεν είναι σε θέση να διατηρήσουν τον μυϊκό τους όγκο, πόσο μάλλον να κάνουν εκτεταμένη υπερτροφία (Barton-Davis et al., 1998; Crowley & Matt, 1996).



Η αυξητική ορμόνη (Growth hormone; GH) είναι μια ορμόνη που βοηθάει στην αύξηση της μάζας του μυός (Salomon, Cuneo & Sonksen, 1991), και ευθύνεται για την αύξηση του ρυθμού της σύνθεσης των πρωτεϊνών στο ανθρώπινο σώμα (Marcus et al., 1990), ενώ έχει μεγάλη συμβολή στη μείωση του λίπους (Holloway et al., 1994; Lange et al., 2000; Rudman et al., 1990). Οι Toogood και Shalet (1998) διαπίστωσαν ότι και σε αυτήν την ορμόνη υπάρχει μια ηλικιακά συσχετιζόμενη μείωση της αποδοτικότητας της. Όμως οι Lange και συνεργάτες (2002), από την έρευνα τους, διαπίστωσαν ότι από μόνη της η GH δεν έχει κανένα αποτέλεσμα στην διατήρηση της μυϊκής μάζας στα ηλικιωμένα άτομα παρά μόνο αν συνδυαστεί με προπόνηση αντιστάσεων.

Αναλυτικότερες λεπτομέρειες για τις κυτταρικές και μοριακές αλλαγές που εμφανίζονται στους σκελετικούς μύες των ηλικιωμένων, θα γίνει σε επόμενο κεφάλαιο της παρούσας έρευνας.

### *Αλλαγές που επέρχονται λόγω του πέρασ της ηλικίας στο μεταβολισμό των πρωτεϊνών*

Το περιεχόμενο των μυών καθορίζεται από την ισορροπία ανάμεσα στο σύνολο της πρωτεϊνοσύνθεσης και στο σύνολο της πρωτεϊνοδιάλυσης. Αυτά τα δύο μαζί αποτελούν τον πρωτεϊνικό κύκλο (protein turnover). Ουσιαστικά αυτός ο κύκλος είναι η αλληλεπίδραση δύο διαδικασιών, της αναβολικής και της καταβολικής (Stein & Bolster, 2006). Υπάρχουν ενδείξεις ότι με την ηλικία αυτή η ισορροπία διαταράσσεται. Υπάρχουν αρκετές έρευνες πάνω στο θέμα της πρωτεϊνοσύνθεσης και της ηλικίας, αλλά υπάρχει έλλειψη ερευνών στο θέμα της πρωτεϊνοδιάλυσης. Όμως ακόμα και πάνω στο θέμα της πρωτεϊνοσύνθεσης τα αποτελέσματα των ερευνών είναι λίγο πολύ αντικρουόμενα, με τις περισσότερες έρευνες όμως να καταλήγουν στο συμπέρασμα της ηλικιακά συσχετιζόμενης μείωσης του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης (Hasten et al., 2002; Welle et al., 1993; Welle et al., 1995). Αντίθετα υπάρχει μια έρευνα που καταλήγει στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχει διαφορά ανάμεσα σε νέους και ηλικιωμένους στο ρυθμό της πρωτεϊνοσύνθεσης (Volpi et al., 2001).

Σήμερα, γνωρίζουμε ότι από το DNA μέχρι την πρωτεϊνοσύνθεση μεσολαβούν πολλοί παράγοντες που αυξάνουν την απόδοση της μετάφρασης του mRNA. Η ινσουλίνη ή ο IGF-1 δίνουν το έναυσμα για την ενεργοποίηση των μοριακών μονοπατιών για την παραγωγή των μυϊκών πρωτεϊνών, με τη πρόσδεσή τους στον υποδοχέα τους (insulin receptor; IR) και την ενεργοποίηση του (De Meyts & Whittaker, 2002). Ο

ενεργοποιημένος IR, φωσφορυλιώνει με την σειρά του τις δύο υποομάδες του, τον IRS1 και τον IRS2, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση των επόμενων παραγόντων των μοριακών μονοπατιών (White, 2002). Το ένα μοριακό μονοπάτι είναι αυτό της AKT-mTOR, το οποίο περιλαμβάνει την φωσφατιδυλινσιτόλη 3-κινάση (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K), την AKT (γνωστή και ως πρωτεϊνική κινάση B; PKB), την mTOR, την p70S6 κινάση (p70S6k), την ριβοσωμία πρωτεΐνη S6 (Dreyer et al., 2006; Kubica et al., 2005), την 4E προσδεθήσουσα πρωτεΐνη 1 (4E-BP1) και τον φώσφο-ευκαρυωτικό παράγοντα επιμήκυνσης (phospho-eukaryotic elongation factor 2; eEF2). Το άλλο μονοπάτι είναι αυτό της MAPK (mitogen activated protein kinase) που ελέγχει τον μυϊκό πολλαπλασιασμό και την μυϊκή διαφοροποίηση. Το μονοπάτι της MAPK, περιλαμβάνει την εξωκυττάρια πρωτεϊνική κινάση 1 και 2 (extracellular protein kinase 1 και 2; ERK 1/2) και την p38, η οποία υπάρχει σε 4 ισομορφές την  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  και  $\delta$  (γνωστή και ως CSBP, mHOG1, RK και SAPK2, Frøjdø et al., 2009). Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας είναι η ενεργοποιηθήσα πρωτεϊνική κινάση της μονοφωσφορικής αδενοσίνης (AMP-activated protein kinase; AMPK) η οποία φαίνεται να είναι αρνητικός παράγοντας για την μυϊκή πρωτεϊνοσύνθεση (MPS). Αυτό διότι η AMPK φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την TSC2, έναν αναστολέα της mTOR (Bolster et al., 2002). Σήμερα υπάρχουν αποδείξεις ότι με την πάροδο της ηλικίας επηρεάζεται η ενεργοποίηση και η λειτουργία αυτών των μοριακών μονοπατιών, και ίσως αυτός να είναι ο κύριος λόγος για την μυϊκή ατροφία που εμφανίζεται στα ηλικιωμένα άτομα (Léger et al., 2006). Αλλά οι αλλαγές που προκαλούνται λόγω της ηλικίας σε αυτά τα μοριακά μονοπάτια σε αυτά τα άτομα, δεν είναι ακόμα ξεκάθαρες.

### *Προβλήματα που επέρχονται λόγω της μυϊκής ατροφίας στα ηλικιωμένα άτομα*

Οι σκελετικοί μύες εκτός από την προφανή μηχανική λειτουργία που πραγματοποιούν στο σώμα του ανθρώπου, βοηθούν στον μεταβολισμό, είναι πηγή θερμότητας για το σώμα κ.τ.λ., και όλα αυτά επηρεάζονται αρνητικά από την μυϊκή ατροφία. Με την μείωση της δύναμης, της ισχύος και τέλος της αλλοίωσης της δομής του μυός που συμβαίνει στα ηλικιωμένα άτομα, επέρχονται και διάφορα προβλήματα. Τα προβλήματα αυτά ποικίλουν. Όμως είναι σύνηθες το πρόβλημα που αντιμετωπίζουν αυτά τα άτομα, όπου πολλές φορές είναι ανίκανα να ανταπεξέλθουν ακόμα και στις καθημερινές δραστηριότητες τους (Rogers & Evans, 1993).

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα τα οποία έχει να αντιμετωπίσει ένα ηλικιωμένο άτομο λόγω της ατροφίας είναι, εκτός από την μυϊκή αδυναμία, η απώλεια της μυϊκής ισχύος (Jubrias et al., 1997; Macaluso et al., 2002; Morse et al., 2004; Phillips et al., 1993;). Κατά τους Narici και Maganaris (2006), αυτό επηρεάζει την ποιότητα και την λειτουργικότητα του μυός, και κατά επέκταση την ποιότητα ζωής των ηλικιωμένων. Η μείωση της ισχύος που εμφανίζεται στα ηλικιωμένα άτομα είναι πιο σημαντική από την μυϊκή ατροφία (Morse et al., 2005; Narici & Maganaris, 2006). Αυτό διότι στις καθημερινές δραστηριότητες του ανθρώπου, σημαντικό ρόλο διαδραματίζει και ο ρυθμός ανάπτυξης της δύναμης, για τον λόγο του ότι οι περισσότερες κινήσεις του ανθρώπινου σώματος χαρακτηρίζονται από σύντομη διάρκεια. Οπότε γίνεται κατανοητή η σημασία της γρήγορης και αποτελεσματικής ανάπτυξης της δύναμης. Η ικανότητα αυτή των μυών με την πάροδο των ετών φαίνεται να μειώνεται (Hakkinen et al., 1995; Korhonen et al., 2006; Thelen et al., 1996) με αποτέλεσμα την δυσκολία της εκτέλεση ακόμα και των καθημερινών κινήσεων.

Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι η αύξηση των πτώσεων (Rantanen et al., 1999). Με τις πτώσεις τα ηλικιωμένα άτομα διατρέχουν τον κίνδυνο να υποστούν κάποιο κατάγματα στα οστά τους, καθώς και διάφορες άλλες κακώσεις τόσο στο μυϊκό όσο και στο σκελετικό τους σύστημα. Ύστερα από έναν τέτοιο τραυματισμό η περίοδος ανάρρωσης και αποκατάστασης είναι μεγάλη, ενώ πολύ συχνά τα ηλικιωμένα άτομα δεν γιατρεύονται ολοκληρωτικά. Παράλληλα μέσα από ένα σοβαρό τραυματισμό από πτώση, όπως το κάταγμα του ισχίου το οποίο είναι ένας από τους συχνότερους τραυματισμούς στα άτομα αυτής της ηλικίας, τα προβλήματα που δημιουργούνται δεν επενεργούν μόνο πάνω σε αυτά τα άτομα. Ένας τέτοιος τραυματισμός καθιστά τα άτομα αυτά ανίκανα να πραγματοποιήσουν απλά καθημερινά πράγματα, με αποτέλεσμα την επιβάρυνση της οικογένειάς τους, τόσο σε οικονομικό όσο και σε ψυχολογικό επίπεδο. Οπότε γίνεται κατανοητό το μέγεθος του προβλήματος της ανάπτυξης της ατροφίας σε αυτά τα άτομα, και ότι αυτό το φαινόμενο χρήζει αποτελεσματικής αντιμετώπισης.

### ***Η επίδραση της άσκησης στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων***

Σήμερα το βασικό «όπλο» κατά της μυϊκής ατροφίας και της σαρκοπενίας το οποίο έχει στο οπλοστάσιο του ο κάθε ηλικιωμένος είναι η άσκηση. Η συστηματική άσκηση που πραγματοποιούν τα ηλικιωμένα άτομα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση των πτώσεων, την

καλύτερη και πιο σταθερή βάρδια και τέλος την βελτίωση της αίσθησης της ισορροπίας (Fielding, 1995).

Οι προσαρμογές της άσκησης στον ανθρώπινο οργανισμό είναι διαφορετικές ανάλογα με το είδος της άσκησης που πραγματοποιείται. Οι κυριότερες αλλαγές είναι στο μέγεθος των μυών και των μυϊκών ινών, στην αύξηση των συσταλών μερών και των μεταβολικών ιδιοτήτων των μυοϊνιδίων (Booth et al., 1998). Αν και οι αλλαγές που γίνονται στους μύες των ηλικιωμένων είναι ένα περίπλοκο ζήτημα, είναι κοινά αποδεκτό ότι η μείωση της μυϊκής μάζας και της λειτουργικότητας των μυών μπορούν να καθυστερήσουν ή ακόμα και να αναστραφούν μερικώς, μέσω της άσκησης (Frischknecht, 1998). Στο συμπέρασμα του ότι η απώλεια της δύναμης και της λειτουργικότητας των μυών των ηλικιωμένων ατόμων, είναι μια αναστρέψιμη κατάσταση ακόμα και για τα πολύ ευπαθή άτομα κατέληξε και ο Fielding (1995).

Οι Coggan και συνεργάτες (1992) αναφέρουν ότι με την προπόνηση αντοχής που εφάρμοσαν σε ηλικιωμένα άτομα, διαπίστωσαν αύξηση στη εγκάρσια επιφάνεια των μυϊκών ινών τύπου I σε ποσοστό 12%, το οποίο ήταν ανεξάρτητο από το φύλο, με παράλληλη μικρή αύξηση της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου II. Ωστόσο, σε αυτό φαίνεται να επιδρά το φύλο του ασκούμενου. Στο συμπέρασμα αυτό κατέληξαν και οι Williams, Higgins και Lewek (2002), ύστερα από την βιβλιογραφική τους έρευνα, διευκρινίζοντας ότι το ίδιο αποτελεσματική με την προπόνηση αντοχής είναι και η προπόνηση με αντιστάσεις. Οι Verney και συνεργάτες (2006) δοκίμασαν ένα πρωτόκολλο άσκησης σε ηλικιωμένα άτομα το οποίο περιλάμβανε προπόνηση αντοχής για το κάτω μέρος του σώματος και προπόνηση δύναμης για το άνω μέρος του σώματος. Από τα αποτελέσματα της έρευνας τους κατέληξαν ότι αυτό το πρωτόκολλο άσκησης είναι μια πολύ καλή λύση για να βελτιωθούν τόσο η αντοχή όσο και η δύναμη των ατόμων αυτών. Οι Izquierdo και συνεργάτες (2005), ακολουθώντας και αυτοί ένα μικτό πρόγραμμα άσκησης χαμηλής έντασης, κατέλειψαν στο συμπέρασμα ότι αυτό το πρόγραμμα άσκησης έχει αποτέλεσμα στην αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης της δύναμης, χωρίς όμως αυτό να συνεπάγεται και αύξηση της παραγόμενης δύναμης. Καταλήγουν μάλιστα ότι για καλύτερα αποτελέσματα θα πρέπει να γίνεται πιο έντονη άσκηση.

Το Αμερικάνικο Κολλέγιο Αθλητικής Ιατρικής, (ACSM, 2002), προτρέπει τα ηλικιωμένα άτομα να κάνουν προπόνηση με αντιστάσεις. Αυτό διότι η προπόνηση με αντιστάσεις είναι ένας από τους κύριους τρόπους αντιμετώπισης της ατροφίας των μυών των ηλικιωμένων ατόμων. Η άσκηση με αντιστάσεις σε ηλικιωμένα άτομα έχει βρεθεί ότι

προκαλεί υπερτροφία των σκελετικών μυϊκών ινών, η οποία είναι συγκρίσιμη με αυτήν που παρατηρείται σε άτομα νεαρής ηλικίας (Hakkinen et al., 1998; Hikida et al., 1998), με την διαφορά όμως ότι για την επίτευξη αυτού χρειάζεται πολύ μεγαλύτερο διάστημα συστηματική προπόνησης.

Μέσω της προπόνησης αντιστάσεων υπάρχουν σημαντικές προσαρμογές στους μύες τόσο στους άνδρες όσο και στις γυναίκες αυτής της ηλικίας, με την διαφορά ότι οι άνδρες έχουν μεγαλύτερη αύξηση του μυϊκού όγκου και της μέγιστης δύναμης έναντι των γυναικών (Tracy et al., 1999). Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέλειψαν και οι Trappe και συνεργάτες (2001). Στην έρευνα τους διαπίστωσαν ότι οι προσαρμογές της προπόνησης αντιστάσεων στις μυϊκές ίνες ήταν διαφορετικές ανάμεσα στις γυναίκες και στους άνδρες, ηλικίας άνω των 60 ετών, με σημαντικότερη αλλαγή αυτή της ταχύτητας συστολής των ινών, με τους άνδρες να έχουν προβάδισμα έναντι των γυναικών. Η ταχύτητα συστολής των μυϊκών ινών, μπορεί να βελτιωθεί ακόμα και με μικρές εντάσεις, της τάξεως του 60% της μίας μέγιστης επανάληψης (1 MAE). Σε αυτό κατέλειψαν οι Parente και συνεργάτες (2008), συμπεραίνοντας ότι ο λόγος της αύξησης αυτής είναι ότι με την προπόνηση αντίστασης η ισομορφή της βαριάς αλυσίδας της μυοσίνης (MyHC) που αναπτύσσεται, είναι αυτή του τύπου Ια. Επακόλουθο αυτού είναι η αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης της δύναμης. Κατά τους Lambert και Evans (2002), η προπόνηση με αντιστάσεις είναι ξεκάθαρο ότι αυξάνει την εγκάρσια επιφάνεια του μυός (cross-sectional area), και μάλιστα ότι αυτή η αύξηση είναι εφάμιλλη με αυτή που συμβαίνει στα νεαρά άτομα.

Η δοσολογία της προπόνησης με αντιστάσεις έχει σημαντικό ρόλο στις προσαρμογές των μυών αυτών των ατόμων. Οι Galvao και Taaffe (2005) υποστηρίζουν ότι η προπόνηση με πολλά σετ, ύστερα από μεγάλο χρονικό διάστημα συστηματικής προπόνησης, έχει καλύτερα αποτελέσματα στη δύναμη και στην αντοχή των μυών των ηλικιωμένων. Παράλληλα, οι Frontera και συνεργάτες (2000), καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι για την μετρίαση των επιπλοκών, τόσο στην ποιότητα ζωής όσο και στην υγεία των ηλικιωμένων ατόμων, θα πρέπει να πραγματοποιείται δυνατή-έντονη προπόνηση. Οι συγγραφείς επίσης διατυπώνουν ότι όσο πιο νωρίς ένα ηλικιωμένο άτομο προπονηθεί με αυτού του είδους την άσκηση, τόσο μεγαλύτερα θα είναι τα οφέλη που θα αποκομίσει. Στο συμπέρασμα ότι η έντονη άσκηση με αντιστάσεις είναι αποτελεσματικότερη για αυτά τα άτομα κατέληξαν ο Hopp (1993) και οι Fielding και συνεργάτες (2002).



Μέσω της άσκησης που πραγματοποιούν τα ηλικιωμένα άτομα επιτυγχάνεται αύξηση των αναβολικών διεργασιών των μυών (Fiatarone et al., 1990; Rennie & Tipton, 2000). Παράλληλα έχει βρεθεί ότι μέσα από άσκηση με αντιστάσεις, στα ηλικιωμένα άτομα, παρατηρείτε μια σημαντική αύξηση του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης, χωρίς την ταυτόχρονη αύξηση του ρυθμού της πρωτεϊνοδιάλυσης (Yarasheski et al., 1993). Σε ενίσχυση του παραπάνω συμπεράσματος, οι Campbell και συνεργάτες (1995) διατύπωσαν στην έρευνα τους ότι η απέκκριση του αζώτου αυξήθηκε κατά 10 έως 15% στα ηλικιωμένα άτομα, ύστερα από πολύ έντονη προπόνηση με αντιστάσεις. Παράλληλα σε πρόσφατη έρευνα (Kim, Cross & Bamman, 2005) βρέθηκε ότι η οξεία / σύντομη (acute) προπόνηση με αντιστάσεις αυξάνει τα επίπεδα της μεταγραφής στα ηλικιωμένα άτομα. Σημαντική διαπίστωση, που έχει γίνει από τους Dreyer και συνεργάτες (2006), είναι ότι τα δορυφορικά κύτταρα αυξάνονται μετά από προπόνηση με αντιστάσεις. Μάλιστα αυτή η αύξηση γίνεται σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι ακόμα και μετά από μία μόνο προπόνηση αντιστάσεων τα ηλικιωμένα άτομα, μέσα σε 24 ώρες, έχουν μια αύξηση των δορυφορικών κυττάρων της τάξεως του 51%.

Η υπερτροφία των μυών μέσω της προπόνησης αντίστασης προκαλείται λόγω της υπερτροφίας των μυϊκών ινών. Μάλιστα, μια σειρά από έρευνες απέδειξαν ότι μέσω ενός τέτοιου προγράμματος άσκησης υπάρχει σημαντική υπερτροφία των μυϊκών ινών και των δύο τύπων (Green et al., 1999; Hakkinen et al., 2001; Hikida et al., 2000; Trappe et al., 2000). Οι Martel και συνεργάτες (2006) στην έρευνα τους διαπίστωσαν ότι τα ηλικιωμένα άτομα εμφανίζουν υπερτροφία στις μυϊκές ίνες τύπου I, αλλά σε πολύ αργό ρυθμό σε σχέση με τα νεαρότερα άτομα. Παράλληλα από τα αποτελέσματα της έρευνας τους κατέλειψαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει μια σημαντική επίδραση του φύλου και της ηλικίας στην υπερτροφία αυτών των μυϊκών ινών ύστερα από προπόνηση αντιστάσεων. Αντίθετα με τις μυϊκές ίνες τύπου I, η υπερτροφία στις ίνες τύπου II είναι ανεξάρτητη από το φύλο και την ηλικία, όπως αναφέρουν οι Martel και συνεργάτες (2006). Σημαντική διαπίστωση είναι ότι η προπόνηση αντιστάσεων, έχει σαν αποτέλεσμα την προσθήκη σαρκομερίων. Με την προσθήκη αυτή, συνεπάγεται ότι θα υπάρχει αύξηση της σύνθεσης πρωτεϊνών για τα νέα μυοϊνίδια. Αυτό έχει αποδειχτεί μέσα από έρευνες οι οποίες φανέρωσαν ότι ο ρυθμός σύνθεσης των μυϊκών πρωτεϊνών αυξάνεται μέσα στις 3- 24 ώρες μετά από μια προπόνηση με αντιστάσεις (Biolo et al., 1995; Chesley et al., 1992; Phillips et al., 1997; Yarasheski et al., 1992; Yarasheski et al., 1993;). Όμως η επίδραση της άσκησης με αντιστάσεις στο ρυθμό σύνθεσης των μυϊκών πρωτεϊνών είναι ένα δύσκολο

θέμα (Yarasheski et al., 1993). Έχει βρεθεί ότι η κλασματική μικτή πρωτεϊνική σύνθεση αυξήθηκε κατά 37% μέσα σε 12 εβδομάδες άσκησης με αντιστάσεις ή με πλειομετρικές ασκήσεις σε ηλικιωμένα άτομα (Phillips et al., 1999; Yarasheski et al., 1992). Επίσης, ακόμα και μέσα σε 2 εβδομάδες συστηματικής άσκησης αντιστάσεων, βρέθηκε παρόμοια αύξηση, και μάλιστα το ποσοστό της αύξησης ήταν 155% (Yarasheski et al., 1993).

Η συστηματική άσκηση με αντιστάσεις σε αυτά τα άτομα έχει βρεθεί να αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα στην έκφραση του TNF-a (Greiwe et al., 2001) και στο μέγεθος της απόπτωσης των μυϊκών κυττάρων (Siu et al., 2004). Παράλληλα μέσω τέτοιας άσκησης ενεργοποιούνται και τα μοριακά μονοπάτια της παραγωγής πρωτεϊνών (Parkington et al., 2004). Συγκεκριμένα οι Hornberger και συνεργάτες μέσα από μια σειρά από έρευνες (2004; 2005; 2006), περιέγραψαν πώς η άσκηση ενεργοποιεί την mTOR, ενεργοποίηση μάλιστα η οποία είναι ανεξάρτητη από τα επίπεδα της IGF-1, με αποτέλεσμα την αύξηση της μεταφοράς των αμινοξέων και της γλυκόζης.

Οι Jubrias και συνεργάτες (2001) υποστηρίζουν, μέσα από το άρθρο τους, ότι η άσκηση στα ηλικιωμένα άτομα προκαλεί μεγάλες αλλαγές στις ενεργητικές ιδιότητες των μυών τους. Αναλυτικά διαπίστωσαν ότι υπάρχει σημαντική αύξηση στην οξειδωτική ικανότητα τους με παράλληλη μείωση χρήσης του γλυκογόνου και της απαίτησης για ATP. Παράλληλα διαπίστωσαν ότι είτε δεν υπάρχουν αλλαγές, μέσω της προπόνησης αντοχή, είτε υπάρχουν πολύ μικρές αλλαγές, μέσω προπόνησης αντιστάσεων, στη δομή των μυών τους.

### *Το πρόβλημα-Σημασία της έρευνας*

Από τα παραπάνω γίνονται αντιληπτά τα προβλήματα που έχουν να αντιμετωπίσουν τα ηλικιωμένα άτομα, από τις αλλαγές που επέρχονται στο σώμα, μα κυρίως στους μύες τους. Είναι τεκμηριωμένο πια ότι η άσκηση βοηθάει τα άτομα αυτά. Κυρίαρχο κομμάτι σε αυτό κατέχει η άσκηση με αντιστάσεις. Οι έρευνες πάνω στο θέμα αυτό έχουν δείξει τις προσαρμογές αυτού του είδους τη άσκησης στα ηλικιωμένα άτομα. Όμως δεν υπάρχουν αρκετές έρευνες οι οποίες να περιγράφουν τις κυτταρικές και τις μοριακές αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στους σκελετικούς μύες, σαν αποτέλεσμα εφαρμογής της άσκησης με αντιστάσεις. Οι περισσότερες παρουσιάζουν τις προσαρμογές είτε στη δύναμη είτε στις αλλαγές της δομής του μυός. Παράλληλα, οι έρευνες πάνω στις αλλαγές των μοριακών μονοπατιών, δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα και δεν μπορούν να σχηματίσουν μια ολοκληρωμένη εικόνα για το τι γίνεται με την πάροδο των



ετών στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων, τόσο κάτω από καταστάσεις ηρεμίας όσο και μετά την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων. Προκύπτει το πρόβλημα της διερεύνησης των κυτταρικών και μοριακών αλλαγών στους μύες των ηλικιωμένων, τόσο μετά από μακροχρόνια άσκηση με αντιστάσεις όσο και αμέσως μετά από μια άσκηση με αντιστάσεις. Συγκεκριμένα το ερώτημα στο οποίο καλείται αυτή η έρευνα να απαντήσει είναι αν έπειτα από μια προπόνηση με αντιστάσεις τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μονοπατιού της AKT-mTOR, της MAPK και της AMPK αλλάζουν στο ίδιο βαθμό στα ηλικιωμένα ατροφικά άτομα με εκείνα των νεαρών ατόμων. Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας θα προσπαθήσουν να βοηθήσουν στην κατανόηση της επίδρασης της γήρανσης στους παραγόντων που σχετίζονται με την διαδικασία της παραγωγής πρωτεϊνών και υπερτροφίας στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων.

### ***Σκοπός της έρευνας***

Σκοπός της παρούσας έρευνας ήταν να διευκρινιστεί η επίδραση ης οξείας άσκησης με αντιστάσεις στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μονοπατιού της AKT-mTOR, της MAPK και της AMPK στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα. Παράλληλα με τον βασικό ερώτημα της παρούσας έρευνας, θα προσπαθήσουμε να διερευνήσουμε. 1) αν υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα, μετά την εφαρμογή μιας προπόνησης αντιστάσεων, 2) αν υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στις ηλικιωμένες ατροφικές γυναίκες και στους ηλικιωμένους ατροφικούς άνδρες, μετά την εφαρμογή μιας προπόνησης αντιστάσεων.

### ***Οι υποθέσεις της έρευνας***

Η κύρια ερευνητική υπόθεση της παρούσας έρευνας ήταν ότι η οξείας άσκηση με αντιστάσεις θα προκαλέσει την ίδια αύξηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μονοπατιού της AKT-mTOR, της MAPK και της AMPK στους σκελετικούς μύες των ηλικιωμένων ατροφικών ατόμων, στο ίδιο επίπεδο όπως με αυτών των νεαρών ατόμων.

Οι μηδενικές υποθέσεις που διατυπώθηκαν για τον έλεγχο της παραπάνω ερευνητικής υπόθεσης είναι.

- Δεν θα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα μετά από εκτέλεσης μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων.

- Δεν θα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά αύξησης της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα μετά από εκτέλεση μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων.
- Δεν θα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στις ηλικιωμένες γυναίκες και στους ηλικιωμένους άνδρες μετά από εκτέλεση μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων.
- Δεν θα υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά αύξησης της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στις ηλικιωμένες γυναίκες και στους ηλικιωμένους άνδρες μετά από εκτέλεση μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων.

#### ***Περιορισμοί και Οριοθετήσεις της έρευνας***

Οι περιορισμοί της παρούσας έρευνας είναι.

- Η σύγκριση ανάμεσα στις ηλικιακές ομάδες είναι μεταξύ διαφορετικών ατόμων και όχι για τα ίδια άτομα σε διαχρονικό επίπεδο.
- Θα γίνουν βιοψίες μόνο από τον έξω πλατύ και όχι από άλλο μυ του σώματος του κάθε ατόμου.
- Περιορισμός ως προς το είδος της άσκησης. Η άσκηση που έχει επιλεγεί είναι άσκηση με αντιστάσεις. Συγκεκριμένα θα γίνει άσκηση σε μηχανήμα πιέσεων ποδιών (leg press).

#### ***Λειτουργικοί Ορισμοί***

- AMPK. ενεργοποιηθήσα πρωτεϊνική κινάση της μονοφωσφορικής αδενοσίνης (AMP-activated protein kinase), η οποία ενεργοποιείται όταν ο λόγος AMP/ATP αυξάνεται.
- ERK 1/2. εξωκυττάρια ρυθμιστική κινάση 1 και 2 (extracellular regulated kinase 1 και 2), μέλος του μοριακού μονοπατιού της MAPK.
- IGF-1. Ινσουλινομιμητικός αυξητικός παράγοντας – 1.
- mTOR. είναι μια ινσουλινοαπαντητική και αμινοευαίσθητη κινάση, η οποία ρυθμίζει την ανάπτυξη του μυός και την μυογένεση.

- p38. αρχέτυπο μέλος του μοριακού μονοπατιού της MAPK, η οποία υπάρχει σε 4 ισομορφές την  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  και  $\delta$  (γνωστό και ως CSBP, mHOG1, RK και SAPK2), που δρα παράλληλα με την ERK 1/2, έχοντας τους ίδιους τελικούς στόχους.
- p70S6K. Η p70S6k είναι μία από τις δύο ισομορφές της S6K1. Η άλλη ισομορφή της είναι η p85S6K. Το μοριακό της βάρος είναι 70 kDa. Η p70S6k κατέχει κεντρικό ρόλο στον έλεγχο της μετάφρασης, δεδομένου ότι ρυθμίζει ένα υποσύνολο του mRNA, το οποίο κωδικοποιεί τις ριβοσωμάτιες πρωτεΐνες και άλλους ουσιαστικούς παράγοντες του μεταφραστικού μηχανισμού.
- S6. ριβοσωμάτια πρωτεΐνη η οποία αποτελεί μετέπειτα στόχο της p70S6k.
- Western blot. Η αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών, ώστε με την προσθήκη κατάλληλων αντισωμάτων να ανιχνευτούν οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες που ενδιαφέρουν τον ερευνητή.
- Αερόβια άσκηση. Το είδος εκείνο της άσκησης όπου το μεγαλύτερο μέρος της απαιτούμενης ενέργειας παρέχεται από τον αερόβιο μηχανισμό.
- AKT. Πρωτεΐνες με γενική ονομασία AKT (γνωστές και ως πρωτεϊνικές κινάσες B, PKB), οι οποίες περιλαμβάνουν την AKT1 (PKB- $\alpha$ ), την AKT2 (PKB- $\beta$ ) και την AKT3 (PKB- $\gamma$ ).
- Αναερόβια άσκηση. Το είδος εκείνο της άσκησης όπου το μεγαλύτερο μέρος της απαιτούμενης ενέργειας παρέχεται από τον αναερόβιο μηχανισμό.
- Ατροφία. Κατάσταση η οποία χαρακτηρίζεται από μείωση του μεγέθους ή της δραστηριότητας ενός ιστού ή οργάνου. Μπορεί να προκληθεί από χαμηλή αιμάτωση ή, όταν αφορά στο μυοσκελετικό, από έλλειψη άσκησης, νευρολογικές παθήσεις και κλινοστατισμό.
- Γήρανση. Είναι το σύνολο των βιολογικών φαινομένων που προκαλούνται από ή συμβαίνουν μετά την πάροδο σημαντικού μέρους του χρόνου ζωής ενός οργανισμού. Οι μεταβολές της γήρανσης μπορεί να είναι κυτταρικές, μοριακές, λειτουργικές ή άλλου είδους.
- Εγκάρσια επιφάνεια (CSA). Το εμβαδόν της κάθε μυϊκής ίνας.
- Ένταση της άσκησης. Ο βαθμός προσπάθειας που καταβάλλεται για να εκτελεστεί μια άσκηση. Καθορίζεται από τους χρόνους, τις ταχύτητες, τα βάρη ή της φυσιολογικές παραμέτρους (π.χ. συγκέντρωση γαλακτικού οξέος).

- Ηλεκτροφόρηση. Εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου σε ένα μέσο (χαρτί, γέλη, άγαρ) μέσα στο οποίο υπάρχει εναιώρημα από διαφορετικές ουσίες (π.χ. πρωτεΐνες με διαφορετικό μοριακό βάρος). Οι ουσίες κινούνται με διαφορετική ταχύτητα πάνω στο μέσο, γεγονός που επιτρέπει το διαχωρισμό τους.
- Ινσουλίνη. Μια από τις σημαντικότερες ορμόνες του οργανισμού. Παράγεται από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Ο ρόλος της συνίσταται, κυρίως, στη διευκόλυνση της εισόδου της γλυκόζης στα κύτταρα, ενώ συμμετέχει στην αποθήκευση του λίπους στα λιποκύτταρα και στην αποθήκευση της γλυκόζης με τη μορφή γλυκογόνου.
- Μέθοδος απορροφησιμετρίας διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X (DXA). μέθοδος υπολογισμού της περιεκτικότητας του οστού σε μεταλλικά στοιχεία, και έμμεσα και της οστικής πυκνότητας, και της ανασύνθεσης και της πυκνότητας κάθε εξεταζόμενης περιοχής ξεχωριστά. Χρησιμοποιεί πηγή ακτίνων X, απομονώνοντας δύο δέσμες από το συνεχές φάσμα ακτινοβολίας με τη βοήθεια ειδικών φίλτρων εξασφαλίζοντας σταθερότητα εκπομπής ακτινοβολίας σε σχέση με το χρόνο.
- Μία ή πολλαπλές μέγιστες επαναλήψεις (ΜΑΕ). Ο μέγιστος αριθμός των επαναλήψεων που πραγματοποιεί ο ασκούμενος σε ένα δεδομένο βάρος αντίστασης.
- Μυϊκή υπερτροφία. Η αύξηση της μυϊκής μάζας, μέσα από ένα συστηματικό ερέθισμα, πχ άσκηση.
- Προπόνηση μυϊκής ενδυνάμωσης με αντιστάσεις. Το είδος της άσκησης όπου γίνεται χρήση εξωτερικής επιβάρυνσης, όπως τα βάρη.
- Σαρκοπενία. Με τον όρο αυτόν δηλώνεται η διαδικασία απώλειας μυϊκής μάζας από τον οργανισμό και η αντικατάστασή της από λιπώδη ιστό. Η διαδικασία αυτή συνοδεύει τη γήρανση του ανθρώπου και ο ρυθμός απώλειας είναι ο ίδιος για τους άνδρες και τις γυναίκες.
- Φωσφορυλίωση. Διαδικασία προσθήκης φωσφορυλομάδας σε άλλη χημική ένωση.

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

### *Γενικά για το μοριακό μονοπάτι της παραγωγής πρωτεϊνών*

Η σύνθεση των πρωτεϊνών είναι μια πολύπλοκη κυτταρική διεργασία, μέρος της οποίας έχει ανακαλυφθεί τα τελευταία χρόνια. Για τον λόγο αυτό ακόμα και το πώς εξελίσσεται αυτό το μονοπάτι, από την στιγμή της ενεργοποίησης του μέχρι την παραγωγή των πρωτεϊνών, είναι ένα θέμα στο οποίο υπάρχουν σημαντικά κενά και αντικρουόμενα συμπεράσματα. Ωστόσο, μέσα από τις σύγχρονες έρευνες, έχει βρεθεί ένα ικανοποιητικό μέρος της αλληλουχίας των μοριακών μονοπατιών. Καταρχάς, για την ενεργοποίηση του μοριακού μονοπατιού χρειάζεται ένα έναυσμα. Αυτό γίνεται με πολλούς τρόπους, όπως μέσα από την αύξηση των επιπέδων των αμινοξέων ή της IGF-1.

### *Η ενεργοποίηση του μονοπατιού μέσω της ασκησιογενούς αύξησης της IGF-1*

Η IGF-1, που τα επίπεδα της αυξάνονται μέσα από την άσκηση, συνδέεται με τον υποδοχέα της (insulin-receptor, IR) στη κυτταρική μεμβράνη της μυϊκής ίνας, δίνοντας το έναυσμα για την ενεργοποίηση του μηχανισμού (σχήμα 1). Ο IR, ανήκει σε μια μεγάλη κατηγορία μεμβρανοειδών υποδοχέων που τις χαρακτηρίζει η μεγάλη δραστηριότητα της τυροσινικής κινάσης (Czech, 1985), και αποτελείται από 2 μέρη. Το ένα μέρος βρίσκεται στην εξωκυττάρια περιοχή και αποτελείται από 2 υποομάδες, τις α-υποομάδες. Το δεύτερο μέρος αποτελείται και αυτό από δύο υποομάδες, τις β-υποομάδες, οι οποίες ενώνονται με τις α-υποομάδες με δυσουλφιδικούς δεσμούς και διατρέχουν όλη την κυτταρική μεμβράνη (Adamo et al., 1987; Endo & Elsas, 1984). Όταν η IGF-1 συνδέεται στις α-υποομάδες του IR, προκαλεί σε αυτές μορφολογικές αλλαγές οι οποίες ενεργοποιούν τη δραστηριότητα της τυροσινικής κινάσης της β-υποομάδας, με αποτέλεσμα την αυτοφωσφορυλίωση των τελευταίων και τέλος την φωσφορυλίωση ολόκληρου του IR (Kato et al., 2000; Tesseraud et al., 2006).



Η φωσφορυλίωση του IR, ενεργοποιεί το υπόστρωμα του υποδοχέα της ινσουλίνης-1 (insulin receptor substrates-1, IRS-1, Sun et al., 1991), ο οποίος αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα υποστρώματα του IR. Αυτό διότι ο IRS-1 κατέχει μια τελική αμινο – δεσμευτική θέση πρόσδεσης, η οποία είναι υψίστης σημασίας για την αλληλεπίδραση του IRS-1 με τον IR (Tesseraud et al., 2006). Σύμφωνα με τους Backer και συνεργάτες (1992), ο IRS-1 περιέχει πολλά στοιχεία για την φωσφορυλίωση της τυροσίνης, τα οποία εξυπηρετούν σαν περιοχές στις οποίες συνδέονται οι πρωτεΐνες του τύπου SH2 (Src-homology 2 -domain-containing proteins), όπως αυτή που ενώνει τον IRS-1 με την PI3K (Pain, 1996).

Σύμφωνα με τους Tesseraud και συνεργάτες (2006), σε αυτό το σημείο το μονοπάτι χωρίζεται σε 2 μέρη. Το ένα μέρος το ονομάζουν «μονοπάτι της AKT-mTOR» (AKT-mTOR pathway), και το άλλο «μονοπάτι της κίνησης της MAP» (κυτοπλασματικών πρωτεϊνικών κινασών σερίνης/ θρεονίνης; MAPK pathway). Και τα 2 μονοπάτια για να ενεργοποιηθούν χρειάζονται την ενεργοποίηση του IRS-1. Παρακάτω παρουσιάζονται και τα 2 μέρη του μονοπατιού.

### ***Ενεργοποίηση και λειτουργία του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR***

Σύμφωνα με τους Tesseraud και συνεργάτες (2006), το κομμάτι αυτό του μονοπατιού είναι υπεύθυνο για την παραγωγή των μυϊκών πρωτεϊνών. Με την φωσφορυλίωση της τυροσίνης του IRS-1, γίνεται και η σύνδεση του με την PI3K (σχήμα 1, Tesseraud et al., 2006). Η αλληλεπίδραση της φωσφορυλιωμένης τυροσίνης του IRS-1 και της SH2, επιτρέπει να μεταφερθεί η PI3K από το κυτταρόπλασμα στην μεμβράνη. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι η αναστολή των κατασταλτικών επιδράσεων της πρωτεΐνης p85 (μια ρυθμιστική υποομάδα της PI3K) πάνω στην πρωτεΐνη p110 (η καταλυτική υποομάδα της PI3K, Tesseraud et al., 2006). Μέσα από την διαδικασία αυτή, η p110 μετατρέπει την διφωσφορική φωσφατιδιλινοσιτόλη-4,5 (phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate, PIP2) σε τριφωσφορική φωσφατιδιλινοσιτόλη-3,4,5 (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, PIP3, Shepherd et al., 1998). Ο σκοπός όλης αυτής της διαδικασίας είναι ότι η τελευταία (PIP3) λειτουργεί σαν ένα ενισχυτικό «σήμα», για την ενεργοποίηση των μετέπειτα παραγόντων αυτού του μοριακού μονοπατιού (Shepherd et al., 1998). Σύμφωνα με τους Mora και συνεργάτες (2004), η PIP3 ενώνεται με την PDK1 (εξαρτημένη φωσφοϊνοσιτιδική κινάση 1, Phosphoinositide-dependent kinase 1). Η PDK1 είναι μια πρωτεϊνική κινάση η οποία φωσφορυλιώνει άλλες πρωτεϊνικές κινάσες, όπως τις

πρωτεϊνικές κινάσες A, G και τέλος την C (γνωστές και σαν πρωτεϊνικές κινάσες της ομάδας AGC). Με την ένωση της PIP3 με την PDK1, η ανασυνδυασμένη PDK1 φωσφορυλιώνει την AKT. Αυτή η φωσφορυλίωση δεν θα μπορούσε να γίνει εάν δεν υπάρχει η PIP3 (Tesseraud et al., 2006). Ωστόσο, μέχρι εδώ κάναμε λόγο για την επίδραση της PI3K και της PDK1 στην φωσφορυλίωση της AKT. Όμως, κατά τους Dong και Liu (2005), για την μεγαλύτερη ενεργοποίηση της AKT, χρειάζεται να γίνει φωσφορυλίωση της AKT και σε άλλη θέση. Αυτό γίνεται μέσω μίας άλλης πρωτεϊνικής κινάσης που ενεργοποιείται από την PIP3, της PDK2, η οποία φωσφορυλιώνει την AKT στην θέση Ser<sup>473</sup>.

Ωστόσο σε πειραματόζωα, πρόσφατα βρέθηκε ένας παράγοντας, η φωσφοτάση PTEN (phosphatase and tensin homologue), που έχει διπλή δράση ενάντια στα λιπηδικά και πρωτεϊνικά υποστρώματα (Maehama et al., 2001). Η PTEN αποφωσφορυλιώνει την PIP3 και την μετατρέπει σε PIP2 (Tesseraud et al., 2006), με σκοπό την ανάπτυξη ανταγωνιστικής δράσης έναντι της PI3K, με αποτέλεσμα την μετρίαση της πρωτεϊνοσύνθεσης και την συγκράτηση της ανάπτυξης του κυττάρου (Goberdhan & Wilson, 2003). Παράλληλα, κατά τους Weng και συνεργάτες (2001), η PTEN είναι σε θέση να μειώσει τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της IRS-1, οπότε πιθανότατα να είναι ένας από τους ρυθμιστές της ευαισθησίας στην ινσουλίνη ενός κυττάρου στόχου της. Ωστόσο δεν είναι ακόμα ξεκάθαρος ο πλήρης ρόλος της PTEN (Tesseraud et al., 2006).

### ***Η δράση της AKT***

Σε συνέχιση του μονοπατιού, μέσα από την δράση της PI3K, αποτέλεσμα είναι η επιστράτευση της AKT από το κυτταρόπλασμα στη κυτταρική μεμβράνη, όπου γίνεται και η ενεργοποίηση της (Bodine et al., 2001; Datta et al., 1999; Pain, 1996; Rommel et al., 2001). Μετά την ενεργοποίηση της AKT, η ακολουθία για την παραγωγή πρωτεϊνών χωρίζεται σε 2 μέρη. Το ένα μέρος περιλαμβάνει την ενεργοποίηση της συνθάσης της γλυκογονικής κινάσης-3 (GSK3) και το άλλο περιλαμβάνει την ενεργοποίηση της mTOR (σχήμα 1).

Στο πρώτο μέρος η ενεργοποίηση της GSK3 προκαλεί αύξηση της δραστηριότητας του ευκαριωτικού παράγοντα έναρξης 2B (eukaryotic initiation factor 2B) ή αλλιώς eIF2B (Kimbal, Farrel & Jefferson, 2002). Ο eIF2B είναι παράγοντας ανταλλαγής του νουκλεοτιδίου της γουανίνης (guanine nucleotide exchange factor), ο οποίος μεσολαβεί για την μετατροπή της διφωσφορικής γουανοσίνης (νουκλεοτίδιο με δύο φωσφορικές ομάδες



και τη γουανίνη ως αζωτούχο βάση, GDP) σε τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP) για τον ευκαριωτικό παράγοντα έναρξης 2 (eIF2). Το σύμπλεγμα eIF2-GTP συνδέεται στο met-tRNA<sub>i</sub> (methionyl-tRNA), που με την σειρά του προσδένετε στην 40S ριβοσωμία υπομονάδα. Αποτέλεσμα της διαδικασίας αυτής είναι η αύξηση του ρυθμού της παραγωγής των γενικών πρωτεϊνών (Bodine, 2006).

Το δεύτερο μέρος είναι αυτό με το οποίο θα οδηγήσει στην μυϊκή υπερτροφία. Σε αυτό το κομμάτι η AKT ελέγχει την ενεργοποίηση της mTOR, η οποία πραγματοποιείται με 2 τρόπους (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005). Ο πρώτος είναι η άμεση ενεργοποίηση της, δηλαδή η AKT ενεργοποιεί κατευθείαν την mTOR. Ο δεύτερος τρόπος είναι ο έμμεσος. Έχει βρεθεί ότι ο συνδυασμός 2 παράγοντων, των TSC1 και TSC2, έμμεσα ευθύνεται για τον έλεγχο της ενεργοποίησης της mTOR (Gao et al., 2002; Taron et al., 2001), και συγκεκριμένα της raptor-mTOR (Long et al., 2005), όπου λόγος για την τελευταία θα γίνει παρακάτω. Η TSC2 είναι η ενεργοποιούσα GTPάση πρωτεΐνη (GAP) για τις GTP προσδεθήνουσες πρωτεΐνες rheb1 (rheb- GTP) και rheb2 (rheb- GDP, Gao et al., 2002; Taron et al., 2001). Η TSC2 ευθύνεται για την υδρόλυση της rheb- GTP, με αποτέλεσμα την παραγωγή της rheb- GDP, σε αντίθεση με την TSC1, όπου δεν έχει καμία GAP δραστηριότητα. Πιθανότατα ο ρόλος της TSC1 είναι να μετριάξει τις επιδράσεις της TSC2 και ίσως να αναγάγει την rheb- GDP σε rheb- GTP, αν και κάτι τέτοιο ακόμα δεν έχει εξακριβωθεί απόλυτα (Li et al., 2004). Σύμφωνα με τους Deldicque, Theisen και Francaux (2005), η διαδικασία της υδρόλυσης της rheb- GTP από την TSC2, έχει σαν αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της άμεσης ενεργοποίησης της mTOR. Η AKT φωσφορυλιώνει την TSC2 στις θέσεις Ser<sup>939</sup>, Ser<sup>1086</sup>, Ser<sup>1088</sup> και Thr<sup>1422</sup>, με αποτέλεσμα την ένωση του συμπλέγματος TSC1-TSC2 (Nellist et al., 2003; Liu et al., 2002) και το σταμάτημα της μετατροπής της rheb- GTP σε rheb- GDP. Από την στιγμή αυτή η συγκέντρωση της rheb- GTP αυξάνεται, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της mTOR (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005).

### ***Η δράση της mTOR***

Τελικά η AKT ενεργοποιεί, είτε έμμεσα είτε άμεσα, την mTOR στις θέσεις Ser<sup>424</sup> και Thr<sup>421</sup>. Η mTOR (mammalian target of rapamycin) είναι μια ισοουλινοαπαντητική και αμινοευσίσθητη σερινική / θρεονινική (Ser/Thr) κινάση (Bodine et al., 2001; Rommel et al., 2001) με μοριακό βάρος 289 kDa (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005), η οποία φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μυός και στην μυογένεση

(myogenesis, Bodine et al., 2001; Erbay & Chen, 2001). Μέχρι τώρα έχει βρεθεί ότι η mTOR προκαλεί την αύξηση της πρωτεϊνοσύνθεσης μέσω τριών κύριων τρόπων. 1) μέσω της p70S6k (δηλαδή της p70 ριβοσωμάτιας κινάσης της S6), 2) μέσω του 4E-BP1 (ευκαριωτικό παράγοντα έναρξης της 4E- προσδεθίνουσας πρωτεΐνης 1, Brunn et al., 1997; Burnett et al., 1998) και 3) μέσω της eIF4G (ευκαριωτικός παράγοντας έναρξης 4G; Raught et al., 2001). Αν και το πώς ενεργοποιεί η mTOR τους παρακάτω παράγοντες του μοριακού μονοπατιού δεν είναι ακόμα ξεκάθαρο (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005), η ενεργοποίηση των παραπάνω παραγόντων, πιθανότατα να γίνεται είτε μέσω άμεσης φωσφορυλίωσης (Raught et al., 2001), είτε έμμεσα με την ενεργοποίηση κάποιων πρωτεϊνικών κινασών (Raught et al., 2001), είτε τέλος με την παρεμπόδιση κάποιων φωσφατασών, όπως της πρωτεϊνικής φωσφατάσης 2A (PP2A, Li et al., 2004). Παράλληλα έχει βρεθεί ότι η mTOR υπάρχει σε δύο πολύ-πρωτεϊνικά συμπλέγματα. Το ένα ονομάζεται mTORC1 (mTOR complex 1) και το άλλο mTORC2 (mTOR complex 2, Lian et al., 2008). Το mTORC1 σύμπλεγμα είναι μια κινάση που αποτελείται από την πρωτεΐνη mTOR, από την πρωτεΐνη raptor (που είναι μια ρυθμιστική πρωτεΐνη για την mTOR) και τέλος από την πρωτεΐνη GβL. Το σύμπλεγμα της mTORC2 περιλαμβάνει και αυτό την mTOR και την GβL, αλλά αντί για την πρωτεΐνη raptor έχει την rictor (rapamycin-independent companion of mTOR) και την πρωτεΐνη mSin1 (mitogen-kinase-associated protein 1, Lian et al., 2008). Στη διεθνή βιβλιογραφία όμως τα δύο αυτά συμπλέγματα αναφέρονται συνήθως απλώς σαν raptor-mTOR και rictor-mTOR (Jacinto et al., 2004; Sarbassov et al., 2004).

### ***H rictor-mTOR***

Η rictor-mTOR δεν επηρεάζει την p70S6k και την 4E-BP1. Μάλιστα φαίνεται να σχετίζεται περισσότερο με την ρύθμιση της οργάνωσης της ακτίνης και της κυτταρικής μορφολογίας (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005). Σύμφωνα με τους Sarbassov και συνεργάτες (2004), σαν μεσολαβητής για αυτή την λειτουργία φαίνεται να λειτουργεί η PKCa (πρωτεϊνική κινάση Ca, protein kinase Ca). Ωστόσο και άλλοι παράγοντες θα πρέπει να εμπλέκονται, αν και ακόμα το θέμα αυτό δεν έχει εξακριβωθεί πλήρως. Παράλληλα τελευταία έχει βρεθεί ότι η rictor-mTOR είναι και μια από τις κινάσες οι οποίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της AKT (Sarbassov, Siraj & Sabatini, 2005). Από αυτό φαίνεται ότι ο κύριος λόγος της rictor-mTOR είναι να βοηθήσει στην διατήρηση των υψηλών επιπέδων της φωσφορυλίωσης της AKT, ώστε να συνεχιστεί

από εκεί ξανά ο κύκλος του μοριακού μονοπατιού (Sarbassov, Siraj & Sabatini, 2005). Παράλληλα, σύμφωνα με τους Sarbassov, Siraj και Sabatini (2005), η ενεργοποίηση της AKT από την rictor-mTOR έχει σαν αποτέλεσμα την επίδραση της πάνω στον μεταβολισμό, τον πολλαπλασιασμό και την «μακροζωία» του κυττάρου.

### ***H raptor-mTOR***

Η raptor, σύμφωνα με τους Sarbassov και συνεργάτες (2004), φαίνεται να λειτουργεί σαν μια ενδιάμεση πρωτεΐνη, η οποία μέσα από την αλληλεπίδραση της με την m-TOR αυξάνει την αποτελεσματικότητα της τελευταίας στη φωσφορυλίωση των παρακάτω παραγόντων-στόχων (Nojima et al., 2003). Ακολουθώντας την πορεία της raptor-mTOR, διαπιστώνετε ότι δύο πρωτεΐνες, η p70S6k και η 4E-BP1, συνδέονται με αυτήν για την αύξηση του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης (Sarbassov, Siraj & Sabatini, 2005). Η 4E-BP1 είναι ο αναστολέας για την μετάφραση του παράγοντα eIF4E (ευκαρυωτικός παράγοντας έναρξης 4E). Όταν η 4E-BP1 φωσφορυλιώνεται από την mTOR, τότε η eIF4E απελευθερώνεται και σχηματίζει ένα σύμπλεγμα πρωτεϊνών, την eIF4F, μαζί με την eIF4G, η οποία επίσης ελέγχεται από την mTOR (Raught et al., 2001), και την eIF4A. Ο σχηματισμός αυτού του συμπλέγματος είναι απαραίτητος ώστε να συνεχιστεί η διαδικασία (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005), και να μεταφραστεί το mRNA.

### ***H δράση της p70S6k***

Ο άλλος παράγοντας ο οποίος ενεργοποιείται από την mTOR, και συγκεκριμένα από την raptor-mTOR, είναι η p70S6k (Deldicque, Theisen & Francaux, 2005). Η p70S6k είναι μια από τις δύο ισόμορφες κινάσες της ριβοσωμάτιας πρωτεΐνης S6 (Laser et al., 1998). Σε αυτό το σημείο όμως, ακόμα δεν είναι ξεκάθαρο αν η ενεργοποίηση της p70S6k, γίνεται με απευθείας φωσφορυλίωση της ή με την παρεμπόδιση κάποιων παραγόντων που την επηρεάζουν. Αυτό διότι, σύμφωνα με τους Dennis και συνεργάτες (1996), η p70S6k επηρεάζεται από την πρωτεϊνική φωσφοτάση 2A (protein phosphatase 2A, PP2A), που την αποφωσφορυλιώνει. Σύμφωνα με αυτή την εκδοχή, για την ενεργοποίηση της p70S6k η αρνητική δράση της PP2A θα πρέπει να σταματήσει. Ίσως αυτό να συμβαίνει με την παρέμβαση της ενεργοποιημένης mTOR, όπως αναφέρουν μέσα στο άρθρο τους οι Olivier, Ballou και Thomas (1988). Η άλλη εκδοχή είναι ότι η ενεργοποίηση της p70S6k από την mTOR γίνεται μέσω της φωσφορυλίωσης των Ser<sup>424/421</sup> και κυριότερα της Thr<sup>389</sup>

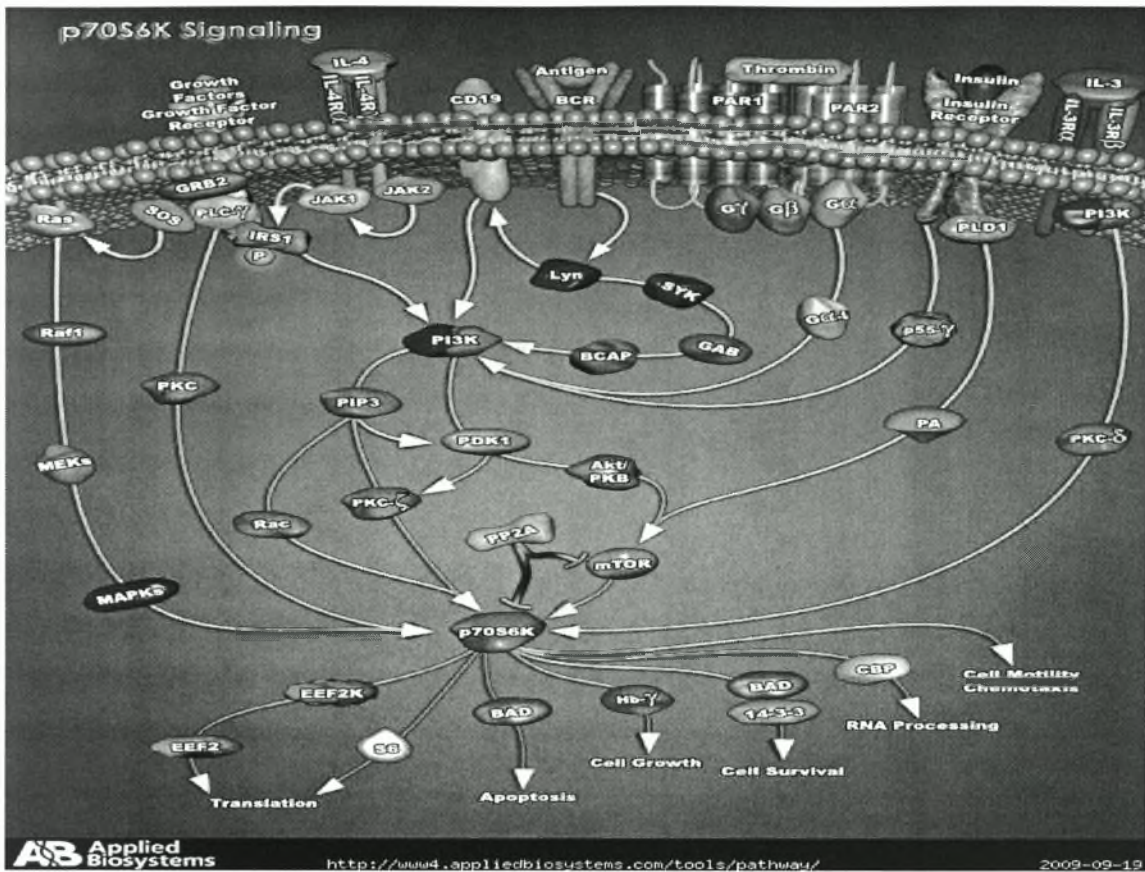
(Gingras, Raught & Sonenberg, 2001). Όμως στην φωσφορυλίωση της φαίνεται να συμμετέχει και η PDK1 (όπως περιγράψαμε σε πιο πάνω παράγραφο). Η φωσφορυλίωση της p70S6k από την raptor-mTOR, ενδεχομένως να επηρεάζει και τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης και της άλλης ισομορφής της κινάσης της S6 (Burnett et al., 1998), την p85S6K (Laser et al., 1998), που σκοπός της είναι η καλύτερη μεταφορά του σήματος στον επόμενο στόχο. Αυτό γίνεται έμμεσα με την φωσφορυλίωση της p85S6K μέσα από τις θέσεις σύνδεσης που κατέχουν οι κινάσης της ομάδας AGC (Burnett et al., 1998). Αλλά ακόμα αυτό το θέμα είναι υπό διερεύνηση και δεν είναι ξεκάθαρο το πώς ενεργεί.

### ***Η δράση της S6***

Η φωσφορυλιωμένη p70S6k με την σειρά της ενεργοποιεί την ριβοσωμάτια S6 (Adam, 1998). Η S6 είναι μια 40S ριβοσωμάτια πρωτεΐνη, που ελέγχει την μετάφραση ενός κομματιού του mRNA, του 5' TOP mRNAs (το κομμάτι δηλαδή του mRNAs που ευθύνεται για την παραγωγή των ριβοσωμάτων πρωτεϊνών), με αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού παραγωγής των πρωτεϊνών (γενικών και μυϊκών, Proud, 2002). Το 5' TOP mRNA αποτελείται από 100-200 γονίδια, δηλαδή το 20-30% του συνολικού mRNA (Dufner & Thomas, 1999).

Πιθανότατα η μετάφραση του 5' TOP mRNA γίνεται από την S6, μέσω της παρέμβασης κάποιων παραγόντων. Μέσα από 2 έρευνες διαπιστώθηκε ότι 2 πρωτεΐνες, το αντιγόνο La και η πρωτεΐνη CNBP, δρουν σαν θετικοί και αρνητικοί παράγοντες για την μετάφραση του 5' TOP mRNA (Pellizzoni et al., 1997; Pellizzoni et al., 1998). Αν και το πώς η S6 αλληλεπιδρά με αυτές τις πρωτεΐνες δεν είναι ακόμα γνωστό, πιθανότατα η ενεργοποίηση των La και CNBP, γίνεται με την ένωση της S6 σε συγκριμένες θέσεις αυτών των πρωτεϊνών, με αποτέλεσμα την ενεργοποίησή τους και την επιλεκτική μετάφραση του 5' TOP mRNA (Pellizzoni et al., 1998).

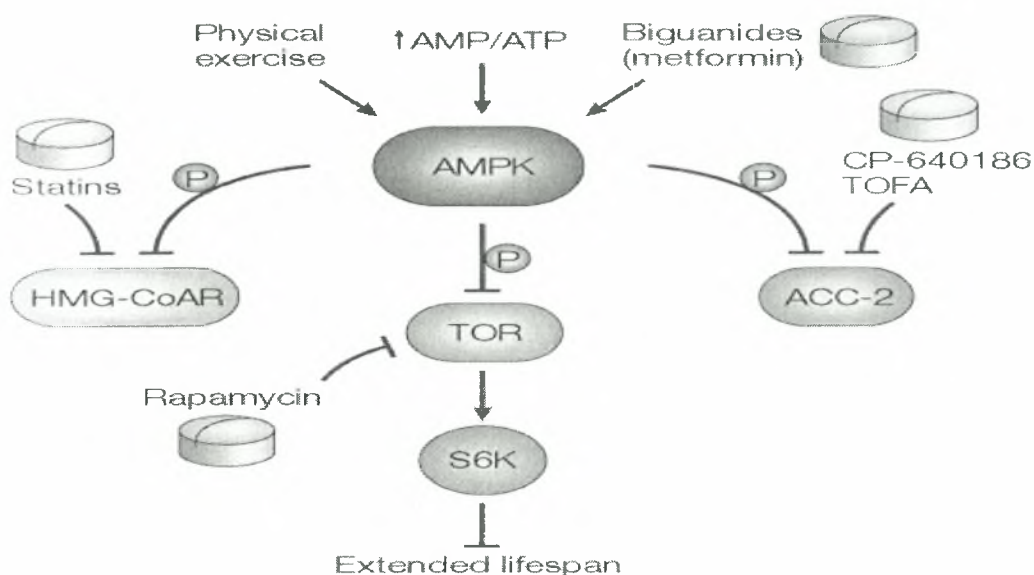




Σχήμα 1. Το μοριακό μονοπάτι της AKT-mTOR

### Η δράση της AMPK

Έχει βρεθεί ότι κάτω από καταστάσεις έλλειψης ενέργειας, δηλ σε καταστάσεις όπου ο λόγος AMP/ATP είναι αυξημένος (Inoki, Zhu & Guan, 2003), υπάρχει ενεργοποίηση της κινάσης της AMP (AMPK), η οποία φωσφορυλιώνει την TSC2, με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της λειτουργίας της raptor-mTOR (Inoki, Zhu & Guan, 2003). Ωστόσο για να αποφευχθεί αυτό η AKT (Manning et al., 2002; Inoki et al., 2002; Potter, Pedraza & Xu, 2002), η RSK1 (Roux et al., 2004) και τέλος η ERK 1/2 (Ma et al., 2005; Tee, Anjum & Blenis, 2003;) είναι ικανές να μειώσουν τον λόγο AMP/ATP, με αποτέλεσμα να μην υπάρχει παρεμπόδιση του συμπλέγματος των TSC1/ TSC2 από την AMPK και την κανονική λειτουργία του μοριακού μονοπατιού. Όμως το κομμάτι της έμμεσης ενεργοποίησης θα πρέπει να το δεχτούμε με επιφύλαξη διότι, σύμφωνα και με τους Deldicque, Theisen και Francaux (2005), υπάρχουν πάρα πολλά κενά στον μηχανισμό.



Copyright © 2005 Nature Publishing Group  
**Nature Reviews | Drug Discovery**

**Σχήμα 2.** Η δράση της AMPK

### **Το μοριακό μονοπάτι της MAPK**

Αν και το κομμάτι του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR θεωρείται ως ο κυρίως τρόπος για την παραγωγή των πρωτεϊνών, μέσα από έρευνες έχει βρεθεί ότι το μονοπάτι της MAPK, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην πρωτεϊνσύνθεση (σχήμα 3). Το μονοπάτι της MAPK, περιλαμβάνει την δράση 3 συνεχόμενων κινασών, της Raf, τις κινάσες της MAPK (MEK1/2), της p38 και τέλος τις δύο μορφές της κινάσης της ρυθμιστικής πρωτεΐνης του εξωκυττάριου σήματος (extracellular signal-regulated protein kinase, ERK, Tesseraud et al., 2006). Το μονοπάτι, όπως έχουμε προαναφέρει, ενεργοποιείται από την ήδη ενεργοποιημένη IRS-1, (Tesseraud et al., 2006). Συγκεκριμένα ο πρώτος παράγοντας που ενεργοποιείται είναι ο Raf, και συγκεκριμένα ο Raf-1 ο οποίος αποτελεί ένα από τα «μέλη» της οικογένειας Raf. Η ενεργοποίηση αυτή γίνεται μόνο μέσα από την ενεργοποίηση της Ras- GTP (Tesseraud et al., 2006). Για την ενεργοποίηση της Ras μεσολαβεί η πρωτεΐνη SOS (Son-of-sevenless), που πρόκειται ουσιαστικά για ένα παράγοντα ανταλλαγής του γουανινικού νουκλεοτιδίου (guanine nucleotide exchange factor), και μετατρέπει την Ras- GDP σε Ras- GTP (Tesseraud et al., 2006). Από την στιγμή που γίνει η μετατροπή αυτή, η Ras- GTP επιστρατεύει την Raf-1 στην κυτταρική μεμβράνη, με αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση της. Η ενεργοποιημένη Raf-1 επιφέρει την φωσφορυλίωση των κινασών της MAPK, δηλαδή των

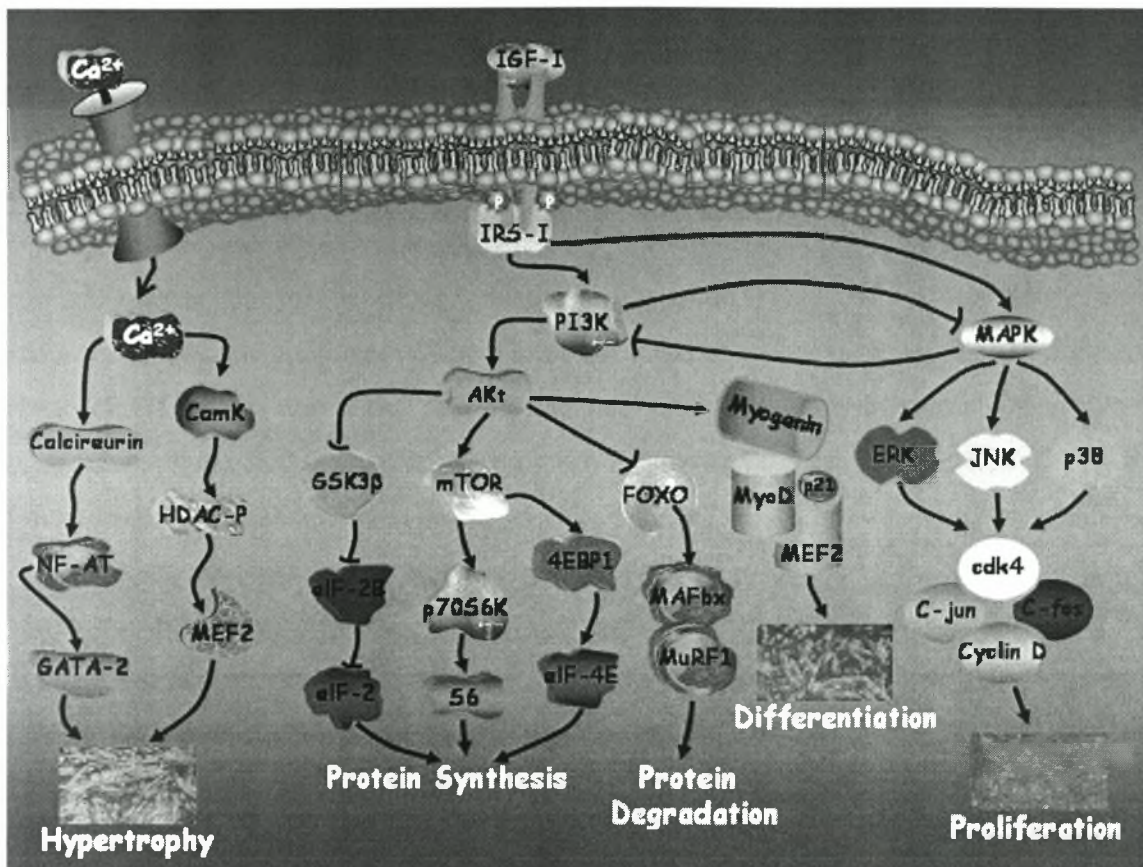
MEK1/2, οι οποίες με την σειρά τους φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν την ERK 1/2 και την p38, σε όλες τις ισομορφές της, (Kyriakis & Avruch, 2001; Chen et al., 2001).

Η ενεργοποιημένη ERK 1/2 προκαλεί την αύξηση του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης, πιθανότατα είτε μέσω της φωσφορυλίωσης και την ενεργοποίηση των κινασών MSK 1 και MSK 2 (mitogen- and stress-activated kinases, Deak et al., 1998), είτε μέσω της φωσφορυλίωσης της p90 ριβοσωμάτιας κινάσης της S6, p90RSK (p90 ribosomal S6 kinase, Williamson et al., 2003). Η ενεργοποιημένη p90RSK, με την σειρά της φωσφορυλιώνει αρκετούς μεταγραφικούς παράγοντες, όπως τον Elk (Pearson et al., 2001). Παράλληλα και η p38 MAPK (p38 mitogen-activated protein kinase), έχει βρεθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο σε αυτό το μονοπάτι και μάλιστα έχει πολλούς κοινούς παράγοντες με τις ERK 1/2, όπως οι MSK1/2, που ρυθμίζει (Deak et al., 1998; Pearson et al., 2001). Η ενεργοποίηση της p38 MAPK, γίνεται μέσω της ενεργοποίησης του μονοπατιού της MAPK, και δρα παράλληλα αλλά σε συνάρτηση με τις ERK 1/2 (Abe et al., 1996; Pearson et al., 2001), έχοντας πιθανότατα τον ίδιο παράγοντα μεταγραφής στόχο.

Σαν τελικό στάδιο του μονοπατιού της MAPK, υποστηρίζεται από αρκετούς ερευνητές ότι, είναι ο μυϊκός πυρήνας. Κατά τους (Thomson et al., 1999b) το μονοπάτι αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να προκαλούνται αλλαγές στη λειτουργία συγκεκριμένων γονιδίων, είτε μέσω της άμεσης φωσφορυλίωσης τους είτε μέσω ακετυλίωσης των νουκλεοσωματικών και των χρωματινικών πρωτεϊνών. Αυτές οι αλλαγές επιφέρονται από το μονοπάτι αυτό μέσω της φωσφορυλίωσης της H3 ιστόνης (Nebreda & Gavin, 1999; Sassone-Corsi et al., 1999) και του μεταγραφικού παράγοντα CREB (Deak et al., 1998). Η φωσφορυλίωση των 2 παραπάνω παραγόντων γίνεται μέσα από την ενεργοποίηση της MSK1 (Thomson et al., 1999a), και της p90RSK (Sassone-Corsi et al., 1999). Αποτέλεσμα της ενεργοποίησης αυτού του μονοπατιού είναι η παραγωγή των πρωτεϊνών.

Ωστόσο αν και μέσα από έρευνες έχει βρεθεί ότι το μονοπάτι της MAPK σχετίζεται με την αύξηση της παραγωγής των πρωτεϊνών στους μυϊκούς πυρήνες, δεν υπάρχουν ακόμα έρευνες που να περιγράφουν ολοκληρωτικά την λειτουργία του.





Σχήμα 3. Το μοριακό μονοπάτι της MAPK (Saini et al., 2009)

### *Το μονοπάτι της μυϊκής ατροφίας*

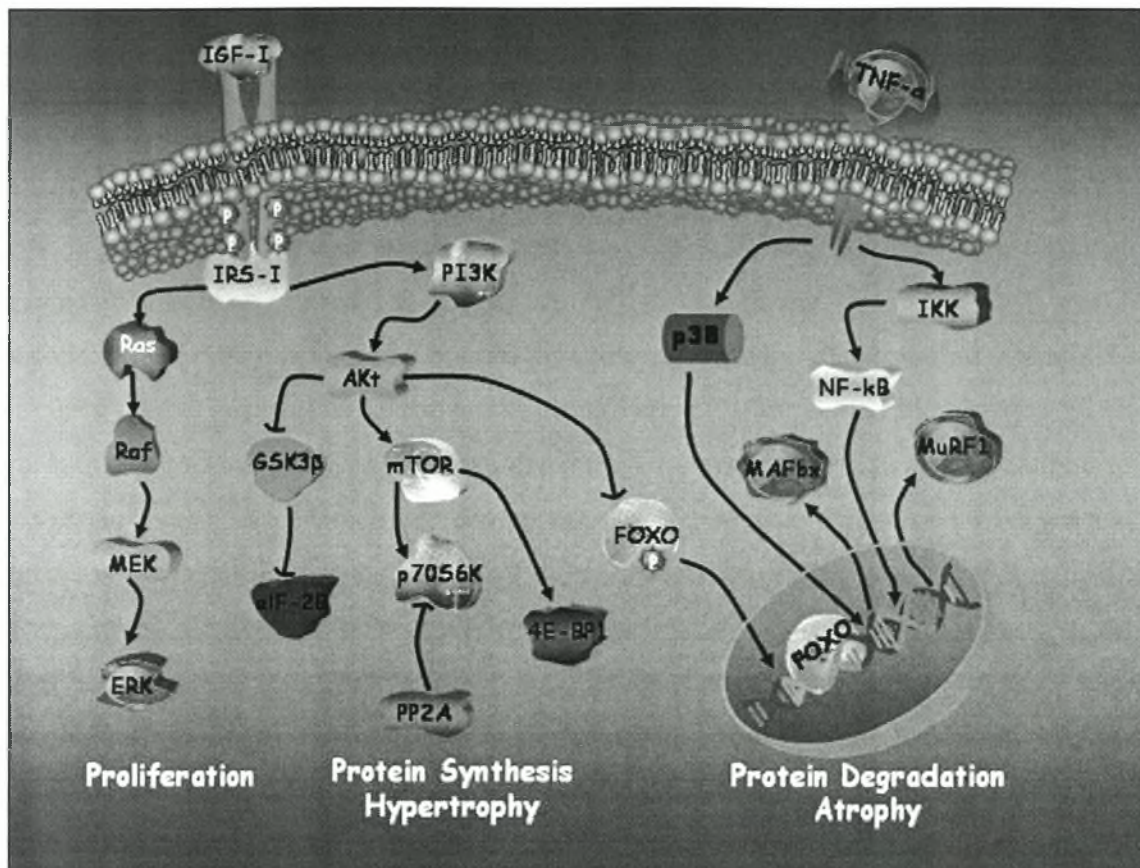
Ωστόσο η AKT έχει βρεθεί ότι παίζει σημαντικό ρόλο και στην ατροφία του μυός (Latres et al., 2005; Sandri et al., 2004). Αυτό γίνεται μέσα από διάφορους παράγοντες. Ένας από τους παράγοντες που συντελούν τόσο στην ατροφία όσο και στη μετρίαση της προσκληθείσας υπερτροφία είναι η συνθάσης της γλυκογονικής κινάσης-3β (GSK3β). Η δραστηριότητα της GSK3β εμποδίζεται από την φωσφορλίωση της AKT (Cross et al., 1995). Σε καταστάσεις οι οποίες ακόμα δεν έχουν εξακριβωθεί, η ανασταλτική δράση της AKT πάνω στη GSK3β σταματάει, με αποτέλεσμα την αύξηση του ρυθμού έκφρασης της GSK3β (Rommel et al., 2001). Κατά τους Hardt και Sadoshima (2002), η GSK3β προκαλεί την ατροφία και το «μπλοκάρισμα» της πρωτεϊνοσύνθεσης μέσω της επίδρασης της eIF2B.

Το επόμενο βήμα είναι να επιτραπεί η μεταγραφή του atrogen-1, γνωστό και ως MAFbx (Muscle Atrophy F-box), και του MuRF1 (Muscle Ring Finger1, Bodine et al., 2001b). Αυτοί είναι δύο συγκεκριμένες μυϊκές λιγάσες, για την ακρίβεια E3 ubiquitin λιγάσες, που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ατροφία του μυός (Latres et al., 2005;

Sandri et al., 2004). Σύμφωνα με τους Bodine και συνεργάτες (2001b) η αύξηση αυτών των παραγόντων γίνεται σε περιπτώσεις απονεύρωσης των μυϊκών ινών, σε χρόνια ακινητοποίηση και τέλος μέσω φαρμακευτικής αγωγής. Για το πώς ενεργούν αυτοί οι παράγοντες στο μηχανισμό της μυϊκής ατροφίας υπάρχουν αρκετές θεωρίες στη διεθνή βιβλιογραφία. Σύμφωνα με αρκετούς ερευνητές ο MuRF1 και ο MAFbx επιδρούν είτε με την μείωση των συσταλών στοιχείων του σαρκομερίου, είτε μέσω της επίδρασης τους πάνω στον κύκλο ημιζωής (turnover) διάφορων πρωτεϊνών, όπως της τιτίνης (McElhinny et al., 2002), είτε μέσω της επίδρασης τους πάνω σε μεταγραφικούς παράγοντες (McElhinny et al., 2002). Ωστόσο τα παραπάνω είναι θεωρίες και ακόμα τίποτα δεν είναι καλά τεκμηριωμένο μέσα από έρευνες.

Άλλος ένας τρόπος για την ενεργοποίηση του μηχανισμού της ατροφίας είναι ότι μέσω της αποφωσφορλίωση, δηλαδή την απενεργοποίηση, της AKT χάνονται οι ανασταλτικές επιρροές που έχει πάνω σε μεταγραφικούς παράγοντες, όπως της οικογένειας των παραγόντων FOXO, με αποτέλεσμα οι τελευταίοι να μεταφέρονται από το κυτταρόπλασμα στον μυϊκό πυρήνα (Brunet et al., 1999; Ramaswamy et al., 2002). Μάλιστα, σύμφωνα με τους Sandri και συνεργάτες (2004) ο παράγοντας της οικογένειας FOXO, ο FOXO-3, όταν γίνει η παραπάνω διαδικασία έχει σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη της ατροφίας του μυός, πιθανότατα μέσω της ρύθμισης των MuRF1 και MAFbx από αυτόν.

Αν και ο μοριακός μηχανισμός της μυϊκής υπερτροφίας είναι ένα θέμα το οποίο ερευνάται αρκετά τον τελευταίο καιρό, ο μοριακός μηχανισμός της μυϊκής ατροφίας είναι ένα θέμα στο οποίο παραμένουν πολλά και αναπάντητα ερωτήματα. Όλα τα παραπάνω, αν και περιγράφονται μέσα στη διεθνή βιβλιογραφία, δεν είναι σε θέση να δώσουν μια ξεκάθαρη εικόνα ούτε για τον τρόπο ενεργοποίησης των εμπλεκόμενων παραγόντων ούτε για τα αποτελέσματα της ενεργοποίησής τους.



Σχήμα 4. Το μοριακό μονοπάτι της ατροφίας (Saini et al., 2009)

#### Ορμονικές μεταβολές των ηλικιωμένων ατόμων

Η αυξητική ορμόνη (GH) διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του μύος (Herrington & Carter-Su, 2001). Αρκετή από την αναβολική δραστηριότητα της GH προκαλείται στον οργανισμό μέσω του ινσουλινομιμητικού αυξητικού παράγοντα-1 (IGF-I), του οποίου η γονιδιακή έκφραση ελέγχεται από την GH (Lupu et al., 2001). Παράλληλα στα ηλικιωμένα άτομα έχει διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα του mRNA της IGF-1 είναι μειωμένα (Welle et al., 2002). Πιθανόν, ένας λόγος που γίνεται το παραπάνω, φαίνεται να είναι η μείωση της έκκρισης και της ευαισθησίας της GH που επέρχεται με την πάροδο των ετών (Corpas, Harman & Blackman, 1993). Όμως ο ακριβής μηχανισμός που οδηγεί στη μείωση της GH και κατά επέκταση της IGF-I, δεν είναι ακόμα εξακριβωμένος (Corpas et al., 1993). Πιθανόν ο μηχανισμός να συνδέεται με την επίδραση του TNF-α, ο οποίος είναι πολύ αυξημένος, σε ποσότητα, στους μύες των ηλικιωμένων (Greiwe et al., 2000). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέλειψαν και οι Frost, Nystrom και Lang (2003), όταν διαπίστωσαν σε ποντίκια, ότι όσο αυξάνονταν τα επίπεδα του TNF-α τα επίπεδα της IGF-1 μειώνονταν. Από την ανασκόπηση της παρούσας έρευνας δεν βρέθηκαν άλλα σχετικά



άρθρα, ενώ από αυτά που βρέθηκαν διαπιστώνεται ότι το θέμα αυτό χρειάζεται περισσότερη μελέτη.

### *Αλλαγές στη δομή και μικροδομή των μυών των ηλικιωμένων ατόμων*

Η ανάλυση της εγκάρσιας επιφάνειας (CSA) των μυϊκών ινών μπορεί να μας τροφοδοτήσει με σημαντικές πληροφορίες για την δομή, την λειτουργικότητα και τις μεταβολικές δραστηριότητες που συμβαίνουν στο ανθρώπινο μυϊκό σύστημα (Cerniglia et al., 2007). Στην έρευνα των Hedstrom και συνεργάτες (2007), διαπιστώθηκε ότι η ηλικία και το φύλο προκαλούν διαφοροποίηση στη δομή και στη λειτουργικότητα ολόκληρου του σκελετικού μυός. Η μείωση της δύναμης, που στα ηλικιωμένα άτομα, οι συγγραφείς την αποδίδουν στη μείωση του αριθμού και της εγκάρσιας επιφάνειας που παρατηρείτε στις ίνες τύπου II. Το μέγεθος και ο αριθμός των ινών τύπου II είναι πολύ σημαντικός για την παραγωγή ισχύος (force). Αυτό διότι οι ίνες τύπου II παράγουν μεγαλύτερη ισχύ από αυτές του τύπου I (Bottinelli et al., 1996). Όπως έχει προαναφερθεί σε προηγούμενο κεφάλαιο της παρούσας έρευνας, η ηλικιακά συσχετιζόμενη μυϊκή ατροφία είναι συνδυασμός της μείωσης του μεγέθους και του αριθμού των μυϊκών ινών, κυρίως των ινών τύπου Ια (Thompson, 1994).

Οι πρωτεΐνες είναι ο βασικός δομικός και λειτουργικός παράγοντας των μυών. Μάλιστα περίπου το 20% του βάρους του μυός είναι πρωτεΐνες. Η ατροφία και στη συνέχεια η σαρκοπενία, όπως προαναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, είναι η μείωση της μάζας του μυός και η αντικατάσταση του με λίπος (Flynn et al., 1992). Το περιεχόμενο των μυών σε πρωτεΐνες καθορίζεται ανάμεσα στην ισορροπία μεταξύ της πρωτεϊνοσύνθεσης και της πρωτεϊνοδιάλυσης. Οπότε σημαντικός παράγοντας, τόσο στην εμφάνιση της ατροφίας όσο και στην εξέλιξη της διαδραματίζουν οι αλλαγές που λαμβάνουν χώρα και επηρεάζουν τον πρωτεϊνικό μεταβολισμό, που περιλαμβάνει την πρωτεϊνοσύνθεση και την πρωτεϊνοδιάλυση (Toth et al., 2005). Αρκετές έρευνες πάνω σε ανθρώπους έχουν δείξει ότι η πρωτεϊνοσύνθεση μειώνεται με την πάροδο των ετών (Balagopal et al., 1997; Hasten et al., 2000; Rooyackers et al., 1996; Yarasheski et al., 1993; Welle et al., 1993).

Σε αντίθεση με τις παραπάνω διαπιστώσεις, οι Kimball και συνεργάτες (2004), διαπίστωσαν ότι στα ηλικιωμένα ποντίκια η αναβολική δράση των πρωτεϊνών στους μύες τους προάγεται την ίδια στιγμή που η μάζα των μυών ελαττώνεται. Αυτό το γεγονός το απέδωσαν στην προσπάθεια των μυϊκών κυττάρων να διατηρήσουν την μάζα τους καθώς

οι καταβολικές δραστηριότητες που λαμβάνουν χώρα οδηγούν στη μείωση της. Δυστυχώς μέσα από το άρθρο τους δεν δόθηκαν πληροφορίες για το τι επηρεάζει τον μυ και δεν μπορεί να ενσωματώσει τις πρωτεΐνες που διαθέτει, και ούτε βρέθηκαν άλλες σχετικές έρευνες.

***Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων***

Οι Gerasimovskaya και συνεργάτες (2005) πραγματοποίησαν μια έρευνα για να διαπιστώσουν τον ρόλο του εξωκυτταρικού ATP στην ενεργοποίηση των AKT, mTOR, p70S6k και S6. Μέσα από τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας βρέθηκε ότι το εξωκυττάριο ATP ενεργοποιεί την PI3K- $\beta$ , η οποία με την σειρά της ενεργοποιεί την AKT με αποτέλεσμα την αύξηση της τελευταίας. Από την έρευνα αυτή παρατηρήθηκε αύξηση της ενεργοποίησης της mTOR και της p70S6k. Αυτό το αποδίδουν σαν ανταπόκριση των προηγούμενων στην ATP. Όμως δεν βρέθηκε άλλο άρθρο σχετικά με αυτό το θέμα.

Η μείωση της IGF-I, που παρατηρείται να υφίσταται με το πέρας των ετών, πιθανότατα έχει άμεση σχέση με την μυϊκή ατροφία, διότι η IGF-I ενεργοποιεί τα μονοπάτια της AKT και τη διαδικασία της μυϊκής υπερτροφίας, μέσω της ενεργοποίησης της ρυθμιστικών παραγόντων, που ευθύνονται για την μετάφραση των πρωτεϊνών (Rommel et al., 2001).

Ωστόσο σύμφωνα με τον Proud (2002) η ενεργοποίηση της mTOR, και στη συνέχεια όλων των παρακάτω βημάτων, μπορεί να πραγματοποιηθεί και χωρίς την παρέμβαση της AKT, μέσω της επίδρασης των αμινοξέων. Στο συμπέρασμα αυτό κατέλειψαν και μια σειρά από έρευνες πάνω σε ηλικιωμένα ποντίκια, οι οποίες σταματώντας την δράση της AKT, παρατήρησαν αύξηση της φωσφορυλίωσης της mTOR και της p70S6k (Hornberger et al., 2004; Hornberger et al., 2006). Παράλληλα άλλη μια σειρά από έρευνες διαπίστωσαν ότι ακόμα και με την ολική απουσία της AKT υπάρχει ενεργοποίηση της mTOR και της p70S6k (Blomstrand et al., 2006; Eliasson et al., 2006; Fujita et al., 2007; Mascher et al., 2007; Parkington et al., 2003).

Από τα παραπάνω γεννάται το ερώτημα για το ποιοί είναι οι μηχανισμοί που επενεργούν και είτε ενεργοποιούν είτε παρακάμπτουν την AKT από την διαδικασία της μεταγραφής. Μέσα από την ανασκόπηση της παρούσας έρευνας δεν έγινε δυνατόν να καταλήξουμε σε μια απάντηση για αυτή την ερώτηση. Ίσως μια εξήγηση για την διαφοροποίηση που γίνεται με την AKT, στην συμμετοχή της ή όχι στη μεταγραφή

δηλαδή, είναι και οι διάφορες ισομορφές που έχει η AKT (Akt1, Akt2, Akt3) και που είναι παρόν μέσα στους μύες (Turinsky & Damrau-Abney, 1999). Σύμφωνα με τους Turinsky και Damrau-Abney (1999), η πιο ενεργή ισομορφή της AKT, είναι η Akt1, και από ότι φαίνεται αυτή ανταποκρίνεται περισσότερο σε καταστάσεις επιφόρτισης του μύος.

Γενικά η AKT είναι ικανή να ενεργοποιήσει τις αναβολικές και να καταστείλει τις καταβολικές διεργασίες των μυών (Leger et al., 2006). Κατά τους Haddad και Adams (2006), η AKT επηρεάζει με πολλούς τρόπους την ατροφία, είτε θετικά είτε αρνητικά. Μάλιστα διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση της AKT στους μύες των ηλικιωμένων ποντικών ήταν κατά 67% μεγαλύτερη από αυτή των νεαρών. Επίσης, έχει βρεθεί ότι σε κατάσταση ηρεμίας τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της AKT είναι υψηλότερα στα ηλικιωμένα άτομα σε σχέση με τα νεαρά. (Saini et al., 2009).

Σε ηλικιωμένα άτομα, όταν αυτά συγκρίθηκαν με νεαρότερα άτομα, διαπιστώθηκε ότι υπάρχει σημαντική μείωση στη ποσότητα των μεταγραφικών παραγόντων, όπως της mTOR, οι οποίοι είτε έμμεσα είτε άμεσα ενεργοποιούνται από την AKT (Pallafacchina et al., 2002). Μάλιστα πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι στα ηλικιωμένα άτομα, αν και υπάρχει αύξηση της συνολικής (total) AKT, δεν συμβαίνει το ίδιο με τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της, το οποίο μάλλον σημαίνει ότι υπάρχει δυσλειτουργία στην ενεργοποίηση της AKT και κατά επέκταση στη μείωση της πρωτεϊνσύνθεσης (Léger et al., 2008). Και πάλι δεν βρέθηκαν άλλα άρθρα που να αναφέρουν κάτι αντίστοιχο και δεν έχουν δοθεί οι απαραίτητες εξηγήσεις ούτε για το ποιες είναι αυτές οι δυσλειτουργίες, ούτε για το πώς ενεργούν. Παράλληλα, για τις πρωτεΐνες του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR, τα αποτελέσματα των ερευνών δεν μπορούν να δώσουν μια ξεκάθαρη εικόνα για τις μεταβολές που τους προκαλεί η αύξηση της ηλικίας.

### ***Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μοριακού μονοπατιού της MAPK στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων***

Έχει βρεθεί ότι στα ηλικιωμένα άτομα τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και της p38 να είναι σε μεγαλύτερα επίπεδα σε σχέση με τα νεαρά άτομα (Williamson et al., 2003). Ο κυριότερος λόγος είναι ότι τα επίπεδα των κυτταροκινών (cytokines), όπως ο TNF- $\alpha$ , στα ηλικιωμένα άτομα είναι σε αυξημένα επίπεδα. Όπως προαναφέραμε σε προηγούμενη παράγραφο, ο TNF- $\alpha$  ευθύνεται για την ανάπτυξη της μυϊκής ατροφίας και την μείωση των επιπέδων του IGF-1 (Kirwan et al., 2001). Ωστόσο ο TNF- $\alpha$  είναι ικανός να προκαλέσει αύξηση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και της p38



(Raingeaud et al., 1995), και ίσως αυτός είναι ο λόγος για τα υψηλότερα επίπεδα της φωσφορυλίωσης αυτών των πρωτεϊνών που παρατηρούνται σε αυτά τα άτομα. Ωστόσο, σύμφωνα με τους Williamson και συνεργάτες (2003), τα υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης δεν σημαίνουν και αντίστοιχη λειτουργικότητα αυτών των μορίων στα ηλικιωμένα άτομα. Παράλληλα τα υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών αυτών δεν έχουν διαπιστωθεί σε όλες τις έρευνες.

Τα δορυφορικά κύτταρα, όπως προαναφέραμε, είναι σε μειωμένα επίπεδα στα ηλικιωμένα άτομα (Roth et al., 2000). Η ERK 1/2 είναι ρυθμιστικός παράγοντας για τον πολλαπλασιασμό των δορυφορικών κυττάρων (Williamson et al., 2003). Σύμφωνα με τους Roth και συνεργάτες (2000), για την μείωση των επιπέδων και της λειτουργικότητας των δορυφορικών κυττάρων που παρατηρείται στα ηλικιωμένα άτομα, ευθύνονται οι αλλαγές που επέρχονται στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 με την πάροδο της ηλικίας.

Στα ηλικιωμένα άτομα παρατηρείται και μείωση, τόσο του αριθμού όσο και της αποτελεσματικότητας, των ενδοπυρηνικών μεταγραφικών παραγόντων, όπως των *myc* και *c-fos* (Williamson et al., 2003). Αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες ελέγχονται από την p90 ριβοσωμάτια S6 κινάση (p90RSK), η οποία αποτελεί μετέπειτα στόχο της ERK 1/2 (Williamson et al., 2003). Οπότε η μείωση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης και της λειτουργικότητας της ERK 1/2, οδηγεί στην μείωση της δραστηριότητας και των επιπέδων αυτών των ενδοπυρηνικών μεταγραφικών παραγόντων (Williamson et al., 2003).

Από την άλλη μεριά, η p38, αποτελεί ρυθμιστικό παράγοντα πολλών μεταγραφικών παραγόντων, όπως του Elk1 και του παράγοντα ενίσχυσης του μυϊκού κυττάρου 2 (myocyte-enhancing factor 2, σε συντομογραφία MEF2, Chen et al., 2001). Ο MEF2, μέσω συγκεκριμένων DNA θέσεων πρόσδεσης που κατέχει, ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων πολλών κρίσιμων πρωτεϊνών, όπως της μυοσφαιρίνης, της βαριάς και της ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης και τέλος της δυστροφίνης (Black & Olson, 1998). Η μείωση που παρατηρείται σε αυτές τις πρωτεΐνες στα ηλικιωμένα άτομα οφείλεται, σύμφωνα με τους Black και Olson (1998), στη μείωση της δραστηριότητας και των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38.

Όμως το μοριακό μονοπάτι της MAPK, τώρα άρχισε να ανακαλύπτετε και δεν υπάρχουν αρκετές έρευνες, είτε πάνω στα νεαρά είτε στα ηλικιωμένα άτομα. Επίσης και τα αποτελέσματα των περιορισμένων αυτών ερευνών, είναι πολλές φορές αντικρουόμενα.

### ***Μεταβολές των επιπέδων της φωσφορυλίωσης της AMPK στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων***

Σημαντικός ρυθμιστής της μυϊκής υπερτροφίας είναι η πρωτεΐνη AMPK, η οποία ενεργοποιείται όταν ο λόγος AMP/ATP είναι σε αυξημένα επίπεδα, για να μετριάσει την ενεργειακή δαπάνη (Inoki, Zhu & Guan, 2003). Έχει βρεθεί ότι στα ηλικιωμένα άτομα η ενεργειακή δαπάνη, ακόμα και σε κατάσταση ηρεμίας, είναι σε υψηλότερα επίπεδα με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του AMP να είναι σε υψηλά επίπεδα, σε αντίθεση με της φωσφοκρεατίνης που είναι σε χαμηλά (Bastien & Sanchez, 1984). Αποτέλεσμα αυτού είναι τα υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK, που παρατηρούνται σε ηλικιωμένα ποντίκια (Thomson & Gordon, 2005) και σε ηλικιωμένους άνδρες (Drummond et al., 2008).

Η AMPK, είναι σήμερα γνωστόν ότι διεγείρει την έκφραση των γονιδίων των μυϊκών λυσοσωματίων και πρωτεασωματίων, όπως του FOXO και του Atrogin-1. Επίσης είναι υπεύθυνο για την μείωση της μυϊκής πρωτεΐνης (Krawiec et al., 2007). Όπως προαναφέραμε σε προηγούμενη παράγραφο οι πρωτεΐνες όπως αυτές της οικογένειας FOXO, στα ηλικιωμένα άτομα είναι σε υψηλά επίπεδα. Σύμφωνα με τους Krawiec και συνεργάτες (2007), τα υψηλά επίπεδα αυτών των πρωτεϊνών στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων, οφείλονται στα υψηλά επίπεδα της φωσφορυλιωμένης AMPK. Ωστόσο έρευνες πάνω στο μονοπάτι της AMPK δεν είναι διαδεδομένες, με αποτέλεσμα πολλά και σημαντικά ερωτήματα να παραμένουν αναπάντητα.

### ***Διαφορές στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες***

Ένα από τα μεγαλύτερα και αναπάντητα, ακόμα, ερωτήματα πάνω στα μοριακά μονοπάτια παραγωγής πρωτεϊνών, είναι το εάν με την πάροδο της ηλικίας υπάρχουν διαφοροποιήσεις ανάμεσα στους άνδρες και στις γυναίκες. Ο λόγος είναι ότι από την μια υπάρχει ένας πολύ περιορισμένος αριθμός ερευνών που έχει ασχοληθεί με το θέμα αυτό, και από την άλλη τα συμπεράσματα των ερευνών αυτών είναι αντικρουόμενα. Άλλοι υποστηρίζουν ότι υπάρχει διαφορά και άλλοι ότι δεν υπάρχει απολύτως καμία διαφορά. Οι Smith και συνεργάτες (2008), στην έρευνα τους υποστηρίζουν ότι δεν υπάρχει καμία διαφορά στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών αυτών ανάμεσα στις ηλικιωμένες γυναίκες και στους ηλικιωμένους άνδρες, σε κατάσταση ηρεμίας. Οι Williamson και

συνεργάτες (2003), αντιθέτως διαπίστωσαν, μέσα από την δική τους έρευνα, ότι υπάρχει διαφορά ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες, στις στα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης ERK 1/2. Αυτό το αποδίδουν στο γεγονός ότι οι γυναίκες φαίνεται να είναι σε κατάσταση στρες, ακόμα και κατά την διάρκεια της ηρεμίας σε αντίθεση με τους ηλικιωμένους άνδρες. Δυστυχώς δεν βρέθηκαν άλλες έρευνες που να έχουν ασχοληθεί με το θέμα αυτό. Για τον λόγο αυτό γίνεται κατανοητό η ανάγκη για περαιτέρω έρευνα, σε μια προσπάθεια να γίνει πιο ξεκάθαρο το θέμα αυτό.

### ***Προσαρμογές της άσκηση στη δομή και μικροδομή των μυών των ηλικιωμένων ατόμων***

Μέχρι τώρα έχει διαπιστωθεί ότι μόνο οι μυϊκές ίνες οι οποίες ενεργοποιούνται και συμμετέχουν κατά την άσκηση με αντιστάσεις αναπτύσσονται (Kraemer, Fleck & Evans, 1996). Παράλληλα σημαντική υπερτροφία παρατηρείται μόνο στις μυϊκές ομάδες που ασκούνται συστηματικά (Adams, 2002), ενώ υπάρχουν αρκετές αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία για την επίδραση και τα οφέλη της άσκησης στη δομή και στη λειτουργικότητα των μυών των ηλικιωμένων (Adams et al., 1999; Hurley και Hagberg, 1998; Kraemer et al., 1996;).

Εδώ θα πρέπει να γίνει λόγος για την πεποίθηση που υπάρχει για την χαμηλής έντασης προπόνηση που θα πρέπει να γίνεται σε ηλικιωμένα άτομα. Αυτή η ένταση είναι λογική να γίνεται αν το άτομο πάσχει από κάποια σοβαρή ασθένεια, π.χ. καρδιοπάθειες (ACSM, 2002). Πολλοί ερευνητές προτείνουν ότι οι υγιείς ηλικιωμένοι είναι ικανοί να ασκηθούν σε εντάσεις εφάμιλλες με αυτές των νεαρών ατόμων, τόσο κατά την διάρκεια της αερόβιας προπόνησης όσο και κατά την αναερόβια προπόνηση (Kraemer, Fleck & Evans, 1996; Rogers & Evans, 1993). Άλλη μια έρευνα που έρχεται να αναδείξει τα σημαντικά οφέλη που αποκομίζουν τα ηλικιωμένα άτομα όταν εκτελούν άσκηση με αντιστάσεις με υψηλή ένταση είναι αυτή των Beneka και συνεργάτες (2005). Στην έρευνα αυτή διαπιστώθηκε ότι τα ηλικιωμένα άτομα, που συμμετείχαν στην ομάδα που πραγματοποιούσε άσκηση με αντιστάσεις υψηλής έντασης (3 φορές την εβδομάδα για 16 εβδομάδες), είχαν μεγαλύτερη αύξηση της μυϊκής δύναμης στους εκτεινόντας του γονάτου. Σημαντικό είναι να ληφθεί υπόψη, όμως, τα συμπεράσματα που έχουν αναφέρει πολλοί ερευνητές, δηλ. ότι οι μύες των ηλικιωμένων είναι πιο ευπαθείς σε τραυματισμούς σε σχέση με των νεαρών (Fielding et al., 1991; Manfredi et al., 1991; Roth et al., 2000),

οπότε χρειάζεται μεγάλη προσοχή κατά την εφαρμογή ενός τέτοιου προγράμματος άσκησης στα ηλικιωμένα άτομα.

Οι επιδράσεις όμως της άσκησης δεν είναι πάντα οι ίδιες. Εξαρτώνται από την διάρκεια, την ένταση, την συχνότητα και το είδος της άσκησης (Adams et al., 1999). Οι Coggan και συνεργάτες (1992), ύστερα από αερόβια συστηματική προπόνηση διάρκειας 10 μηνών σε ηλικιωμένα άτομα 60 έως 70 ετών, διαπίστωσαν αύξηση στην εγκάρσια επιφάνεια των ινών τύπου I κατά 12%, των ινών τύπου IIa κατά 6% στους άνδρες και κατά 18% στις γυναίκες και τέλος στις ίνες τύπου IIx κατά 12% στους άνδρες και κατά 9% στις γυναίκες.

Η προπόνηση με αντιστάσεις φαίνεται να κατέχει κυρίαρχο λόγο στην αναστροφή της ατροφίας και των συνεπακόλουθών της. Έρευνες σε ηλικιωμένους, από 60 έως 97 ετών, έχουν αναδείξει τις προσαρμογές της προπόνησης με βάρη στη αύξηση της εγκάρσιας επιφάνειας των μυϊκών ινών καθώς και στην ανάπτυξη της δύναμης (Hakkinen et al., 1998; Harridge, Kryger & Stensgaard, 1999). Η προπόνηση με βάρη αντιστρέφει τη μείωση τόσο του όγκου όσο και των αριθμών των μυϊκών ινών, τόσο σε επίπεδο ολόκληρου του μυός (Ivey et al., 2000; Tracy et al., 1999) όσο και σε επίπεδο μυοϊνιδίων (Fiatarone-Singh et al., 1999; Hakkinen et al., 1998; Hikida et al., 1998) στα ηλικιωμένα άτομα, και μάλιστα μεγαλύτερα αποτελέσματα έχουμε με την «βαριά» προπόνηση δύναμης.

Οι Taaffe και συνεργάτες (1996), ύστερα από προπόνηση με αντιστάσεις, χαμηλής έντασης με πολλές επαναλήψεις, διάρκειας 52 εβδομάδων που πραγματοποίησαν σε ηλικιωμένες γυναίκες, διαπίστωσαν ότι μπορεί να γίνει υπερτροφία των μυϊκών ινών. Μάλιστα οι ίνες τύπου I αυξάνουν περισσότερο την εγκάρσια επιφάνεια τους (CSA) σε σχέση με τις ίνες τύπου II. Αυτή η αύξηση ήταν μάλιστα, εφάμιλλη με αυτή που παρατηρείται στα νεαρά άτομα. Σε αντίθετα όμως συμπεράσματα κατέλειψαν οι Kosek και συνεργάτες (2006), όταν μετά από συστηματική άσκηση με αντιστάσεις διάρκειας 16 εβδομάδων, δεν διαπίστωσαν καμία σημαντική αύξηση στην εγκάρσια επιφάνεια των ινών τύπου I στους ηλικιωμένους ασκούμενους, ενώ παράλληλα η αύξηση που παρατηρήθηκε στις ίνες τύπου II ήταν σαφώς μικρότερη από αυτή των νεαρών ατόμων. Αναφέρουν όμως ότι δεν θα πρέπει να παραληφθεί το γεγονός ότι μέσα σε αυτό το διάστημα που εφαρμόστηκε η συγκεκριμένη άσκηση, το μέγεθος των ινών τύπου II έφτασαν το μέγεθος των αντίστοιχων των νεαρών πριν την έναρξη του παρεμβατικού προγράμματος. Παρομοίως, οι Moritani και De Vries (1980) ύστερα από προπόνηση με αντιστάσεις

διάρκειας 9 εβδομάδων παρατήρησαν μια σημαντική αύξηση στην εγκάρσια επιφάνεια των νεαρών ατόμων, της τάξης του 9.1%, ενώ δεν διαπίστωσαν σημαντική αύξηση στα ηλικιωμένα άτομα. Ωστόσο, μέσα από την βιβλιογραφία βρέθηκαν μερικές έρευνες οι οποίες αναφέρουν την ύπαρξη υπερτροφίας σε όλους τους τύπους των μυϊκών ινών (Green et al., 1999; Hakkinen et al., 2001; Trappe et al., 2000).

Στην έρευνα των Lexell και συνεργάτες (1995), οι οποίοι πραγματοποίησαν βαριά προπόνηση με αντιστάσεις σε ηλικιωμένους, διαπιστώθηκε ότι υπάρχει διαφορετική ανταπόκριση των μυών του πάνω μέρους του σώματος με αυτών του κάτω μέρους. Σημαντικό ήταν και το εύρημα τους το οποίο φανέρωσε ότι τόσο η βραχυχρόνια όσο και η μακροχρόνια προπόνηση με αντιστάσεις προκαλούν σημαντική αύξηση της δύναμης στους ηλικιωμένους.

Οι Lemmer και συνεργάτες (1999), διαπίστωσαν ότι μέσα από προπόνηση με βάρη διάρκειας 9 εβδομάδων υπήρχε μικρή αύξηση της μέγιστης δύναμης στα ηλικιωμένα άτομα. Αυτό το αποδίδουν στο γεγονός της μείωσης του αριθμού των ινών τύπου II, καθώς και του μεγέθους τους με την πάροδο των ετών. Οι Lexell και συνεργάτες (1995) διαπίστωσαν ωστόσο μια επιλεκτική αύξηση του μεγέθους των ινών τύπου II των ηλικιωμένων, ως ανταπόκριση τους στη προπόνηση δύναμης, ενώ οι Taaffe και Marcus (1997) διαπίστωσαν αύξηση του μεγέθους των ινών και των δύο τύπων.

Μέσα από την ανασκόπηση της παρούσας έρευνας, διαπιστώθηκε ότι τα συμπεράσματα των διάφορων ερευνών πάνω στο θέμα αυτό είναι αντικρουόμενα. Αποτέλεσμα αυτού είναι να μην υπάρχει μια σαφής εικόνα για τις προσαρμογές της άσκησης, και συγκεκριμένα της άσκησης με αντιστάσεις, και των μηχανισμών που σχετίζονται πάνω σε αυτό το θέμα. Οπότε γίνεται κατανοητή η αναγκαιότητα περαιτέρω έρευνας πάνω σε αυτό το θέμα.

### ***Προσαρμογές της άσκησης στο μοριακό μονοπάτι της AKT- mTOR***

Οι Minghua, Chunmei και Parkhouse (2003) διαπίστωσαν ότι υπάρχει μια μείωση της φωσφορυλίωσης της AKT με την πάροδο των ετών, σε ποντίκια. Σημαντική είναι και η διαπίστωση που έκαναν ότι η IGF-I ήταν ικανή να αυξήσει την φωσφορυλίωση της AKT, στο ίδιο επίπεδο με τα νεαρά ποντίκια, ακόμα και αν τα επίπεδα της IGF-I μειώνονται με την πάροδο των ετών. Το μονοπάτι της AKT-mTOR έχει χαρακτηριστεί σαν σημαντικός παράγοντας που συμβάλει στην υπερτροφία των μυών (Hornberger et al., 2004). Παράλληλα πρόσφατες έρευνες σε ανθρώπους έχουν δείξει την συμβολή της AKT,



ως κλειδί στη ρύθμιση της πλαστικότητας των μυών ύστερα από άσκηση (Cuthbertson et al., 2006; Eliasson et al., 2006; Karlsson et al., 2004). Από την άλλη τα συμπεράσματα για την ρύθμιση της AKT από την άσκηση είναι λίγο αντικρουόμενα. Υπάρχουν έρευνες οι οποίες αναφέρουν είτε θετική είτε αρνητική προσαρμογή της δραστηριότητας της AKT στην άσκηση (Blomstrand et al., 2006; Terzis et al., 2008) και άλλες που δεν αναφέρουν καμία αλλαγή (Coffey et al., 2006; Deshmukh et al., 2006; Eliasson et al., 2006). Απάντηση σε αυτό προσπάθησαν να δώσουν οι Deldicque και συνεργάτες (2008), σε έρευνα που έκαναν σε νεαρά άτομα. Αυτό που διαπίστωσαν ήταν ότι υπάρχει μια «παρεμπόδιση» της φωσφορυλίωσης της AKT, όταν εκτελείται άσκηση με αντιστάσεις. Παράλληλα, οι Terzis και συνεργάτες (2008) διαπίστωσαν μείωση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της AKT, 30 λεπτά μετά από την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων σε νεαρά άτομα. Αντίθετα, στην έρευνα των Kubica και συνεργάτες (2005), διαπιστώθηκε ότι ύστερα από άσκηση με αντιστάσεις τα παραπάνω μονοπάτια ενεργοποιήθηκαν, διότι υπήρξε αύξηση της δραστηριότητας της PI3K, καθώς και των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των AKT, mTOR, p70S6K και της ριβοσωμάτιας πρωτεΐνης S6.

Έχει διαπιστωθεί ότι η αερόβια προπόνηση που εφαρμόστηκε σε ηλικιωμένα ποντίκια για 3 μήνες προκάλεσε αύξηση της φωσφορυλίωσης της AKT και αύξηση της έκφρασης της AKT και της mTOR. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέλειψαν οι Reynolds και συνεργάτες (2004), οι οποίοι αναφέρουν ότι η αερόβια άσκηση μπορεί να προλάβει, ακόμα και να αναστρέψει την ηλικιακά συσχετιζόμενη μείωση του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης.

Έχει βρεθεί ότι η AKT και η p70S6k αυξάνονται ύστερα από άσκηση, και μάλιστα αυτή η άνοδος εμφανίζεται πριν την αύξηση του ρυθμού της σύνθεσης των πρωτεϊνών, που γίνεται ύστερα από άσκηση (Rennie, 2005). Κατά τους Atherton και συνεργάτες (2005), οι οποίοι ενεργοποίησαν μύες ποντικών με ηλεκτρικό ρεύμα, η μεγάλης έντασης σύσπαση των μυών ενεργοποιεί την δραστηριότητα της AKT, η οποία προκαλεί αύξηση της φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης TSC2 και την ενεργοποίηση των μονοπατιών της mTOR, με αποτέλεσμα την σημαντική αύξηση του ρυθμού της πρωτεϊνοσύνθεσης στα μυοϊνίδια.

Οι Leger και συνεργάτες (2006) μέσα από την έρευνα τους διαπίστωσαν ότι σε ένα μυ στον οποίο έχει γίνει προπόνηση με αντιστάσεις με σκοπό την υπερτροφία, η ενεργοποίηση της AKT και των παρακάτω στόχων της, όπως της GSK-3β και της mTOR, ήταν σε υψηλά επίπεδα, σε αντίθεση με την δραστηριότητα των παραγόντων που



ευθύνονται για την ατροφία των μυών, όπως ο FOXO1. Αυτό όμως βρέθηκε να συμβαίνει σε νεαρά άτομα, ηλικίας περίπου 35 ετών, ενώ δεν βρέθηκε καμία έρευνα πάνω στο θέμα αυτό για τα ηλικιωμένα άτομα.

Όπως προαναφέρθηκε και σε προηγούμενη παράγραφο, η ενεργοποίηση της mTOR και της p70S6k μπορεί να πραγματοποιηθεί και χωρίς την παρέμβαση της AKT, χωρίς όμως να δίνετε μια ακριβής απάντηση για τον μηχανισμό με τον οποίο γίνεται αυτό. Πάντως, μέσα από τα αποτελέσματα ερευνών, διαπιστώθηκε ότι για να ενεργοποιηθεί η AKT χρειάζεται να εφαρμοστεί μια έντονη μηχανική επιφόρτιση στους μύες (Atherton et al., 2005; Dreyer et al., 2006; Sakamoto et al., 2002;). Αυτή η διαπίστωση όμως έρχεται σε αντίθεση με την άποψη άλλων ερευνητών, οι οποίοι μέσα από τις έρευνες τους κατέλειψαν στο συμπέρασμα ότι ύστερα από έντονη άσκηση με αντιστάσεις δεν διαπιστώθηκε καμία αλλαγή στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της AKT (Coffey et al., 2005; Deshmukh et al., 2006; Eliasson et al., 2006; Terzis et al., 2008).

Σε έρευνα που έγινε πάνω σε νεαρά ποντίκια διαπιστώθηκε ότι μετά από οξεία άσκηση με αντιστάσεις το μονοπάτι της AKT-mTOR παρουσίαζε άμεση ανταπόκριση στην επιβάρυνση των μυών, με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς τους (Bolster et al., 2003). Σε ίδιο συμπέρασμα κατέλειψαν και οι Bodine και συνεργάτες (2001), που στην έρευνα τους χρησιμοποιώντας υψηλής συχνότητας ηλεκτρική διέγερση, ικανή να προκαλέσει υπερτροφία των μυών, διαπίστωσαν ότι υπήρχε σημαντική αύξηση της AKT, περίπου κατά 266% από την αντίστοιχη της ομάδας ελέγχου.

Αν και, η AKT φωσφορυλιώνει την mTOR στη θέση Ser<sup>248</sup>, όπου αυτή η φωσφορυλίωση σχετίζεται με την υπερτροφία των μυών ύστερα από μακροχρόνια επιφόρτιση των μυών (Reynolds et al., 2002), οι Bolster και συνεργάτες (2003) αναφέρουν στη δικιά τους έρευνα, πάνω σε ποντίκια, ότι δεν είχαν καμία ένδειξη ότι κάτι τέτοιο συμβαίνει αμέσως μετά από οξεία άσκηση με αντιστάσεις.

Σύμφωνα με τους Parkington και συνεργάτες (2003) υπάρχει αύξηση της φωσφορυλίωσης της mTOR, η οποία μάλιστα σχετίζεται με αυτήν της p70S6k, χωρίς όμως να συνδέεται με την αύξηση των επιπέδων της AKT. Στο συμπέρασμα αυτό κατέλειψαν ύστερα από ηλεκτρική διέγερση των μυών νεαρών ποντικών. Επίσης αναφέρουν ότι η σημαντική αύξηση της φωσφορυλίωσης της mTOR εντοπιζόταν σε μεγαλύτερο βαθμό στις ίνες τύπου Ια. Αυτό το αποδίδουν στο γεγονός ότι μάλλον αυτός ο τύπος των μυϊκών ινών, ανταποκρίνεται σε μεγαλύτερο βαθμό στην υπερτροφία. Διαπιστώνεται δηλαδή να υπάρχει επιλεκτική δραστηριότητα της mTOR. Παράλληλα έχει διαπιστωθεί σε

άνθρωπους ότι παρόμοια επιλεκτική δραστηριότητα έχει και η φωσφορυλίωση της S6, όπου και αυτή φάνηκε να είναι πιο αυξημένη στις μυϊκές ίνες τύπου II (Koopman et al., 2006). Η προηγούμενη διαπίστωση όμως έγινε σε νεαρούς άνδρες. Οπότε δημιουργούνται τα ερωτήματα για το εάν η mTOR και η p70S6k έχουν επιλεκτική δραστηριότητα στον άνθρωπο, αν υπάρχει διαφορά ανάμεσα στις μυϊκές ίνες τύπου IIa και IIx και τέλος αν συμβαίνει το ίδιο και στα ηλικιωμένα άτομα.

Έχει διαπιστωθεί ότι τόσο η άμεση όσο και η χρόνια άσκηση έχουν επίδραση στην αύξηση της φωσφορυλίωσης της mTOR και του μετέπειτα στόχου της, την p70S6k (Bodine et al., 2001; Bolster et al., 2003; Reynolds, Bodine & Lawrence, 2002; Parkington et al., 2003). Η δραστηριότητα της p70S6k ελέγχεται από πολλαπλά φωσφορυλιωτικά γεγονότα (multiple phosphorylation events, Weng et al., 1998). Οι Minghua, Chunmei και Parkhouse (2003), στην έρευνα τους πάνω σε ηλικιωμένα ποντίκια διαπίστωσαν ότι η φωσφορυλίωση της p70S6k, ήταν σημαντικά μειωμένη σε σχέση με τα νεαρά ποντίκια στους μύες, αμέσως μετά από αερόβια προπόνηση. Παράλληλα η φωσφορυλίωση της p70S6k αυξάνεται καθώς μεγαλώνει το φορτίο στο οποίο πρέπει να αντεπεξέλθει ο μυς, με αποτέλεσμα την αύξηση της μεταφραστικής δραστηριότητας (Adams, Caiozzo, Haddad & Baldwin, 2002). Έχει βρεθεί ότι ακόμα και μετά από σύντομη συστολή των μυών, η φωσφορυλίωση της p70S6k αυξάνεται και μάλιστα αυτή η αύξηση συνδέεται στενά με την αύξηση του μυϊκού όγκου, ύστερα από συστηματική άσκηση 6 εβδομάδων (Bodine et al., 2001; Bolster et al., 2003; Reynolds, Bodine & Lawrence 2002; Parkington et al., 2003) και ύστερα από 16 εβδομάδες (Terzis et al., 2008).

Οι Baar και Esser (1999) διαπίστωσαν, σε ποντίκια, ότι ανάλογα με το είδος της άσκησης υπάρχει και διαφορετική επίδραση στα σηματοδοτικά μονοπάτια. Παράλληλα αναφέρουν και ότι υπάρχουν διαφοροποιήσεις στις επιδράσεις της άσκησης στους μύες και ότι δεν ανταποκρίνονται όλοι οι μύες του σώματος με τον ίδιο τρόπο. Συγκεκριμένα σύγκριναν 3 διαφορετικά πρωτόκολλα άσκησης, ένα με υψηλής συχνότητας ηλεκτρικής διέγερσης, ένα με χαμηλής συχνότητας ηλεκτρικής διέγερσης και τέλος άσκηση με τρέξιμο. Μέσω της υψηλής διέγερσης βρέθηκε αύξηση και μεγάλη παράταση της διάρκειας της φωσφορυλίωσης της p70S6k στον πρόσθιο κνημιαίο αλλά όχι στον οπίσθιο. Κατά τους Baar και Esser (1999) η χαμηλής συχνότητας ηλεκτρική διέγερση προκάλεσε αύξηση της φωσφορυλίωσης της p70S6k στον πρόσθιο κνημιαίο έπειτα από 3 ώρες μετά την άσκηση, ενώ δεν διαπιστώθηκε καμία διαφορά σε κανέναν από τους δύο μύες που εξετάζαν μετά από σύντομη άσκηση με τρέξιμο. Αναφέρουν δε μάλιστα ότι επειδή η

p70S6k ρυθμίζεται από την AKT, τα επίπεδα της τελευταίας θα πρέπει και αυτά να αυξάνονται, χωρίς όμως να το τεκμηριώνουν με στοιχεία. Σε ίδια συμπεράσματα κατέλειψαν και οι Turinsky και Damrau-Abney (1999). Οι Baar και Esser (1999) αναφέρουν ότι επειδή η ανταπόκριση των μυών στην άσκηση είναι ανάλογα με το είδος της άσκησης, πιθανότατα η επιλεκτική ενδοκυττάρια σηματοδότηση να είναι ο μηχανισμός ρύθμισης των συγκεκριμένων επιδράσεων της άσκησης στους μύες.

Σύμφωνα με τους Hernandez, Fedele και Farrell (2000), η p70S6k και η πρωτεϊνοσύνθεση, είχαν αυξημένη δραστηριότητα 24 ώρες μετά από άσκηση με υψηλής έντασης αντιστάσεις. Ωστόσο θα πρέπει να σημειωθεί ότι η παραπάνω έρευνα έγινε σε ποντίκια, ενώ δεν βρέθηκαν σχετικά άρθρα πάνω σε ανθρώπους και ιδιαίτερα σε ηλικιωμένους.

Εκτός από το είδος της άσκησης, διαφορετική επίδραση έχει και το είδος της κίνησης που εκτελεί ένα άτομο στο ποσοστό ενεργοποίησης της p70S6k. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέλειψαν οι Eliasson και συνεργάτες (2006), αφού σύγκριναν την επίδραση της μέγιστης έκκεντρης και σύγκεντρης άσκησης πάνω στην p70S6k. Αυτό που διαπίστωσαν είναι ότι η μέγιστη έκκεντρη είναι πιο αποτελεσματική στην ενεργοποίηση της p70S6k. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύει και τα αποτελέσματα της έρευνας των Nader και Esser (2001), οι οποίοι διαπίστωσαν ακριβώς το ίδιο πάνω σε πειραματόζωα. Όμως δεν κατέστη δυνατόν να βρεθεί κάποια παρόμοια έρευνα πάνω στα ηλικιωμένα άτομα.

Παράλληλα ανάλογα και με τον τύπο των μυών που ασκούνται, προκαλούνται διαφορετικές αναβολικές ανταποκρίσεις στις μυϊκές ίνες (Mittendorfer et al., 2005; Trappe, Raue & Tesch, 2004). Αυτό διαφαίνεται και μέσα από μια σειρά ερευνών, πάνω σε ποντίκια, όπου η φωσφορυλίωση των AKT, mTOR και p70S6k, μετά από άσκηση με αντιστάσεις διαπιστώθηκε να είναι πιο έντονη σε μύες όπου τους χαρακτηρίζει η μεγάλη αναλογία των ινών τύπου II (Baar και Esser, 1999; Parkington et al., 2003; Sakamoto et al., 2003) σε αντίθεση με τους μύες με μεγάλη αναλογία σε ίνες τύπου I (Parkington et al., 2003). Οι Parkington και συνεργάτες (2003) διαπίστωσαν ότι στον πελματικό μυ ηλικιωμένων ποντικίων, η ενεργοποίηση είναι άμεση και διαρκεί για 6 ώρες, σε αντίθεση με τον πρόσθιο κνημιαίο που χρειάζεται να περάσουν 6 ώρες μέχρι την ενεργοποίηση, ύστερα από ένα ερέθισμα.

Στην έρευνα τους οι Parkington και συνεργάτες (2004), διαπίστωσαν ότι η φωσφορυλίωση της mTOR και της p70S6k αυξάνεται ύστερα από σύντομη άσκηση σε ηλικιωμένα ποντίκια. Όμως αυτή η αύξηση είναι σημαντικά μικρότερη από αυτή που

παρατηρείται στα νεαρά άτομα. Αναφέρουν μάλιστα ότι από τα αποτελέσματα της έρευνα τους γίνεται κατανοητό ότι με την πάροδο των ετών η αναβολική δράση που προκαλεί στους σκελετικούς μύες η σύντομη άσκηση, μειώνεται και μάλλον αυτή είναι η εξήγηση για την περιορισμένη ικανότητα για υπερτροφία του ηλικιωμένου μυ.

Στην έρευνα των Terzis και συνεργάτες (2008), διαπιστώθηκε ότι ακόμα και μετά από μια προπόνηση με αντιστάσεις, αυξάνονται τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της p70S6k στα νεαρά άτομα και ότι αυτή η αύξηση έχει άμεση σχέση με το ποσοστό της αύξησης του μυϊκού όγκου και της επίδοσης, που προκαλείται ύστερα από συστηματική προπόνηση με αντιστάσεις. Στο συμπέρασμα αυτό κατέλειψαν όταν διαπίστωσαν ότι όσο μεγαλύτερα είναι τα επίπεδα της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, ύστερα από την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων στην αρχή ενός συστηματικού προγράμματος τέτοιου είδους, τόσο μεγαλύτερη ήταν η αύξηση του ποσοστού της άλυπης μάζας, της 1 MAE και τέλος της εγκάρσιας επιφάνειας των μυϊκών ινών τύπου Ια, που παρατηρήθηκαν ύστερα από την ολοκλήρωση του παρεμβατικού προγράμματος που εκτέλεσαν τα άτομα του δείγματος μετά από 14 εβδομάδες. Αυτό ίσως να αποδεικνύει μια σχέση ανάμεσα στη p70S6k και στις μυϊκές ίνες τύπου ΙΙ. Δυστυχώς δεν βρέθηκε καμία αναφορά για το εάν συμβαίνει το ίδιο στα ηλικιωμένα άτομα, και παραμένει αναπάντητο το ερώτημα αν υπάρχει κάποια τέτοια προσαρμογή και συσχέτιση στα ηλικιωμένα άτομα.

Οι Morris, Spangenburg και Booth (2004) διαπίστωσαν ότι υπάρχει μείωση της φωσφορυλίωσης της S6 σε ηλικιωμένα ποντίκια ύστερα από επιβάρυνση του μυός. Αποτέλεσμα αυτής της μείωσης, είναι ο περιορισμός των αναβολικών διεργασιών των μυών. Σε αντίθετο συμπέρασμα όμως κατέληξαν οι Haddad και Adams (2006), οι οποίοι αναφέρουν ότι η φωσφορυλίωση της S6, ήταν παρόμοια τόσο σε νεαρά ποντίκια, όσο και σε ηλικιωμένα, ακόμα και μετά από 24 ώρες. Έπειτα όμως από τις 48 ώρες η φωσφορυλίωση της S6 ήταν αυξημένη μόνο στα ηλικιωμένα ποντίκια. Δυστυχώς δεν κατέσται δυνατόν να βρεθεί κάποιο σχετικό άρθρο που να αναφέρεται στο τι γίνεται στο ανθρώπινο σώμα.

### ***Προσαρμογές του μοριακού μονοπατιού της MAPK κατά την άσκηση***

Το μονοπάτι της MAPK, όπως προαναφέραμε είναι σημαντικός ρυθμιστής της μορφοποίησης και της υπερτροφίας του μυός. Έχει διαπιστωθεί ότι ακόμα και μετά από μια προπόνηση σε εργοποδήλατο, τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και της p38 αυξήθηκαν στα νεαρά άτομα (Osman et al., 2000). Την ίδια διαπίστωση έκαναν και οι



Yu και συνεργάτες (2001) σε νεαρά άτομα τα οποία συμμετείχαν σε αγώνα μαραθωνίου. Σημαντική επίσης είναι η διαπίστωση των Widegren και συνεργάτες (1998), ότι η αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 συμβαίνει μόνο στο ασκούμενο πόδι σε αντίθεση με την αύξηση της φωσφορυλίωσης της p38. Αυτό σημαίνει ότι η αύξηση των επιπέδων της ERK 1/2, φαίνεται να είναι τοπική και όχι σε όλο το σώμα των ασκούμενων.

Σύμφωνα με τους Widegren και συνεργάτες (1998), η αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών αυτών έχει άμεση σχέση με τις επαναλήψεις και την ένταση της άσκησης, όσο και με την διάρκεια της. Σύμφωνα με τους Boppart και συνεργάτες (1999), σημαντικό ρόλο στην αύξηση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των ERK 1/2 και p38, έχει και ο τύπος της άσκησης, με την έκκεντρη προπόνηση να προκαλεί μεγαλύτερη αύξηση έναντι της σύγκεντρης στα νεαρά άτομα. Έχει βρεθεί ότι η σύγκεντρη άσκηση δεν προκάλεσε αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38 σε ποντίκια (Wretman et al., 2001). Τέλος έχει βρεθεί ότι και η φυσική κατάσταση των δοκιμαζόμενων επηρεάζει την αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38. Στην διαπίστωση αυτή κατέληξαν οι Yu και συνεργάτες (2003) όταν σύγκριναν αγύμναστα και γυμνασμένα νεαρά άτομα. Όμως μέσα από την ανασκόπηση της παρούσας έρευνας δεν βρέθηκαν άλλες τέτοιες αναφορές, όπως και δεν βρέθηκε κανένα σχετικό άρθρο για τα ηλικιωμένα άτομα.

Η οξεία άσκηση με αντιστάσεις, έχει διαπιστωθεί να επηρεάζει άμεσα τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERK 1/2 και p38 στα νεαρά άτομα (Williamson et al., 2003), ύστερα από την εφαρμογή ενός πρωτοκόλλου έκκεντρης άσκησης. Οι Williamson και συνεργάτες (2003) διαπίστωσαν ότι η έκκεντρη άσκηση προκαλεί αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και όχι της p38. Σε αντίθετα συμπεράσματα για την επίδραση της άσκησης στην p38, κατέληξαν οι Karlsson και συνεργάτες (2004), που ύστερα από έντονη άσκηση διαπίστωσαν σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 αλλά και της p38. Για τα διαφορετικά αποτελέσματα ανάμεσα σε αυτές τις δύο έρευνες, οι Karlsson και συνεργάτες (2004) το αποδίδουν στον διαφορετικό τύπο άσκησης (έκκεντρη-σύγκεντρη).

Στα ηλικιωμένα άτομα όμως, μετά από άσκηση με αντιστάσεις, βρέθηκε ότι τα επίπεδα της ERK 1/2 και της p38 μειώθηκαν σε σχέση με τα νεαρά άτομα (Williamson et al., 2003). Ωστόσο, αυτά τα συμπεράσματα μπορεί να μην είναι τόσο αντιπροσωπευτικά για τον πληθυσμό αυτό, διότι τα δείγματα ιστού συλλέχτηκαν, περίπου 2 λεπτά μετά την τελευταία επανάληψη. Μέσα από την έρευνα των Sun, Charles, Lau και Tonks (1993), έχει βρεθεί ότι οι τιμές της φωσφορυλιωμένης p38, κορυφώνονται στα 30 λεπτά μετά την

άσκηση, ενώ βρίσκουν «πλατό» στην μια ώρα μετά την άσκηση (Widegren et al., 1998), οπότε γίνεται κατανοητό ότι οι Williamson και συνεργάτες (2003), σύλλεξαν τα δείγματα τους σε πολύ μικρό χρονικό διάστημα.

Μέσα από μια άλλη έρευνα, διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και p38 δεν μεταβλήθηκαν, ακόμα και 3 ώρες μετά την άσκηση με αντιστάσεις στα ηλικιωμένα άτομα (Drummond et al., 2008). Σύμφωνα με τους συγγραφείς, αυτό συμβαίνει διότι στα ηλικιωμένα άτομα υπάρχει μείωση τόσο του αριθμού όσο και της εγκάρσιας επιφάνειας των μυϊκών ινών τύπου II. Φαίνεται ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μοριακού μονοπατιού της MAPK, εξαρτώνται τόσο από την ένταση της άσκησης όσο και από τον αριθμό και το μέγεθος των μυϊκών ινών τύπου II (Sheffield-Moore et al., 2005; Shi et al., 2007)

Σε αντίθετα αποτελέσματα κατέληξαν οι Parkington και συνεργάτες (2004), όταν μελέτησαν την επίδραση της άσκησης με αντιστάσεις στο μοριακό αυτό μονοπάτι σε ηλικιωμένα πειραματόζωα. Αυτό που διαπίστωσαν ήταν ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 αυξήθηκαν αμέσως μετά την άσκηση.

Από την ανασκόπηση της βιβλιογραφίας πάνω στο θέμα αυτό δεν βρέθηκαν άλλα άρθρα που να εξετάζουν την επίδραση της άσκησης αντιστάσεων στο μοριακό μονοπάτι της MAPK, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα. Επίσης δεν υπάρχουν πληροφορίες για το εάν υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. Οποτε παραμένει ένα ανοικτό ακόμα θέμα, με πολλά ερωτήματα να περιμένουν μια απάντηση.

### ***Προσαρμογές της AMPK κατά την άσκηση***

Ένα από τα πιο ανεξερεύνητα θέματα είναι η επίδραση της άσκησης στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK, τόσο στα νεαρά άτομα όσο και στα ηλικιωμένα, αν και είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζουν την μυϊκή πρωτεϊνοσύνθεση και υπερτροφία. Μέχρι σήμερα πολύ λίγα άρθρα έχουν ασχοληθεί με το θέμα αυτό.

Οι Dreyer και συνεργάτες (2006), διαπίστωσαν στην έρευνα τους ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK αυξάνονται κατά την διάρκεια της άσκησης με αντιστάσεις, την ίδια στιγμή που η μυϊκή πρωτεϊνοσύνθεση μειώνεται. Οι Drummond και συνεργάτες (2008) όμως διαπίστωσαν ότι στα ηλικιωμένα άτομα τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK ήταν σε υψηλότερα σημεία σε σχέση με τα νεαρά άτομα ακόμα και 3 ώρες μετά από άσκηση με αντιστάσεις. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Thomson και Gordon



(2005), στην έρευνα τους πάνω σε ηλικιωμένα ποντίκια. Ωστόσο, φαίνεται ότι η αύξηση της φωσφορυλίωσης της AMPK είναι μεγαλύτερη στους μύες που έχουν μεγαλύτερο ποσοστό ινών τύπου II. Σε αυτό το συμπέρασμα κατέληξαν οι Gordon και συνεργάτες (2008), όταν διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK ήταν μεγαλύτερα στους μύες με μεγαλύτερο ποσοστό ινών τύπου II, έναντι στους μύες με μεγαλύτερο ποσοστό ινών τύπου I σε ποντίκια. Την ίδια διαπίστωση κάνανε και σε ηλικιωμένα ποντίκια. Μάλιστα, η αύξηση της φωσφορυλίωσης ήταν μεγαλύτερη όσο αυξανόταν η ένταση της ηλεκτρικής διέγερσης που προκαλούσαν στους μύες των ηλικιωμένων ποντικιών.

Δυστυχώς δεν βρέθηκαν περισσότερα άρθρα πάνω στο θέμα αυτό, ούτε για τα νεαρά άτομα ούτε για τα ηλικιωμένα. Η παρούσα έρευνα στοχεύει στο να συμπληρώσει αυτό το κενό στην βιβλιογραφία.

## ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

### *Δείγμα*

Το δείγμα της παρούσας έρευνας αποτελούταν από αγύμναστους υγιείς εθελοντές, δύο κατηγοριών. α) δέκα ηλικιωμένα άτομα ( $68,9 \pm 7,9$  έτη) και β) οχτώ νεαρά άτομα ( $21,8 \pm 2,1$  έτη). Η ομάδα των ηλικιωμένων αποτελούταν από πέντε γυναίκες ( $70 \pm 7,1$  έτη) και πέντε άνδρες, ( $67 \pm 9,2$  έτη) ενώ η ομάδα των νεαρών ατόμων αποτελούταν μόνο από άνδρες. Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος φαίνονται στον πίνακα 1.

Αρχικά έγινε προφορική και γραπτή ενημέρωση για την διαδικασία που ακολουθήθηκε σε αυτήν την έρευνα και συλλέχτηκαν οι απαραίτητες πληροφορίες που χρειαζόμασταν για να εντάξουμε το άτομο στην έρευνα. Αυτό έγινε με προσωπική συνέντευξη και τα στοιχεία των ατόμων καταγράφονταν σε ατομική καρτέλα. Η καρτέλα αποτελούταν από 2 μέρη. Το πρώτο μέρος περιελάμβανε τα προσωπικά στοιχεία του κάθε ατόμου, π.χ. όνομα, ηλικία κτλ. Το δεύτερο μέρος της καρτέλας αποτελούταν από ερωτήσεις που εξέταζαν την φυσική κατάσταση του ατόμου, την κατάσταση της υγείας του, αν τυχόν ήταν υπό στενή φαρμακευτική αγωγή και τέλος αν υπήρχαν προβλήματα στους μύες και στις αρθρώσεις των κάτω άκρων ειδικότερα.

Κριτήρια εισόδου των εθελοντών στη μελέτη ήταν.

1. Οι δοκιμαζόμενοι δεν έπρεπε να πάσχουν από ορθοπεδικές και νευρομυϊκές ασθένειες, να μην είναι διαβητικοί και να μην λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή για τουλάχιστον ένα μήνα πριν την συμμετοχή τους στη μελέτη
2. Η αρτηριακή πίεση ηρεμίας των δοκιμαζομένων να μην ξεπερνά το 160/100 mmHg.
3. Ο Δείκτης Μάζας Σώματος θα πρέπει να μικρότερος του 30.
4. Να μην έχουν ή να μην παρουσιάζουν κάποιο καρδιοαναπνευστικό πρόβλημα, τόσο κατά την ηρεμία όσο και κατά την διάρκεια της μέτρησης της  $VO_2max$  τα ηλικιωμένα άτομα.

5. Να μην έχουν συμμετάσχει σε συστηματικό πρόγραμμα άσκησης οποιαδήποτε μορφής για τουλάχιστον ένα χρόνο, ιδιαίτερα τα ηλικιωμένα άτομα. Δηλαδή τα ηλικιωμένα άτομα θα πρέπει να είχαν  $VO_{2max} < 20 \text{ ml} \times \text{kg}^{-1} \times \text{min}^{-1}$ . Παράλληλα θα πρέπει να είχαν πετύχει σκορ  $< 9$  στο ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας «Modified Baecke Questionnaire for Older Adults».
6. Να μην κατανάλωναν οινοπνευματώδη ποτά και ασπιρίνη ή άλλα παρόμοια φάρμακα για τουλάχιστον μια εβδομάδα πριν την τελευταία επίσκεψή τους στο εργαστήριο, ενώ θα πρέπει να είχαν ένα συνηθισμένο διατροφολόγιο.
7. Σε περίπτωση προηγούμενης αλλεργικής αντίδρασης στην ξυλοκαΐνη αποκλειόταν η συμμετοχή από τη μελέτη.

**Πίνακας 1.** Περιγραφικά στοιχεία δοκιμαζόμενων

Παράμετρος	Νεαροί (N=8)	Ηλικιωμένοι		
		Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
Ηλικία (έτη)	21,8 ± 2,1	68,5 ± 7,9	70 ± 7,1	67 ± 9,2
Ύψος (cm)	177,8 ± 5,3	165 ± 8,8	160 ± 0,1	170 ± 0,1
Βάρος (Kg)	77,1 ± 4,1	73,4 ± 11,03	71,6 ± 9,2	75,2 ± 13,4
Δείκτης Μάζας Σώματος	24,4 ± 1,9	26,9 ± 3,4	26,9 ± 3	26 ± 3,8

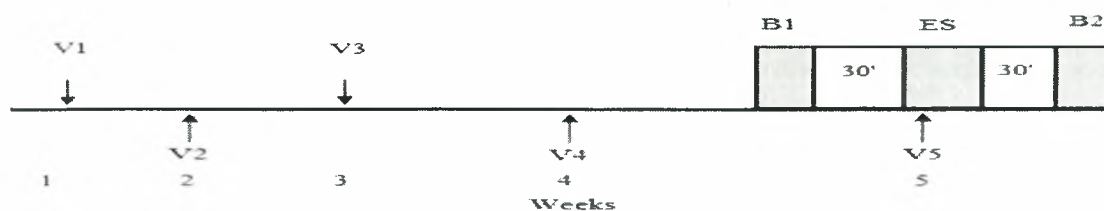
Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση.

### **Ο σχεδιασμός της έρευνας**

Οι δοκιμαζόμενοι επισκέφτηκαν το εργαστήριο πέντε φορές (σχήμα 5). Κατά την πρώτη τους επίσκεψη (V1), οι δοκιμαζόμενοι υπέγραψαν το έντυπο έγγραφης συγκατάθεσης, συμπλήρωσαν τα ερωτηματολόγια βιογραφικών δεδομένων/ιατρικού ιστορικού και φυσικής δραστηριότητας (Modified Baecke Questionnaire for Older Adults, Voorhips et al., 1991). Στην δεύτερη επίσκεψη τους (V2) μετρήθηκαν τα ανθρωπομετρικά τους χαρακτηριστικά, έγινε η εξέταση του DXA και της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ( $VO_{2max}$ ) χρησιμοποιώντας το τροποποιημένο πρωτόκολλο του Bruce (Modified Bruce protocol, ACSM, 2000). Στη τρίτη (V3) επίσκεψή τους, οι δοκιμαζόμενοι εξοικειώθηκαν με το μηχάνημα άσκησης και την τεχνική εκτέλεσης της άσκησης που θα χρησιμοποιηθεί κατά την επικείμενη συνεδρία άσκησης (πιέσεις ποδιών). Κατά την τέταρτη επίσκεψή (V4) τους υποβλήθηκαν σε μέτρηση των 6MAE στη συγκεκριμένη άσκηση, ενώ τους

δόθηκε και ερωτηματολόγιο διατροφικής αξιολόγησης (διατροφικό ημερολόγιο πέντε ημερών) το οποίο το παρέδωσαν στον ερευνητή κατά την τελευταία επίσκεψή τους, μια εβδομάδα αργότερα. Τέλος, στην πέμπτη τους επίσκεψη (V5), οι δοκιμαζόμενοι εκτέλεσαν το πρωτόκολλο άσκησης (5 σειρές των 6ΜΑΕ) ενώ πριν και μετά την άσκηση συλλέχτηκαν δείγματα μυϊκού ιστού.

Η παρούσα έρευνα εγκρίθηκε Επιτροπή Ηθικής και Δεοντολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, ενώ πειραματική διαδικασία της παρούσας έρευνας είναι σύμφωνα με την συνθήκη του Ελσίνκι



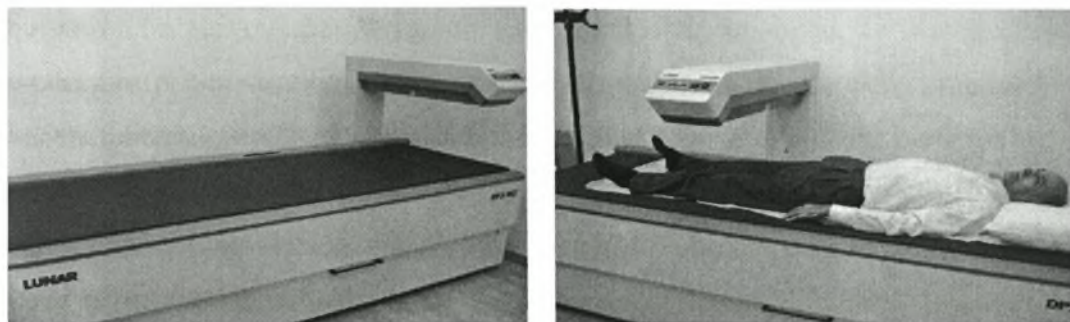
**Σχήμα 5.** Ο σχεδιασμός της έρευνας. V\*. αριθμός επίσκεψης. V1. αξιολόγηση της φυσική κατάσταση, γραπτή συγκατάθεση, απάντηση του ερωτηματολογίου φυσικής δραστηριότητας. V2. ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά,  $VO_{2max}$  και DXA. V3. εξοικείωση με το μηχάνημα του leg press. V4. μέτρηση των 6RM. V5. τελικό στάδιο της έρευνας. Λήψη μυϊκών βιοψιών (B1 και B2) στην αρχή και 30 λεπτά μετά την εφαρμογή της άσκησης (ES).

### **Μέτρηση ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών**

Η μέτρηση των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών των ηλικιωμένων ατόμων έγινε με την τεχνική DXA (μοντέλο Lunar DPX-MD, της General Electrics, DXA model DPX-L, LUNAR Radiation, Madison, WI, USA, εικόνα 1,α).

Το κάθε άτομο τοποθετούταν με την βοήθεια μας στην βάση του μηχανήματος, μέσα στα πλαίσια που υπάρχουν στο στρώμα της βάσης (εικόνα 1,β). Αφού τοποθετούταν σωστά ο εξεταζόμενος, δινόταν η εντολή στον υπολογιστή να αρχίσει η διαδικασία της σάρωσης, η οποία διαρκούσε περίπου 15 λεπτά.

Με την ολοκλήρωση της εξέτασης και πριν την αποχώρηση των εξεταζόμενων από τον χώρο του εργαστηρίου γινόταν έλεγχος στον ηλεκτρονικό υπολογιστή για το εάν τα δεδομένα είναι αποθηκευμένα και σωστά, για την περαιτέρω ανάλυση τους. Εάν τυχόν διαπιστωνόταν πρόβλημα ή τα δεδομένα από τις σαρώσεις δεν ήταν σωστά, τότε ζητούταν από τον εξεταζόμενο να παραμείνει στο χώρο και να πραγματοποιηθεί ξανά η εξέταση.



α

β

**Σχήμα 6.** α) το DXA, β) τοποθέτηση εξεταζόμενου για την μέτρηση όλου του σώματος.

Με την ολοκλήρωση της όλης διαδικασίας, γινόταν ανάλυση των δεδομένων που συλλέχτηκαν από τις μετρήσεις, μέσω του προγράμματος στον ηλεκτρονικό υπολογιστή που παρέχει ο κατασκευαστής του DXA. Το πρόγραμμα μέσω του οποίου έγινε η ανάλυση ήταν το Lunar Radiation Composition. Ο ηλεκτρονικός υπολογιστής μέσω του οποίου έγιναν τόσο οι μετρήσεις όσο και οι αναλύσεις των δεδομένων του DXA ήταν ένας επιτραπέζιος προσωπικός υπολογιστής, με επεξεργαστή Intel Pentium II στα 700Mhz, με 512 MB μνήμη και σκληρό δίσκο 50 Giga Byte. Το λειτουργικό σύστημα με το οποίο λειτουργεί είναι Windows 98 SE (Second Edition).

Η ανάλυση έγινε με βάση την απεικόνιση του σώματος του κάθε εξεταζόμενου, όπως αυτή παρουσιάζεται στην οθόνη του υπολογιστή. Το πρώτο βήμα για την χειροκίνητη ανάλυση των δεδομένων ήταν η ρύθμιση του κέντρου του σώματος για κάθε άτομο. Το κέντρο του σώματος πρέπει να ήταν στη μέση του κρανίου του, να διέτρεχε στη μέση τον αυχένα, την σπονδυλική στήλη και την λεκάνη, ενώ να ήταν σε ίση απόσταση από τα δύο κάτω άκρα του εξεταζόμενου. Το επόμενο βήμα ήταν να ρυθμιστεί το που είναι η αρχή του λαιμού του κάθε ατόμου. Τα όρια του λαιμού του κάθε ατόμου ρυθμίζονταν έτσι ώστε το συγκεκριμένο πλαίσιο να βρίσκεται ακριβώς κάτω από το τέλος της κεφαλής του και στην αρχή του αυχένα του κάθε εξεταζόμενου.

Αφού έγινε αυτή η ρύθμιση, σειρά είχε η ρύθμιση των ορίων των άνω άκρων. Σε αυτή την επιλογή δινόταν έμφαση ώστε το πλαίσιο κάθε άνω άκρου να ξεκινούσε από την άρθρωση του ώμου. Το πρόγραμμα δίνει την δυνατότητα για περαιτέρω ρύθμιση των περιοχών των άνω άκρων (alter cut). Οπότε μέσα από αυτό το μενού έγινε λεπτομερέστερη ανάλυση των περιοχών αυτών, η οποία περιελάμβανε τρία κομμάτια του πλαισίου που ρυθμίζονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο. Δηλαδή, το πρώτο κομμάτι του πλαισίου



ρυθμιζόταν έτσι ώστε να βρίσκεται πάνω στην άρθρωση του ώμου. Το δεύτερο κομμάτι του πλαισίου ρυθμιζόταν από την άρθρωση του ώμου και θα καταλήγει περίπου στην άρθρωση του αγκώνα. Το τελευταίο κομμάτι ρυθμιζόταν από την άρθρωση του αγκώνα και θα καταλήγει στην άκρη του κάθε ποδιού.

Επόμενη ρύθμιση ήταν αυτή της λεκάνης. Το πάνω μέρος του πλαισίου της λεκάνης έπρεπε να περιλαμβάνει όλη την άνω μοίρα της λεκάνης. Παράλληλα επειδή το πλαίσιο έχει τριγωνικό σχήμα η κορυφή του τριγώνου έπρεπε να είναι στη ευθεία της κεντρικής γραμμής που διατρέχει το κεφάλι και την σπονδυλική στήλη, ενώ παράλληλα οι πλευρές του τριγώνου έπρεπε να ήταν περίπου στο μέσον των ισχίων.

Μετά την παραπάνω ρύθμιση σειρά είχε η ρύθμιση της περιοχής της σπονδυλικής στήλης. Η περιοχή αυτή μέσα από το πρόγραμμα ανάλυσης χωριζόταν σε 2 μέρη. Το πρώτο μέρος περιλαμβάνει την περιοχή του αυχένα, η οποία έχει ρυθμιστεί σε προηγούμενο βήμα, και κατέληγε στον τελευταίο θωρακικό σπόνδυλο. Το δεύτερο μέρος ρυθμιζόταν από τον τελευταίο θωρακικό σπόνδυλο και καταλήγει στο τέλος του ιερού οστού.

Τέλος γινόταν έλεγχος για το εάν τα πλαίσια ήταν σωστά βαλμένα και σύμφωνα με τις οδηγίες που παρέχει ο κατασκευαστής του μηχανήματος για την παρούσα ανάλυση. Μετά την επιβεβαίωση και τις τυχόν μικρό διορθώσεις που μπορεί να έγιναν, ακλουθούσε αποθήκευση της ανάλυσης και εκτύπωση των αποτελεσμάτων της ανάλυσης. Τα στοιχεία του BMD, της άλυπης μάζας, του ποσοστού του λίπους, καθώς και των επιμέρους διαχωρισμών τους (αποτελέσματα ξεχωριστά για τα δύο χέρια και πόδια κτλ) καταγράφονταν στην ατομική καρτέλα του κάθε εξεταζόμενου για την περαιτέρω στατιστική τους ανάλυση. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 2.

**Πίνακας 2.** Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά των ηλικιωμένων δοκιμαζόμενων

Παράμετρος	Ηλικιωμένοι		
	Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
Συνολικό FFM (Kg)	45,1 ± 9,4	37,8 ± 1,9	52,5 ± 7,8
FFM Ποδιών (Kg)	4,6 ± 1,4	3,5 ± 0,4	5,76 ± 1,2
Συνολικό Ποσοστό Λίπους (%)	36,7 ± 10,5	45 ± 5,5	28,3 ± 6,6
Συνολικό Ποσοστό Λίπους (Kg)	26,4 ± 9,2	31,9 ± 9,09	21,04 ± 6,1
Λίπος Ποδιών (%)	36,5 ± 10,3	45,2 ± 5,2	27,8 ± 4,8
Λίπος Ποδιών (Kg)	8,2 ± 2,8	10,1 ± 2,3	6,4 ± 1,7
BMD (g/cm <sup>2</sup> )	1,15 ± 0,1	1,09 ± 0,06	1,22 ± 0,1

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση. FFM άλυπη μάζα; BMD οστική πυκνότητα;

### ***Μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου***

Η μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου στους ηλικιωμένους δοκιμαζόμενους έγινε μέσω πρωτοκόλλου προοδευτικά αυξανόμενης επιβάρυνσης μέχρι εκούσιας εξάντλησης (η δοκιμασία σταματούσε όταν εξαντλούταν ή όταν μας ζητούσε να σταματήσει ο δοκιμαζόμενος) για τον καθορισμό της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου ή της μέγιστης αερόβιας ικανότητας (VO<sub>2</sub>max). Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε ήταν μια τροποποιημένη εκδοχή του πρωτοκόλλου του Bruce (ACSM, 2000a). Η καρδιακή συχνότητα και η αρτηριακή πίεση κάθε δοκιμαζόμενου καταγραφόταν συνεχώς κατά την διάρκεια της δοκιμασίας και της ανάπαυσης του έπειτα από αυτήν. Η μέτρηση της μέγιστης πρόσληψης οξυγόνου έγινε σε εργοδιάδρομο, μέσω φορητού αναλυτή αερίων, μοντέλου Oxygen Mobile (Jaeger). Η πρόσληψη οξυγόνου μετριόταν συνεχόμενα, σε κάθε κύκλο εισπνοής - εκπνοής του δοκιμαζόμενου κατά τη διάρκεια της δοκιμασίας μέσω αυτοματοποιημένου συστήματος.

Τα κριτήρια για την πιστοποίηση, ότι ο δοκιμαζόμενος είχε φτάσει την VO<sub>2</sub>max του κατά την διάρκεια της δοκιμασίας ήταν. α) να μην υπήρχε περεταίρω αύξηση στην πρόσληψη O<sub>2</sub> με παράλληλη αύξηση της επιβάρυνσης (leveling-off criterion), β) να είχε επιτευχθεί η προβλεπόμενη μέγιστη καρδιακή συχνότητα του κάθε δοκιμαζόμενου και γ) η αναλογία της αναπνευστικής ανταλλαγής να ήταν >1.10. Όταν έστω ένα από αυτά τα κριτήρια είχε επιτευχθεί η δοκιμασία τερματιζόταν και καταγραφόταν η VO<sub>2</sub>max που παρουσίασε ο κάθε δοκιμαζόμενος μέχρι την στιγμή εκείνη. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 3.

### ***Αξιολόγηση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας***

Για την αξιολόγηση του επιπέδου φυσικής δραστηριότητας των ηλικιωμένων χρησιμοποιήθηκε το ερωτηματολόγιο φυσικής δραστηριότητας «Modified Baecke Questionnaire for Older Adults» (ACSM, 2000a; Voorhies et al., 1991). Η απόδοση στα ελληνικά έγινε για την χρήση του σε προηγούμενη έρευνα πάνω σε ηλικιωμένα άτομα, από τους Fatouros και συνεργάτες (2004; 2005). Στην παρούσα έρευνα χρησιμοποιήθηκε αυτούσιο το μεταφρασμένο στα ελληνικά ερωτηματολόγιο, όπως ακριβώς το είχαν χρησιμοποιήσει οι Fatouros και συνεργάτες (2004; 2005). Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 3.

**Πίνακας 3.** Φυσική κατάσταση των ηλικιωμένων δοκιμαζόμενων

Παράμετρος	Ηλικιωμένοι		
	Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
Επίπεδο Φυσικής Δραστηριότητας*	5,4 ± 2,9	4,07 ± 1,5	6,86 ± 2,1
VO <sub>2max</sub> (ml x kg <sup>-1</sup> x min <sup>-1</sup> )**	17,6 ± 1,9	18,2 ± 2,1	17,9 ± 1,3
Ωρα στο Διάδρομο (min)	7,8 ± 2,1	7,2 ± 1,3	8,4 ± 2,7

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση. \*Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του ερωτηματολογίου «Baecke Questionnaire for Older Adults». \*\*Αποτελέσματα σύμφωνα με το τροποποιημένο πρωτόκολο του Bruce.

### **Καταγραφή διατροφικών συνηθειών**

Οι συμμετέχουσες συμπλήρωναν σε ειδικό έντυπο την ημερήσια διατροφική τους αγωγή αναφέροντας συγκεκριμένα είδη τροφίμων και τις αντίστοιχες ποσότητες. Συνολικά καταγράφηκαν οι πέντε τελευταίες μέρες πριν την τελευταία επίσκεψή τους στο εργαστήριο. Τα τρόφιμα αυτά (και οι αντίστοιχες ποσότητες) αναλύθηκαν με ειδικό πρόγραμμα πληροφορικής (Science Fit Diet 200A) όσον αφορά τη σύστασή τους σε θρεπτικά συστατικά (Fatouros et al., 2004; 2005)

### **Προσδιορισμός των 6 μέγιστων επαναλήψεων (6 RM)**

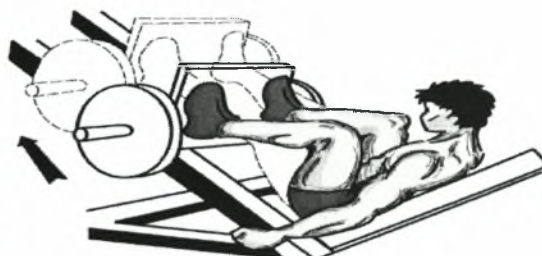
Ο προσδιορισμός των 6 μέγιστων επαναλήψεων για κάθε άτομο πραγματοποιήθηκε στο γυμναστήριο, τουλάχιστον μια εβδομάδα πριν την πραγματοποίηση της τελικής φάσης. Τα άτομα του δείγματος προσέρχονταν στο χώρο διεξαγωγής περίπου μισή ώρα πριν την άσκηση, ώστε να πραγματοποιήσουν μια μικρής διάρκειας προθέρμανση σε εργοποδήλατο, περίπου 10 λεπτών. Έπειτα πραγματοποιούσαν διατακτικές ασκήσεις, με έμφαση στα κάτω άκρα, διάρκειας άλλων 10 λεπτών. Η επιλογή της συγκεκριμένης έντασης έγινε με σκοπό την σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας με αυτά από προηγούμενες μελέτες μας (Terzis et al., 2008).

Αφού ετοιμαζόταν το κάθε άτομο, του δίνονταν προφορικές οδηγίες για τον τρόπο τοποθέτησης του στο μηχάνημα του leg press (Supersport, Αθήνα; εικόνα 2α) καθώς και για τον τρόπο εκτέλεσης της άσκησης (κίνηση, αναπνοές κατά την εκτέλεση των επαναλήψεων, ταχύτητα κίνησης, διαλείμματα). Έπειτα σειρά είχε η τοποθέτηση του ατόμου στο μηχάνημα και ρύθμισης της θέσης του ανάλογα με το πώς βολεύεται. Σε κάθε περίπτωση κατά την αρχική θέση η γωνία των γονάτων δεν υπερέβαινε τις 90°, ενώ η κλίση της βάσης στήριξης των ποδιών ήταν στις 45° (σχήμα 7). Η ρύθμιση της θέσης

καταγραφόταν στην ατομική καρτέλα του ατόμου ώστε να συντομευτεί ο χρόνος προετοιμασίας του μηχανήματος κατά την τελική φάση.



α



β

Σχήμα 7. α) Το μηχάνημα άσκησης που χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα, β) Τρόπος εκτέλεσης της άσκησης

Μετά την ρύθμιση του μηχανήματος δίνονταν 15 λεπτά σε κάθε άτομο για να εκτελέσει μερικές επαναλήψεις στο μηχάνημα για εξοικείωση. Επόμενο στάδιο ήταν η διαδικασία του προσδιορισμού των 6 ΜΑΕ. Αφού το εξεταζόμενο άτομο είχε τοποθετηθεί στο μηχάνημα, ρυθμίζονταν τα βάρη του μηχανήματος και πραγματοποιούνταν 6 επαναλήψεις. Κάθε φορά που το εξεταζόμενο άτομο πραγματοποιούσε τις 6 επαναλήψεις και διαπιστωνόταν ότι ήταν ικανό να πραγματοποιήσει και άλλες επαναλήψεις, τότε προσθέτονταν στο μηχάνημα και άλλο βάρος, και επαναλαμβάνονταν η διαδικασία αφού μεσολάβουσε ένα διάλειμμα περίπου 2-3 λεπτών κατά το οποίο το εξεταζόμενο άτομο πραγματοποιούσε διατακτικές ασκήσεις. Σε κάθε εξεταζόμενο γινόταν προφορική ενθάρρυνση για την επίτευξη του καλύτερου αποτελέσματος. Η παραπάνω διαδικασία επαναλαμβάνονταν μέχρι την στιγμή όπου το εξεταζόμενο άτομο δεν μπορούσε να πραγματοποιήσει παραπάνω από 6 επαναλήψεις σε ένα βάρος. Το βάρος τότε καταγραφόταν στην ατομική του καρτέλα. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας πραγματοποιούνταν αποθεραπεία με την χρήση εργοποδήλατου και την πραγματοποίηση έπειτα διατάσεων. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 4.

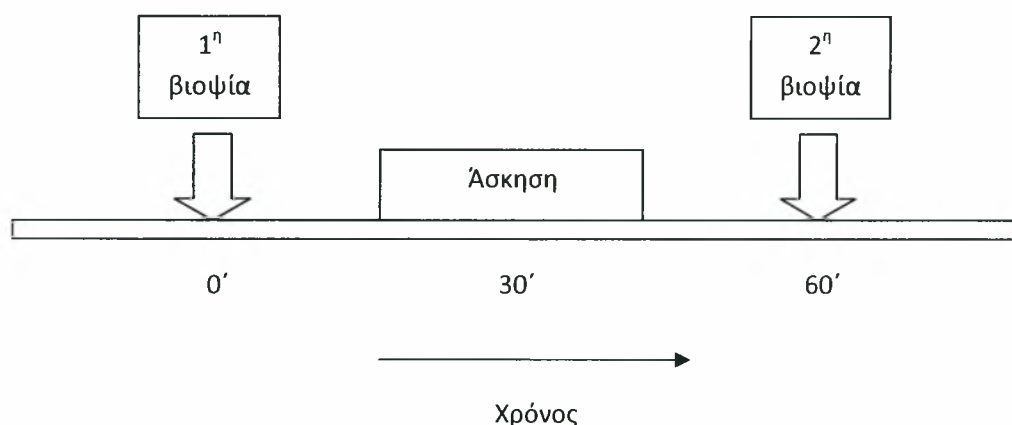
Πίνακας 4. Οι 6ΜΑΕ των δοκιμαζόμενων

Παράμετρος	Νεαροί (N=8)	Ηλικιωμένοι		
		Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
6 ΜΑΕ (Kg)	209,3 ± 41,6	121,5 ± 22,5	107 ± 10,9	138 ± 20,4

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση. 6ΜΑΕ 6 μέγιστες επαναλήψεις.

### Τελική φάση της πειραματικής διαδικασίας – λήψη βιοψιών

Η τελική φάση της πειραματικής διαδικασίας, αποτελούταν από την 1<sup>η</sup> βιοψία, την εκτέλεση των 6 ΜΑΕ σε 5 σειρές στο leg press και τέλος την δεύτερη βιοψία (σχήμα 8). Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε στο πανεπιστημιακό γυμναστήριο, τουλάχιστον 1 εβδομάδα μετά την μέτρηση των 6 ΜΑΕ κάθε ατόμου, στο ίδιο μηχάνημα στο οποίο έγινε και η πρώτη μέτρηση. Στους δοκιμαζόμενους είχαν δοθεί οδηγίες για την προετοιμασία τους πριν έρθουν στο χώρο διεξαγωγής της τελικής φάσης. Οι οδηγίες αυτές περιλάμβαναν. α) την αποφυγή άσκησης και έντονης σωματικής δραστηριότητας 48 ώρες πριν την εξέταση και β) την αποχή από λήψη τροφής 12 ώρες πριν την άσκηση.



Σχήμα 8. Χρονοδιάγραμμα τελικής φάσης της πειραματικής διαδικασίας.

*Λήψη 1<sup>ης</sup> Βιοψίας.* Η πρώτη βιοψία λαμβανόταν περίπου 30 λεπτά μετά την προσέλευση του δοκιμαζόμενου στο χώρο της δοκιμασίας, ενώ η δεύτερη 30 λεπτά μετά την άσκηση. Όλες οι βιοψίες λαμβάνονταν με βελόνα, όπως περιγράφηκε από τον Bergstrom (1962) με την χρήση αναρρόφησης (Evans, Phinney & Young, 1982). Η 1<sup>η</sup> μυϊκή βιοψία έγινε στον έξω πλατύ μηριαίο μυ, περίπου 20 εκατοστά πάνω από την επιγονατίδα, ενώ η 2<sup>η</sup> γύρω στα 5-10 εκατοστά πιο κάτω από την πρώτη (σχήμα 9).



Σχήμα 9. Λήψη βιοψίας



Το κάθε άτομο του δείγματος ξάπλωνε στο ιατρικό κρεβάτι που υπήρχε σε ειδικά διαμορφωμένο χώρο, κοντά στον χώρο διεξαγωγής της άσκησης. Τότε γινόταν αποτρίχωση της περιοχής όπου θα γινόταν η τομή με αποστειρωμένο ξυραφάκι και η περιοχή απολυμαινόταν με αντισηπτικό. Το επόμενο βήμα ήταν να προκληθεί τοπική αναισθησία της συγκεκριμένης περιοχής. Αυτό προκαλούταν μέσω της χορήγησης ένεσης ξυλοκαΐνης. Συγκεκριμένα χορηγούνταν 2 ενέσεις σε κάθε άτομο, η μία ήταν επιφανειακή και η δεύτερη σε λίγο μεγαλύτερο βάθος, χωρίς όμως να διαπερνάει το επιμύϊο.

Έπειτα από λίγη ώρα, ώστε να δράσει η χορηγούμενη ξυλοκαΐνη, πραγματοποιούνταν η τομή με αποστερημένο νυστέρι μιας χρήσης. Η τομή είχε μήκος περίπου 0,5 εκατοστά. Αμέσως μετά από την τομή εφαρμοζόταν στο σημείο αυτό πίεση ώστε να μην δημιουργηθεί αιμάτωμα. Στη συνέχεια γινόταν εισαγωγή της βελόνας στην τομή. Όταν η βελόνα διαπερνούσε το επίμυο, ο γιατρός έδινε εντολή ώστε ένας βοηθός να αρχίσει να τραβάει το έμβολο του μηχανισμού αναρρόφησης, ώστε να αποσπαστεί μεγαλύτερο κομμάτι. Έπειτα η βελόνα αποσυρόταν και ο βοηθός πραγματοποιούσε την προετοιμασία των δειγμάτων (περιγράφεται σε επόμενη παράγραφο). Στο σημείο της τομής εφαρμοζόταν πίεση, ενώ τοποθετούνταν αποστειρωμένος επίδεσμος. Τέλος η τομή έκλεινε με αυτοκόλλητο ράμμα.

*Άσκηση.* Ύστερα από 20 λεπτά από την στιγμή της 1<sup>ης</sup> βιοψίας, το κάθε άτομο πραγματοποιούσε ζέσταμα, με την χρήση εργοποδήλατου για 8 έως 10 λεπτά και με μερικές διατάσεις για τα κάτω άκρα. Όλη η διαδικασία την επέβλεπε ένα άτομο της ερευνητικής ομάδας, για την αποφυγή διάφορων μικροτραυματισμών κ.τ.λ. Έπειτα από το ζέσταμα το κάθε άτομο πραγματοποιούσε ένα σετ των 6 επαναλήψεων με λίγα κιλά στο leg press μηχάνημα της παρούσας έρευνας.

Μόλις τελείωνε η διαδικασία της προθέρμανσης, τότε σύμφωνα με την καταγραφή που είχε γίνει για κάθε άτομο στην εξέταση των 6 ΜΑΕ, προσαρμόζονταν τα βάρη στο μηχάνημα του leg press. Τότε το κάθε άτομο πραγματοποιούσε 5 σετ των 6 ΜΑΕ. Η κάθε επανάληψη διαρκούσε περίπου 2.5-3 δευτερόλεπτα. Το διάλλειμα ανάμεσα στα σετ ήταν 2 λεπτά, στα οποία το κάθε άτομο πραγματοποιούσε μερικές διατάσεις των κάτω άκρων. Κατά την διάρκεια της εκτέλεσης του κάθε σετ, τα άτομα ενθαρρύνονταν για την μέγιστη δυνατή απόδοση τους. Ύστερα από την εκτέλεση του τελευταίου σετ, οι δοκιμαζόμενοι ξεκουράζονταν σε μια καρέκλα, μέχρι την στιγμή της δεύτερης βιοψίας, ενώ τους μετρούσαν η καρδιακή συχνότητα και η πίεση.

*Λήψη 2<sup>ης</sup> βιοψίας.* Η δεύτερη βιοψία πραγματοποιούταν 30 λεπτά μετά το τέλος της άσκησης. Η διαδικασία για την λήψη του 2<sup>ου</sup> δείγματος, ήταν η ίδια με αυτή της 1<sup>ης</sup> βιοψίας. Η διαφορά που υπήρχε σε αυτή την λήψη είναι ότι το σημείο της τομής ήταν διαφορετικό, περίπου 5-10 εκατοστά κάτω από την 1<sup>η</sup> τομή, αλλά πάντα στο ίδιο πόδι.

### ***Άμεση προετοιμασία δειγμάτων μετά την λήψη βιοψίας***

Με την εξαγωγή της βελόνας της βιοψίας, από τον έξω πλατύ του κάθε δοκιμαζόμενου, τα δείγματα από την πρώτη βιοψία, απομακρύνονταν από την βελόνα με την χρήση μίας αποστειρωμένης τσιμπίδας, και τοποθετούνταν πάνω σε διαμορφωμένο πάγκο εργασίας. Ο χειριστής, που πραγματοποιούσε την όλη διαδικασία, χώριζε το δείγμα σε 2 μέρη. Το πρώτο μέρος τοποθετούταν αμέσως σε υγρό άζωτο, για την αρχική μέτρηση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK και αποθηκεύονταν σε προσημειωμένο, με τα στοιχεία του ατόμου και την ένδειξη «pre», πλαστικό δοχείο (φάλκρον) και τοποθετούταν μέσα σε δοχείο με υγρό άζωτο. Το δεύτερο μέρος, ο χειριστής προσπαθούσε να τοποθετήσει έτσι τα δείγματα, ώστε οι ίνες να είναι παράλληλες μεταξύ τους και κάθετες. Έπειτα πάνω σε αυτά τα δείγματα τοποθετούταν μια ειδική χημική ουσία (freezing reagent), η οποία επιτρέπει την άμεση ψύξη του δείγματος, χωρίς την καταστροφή του. Το επόμενο βήμα ήταν η βύθιση του δείγματος μαζί με την ουσία σε δοχείο με ισοπεντάνιο, η οποία θα βρίσκεται σε σημείο τήξης. Έπειτα το παγωμένο πια δείγμα τοποθετούταν στο ίδιο προσημειωμένο, με τα στοιχεία του ατόμου και την ένδειξη «pre», πλαστικό δοχείο (φάλκρον) και τοποθετούταν μέσα σε δοχείο με υγρό άζωτο, μέχρι να τελειώσει η τελική φάση της πειραματικής διαδικασίας και να αποθηκευτεί σε υπερκαταψύκτη, στους -80o C (Terzis et al., 2008).

Για τα δείγματα από την δεύτερη βιοψία πραγματοποιούταν η ίδια διαδικασία που περιγράφηκε για την 1<sup>η</sup> βιοψία, ώστε να μετρηθούν τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK μετά την άσκηση. Το παγωμένο πια δείγμα τοποθετούταν σε προσημειωμένο, με τα στοιχεία του ατόμου και την ένδειξη «post», πλαστικό δοχείο (φάλκρον) και τοποθετούταν μέσα σε δοχείο με υγρό άζωτο, μέχρι να τελειώσει η τελική φάση της πειραματικής διαδικασίας και να αποθηκευτεί σε υπερκαταψύκτη ( -80° C).

### *Προετοιμασία των δειγμάτων για τις αναλύσεις*

Με την ολοκλήρωση της τελικής φάσης, όλα τα δείγματα από τις βιοψίες μεταφέρονταν και αποθηκεύονταν σε υπερκαταψύκτη, στους  $-80^{\circ}\text{C}$ , όπου παρέμεναν εκεί για τις περαιτέρω αναλύσεις. Η προετοιμασία των δειγμάτων για τις αναλύσεις γινόταν μέσω κρυοτόμου, στο εργαστήριο της μυοπαθολογίας, της πανεπιστημιακής κλινικής της Ιατρικής σχολής των Αθηνών, στο Αιγινίτειο Νοσοκομείο. Τα δείγματα των βιοψιών μεταφέρονταν από την υπερκατάψυξη στο θάλαμο του κρυοτόμου ( $-20^{\circ}\text{C}$ ), μέσα σε δοχείο με υγρό άζωτο. Έπειτα ακολουθούσε η τοποθέτηση του κάθε δείγματος στο ειδικό στήριγμα του κρυοτόμου, με τέτοιο τρόπο ώστε η εγκάρσια επιφάνεια των δειγμάτων να ήταν κάθετη ως προς το έδαφος. Η στερέωση του δείγματος πάνω στο στήριγμα γινόταν με την χρήση ειδικής κόλλας, η οποία πάγωνε στους  $-80^{\circ}\text{C}$  με την χρήση του διαλύματος freezing reagent. Η κοπή των τομών ρυθμιζόταν στα 10  $\mu\text{m}$ . Η επεξεργασία των δειγμάτων για τις αναλύσεις αποτελούταν από.

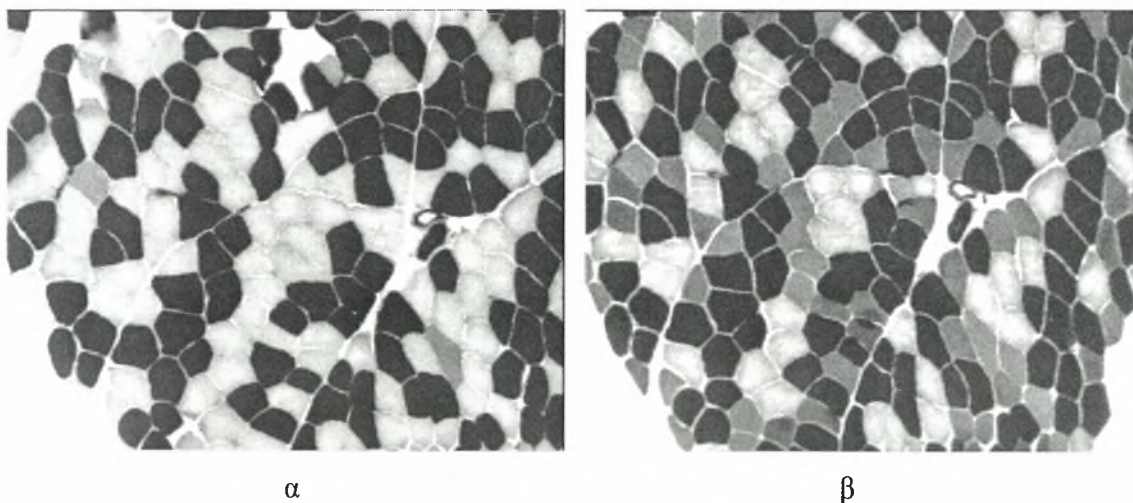
*A) Επεξεργασία για την χρώση της ΑΤΡάση.* Για αυτή την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το δεύτερο μέρος του δείγματος από την 1<sup>η</sup> βιοψία κάθε ατόμου. Έπειτα από την τοποθέτηση του δείγματος πάνω στο κρυοτόμο, ακολουθούσε η κοπή των δειγμάτων για την ανάλυση της ΑΤΡάσης. Για κάθε δείγμα της 1<sup>ης</sup> βιοψίας χρησιμοποιήθηκαν 2 πλακάκια, ένα για pH 4.3 και ένα για pH 4.6. Όλα τα πλακάκια σημειώνονταν με τα στοιχεία του ατόμου και το pH της ανάλυσης που θα γινόταν. Έπειτα από την κοπή, οι τομές τοποθετούνταν στα σημειωμένα πλακάκια, και ελέγχονταν στο μικροσκόπιο για το εάν ήταν σωστά τοποθετημένες, για την αποφυγή δίπλωσης των τομών. Όσα πλακάκια ήταν έτοιμα φυλάγονταν στο ψυγείο, στους  $4^{\circ}\text{C}$ , μέχρι να τελειώσει η διαδικασία για όλα τα πλακάκια. Τότε τοποθετούνταν προσεχτικά σε ειδικά κουτιά, έτσι ώστε οι τομές πάνω στα πλακάκια να μην ακουμπούν πουθενά, και αποθηκεύονταν στους  $-80^{\circ}\text{C}$ .

*B) Επεξεργασία για την ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών.* Τα κομμάτια των βιοψιών που προορίζονταν για την μέτρηση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK, τοποθετιόντουσαν σε νέα προσημειωμένα φάλκρον. Όλα τα δείγματα τότε τοποθετιόντουσαν σε μηχανήμα τύπου Freeze Dry και παρέμεναν εκεί όλο το βράδυ, σε ειδικές συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας, για να αφυδατωθούν. Την επόμενη μέρα τα δείγματα απομακρύνονταν από το μηχανήμα του Freeze Dry, και τοποθετιόντουσαν σε ειδικά διαμορφωμένο δωμάτιο, με σταθερά χαμηλά επίπεδα υγρασίας και θερμοκρασίας, όπου και ακολουθούσε ο

καθαρισμός τους από τα υπολείμματα αίματος, καθώς και από τον συνδετικό ιστό. Τα «καθαρισμένα» τότε δείγματα ζυγίζονταν σε ειδική ζυγαριά ακριβείας (περίπου 2,5 mg από κάθε δείγμα), και τοποθετιόντουσαν στους  $-80^{\circ}\text{C}$ , μέχρι την στιγμή που θα τα χρησιμοποιούσαμε για την ηλεκτροφώρηση.

### *Ανάλυση της ιστοχημικής χρώσης της ΑΤΡασης*

Η πρώτη ανάλυση που πραγματοποιήθηκε μετά την επεξεργασία των δειγμάτων από τις βιοψίες ήταν αυτή της ιστοχημικής χρώσης της ΑΤΡασης, για την μέτρηση των εγκάρσιων επιφανειών, της διαμέτρου και των παραγόντων ατροφίας-υπερτροφίας όλων των τύπων μυϊκών ινών (τύπου I, IIα και IIx). Συγκεκριμένα, και σύμφωνα με τις οδηγίες των Brooke και Kaiser (1970a,b), έγινε ιστοχημική ανάλυση των ινών σε pH 4,3 ώστε να γίνει διαχωρισμός των ινών τύπου I (στην εικόνα 4α φαίνονται ως μαύρες) από τις ίνες τύπου II (λευκές ίνες στο σχήμα 10α). Παράλληλα έγινε και ανάλυση με pH 4,6 ώστε να γίνει περαιτέρω ανάλυση των ινών τύπου II, για τον διαχωρισμό τους σε ίνες τύπου IIα (λευκές στο σχήμα 10β) και IIx (γκρίζες στο σχήμα 10β).



**Σχήμα 10.** α) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,3. Σε αυτό το pH οι μαύρες ίνες είναι τύπου I ενώ οι λευκές είναι τύπου II, και β) διαχωρισμός των ινών λόγω του διαλύματος με pH 4,6. Σε αυτό το pH οι μαύρες ίνες είναι τύπου I, οι γκριζες τύπου IIx ενώ οι λευκές είναι τύπου IIα.

### *Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν*

*Διαλύματα pH.* Τα διαλύματα των δύο pH που χρησιμοποιήθηκαν για την χρώση της ΑΤΡάσης, είναι παρόμοια, με την μόνη διαφοροποίηση την ρύθμιση του pH. Για κάθε 20 ml διαλύματος χρησιμοποιήθηκαν 5 ml Barbital Acetate (1,47gr Sodium Barbital Solution,



0,97gr Sodium Acetate 3- hydrate και 50 ml dH<sub>2</sub>O), 10 ml 0,1N HCL [10 ml 1N HCL (10,4 ml πυκνού HCL σε 125ml dH<sub>2</sub>O) σε 90 ml dH<sub>2</sub>O] και τέλος 5 ml dH<sub>2</sub>O. Αφού παρασκευάστηκαν τα δύο διαλύματα ρυθμίστηκε το pH τους με την χρήση pHμέτρου, το ένα σε pH 4.3 και το άλλο σε pH 4.6. Για την ρύθμιση του pH των διαλυμάτων χρησιμοποιήθηκαν 4 διαλύματα τα οποία ήταν. α) 1N HCL, β) 0,1N HCL, γ) 1N NaOH (4 gr NaOH σε 100 ml dH<sub>2</sub>O) και δ) 0,1N NaOH (10 ml 1N NaOH σε 90 ml dH<sub>2</sub>O).

*Διάλυμα Α.* Το επόμενο διάλυμα που παρασκευάστηκε (για κάθε 20 ml) αποτελούταν από 4 ml 0.1M Sodium Barbitol (2.06 gr Sodium Barbitol Solution σε 100 ml dH<sub>2</sub>O), 4 ml 0.18M Calcium Chloride (CaCl<sub>2</sub>, 2.6 gr Calcium Chloride σε 100 ml dH<sub>2</sub>O) και 12 ml dH<sub>2</sub>O. Μετά την παρασκευή του ρυθμιζόταν το pH στο 9.4. Για την ρύθμιση αυτή χρησιμοποιήθηκαν τα ίδια διαλύματα που περιγράφηκαν παραπάνω.

*Διάλυμα Β.* Έπειτα, σειρά είχε η παρασκευή του διαλύματος της ΑΤΡάσης. Σε αυτό το διάλυμα για κάθε 20 ml διαλύματος, χρησιμοποιήθηκαν 4 ml 0.1M Sodium Barbitol, 2ml 0.18M Calcium Chloride, 14 ml dH<sub>2</sub>O και τέλος 50 mg ΑΤΡάσης. Μετά την παρασκευή του διαλύματος γινόταν ρύθμιση του pH, έτσι ώστε να κυμαινόταν κοντά στο 9,4.

*Διάλυμα Calcium Chloride (CaCl<sub>2</sub>) 1%.* Αυτό το διάλυμα, για κάθε 100 ml, περιείχε 1 gr CaCl<sub>2</sub> σε 100 ml dH<sub>2</sub>O.

*Διάλυμα Cobalt Chloride (CoCl<sub>2</sub>) 2%.* Το διάλυμα αυτό για κάθε 100 ml περιείχε 2 gr CoCl<sub>2</sub> σε 100 ml dH<sub>2</sub>O.

*Διάλυμα Αμμωνίας (Ammonium Sulfide).* Το τελευταίο διάλυμα που παρασκευάστηκε για αυτή την χρώση αυτή ήταν το διάλυμα της αμμωνίας. Αυτό το διάλυμα αποτελούταν από 2 ml Ammonium Sulfide σε 98 ml dH<sub>2</sub>O.

### ***Διαδικασία πραγματοποίησης της χρώσης της ΑΤΡάσης***

Με την παρασκευή των διαλυμάτων, ακολουθούσε η διαδικασία της χρώσης της ΑΤΡάσης. Το πρώτο βήμα ήταν να βρεθούν και να ξεπαγώσουν τα πλακάκια, με τις τομές του μυός των ατόμων του δείγματος, που συλλέχτηκαν από την πρώτη βιοψία. Για κάθε άτομο χρησιμοποιήθηκαν δύο πλακάκια, ένα για το διάλυμα με pH 4.3 και ένα για pH 4.6.

Το πρώτο βήμα για την παρούσα χρώση ήταν η προσθήκη των διαλυμάτων των pH στα αντίστοιχα πλακάκια. Το πρώτο διάλυμα επωάζόταν, μέσα σε ειδικά δοχεία που είχαμε τοποθετήσει όλα τα δείγματα, σε θερμοκρασία δωματίου για 5 λεπτά. Ύστερα από τα 5 λεπτά, το διάλυμα απομακρυνόταν από το δοχείο και προστίθεντο από το διάλυμα Α,



το οποίο επωαζόταν για 15 λεπτά. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα, και ύστερα από την απομάκρυνση του διαλύματος Α από τα δοχεία, σειρά είχε η προσθήκη του διαλύματος Β (διάλυμα ΑΤΡάσης), το οποίο επωαζόταν για 45 λεπτά.

Μετά τα 45 λεπτά της επώασης του διαλύματος Β πάνω στα πλακάκια, το διάλυμα απομακρυνόταν και γινόταν πλύση με την χρήση του διαλύματος Calcium Chloride 1%. Αναλυτικά, έγιναν 3 ανανεώσεις αυτού του διαλύματος, όπου η κάθε μία παρέμενε μέσα στο δοχείο με τα πλακάκια για 3 λεπτά, και κάθε φορά ανακινούνταν. Μετά την 3<sup>η</sup> φορά, και αφού απομακρυνόταν το παρών διάλυμα από το δοχείο γινόταν μια πλύση των πλακιδίων με dH<sub>2</sub>O. Ακολούθως, μέσα στα δοχεία τοποθετούταν το διάλυμα του Cobalt Chloride 2%, το οποίο παρέμενε για 3 λεπτά. Έπειτα ακολουθούσε πλύσιμο των πλακιδίων με 0.1 M Sodium Barbital, και μετά ξέβγαλμα με νερό βρύσης για 5 ανανεώσεις και τέλος με dH<sub>2</sub>O για 2 ανανεώσεις.

Σειρά έπειτα είχε η προσθήκη στα δοχεία του διαλύματος της Αμμωνίας, η οποία παρέμενε στα δοχεία για 25 δευτερόλεπτα, και ακολουθούσαν 4 ξεβγάλματα με dH<sub>2</sub>O. Το επόμενο στάδιο ήταν η τοποθέτηση των πλακιδίων μέσα στην Ηωσίνη (5 gr Ηωσίνης για κάθε 100ml dH<sub>2</sub>O), όπου παρέμεναν για 20 δευτερόλεπτα. Έπειτα ακολουθούσε ξέβγαλμα με νερό βρύσης (tap water), η τοποθέτηση τους μέσα στη σειρά των διαλύματα της αλκοόλης (70% αλκοόλη, 90% αλκοόλη, 95% αλκοόλη, 100% αλκοόλη) και τέλος στα δύο διαλύματα της Ξυλόλης. Τα πλακάκια σε κάθε από τα παραπάνω διαλύματα παρέμεναν για 3 λεπτά. Τέλος, ύστερα και από τα 3 λεπτά στην τελευταία Ξυλόλη, πάνω στα πλακάκια τοποθετούνταν καλυπτίδρες, οι οποίες στερεώνονταν με την χρήση κόλλας (DPX). Σε αυτό το σημείο γινόταν έλεγχος μέσω του μικροσκοπίου, για το εάν είναι επιτυχής η διαδικασία (η τελική μορφή που θα πρέπει να έχουν οι μυϊκές ίνες των τομών πάνω στα πλακάκια περιγράφονται στην εικόνα 4).

### *Ανάλυση των δειγμάτων μετά την χρώση της ΑΤΡάσης*

Το τελικό στάδιο αυτής της διαδικασίας ήταν η μέτρηση των εγκάρσιων επιφανειών των διάφορων ινών, η διευκρίνιση των ποσοστών τους, η μέτρηση της διαμέσου της κάθε ίνας, ο καθορισμός του ποσοστού του μυός που καταλαμβάνει ο κάθε τύπος μυϊκής ίνας και τέλος ο υπολογισμός των παραγόντων ατροφίας / υπερτροφίας του κάθε τύπου ινών όπως και του συνολικού. Οι μετρήσεις αυτές πραγματοποιήθηκαν μέσω του προγράμματος ImagePro (Media Cybernetics Inc, Silver Spring, MD, USA ) στον ηλεκτρονικό υπολογιστή.

Ύστερα από ψηφιοποίηση και αποθήκευση όλων των εικόνων, πραγματοποιούταν η ανάλυση της κάθε φωτογραφίας για τις εγκάρσιες επιφάνειες των μυϊκών ινών (CSA). Με την ολοκλήρωση της μέτρησης των εγκάρσιων επιφανειών για τις ίνες ίδιου τύπου, τα δεδομένα αποθηκεύονταν για την περαιτέρω ανάλυση τους. Συνολικά μετρήθηκαν κατά μέσο όρο 730 ίνες (πίνακας 5). Εκτός από τις παραπάνω μετρήσεις έγινε και μέτρηση της μικρότερης διαμέτρου των ινών, στα ηλικιωμένα άτομα. Ως μικρότερη διάμετρος λαμβανόταν υπόψη η μικρότερη απόσταση των πλάγιων τοιχωμάτων της κάθε ίνας. Η διαδικασία για την αποθήκευση των δεδομένων είναι η ίδια με της εγκάρσιας επιφάνειας. Το ποσοστό της καταλαμβανόμενης περιοχής για κάθε τύπο ίνας, υπολογίστηκε με βάση το ποσοστό των ινών κάθε τύπου (του κάθε ατόμου) πολλαπλασιασμένο με τον αντίστοιχο μέσο όρο της εγκάρσιας επιφάνειας (πίνακας 6).

Ο παράγοντας ατροφίας και υπερτροφίας για τα ηλικιωμένα άτομα, υπολογίστηκε βάση των οδηγιών των Brooke και Engel (1969 a,b). Συγκεκριμένα για τον παράγοντα ατροφίας του κάθε τύπου ίνας υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες ίνες με διάμετρο (όπως έχουμε προαναφερθεί) έως 40μm για τους άνδρες ενώ για τις γυναίκες υπολογίστηκαν οι ίνες με διάμετρο έως 30μm. Οι διάμετροι των ινών τότε χωρίστηκαν σε υποκατηγορίες με βάση την διάμετρο τους και το σύνολο των ινών τις κάθε κατηγορίας πολλαπλασιάστηκαν με έναν συντελεστή. Οι ίνες με διάμετρο μέχρι 10μm πολλαπλασιάζονταν με τον συντελεστή 4 για τους άνδρες και με το 3 για τις γυναίκες, από 10.1 έως 20μm πολλαπλασιάζονταν επί 3 και 2 αντίστοιχα, από 20.1 έως 30μm πολλαπλασιάζονταν επί 2 και 1 αντίστοιχα και τέλος για τους άνδρες οι ίνες από 30.1 έως 40μm οι οποίες πολλαπλασιάζονταν επί 1. Τότε οι τελικοί αριθμοί της κάθε υποκατηγορίας αθροίζονταν και διαιρούσαν με το σύνολο των μετρήσιμων ινών του κάθε τύπου. Τότε ο νέος αυτός αριθμός πολλαπλασιάζόταν επί το 1000. Για τον συνολικό παράγοντα ατροφίας ακολουθήθηκε η ίδια τεχνική, χωρίς των διαχωρισμό των ινών ανάλογα με τον τύπο. Αν ο τελικός αριθμός ήταν μεγαλύτερος του 250 τότε οι ίνες ήταν ατροφικές (πίνακας 6).

Για τον παράγοντα υπερτροφίας του κάθε τύπου, υπολογίστηκαν οι αντίστοιχες ίνες με διάμετρο άνω των 80μm για τους άνδρες και άνω των 70μm για τις γυναίκες. Όπως και πριν, οι ίνες χωρίστηκαν σε υποκατηγορίες ανάλογα με την διάμετρο τους και το σύνολο τους πολλαπλασιάστηκε με έναν συντελεστή. Αναλυτικά οι ίνες από 70-80μm πολλαπλασιάστηκαν με 1 για τις γυναίκες, οι ίνες από 80.1 έως 90μm επί 2 για τις γυναίκες και 1 για τους άνδρες, από 90.1 έως 100μm επί 3 και 2 αντίστοιχα. Τότε οι τελικοί αριθμοί της κάθε υποκατηγορίας αθροίζονταν και διαιρούσαν με το σύνολο των

μετρήσιμων ινών του κάθε τύπου. Τότε ο νέος αυτός αριθμός πολλαπλασιαζόταν επί το 1000. Για τον συνολικό παράγοντα υπερτροφίας ακολουθήθηκε η ίδια τεχνική, χωρίς των διαχωρισμό των ινών ανάλογα με τον τύπο. Αν ο τελικός αριθμός ήταν μεγαλύτερος του 250 τότε οι ίνες ήταν υπερτροφικές (πίνακας 6). Τέλος τα αποτελέσματα των μετρήσεων αυτών καταγράφονταν στην ατομική καρτέλα του κάθε ατόμου για την στατιστική ανάλυση.

**Πίνακας 5.** Αριθμός Ινών, Εγκάρσιες Επιφάνειες και Ποσοστά Ινών των συμμετεχόντων.

Παράμετρος	Νεαροί (N=8)	Ηλικιωμένοι		
		Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
Αριθμός Μετρημένων Ινών	910 ± 263,3	518,1 ± 136,4	539,2 ± 129,1	497 ± 155,3
Τύπος Ινών I (%)	38,03 ± 11,7	45,2 ± 12,3	50,8 ± 9,8	39,6 ± 12,9
Τύπος Ινών IIa (%)	47,3 ± 12,2*	30,3 ± 8,8*	27,4 ± 9,6	33,2 ± 7,9
Τύπος Ινών IIx (%)	14,5 ± 4,1*	24,4 ± 12,8*	21,6 ± 4,7	27,2 ± 18,09
Τύπος Ινών I CSA (μm <sup>2</sup> )	4904 ± 302,5*	4065,2 ± 658*	4251,5 ± 638,05	3878,9 ± 692,9
Τύπος Ινών IIa CSA (μm <sup>2</sup> )	6733,3 ± 865,4*	3719,3 ± 929*	3458,9 ± 457,3	3979,8 ± 1250,1
Τύπος Ινών IIx CSA (μm <sup>2</sup> )	5009,5 ± 845,1*	2637 ± 843,7*	2113 ± 305,7#	3160,9 ± 906,5#
% Επιφάνεια Ινών I (% CSA)	31,86 ± 10,43*	50,93 ± 15,87*	60,04 ± 11,48	41,81 ± 15,08
% Επιφάνεια Ινών IIa (%CSA)	53,57 ± 11,26*	30,56 ± 9,5*	26,88 ± 10,39	34,24 ± 7,84
% Επιφάνεια Ινών IIx (%CSA)	14,57 ± 4,22	18,5 ± 14,27	13,06 ± 4,15	23,94 ± 19,15

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση. CSA εγκάρσια επιφάνεια. Με (\*) συμβολίζονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα. Με (#) συμβολίζονται οι στατιστικά σημαντικές διαφορές ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες.

**Πίνακας 6.** Διάμετρος μυϊκών ινών και παράγοντες ατροφία / υπερτροφίας των ηλικιωμένων συμμετεχόντων.

Παράμετρος	Ηλικιωμένοι		
	Σύνολο (N=10)	Γυναίκες (N=5)	Άνδρες (N=5)
Διάμετρος Ινών Τύπου I ( $\mu\text{m}^2$ )	48,5 ± 4,1	47,6 ± 3,9	49,4 ± 4,5
Διάμετρος Ινών Τύπου IIa ( $\mu\text{m}^2$ )	46,7 ± 5,5	44,5 ± 2,4	48,8 ± 7,2
Διάμετρος Ινών Τύπου IIx ( $\mu\text{m}^2$ )	37,8 ± 6,1	34,02 ± 2,07	41,7 ± 6,5
Παράγοντας Ατροφίας Ινών Τύπου I	239,3 ± 140,3	168,4 ± 70,2	310,2 ± 163,8
Παράγοντας Ατροφίας Ινών Τύπου IIa	301,7 ± 224,1	245,6 ± 132,7	357,8 ± 295,1
Παράγοντας Ατροφίας Ινών Τύπου IIx	760,3 ± 276,8	826,2 ± 157,1	694,4 ± 369,9
Συνολικός Παράγοντας Ατροφίας	370,2 ± 151,6	329,4 ± 27,6	411,02 ± 216,3
Παράγοντας Υπερτροφίας Ινών Τύπου I	40,5 ± 39,8	60,9 ± 49,3	20,06 ± 9
Παράγοντας Υπερτροφίας Ινών Τύπου IIa	23,5 ± 22,5	28,2 ± 18,2	18,8 ± 27,5
Παράγοντας Υπερτροφίας Ινών Τύπου IIx	0,8 ± 0,2	1,6 ± 0,2	0
Συνολικός Παράγοντας Υπερτροφίας	27,5 ± 24,2	39,3 ± 29,4	15,7 ± 10,5

Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος ± την τυπική απόκλιση

### Ηλεκτροφόρηση Πρωτεϊνών

*Διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν.* Σύμφωνα με τους Eliasson και συνεργάτες (2006), για την ηλεκτροφόρηση και την αναγνώριση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και της AMPK, έπρεπε να παρασκευαστούν.

*Ice-cold Buffer.* Το παρόν διάλυμα περιείχε 1395 μl dH<sub>2</sub>O, 4μl Hepes pH 7.4, 20 μl EDTA, 200 μl EGTA, 20 μl MgCl<sub>2</sub>, 200 μl β-glycerophosphate, 20 μl Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 4 μl DTT, 100 μl 1% Triton X-100, 4 μl leupeptin, 10 μl aprotinin, 5 μl PMSF και τέλος 20 μl 1% phosphatase inhibitor cocktail (Sigma P2850).

*TBS Stock (10x; 1L).* Το διάλυμα αυτό περιείχε 24.22 gr Tris Base με pH 7.6, 80.06 gr NaCl<sub>2</sub> σε 1000 ml dH<sub>2</sub>O.

*Running Buffer stock (10x; 1L).* 30.28 gr Tris Base με pH 7.6, 144.1 gr γλυκίνη και 10.09 gr SDS σε 1000 ml dH<sub>2</sub>O.

*Transfer Buffer stock (10x; 1L).* 30.28 gr Tris Base με pH 7.6 και 144.1 gr γλυκίνη σε 1000 ml dH<sub>2</sub>O.

*TBS για χρήση (1x; 1L).* 100 ml TBS Stock 10x σε 900 ml dH<sub>2</sub>O.

*Running Buffer για χρήση (1x; 1L).* 100 ml Running Buffer stock 10x σε 900 ml dH<sub>2</sub>O.

*Transfer Buffer για χρήση (1L).* 100 ml Transfer Buffer stock 10x, 200 ml Methanol σε 700 ml dH<sub>2</sub>O.

*Laemly Buffer.* 950 μl Laemly sample και 50 μl 2-Mercaptoethanol.

*TBST.* 100 ml TBS Stock 10x και 1 ml Tween-Twenty και συμπληρώθηκε το διάλυμα μέχρι τα 1 L με dH<sub>2</sub>O.

*TBST-2.5% dry-milk.* 25 gr dry non-fat milk σε σκόνη, 100 ml TBS Stock 10x και 1 ml Tween-Twenty και συμπληρώθηκε το διάλυμα μέχρι το 1 L με dH<sub>2</sub>O.

*Blocking Solution.* 40 ml TBS για χρήση (1x) και 2 gr dry non-fat milk σε σκόνη

*Αντισώματα.* Αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν για την ανεύρεση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης της AKT στη Ser<sup>473</sup>, mTOR στη Ser<sup>2448</sup>, p70S6k στη Thr<sup>389</sup>, AMPK στη Thr<sup>172</sup>, ERK 1/2 στη Thr<sup>202</sup>/Tyr<sup>205</sup>, p38 MAP Kinase στη Thr<sup>180</sup>/Tyr<sup>182</sup>, S6 στη Ser<sup>235/236</sup>, όπως επίσης για την total Akt, total AMPK, total ERK 1/2, total p38 MAP Kinase, total S6 και το δεύτερο αντίσωμα που ήταν anti-rabbit IgG horseradish peroxidase-conjugated, αγοράστηκαν από την Cell Signaling Technology Inc. (Beverly, MA). Τα αντισώματα για την total p70S6k και total mTOR αγοράστηκαν από την Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA). Η αναλογία της αραιώσεως των αντισωμάτων μέσα σε TBST-2.5% dry milk ήταν 1.1000 για τα πρώτα αντισώματα (φωσφορυλιωμένη και Total μορφή), ενώ για τα διαλύματα του δεύτερου αντισώματος η αναλογία ήταν 1.10.000 (Eliasson et al., 2006).

*Διαδικασία της ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών.* Ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών έγινε στα δείγματα ιστού και από τις 2 βιοψίες από κάθε άτομο. Όλα δείγματα των βιοψιών από το ίδιο άτομο ηλεκτροφορήστικαν στην ίδια γέλη (gel) ηλεκτροφόρησης. Για την διαδικασία της ηλεκτροφόρησης των πρωτεϊνών (Western blot), χρησιμοποιήθηκαν τα δείγματα των βιοψιών που είχαν καθαριστεί και αποθηκευτεί, όπως αναφέρεται στην παράγραφο «Προετοιμασία δειγμάτων για τις αναλύσεις» (Eliasson et al., 2006). Το πρώτο στάδιο της διαδικασίας της ηλεκτροφόρησης ήταν η ομογενοποίηση των δειγμάτων. Για την διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκε το διάλυμα Ice-cold Buffer, το οποίο εκχύθηκε μέσα στα φάλκρον των δειγμάτων. Η ποσότητα του Ice-cold Buffer που προστέθηκε ήταν περίπου 80 φορές το βάρος των «καθαρισμένων» δειγμάτων. Μετά την έκχυση πραγματοποιήθηκε ομογενοποίηση των δειγμάτων για 40 δευτερόλεπτα επί 2 φορές. Έπειτα ακολούθησε η φυγοκέντρωση των δειγμάτων στα 10.000 g για 10 λεπτά στους 4°



C. Μετά την φυγοκέντρωση, συλλέχτηκε το προϊόν και τοποθετήθηκε σε νέα προσημειωμένα φάλκρον. Ακολούθως έγινε η μέτρηση της πρωτεϊνικής περιεκτικότητας, σε ένα μικρό μέρος από το προϊόν του κάθε δείγματος (10μg), χρησιμοποιώντας την πρωτεϊνική δομή BCA (Pierce Biotechnology, Rockford, IL).

Με την ολοκλήρωση της μέτρησης της περιεκτικότητας, 100 μl από κάθε δείγμα συλλέχτηκε και τοποθετήθηκε σε νέο φάλκρον. Ανάλογα με τα αποτελέσματα της μέτρησης της περιεκτικότητας συμπληρώθηκαν στα δείγματα Ice-cold Buffer (όπου χρειαζόταν) και τελικά Laemly Buffer, όπου και ακολούθησε καλή ανάδευση. Έπειτα τα δείγματα αυτά επωάστηκαν στους 95° C για 5 λεπτά, και αμέσως μετά τοποθετήθηκαν για όλη την νύχτα στους -80° C.

Την επόμενη μέρα τα δείγματα τοποθετήθηκαν -20° C, μέχρι να ετοιμαστεί η συσκευή της ηλεκτροφόρησης (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA). Για την ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών από κάθε δείγμα και από τις 2 βιοψίες, χρησιμοποιήθηκαν δύο gel. Με την ολοκλήρωση της προετοιμασίας της συσκευής σειρά είχε η τοποθέτηση στις ειδικές περιοχές (κελιά) των gel, των διαλυμάτων των τομών. Για την τοποθέτηση αυτών έγινε χρήση της σύριγγας Hamilton. Σε κάθε ειδική θήκη τοποθετούταν περίπου 20μg, ανάλογα με τα δεδομένα που συλλέξαμε από την μέτρηση της περιεκτικότητας, έτσι ώστε από κάθε δείγμα να έχουμε 3 μg πρωτεΐνης. Παράλληλα σε ακριανή θέση τοποθετούταν ο marker (30 μg) που διαθέτει η εταιρία της συσκευής, για τον προσδιορισμό του σημείου που θα βρίσκονται οι πρωτεΐνες ανάλογα με το μοριακό τους βάρος. Μετά το τέλος της τοποθέτησης των διαλυμάτων και αφού κλειστεί η συσκευή της ηλεκτροφόρησης, συνδεόταν με την συσκευή παροχής ηλεκτρισμού. Η συσκευή παροχής ηλεκτρισμού ρυθμιζόταν στα 200 mV, 300 mAmp και για 3 ώρες.

Μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτροφόρησης, σειρά είχε η μεταφορά σε φθοριούχο πολυβινυλιδινική μεμβράνη (polyvinylidene fluoride membranes, Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA), των gel. Με την εξαγωγή των gel από την συσκευή ηλεκτροφόρησης, τοποθετούνταν μέσα σε Transfer Buffer για χρήση και επωαζόταν για 20 λεπτά στους 4° C.

Παράλληλα, ετοιμαζόταν η συσκευή μεταφοράς. Στο κουτί της συσκευής της μεταφοράς προσθετόταν Transfer Buffer για χρήση μέχρι να γεμίσει. Στη συνέχεια ετοιμαζόταν το κιτ της μεταφοράς. Το κιτ αυτό αποτελείται από την θήκη μέσα στην οποία τοποθετούνται όλα τα εξαρτήματα για την μεταφορά, από 2 φελιζολ και από 2 μεμβράνες, ανάμεσα στις οποίες τοποθετούνται το gel και η μεμβράνη αποτύπωσης. Η ετοιμασία του

κιτ περιελάμβανε την επώαση των φελιζόλ και των μεμβρανών μέσα σε Transfer Buffer για χρήση για 20 λεπτά. Μετά την επώαση όλων, ακολουθούσε η τοποθέτηση τους μέσα στο κιτ. Η σειρά τοποθέτησης τους ήταν η εξής. α) το ένα φελιζόλ στην μια πλευρά του κιτ, β) η μια μεμβράνη του κιτ πάνω στο φελιζόλ, γ) τοποθέτηση της μεμβράνης μεταφοράς, δ) το gel, ε) η δεύτερη μεμβράνη του κιτ και τέλος στ) το δεύτερο φελιζόλ και κλείσιμο του κιτ. Σημαντικό σε αυτό το σημείο ήταν να ασκηθεί μια ελαφρά πίεση πάνω στο κιτ έτσι ώστε να φύγει ο αέρας από μέσα. Μετά από αυτό το βήμα σειρά είχε η τοποθέτηση του κιτ μέσα στην συσκευή μεταφοράς και η ένωση του με την συσκευή παροχής ηλεκτρισμού (Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA). Η συσκευή παροχής ρυθμιζόταν στα 100 mV, 300 mAmp, ενώ η διαδικασία διαρκούσε 3 ώρες. Για να γίνει η μεταφορά έπρεπε η συσκευή μεταφοράς να ήταν σε θερμοκρασία 4° C, οπότε στην παρούσα έρευνα τοποθετούνταν μέσα σε ψυγείο, και συγκεκριμένα μέσα στην συντήρηση, όπου η θερμοκρασία ήταν σταθερά 4° C.

Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας μεταφοράς, και αφού αποσυνδεόταν το κιτ από την συσκευή, οι μεμβράνες μεταφοράς τοποθετούνταν μέσα σε δοχεία τα οποία περιείχαν TBS για χρήση. Μέσα σε αυτό το χρονικό διάστημα ακολουθούσε το κόψιμο των μεμβρανών στα σημεία που ήταν η κάθε πρωτεΐνη, με την βοήθεια του marker, και τα κομμένα κομμάτια τοποθετούνταν σε νέα προσημειωμένα δοχεία με TBS για χρήση. Με την ολοκλήρωση της διαδικασίας αυτή, στα δοχεία με τις κομμένες μεμβράνες τοποθετούνταν το Blocking Solution, και παρέμενε στις μεμβράνες για 1 ώρα, όπου και ανακινούνταν.

Το επόμενο βήμα ήταν η προσθήκη των πρώτων αντισωμάτων για τις φωσφορυλιωμένες πρωτεΐνες. Τα διαλύματα των αντισώματα εκχύνονταν μέσα στα αντίστοιχα δοχεία ανάλογα με το κομμάτι της μεμβράνης που είχαμε κόψει προηγουμένως, έτσι ώστε να καλύπτουν όλη την επιφάνεια των μεμβρανών. Η επώαση τους διαρκούσε όλη την νύχτα ενώ παράλληλα ανακινούνταν συνεχώς.

Την επόμενη μέρα οι μεμβράνες απομακρύνονταν από τα δοχεία με τα πρώτα αντισώματα και τοποθετούνταν σε άλλα, όπου θα περιέχουν TBST-2,5% non-fat milk, για να ξεπλυθούν από τα πρώτα αντισώματα. Τα δοχεία ανακατεύονταν για 20 λεπτά, με ανανέωση του TBST-2,5% non-fat milk ανά 5 λεπτά. Μετά το πέρας αυτής της ώρας, τα δοχεία αδειάζονταν και για να ετοιμαστούν για τα δεύτερα αντισώματα. Τα δοχεία αυτά, μαζί με το 2° αντίσωμα, ανακινούνταν για 1 ώρα. Έπειτα γινόταν πλύση με TBST-2,5% non-fat milk για 50 λεπτά, με ανανέωσης του TBST-2,5% non-fat milk ανά 10 λεπτά.

Μετά το τέλος αυτής της διαδικασίας ακολουθούσαν 5 πλυσίματα με TBS ανά 5 λεπτά. Έπειτα από την ολοκλήρωση του πλυσίματος σειρά είχε η προσθήκη του διαλύματος της χημιφωταύγειας. Η επώαση των μεμβρανών μέσα στη χημιφωταύγεια διαρκούσε 5 λεπτά.

Το τελευταίο κομμάτι της διαδικασίας ήταν η μέτρηση και η σύγκριση των επιπέδων της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της Akt-mTOR, MAPK και της AMPK. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος Gel Doc 2000 σε συνδυασμός με το πρόγραμμα Quantity One ver. 4.4.0 (Bio-Rad Laboratories).

Με την ολοκλήρωση της μέτρησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης, ακολουθούσε η διαδικασία για την μέτρηση της Total μορφής των πρωτεϊνών αυτών. Αρχικά οι μεμβράνες τοποθετούνταν στα αντίστοιχα δοχεία, ανάλογα με την πρωτεΐνη, και επωάζονταν σε Stripping Buffer (Thermo Scientific) για 30 λεπτά στους 37° C. Έπειτα ακολουθούσε πλύση με dH<sub>2</sub>O για 5 λεπτά και με TBS για 20 λεπτά (ανανέωση του TBS κάθε 5 λεπτά).

Ακολούθως, οι μεμβράνες τοποθετούνταν και πάλι στο Blocking Solution, και παρέμενε για 1 ώρα, όπου και ανακινούνταν. Από εδώ και πέρα τα επόμενα βήματα είναι τα ίδια που περιγράφηκαν και πιο πάνω, με την μόνο διαφορά ότι τα αντισώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν για τις Total μορφές των πρωτεϊνών.

### **Στατιστική ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση έγινε μέσω του προγράμματος SPSS PC για Windows. Κάθε μεταβλητή περιγράφηκε με την μέση τιμή και την τυπικής απόκλιση ( $\pm$ SD). Η ανάλυση Student's T-test χρησιμοποιήθηκε για την διερεύνηση των διαφορών ανάμεσα. α) στο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης μεταξύ των νεαρών και ηλικιωμένων ατόμων, β) στο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών και γυναικών και γ) στα ποσοστά και τις εγκάρσιες επιφάνειες των ινών ανάμεσα στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα, όπως επίσης ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. Η ανάλυση διακύμανσης για εξαρτημένες μετρήσεις ως προς δύο παράγοντες εκ των οποίων ο ένας επαναλαμβανόμενος (Two-Way repeated ANOVA), πραγματοποιήθηκε για την διερεύνηση τυχόν διαφορών ανάμεσα. 1) στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών μεταξύ των νεαρών και ηλικιωμένων ατόμων (μέτρηση, ηλικία), 2) στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών και γυναικών (μέτρηση, φύλο). Σε αυτή την ανάλυση αν διαπιστωνόταν αλληλεπίδραση ανάμεσα στους παράγοντες εφαρμόστηκε το τεστ πολλαπλών συγκρίσεων Fisher's LSD. Τέλος για τις

συσχετίσεις που η παρούσα εργασία ερευνούσε, εφαρμόστηκε η ανάλυση Pearson's. Σε όλες τις στατιστικές αναλύσεις το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε σε  $p = 0,05$ .

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### *Σύγκριση των εγκάρσιων επιφανειών, των ποσοστών και των περιοχών των ινών των δοκιμαζόμενων.*

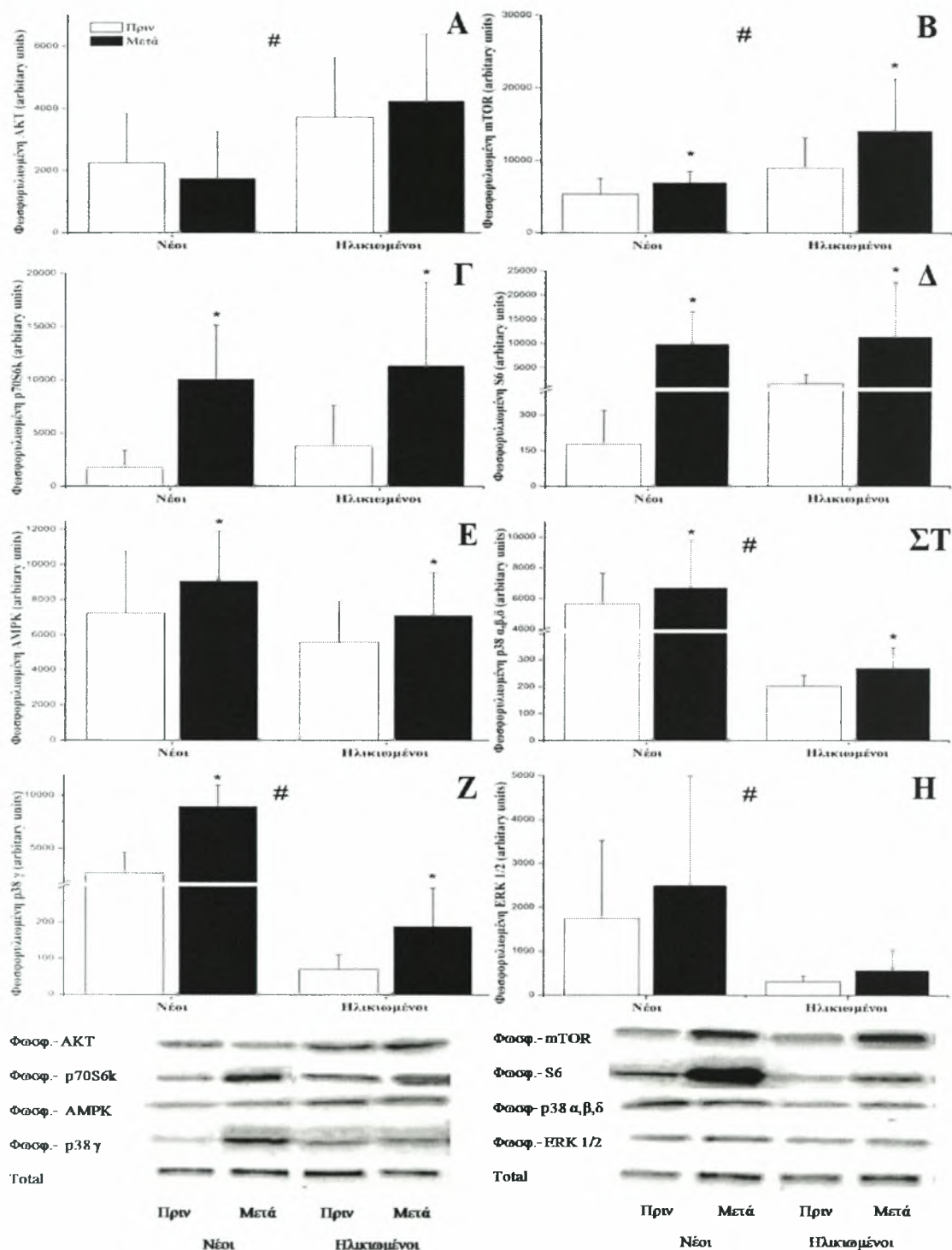
Στατιστικά σημαντική διαφορά διαπιστώθηκε στα ποσοστά των ινών τύπου Πα ( $p < 0,005$ ) και τύπου Πχ ( $p = 0,05$ ) ανάμεσα στους νεαρούς και στους ηλικιωμένους δοκιμαζόμενους (πίνακας 5). Παράλληλα στατιστικά σημαντική διαφορά βρέθηκε και για τις εγκάρσιες επιφάνειες όλων των τύπων των ινών ( $p < 0,005$ ) ανάμεσα στα άτομα αυτά. Σημαντική διαφορά όμως υπάρχει στην εγκάρσια επιφάνεια των ινών τύπου Πχ, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες ( $p < 0,05$ ). Τα ποσοστά της καταλαμβανόμενης περιοχής (% CSA) των ινών τύπου I και IIa διέφεραν σημαντικά ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα ( $p < 0,01$ , πίνακας 5).

### *Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών*

Τα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της AKT (σχήμα 11A), διαπιστώθηκε ότι ήταν υψηλότερα στα ηλικιωμένα άτομα σε σχέση με τα νεαρά κατά 65%, με τις ηλικιωμένες γυναίκες να έχουν υψηλότερα αρχικά επίπεδα κατά 10% (σχήμα 13A) σε σχέση με τα αντίστοιχα των ηλικιωμένων ανδρών. Τριάντα λεπτά μετά την εφαρμογή της άσκησης με αντιστάσεις, δεν παρουσιάστηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις 2 μετρήσεις, τόσο για τα νεαρά όσο και για τα ηλικιωμένα άτομα (σχήμα 11A-12A). Όμως, τα νεαρά άτομα είχαν μείωση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της AKT κατά 22,69% (σχήμα 12A), ενώ αντίθετα τα ηλικιωμένα άτομα είχαν αύξηση των επιπέδων τους κατά 13,5%. Παράλληλα, βρέθηκε να υπάρχει στατιστικά σημαντική κύρια επίδραση του παράγοντα ηλικία ( $p < 0,01$ ). Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν διαπιστώθηκε ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες για όλους τους παράγοντες της έρευνας (σχήμα 13A), καθώς και για την ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης, 30 λεπτά μετά ην



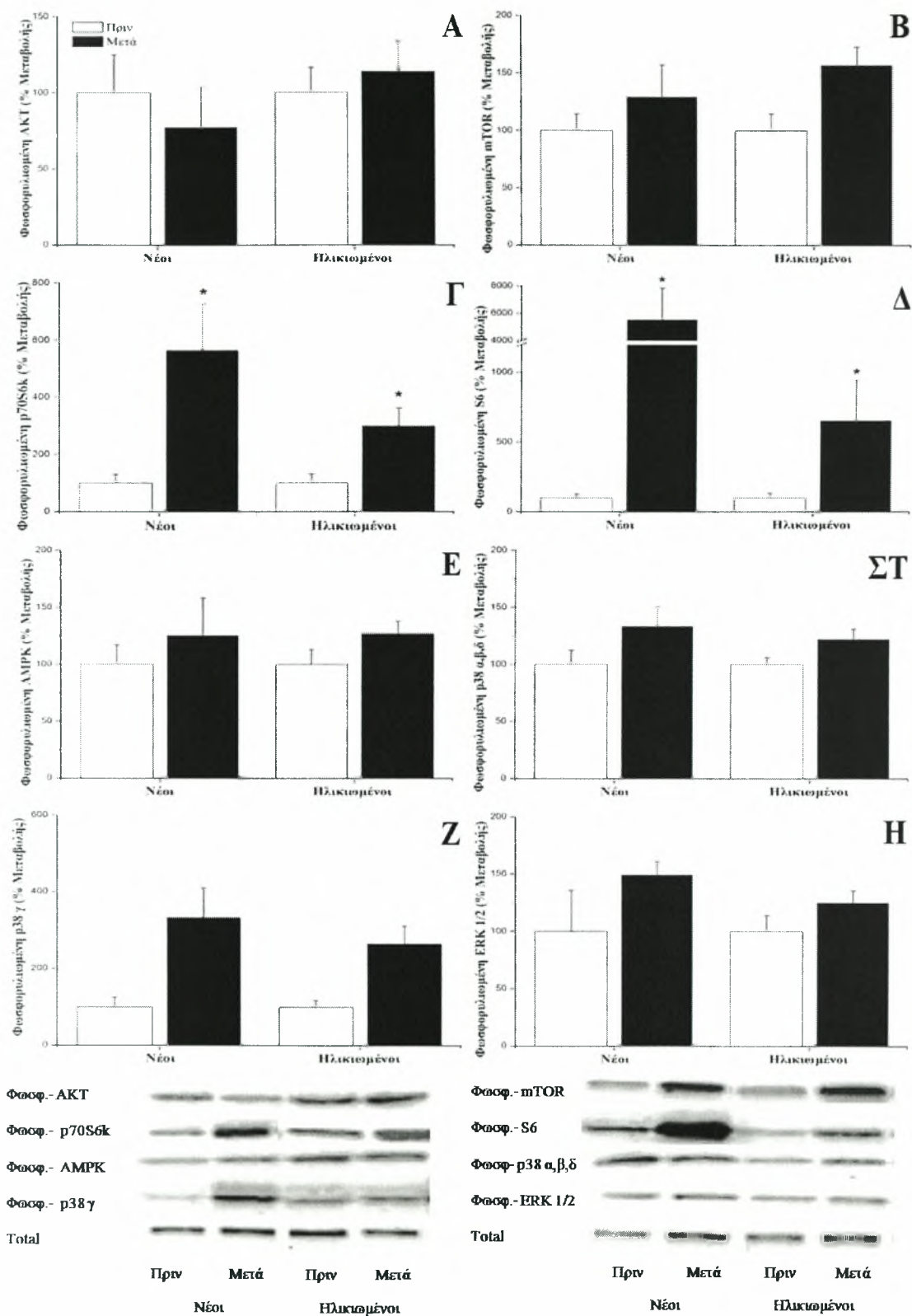
άσκηση αντιστάσεων (σχήμα 14A), αν και οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν μεγαλύτερη ποσοστιαία αύξηση έναντι των γυναικών (45%).



Σχήμα 11. Σύγκριση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών, ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα. Με (\*) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο μετρήσεις, ενώ με (#) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα (επίδραση παράγοντα ηλικία).

Τα ηλικιωμένα άτομα είχαν υψηλότερα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της mTOR κατά 67,2% (σχήμα 11B) έναντι των νεαρών, με το ίδιο να συμβαίνει στους ηλικιωμένους άνδρες έναντι των ηλικιωμένων γυναικών (5,95%, σχήμα 13B). Μετά την άσκηση αντιστάσεων διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της mTOR, ανάμεσα στις δύο μετρήσεις, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα ( $p<0,001$ , σχήμα 11B), χωρίς την διαπίστωση διαφορών ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες (σχήμα 13B). Επίσης, διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική κύρια επίδραση του παράγοντα ηλικία ( $p=0,01$ ), όπως και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στους παράγοντες ( $p<0,05$ ), σε όλες τις βαθμίδες τους. Όπως και με τα αρχικά επίπεδα, έτσι και με τα μετά της άσκησης επίπεδα, τα ηλικιωμένα άτομα είχαν υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης κατά 102,6%, ενώ η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της mTOR, ανάμεσα στις δύο μετρήσεις, ήταν υψηλότερη στα ηλικιωμένα άτομα (56,9%, σχήμα 12B). Δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην ποσοστιαία μεταβολή της mTOR, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες, αν και οι άνδρες είχαν υψηλότερη μεταβολή (σχήμα 14B).

Υψηλότερα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k, διαπιστώθηκαν για τα ηλικιωμένα άτομα (σχήμα 11Γ), με τις ηλικιωμένες γυναίκες να υπερέχουν έναντι των ηλικιωμένων ανδρών, κατά 40% (σχήμα 13Γ). Σημαντική αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k διαπιστώθηκε να υπάρχει 30 λεπτά μετά την εφαρμογή άσκησης με αντιστάσεις, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα ( $p<0,000$ , σχήμα 11Γ), με τα ηλικιωμένα άτομα να έχουν κατά 12,5% υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης σε σχέση με τα νεαρά άτομα. Παράλληλα, οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν υψηλότερα μετά την άσκηση επίπεδα σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες (103,3%, σχήμα 13Γ). Στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στους παράγοντες της σύγκρισης μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών και γυναικών ( $p<0,05$ ), χωρίς την ανάδειξη σημαντικότητας μεταξύ συγκεκριμένων βαθμίδων των παραγόντων. Σημαντικά υψηλή διαφορά, ωστόσο, διαπιστώθηκε να υπάρχει για την ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k, μεταξύ των νεαρών και των ηλικιωμένων ατόμων ( $p=0,000$ , σχήμα 12Γ), με τα νεαρά άτομα επιτυγχάνουν ποσοστιαία μεταβολή της τάξεως του 722,1% έναντι 263,9% των ηλικιωμένων. Παρόμοια διαφορά διαπιστώθηκε και μεταξύ των ηλικιωμένων ανδρών και γυναικών ( $p=0,001$ , σχήμα 14Γ), με τους άνδρες να αυξάνουν τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k κατά 403,6% έναντι 124,1% των γυναικών.



**Σχήμα 12.** Σύγκριση της ποσοστιαίας μεταβολής των επιπέδων φωσφορυλίωσης, μετά την άσκηση με αντιστάσεις, ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα. Με (\*) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ηλικιακές ομάδες.

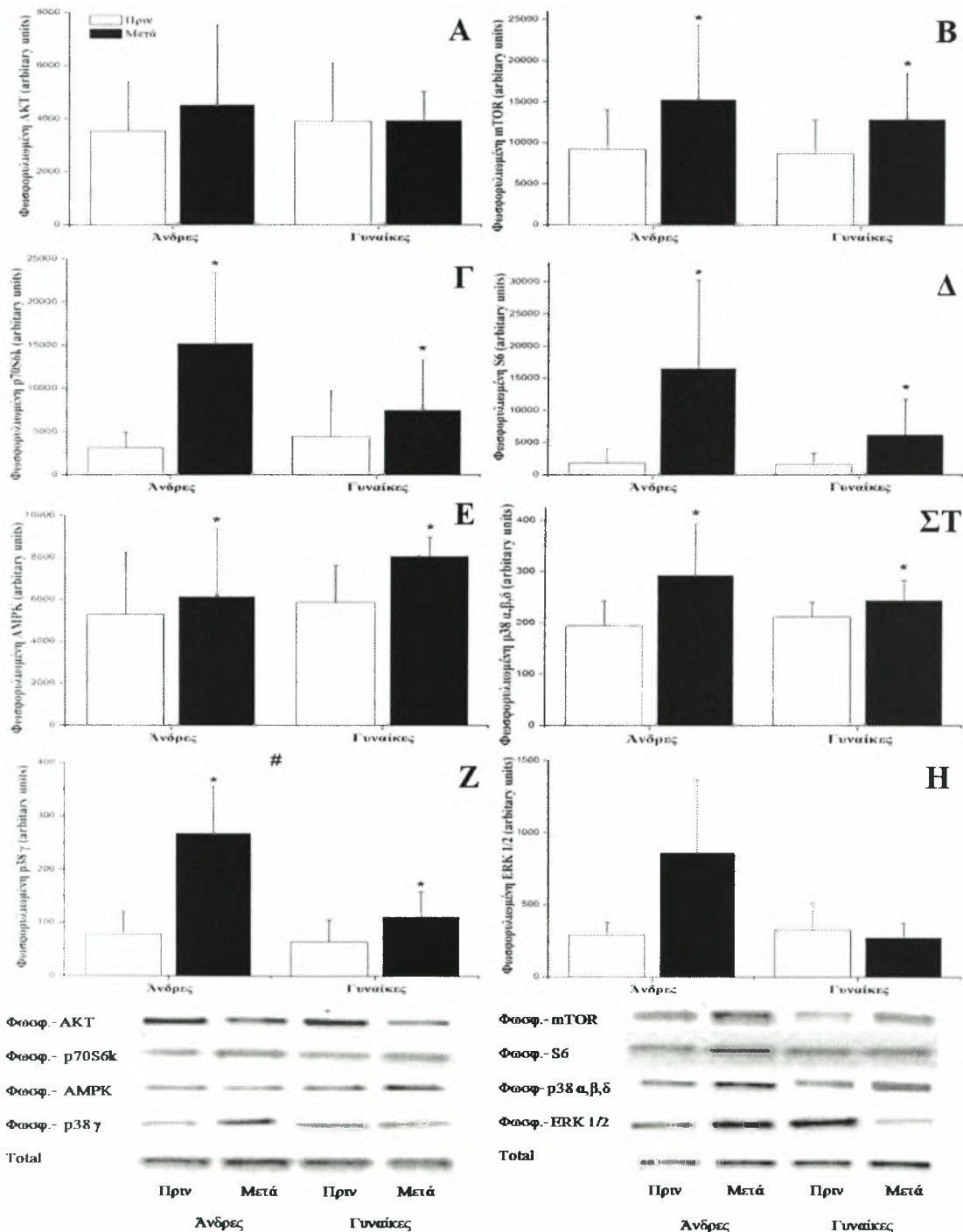
Η φωσφορυλιωμένη S6 βρέθηκε ότι ήταν υψηλότερη, πριν την άσκηση, στα ηλικιωμένα άτομα κατά 875,5% σε σχέση με τα νεαρά άτομα, ενώ οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν ελάχιστα υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες (13,9%). Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης μετά την άσκηση αυξήθηκαν σημαντικά τόσο στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα ( $p=0,000$ , σχήμα 11Δ), όσο και ανάμεσα στα δύο φύλα των ηλικιωμένων ατόμων ( $p<0,01$ , σχήμα 13Δ). Η διαφορά των επιπέδων φωσφορυλίωσης της S6, που παρατηρήθηκε στην πρώτη βιοψία, μεταξύ των νεαρών και των ηλικιωμένων ατόμων, μειώθηκε στο 14,9% μετά την άσκηση. Παράλληλα, οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν κατά 169,4% υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης της S6 μετά την άσκηση, σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες. Ωστόσο, η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της S6, διέφερε στατιστικά σημαντικά ανάμεσα στα ηλικιωμένα και στα νεαρά άτομα ( $p<0,01$ , σχήμα 12Δ), με τα νεαρά άτομα να αυξάνουν τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της S6 κατά μέσω όρο 7446,1%, έναντι 944,84% των ηλικιωμένων. Αν και η αντίστοιχη στατιστική διαφορά δεν διαπιστώθηκε ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες (σχήμα 14Δ), οι άνδρες αύξησαν περισσότερο τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της S6 (1383,2%) σε σχέση με τις γυναίκες (506,5%).

Τα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK ήταν υψηλότερα στα νεαρά άτομα σε σχέση με τα ηλικιωμένα, κατά 29,5%, με τις ηλικιωμένες γυναίκες να έχουν κατά 10,7% υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης σε σχέση με τους ηλικιωμένους άνδρες. Μετά από 30 λεπτά από την εφαρμογή της άσκησης αντιστάσεων, διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης σε όλες τις ηλικιακές ομάδες ( $p<0,005$ , σχήμα 11E και 13E). Δεν διαπιστώθηκε η ύπαρξη στατιστικώς σημαντικής διαφοράς στη ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της AMPK, μεταξύ νέων-ηλικιωμένων (σχήμα 12E) και ηλικιωμένων ανδρών-γυναικών (σχήμα 14E). Ωστόσο, τόσο τα νεαρά άτομα, όσο και οι ηλικιωμένες γυναίκες είχαν υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης και μεγαλύτερη ποσοστιαία μεταβολή της AMPK, μετά την εφαρμογή της άσκησης αντιστάσεων.

Η φωσφορυλιωμένη p38 α,β,δ βρέθηκε να είναι σημαντικά πιο υψηλή (2683,7%, σχήμα 11ΣΤ) στα νεαρά άτομα, με τις ηλικιωμένες γυναίκες να έχουν ελάχιστα πιο υψηλά επίπεδα σε σχέση με τους ηλικιωμένους άνδρες (σχήμα 13ΣΤ). Μετά την εφαρμογή της άσκησης αντιστάσεων, όλες οι ομάδες αύξησαν στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα φωσφορυλίωσης τους ( $p<0,01$ ), με τους νεαρούς και τους ηλικιωμένους άνδρες να έχουν υψηλότερα επίπεδα. Ωστόσο, διαπιστώθηκε να υπάρχει επίδραση του παράγοντα ηλικίας στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p38 α,β,δ ( $p<0,01$ ), χωρίς την όμως την ύπαρξη



στατιστικώς σημαντικής διαφοράς στη ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης, τόσο ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα (σχήμα 12ΣΤ), όσο και ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες (σχήμα 14ΣΤ).



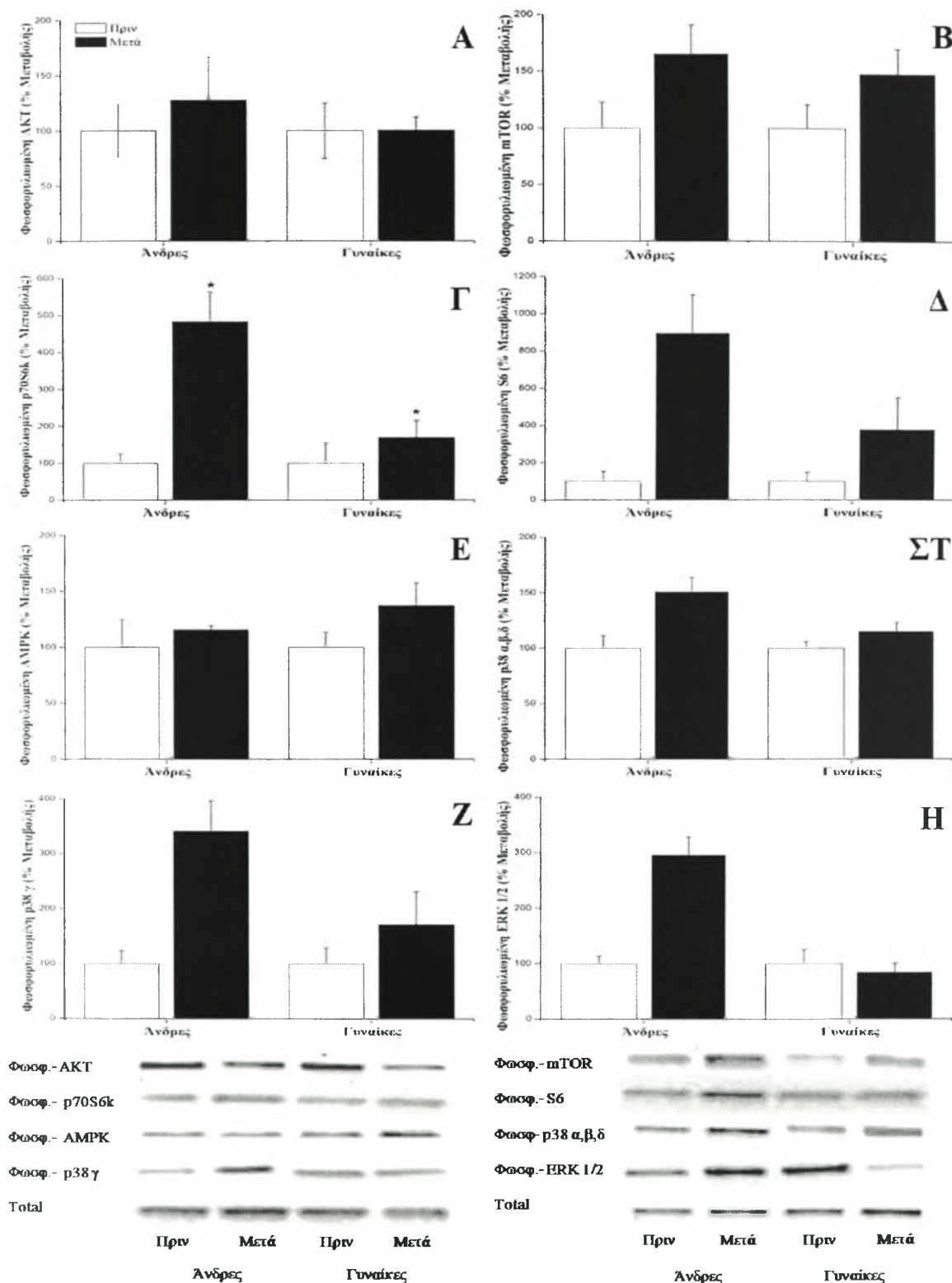
**Σχήμα 13.** Σύγκριση των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. Με (\*) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο μετρήσεις, ενώ με (#) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στα δύο φύλα των ηλικιωμένων ατόμων (επίδραση παράγοντα φύλου).



Τα νεαρά άτομα είχαν σημαντικά υψηλότερα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της p38 γ (3686,14%, σχήμα 11Z) σε σχέση με τα ηλικιωμένα, με τους ηλικιωμένους άνδρες να έχουν ελάχιστα υψηλότερα αρχικά επίπεδα σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες (σχήμα 13Z). Μετά την άσκηση αντιστάσεων, τα επίπεδα φωσφορυλίωσης αυξήθηκαν σημαντικά, σε σχέση με τα αρχικά, και για τα νεαρά άτομα και για τα ηλικιωμένα ( $p<0,000$ , σχήμα 11Z και 13Z). Στατιστικώς σημαντική επίδραση του παράγοντα ηλικία ( $p<0,000$ ) και του παράγοντα φύλου ( $p<0,05$ ), στα ηλικιωμένα άτομα, διαπιστώθηκε να υπάρχει. Παράλληλα, διαπιστώθηκε και η ύπαρξη στατιστικώς σημαντικής αλληλεπίδρασης ( $p<0,005$ ) μεταξύ των παραγόντων της σύγκρισης νεαρών-ηλικιωμένων, όπως και της σύγκρισης των ηλικιωμένων ανδρών-γυναικών, η οποία υπάρχει σε όλες τις βαθμίδες των παραγόντων. Τα νεαρά άτομα και πάλι είχαν υψηλότερα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p38 γ (4650,29%) σε σχέση με τα ηλικιωμένα, όπως επίσης οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν κατά 142,9% υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τις γυναίκες. Όμως, δεν διαπιστώθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στη ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης, τόσο ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα (σχήμα 12Z), όσο και ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και στις ηλικιωμένες γυναίκες (σχήμα 14Z). Ωστόσο η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38 γ ήταν κατά 66,5% υψηλότερη στα νεαρά άτομα, όπως επίσης ήταν κατά 109,5% υψηλότερη στους ηλικιωμένους άνδρες.

Τέλος, τα αρχικά επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 ήταν υψηλότερα στα νεαρά άτομα, κατά 465,74%, σε σχέση με τα ηλικιωμένα. Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2, μετά την άσκηση, δεν αυξήθηκαν σημαντικά, ούτε στα νεαρά ούτε στα ηλικιωμένα άτομα (σχήμα 11H και 13H). Διαπιστώθηκε όμως στατιστικά σημαντική επίδραση του παράγοντα ηλικία, ανάμεσα στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα, για τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 ( $p<0,01$ ). Παράλληλα, υπήρχε αλληλεπίδραση των παραγόντων της σύγκρισης των ηλικιωμένων ανδρών-γυναικών ( $p<0,05$ ), η οποία εμφανίστηκε στην δεύτερη βαθμίδα του παράγοντα μέτρηση (μετά την άσκηση). Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2, μετά την άσκηση, ήταν κατά 340,5% υψηλότερα στα νεαρά άτομα σε σχέση με τα αντίστοιχα των ηλικιωμένων, ενώ επίσης οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν κατά 217,05% υψηλότερα επίπεδα σε σχέση με τις γυναίκες. Δεν διαπιστώθηκε η ύπαρξη στατιστικώς σημαντικής διαφοράς στη ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης σε όλες τις συγκρίσεις (σχήμα 12H και 14H), αν και οι ηλικιωμένοι άνδρες είχαν σημαντικά υψηλότερη ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων

φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 σε σχέση με τις γυναίκες (~200% υψηλότερη ποσοστιαία μεταβολή).



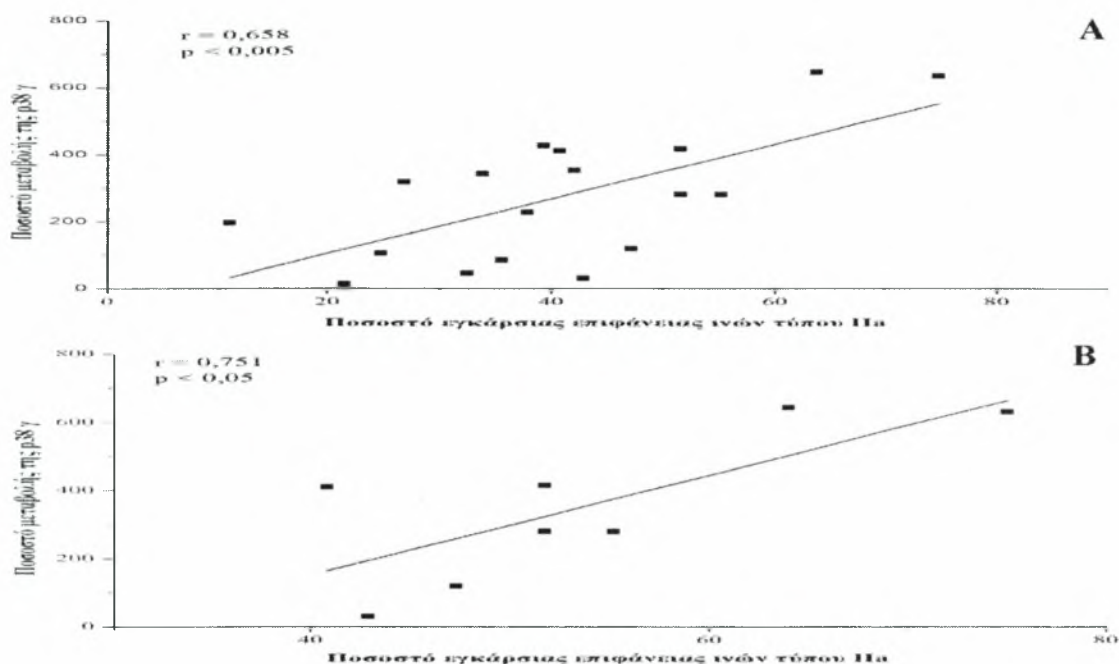
**Σχήμα 14.** Σύγκριση της ποσοστιαίας μεταβολής των επιπέδων φωσφορυλίωσης, μετά την άσκηση με αντιστάσεις, ανάμεσα στους ηλικιωμένους άνδρες και γυναίκες. Με (\*) συμβολίζεται η στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στις δύο ομάδες.

### **Συσχετίσεις**

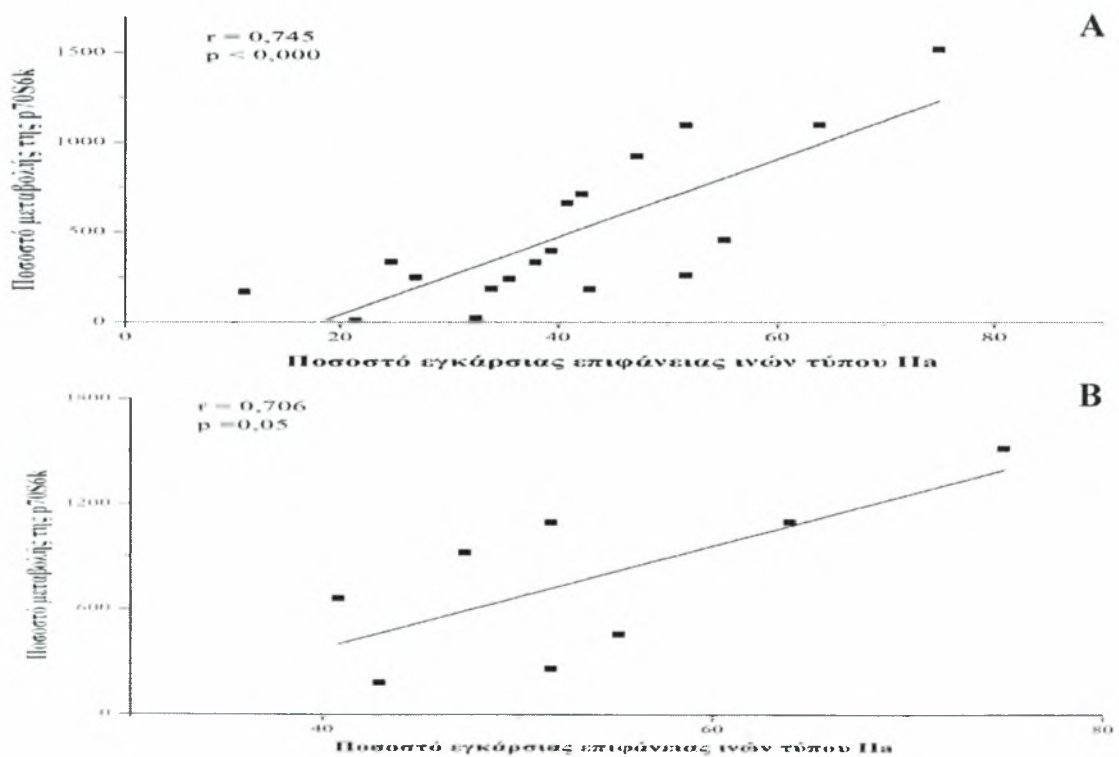
Η αύξηση της ηλικίας βρέθηκε ότι συσχετίζεται αρνητικά με το ποσοστό των ινών τύπου Ια όλων των δοκιμαζόμενων ( $r = -0,659$ ,  $p < 0,005$ ). Αντιθέτως, θετική συσχέτιση διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στην αύξηση της ηλικίας και το ποσοστό των ινών τύπου Ιχ σε αυτά τα άτομα ( $r = 0,646$ ,  $p < 0,005$ ). Οι εγκάρσιες επιφάνειες, όμως, όλων των τύπων των ινών φαίνεται να μειώνονται με την πάροδο των ετών. Αυτό διότι βρέθηκαν αρνητικές συσχετίσεις ανάμεσα στην αύξηση της ηλικίας και τις εγκάρσιες επιφάνειες. Αναλυτικά, η συσχέτιση ανάμεσα στην ηλικία και την εγκάρσια επιφάνεια των ινών τύπου Ι ήταν  $r = -0,719$  ( $p < 0,001$ ), των ινών τύπου Ια  $r = -0,906$  ( $p < 0,000$ ) και τέλος των ινών τύπου Ιχ  $r = -0,902$  ( $p < 0,000$ ). Θετική συσχέτιση, ωστόσο, διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στην ηλικία και στο ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας που καταλαμβάνουν οι ίνες τύπου Ι ( $r = 0,585$ ,  $p < 0,01$ ). Τέλος ισχυρή αρνητική συσχέτιση διαπιστώθηκε να υπάρχει μεταξύ της αύξησης της ηλικίας και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας που καταλαμβάνουν οι ίνες τύπου Ια ( $r = -0,781$ ,  $p < 0,000$ ).

Ισχυρή συσχέτιση διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης της p38  $\gamma$  ( $r = 0,658$ ,  $p < 0,005$ , σχήμα 15Α) και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου Ια. Ωστόσο, αυτή η συσχέτιση, όταν χωριστούν οι δοκιμαζόμενοι ανάλογα την ηλικιακή τους ομάδα, εμφανίζεται μόνο στα νεαρά άτομα ( $r = 0,752$ ,  $p < 0,05$ , σχήμα 15Β). Παρομοίως, το ποσοστό της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου Ια, όλων των δοκιμαζόμενων, συσχετίζεται σημαντικά με το ποσοστό αύξησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k ( $r = 0,792$ ,  $p < 0,001$ , σχήμα 16Α), η οποία και πάλι εμφανίζεται να υπάρχει μόνο στα νεαρά άτομα ( $r = 0,706$ ,  $p < 0,05$ , σχήμα 16Β) και όχι στα ηλικιωμένα άτομα.

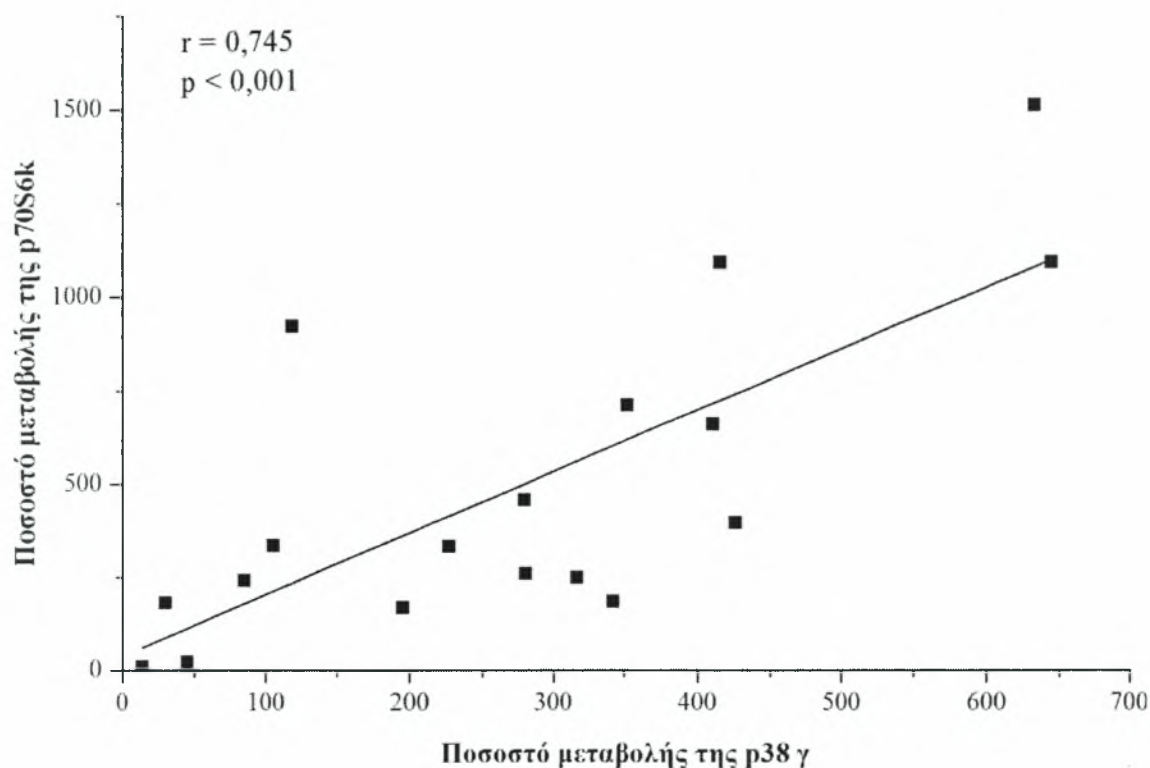
Στα ηλικιωμένα άτομα, διαπιστώθηκαν ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού αύξησης της φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και α) του παράγοντα ατροφίας των ινών τύπου Ι ( $r = 0,740$ ,  $p < 0,05$ ), β) του παράγοντα ατροφίας των ινών τύπου Ια ( $r = 0,854$ ,  $p < 0,005$ ) και τέλος γ) του συνολικού παράγοντα ατροφίας ( $r = 0,939$ ,  $p < 0,001$ ). Επίσης ο παράγοντας ατροφίας των ινών τύπου Ια συσχετίζεται θετικά με το ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης της S6 ( $r = 0,699$ ,  $p < 0,05$ ). Ισχυρή συσχέτιση διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k και της p38  $\gamma$  ( $r = 0,745$ ,  $p < 0,001$ , σχήμα 17). Τέλος ισχυρή αρνητική συσχέτιση διαπιστώθηκε να υπάρχει ανάμεσα στο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k ( $r = -0,622$ ,  $p < 0,01$ , Σχήμα 18) και της αύξησης της ηλικίας.



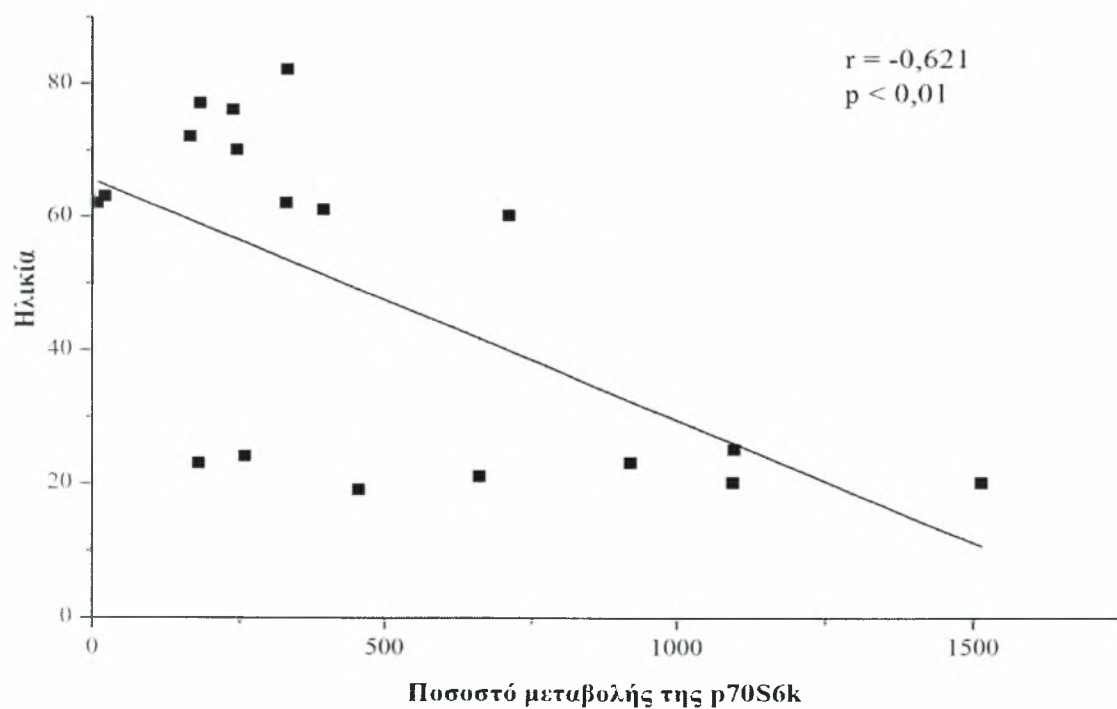
**Σχήμα 15.** Συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p38 γ, μετά την άσκηση, και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου IIa, όταν λαμβάνονται όλα οι δοκιμαζόμενοι σαν ομάδα (A) και στα νεαρά άτομα (B).



**Σχήμα 16.** Συσχετίσεις μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά την άσκηση, και του ποσοστού της εγκάρσιας επιφάνειας των ινών τύπου IIa, όταν λαμβάνονται όλα οι δοκιμαζόμενοι σαν ομάδα (A) και στα νεαρά άτομα (B).



Σχήμα 17. Συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k και της p38 γ, 30 λεπτά μετά την άσκηση αντιστάσεων, για όλα τα άτομα του δείγματος.



Σχήμα 18. Συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού της αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά την άσκηση, και της ηλικίας όλων των δοκιμαζόμενων.





## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το κύριο εύρημα της παρούσας έρευνας ήταν ότι η φωσφορυλίωση της p70S6k και της ριβοσωμάτιας πρωτεΐνης S6, αυξάνεται σε σημαντικά υψηλότερο βαθμό στα νεαρά σε σχέση με τα ηλικιωμένα άτομα, 30 λεπτά μετά από βαριά άσκηση αντιστάσεων. Αντίθετα, η ποσοστιαία αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της AKT, mTOR, ERK 1/2, AMPK και όλων των ισόμορφων της p38, μετά την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων, δεν διαφέρει μεταξύ νεαρών και ηλικιωμένων ατόμων. Τα αποτελέσματα αυτά ίσως να φανερώνουν ότι υπάρχει μια διαφοροποίηση στην ρύθμιση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6 στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων σε σχέση με των νεαρών. Η ενεργοποίηση της p70S6k στη θέση Thr389, η οποία απαιτείται για την πλήρη ενζυμική ενεργοποίηση, και της ριβοσωμάτιας πρωτεΐνης S6, θεωρείται ότι κατέχουν έναν σημαντικό ρυθμιστικό ρόλο για την μυϊκή υπερτροφία, που προκαλείται μέσα από την συστηματική άσκηση αντιστάσεων (Bodine et al., 2001). Για παράδειγμα, μέσα από μια πρόσφατη έρευνα, διαπιστώθηκε ότι η ποσοστιαία αύξηση της φωσφορυλίωσης της p70S6k στη θέση Thr389, αμέσως μετά την εφαρμογή μιας μόνο συνεδρίας με άσκηση αντιστάσεων, συσχετίζεται άμεσα με την αύξηση της μυϊκής υπερτροφίας που διαπιστώνεται μετά από 14 εβδομάδες συστηματικής άσκησης με αντιστάσεις στα νεαρά άτομα (Terzis et al., 2008). Στα ηλικιωμένα άτομα, η μυϊκή μάζα και η δύναμη μπορούν να αυξηθούν σε σημαντικό βαθμό, μέσα από χρόνια άσκηση με αντιστάσεις (Reeves et al., 2004; Thomson & Gordon, 2005), αλλά σε μικρότερο βαθμό και σε μεγαλύτερο χρονικό διάστημα εφαρμογής μιας τέτοιας παρέμβασης, σε σχέση με τα νεαρά άτομα (Kosek et al., 2006). Η μικρότερη αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6, που διαπιστώθηκε στα ηλικιωμένα άτομα αυτής της εργασίας, ίσως να οφείλεται είτε στην ασθενέστερη ενεργοποίηση μερικών μορίων του σηματοδοτικού μονοπατιού (π.χ. p70S6k, S6) στα ηλικιωμένα άτομα, είτε στο μεγαλύτερο χρονικό διάστημα που απαιτείται για την πλήρη ενεργοποίηση του μοριακού μονοπατιού

της AKT-mTOR. Η τελευταία άποψη υποστηρίζεται από δύο πρόσφατες έρευνες, οι οποίες περιγράφουν ότι υπάρχει μια καθυστέρηση (μέχρι και 2 ώρες μετά το τέλος της άσκησης αντιστάσεων) στην ενεργοποίηση αυτού του μοριακού μονοπατιού στα ηλικιωμένα άτομα σε σχέση με τα νεαρότερα (Drummond et al., 2008; Kumar et al., 2009), ωστόσο, 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης με αντιστάσεις δεν διαπιστώθηκαν αλλαγές στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της mTOR και της p70S6k<sup>Thr389</sup>, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα (Mayhew et al., 2009). Τα αποτελέσματα αυτών των ερευνών αναδεικνύουν ότι η ενεργοποίηση του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR, σαν ανταπόκριση του οργανισμού στην άσκηση αντιστάσεων, στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων δεν είναι άμεση όπως συμβαίνει στα νεαρά άτομα. Η αιτία για αυτή την χρονική καθυστέρηση παραμένει άγνωστη, ωστόσο έχει προταθεί η άποψη ότι αυτό οφείλεται στην αδυναμία των μυών των ηλικιωμένων ατόμων στο να ενεργοποιήσουν άμεσα και το μοριακό μονοπάτι της AKT-mTOR όσο και αυτό των MAPK, μετά από άσκηση αντιστάσεων (Drummond et al., 2008).

Η διαφορετική ανταπόκριση των μυών των ηλικιωμένων ατόμων, που διαπιστώθηκε να υπάρχει στα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6, ίσως να οφείλεται στα χαμηλότερα ποσοστά των ινών τύπου II που βρέθηκαν σε αυτά τα άτομα σε σχέση με τα νεαρά (πίνακας 5). Η αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων, έχει βρεθεί ότι εξαρτάται από το ποσοστό των ινών τύπου II. Αυτό διότι, έχει βρεθεί σε πρόσφατη έρευνα ότι, μετά από έκκεντρη άσκηση αντιστάσεων, υπάρχει σημαντική αύξηση της φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6 μόνο στις ίνες τύπου II στα νεαρά άτομα (Tannerstedt et al., 2009). Εδώ και πολύ καιρό συζητείται το εάν τα ηλικιωμένα άτομα έχουν μικρότερο ποσοστό ινών τύπου II στους μύες τους, σε σχέση με τα νεαρά άτομα (Andersen, 2003). Ωστόσο, σε αυτή της εργασία τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6, μετρήθηκαν στα ίδια δείγματα που πραγματοποιήθηκε και η ανάλυση της ATPάσης, για τον διαχωρισμό των ινών. Τα δεδομένα από την παρούσα έρευνα, φανερώνουν ότι η αύξηση της φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6 δεν είναι ίδια με αυτή των νεαρών, μετά την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων, και αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι τα ηλικιωμένα άτομα είχαν χαμηλότερο ποσοστό ινών τύπου II, και συγκεκριμένα τύπου IIa.

Υψηλότερο ποσοστό αύξησης της φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά από την άσκηση με αντιστάσεις, βρέθηκε να υπάρχει στους ηλικιωμένους άνδρες σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες, στην παρούσα εργασία. Παράλληλα, το ποσοστό της

καταλαμβανόμενης περιοχής των ινών τύπου II ήταν υψηλότερο στους ηλικιωμένους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες ( $p = 0,06$ ), αν και ο μικρός αριθμός του δείγματος ( $n = 5$ , σε κάθε ομάδα), δεν άφηνε αυτή της διαφορά να γίνει στατιστικώς σημαντική ( $58,2 \pm 15\%$  έναντι  $40 \pm 11\%$ ). Τα αποτελέσματα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά από άσκηση αντιστάσεων, αυξάνονται κυρίως στις ίνες τύπου II (Tannersted et al., 2009). Παράλληλα, μέσα από μία πρόσφατη έρευνα, διαπιστώθηκε ότι οι ηλικιωμένοι άνδρες αυξάνουν σε σημαντικότερο βαθμό την υπερτροφία των μυών τους σε σχέση με τις ηλικιωμένες γυναίκες, μέσα από χρόνια άσκηση αντιστάσεων (Martel et al., 2006).

Η διαφορετική ανταπόκριση της p70S6k και της S6, που βρέθηκε στα ηλικιωμένα άτομα μετά την εφαρμογή της άσκησης αντιστάσεων, σε σχέση με τις υπόλοιπες πρωτεΐνες του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR, ίσως να φανερώνουν ότι η p70S6k και η S6 ενεργοποιούνται και μέσω διαφορετικής οδού, όπως έχει αναφερθεί και στο παρελθόν (Tannersted et al., 2009). Σε αντίθεση με τα δικά μας αποτελέσματα, οι Drummond και συνεργάτες (2008), στην έρευνα τους διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της mTOR και της p70S6k αυξάνονται παρόμοια στα νεαρά και στα ηλικιωμένα άτομα, μετά τον συνδυασμό αμινοξέων και άσκησης αντιστάσεων. Ωστόσο, στην παρούσα έρευνα όλοι οι δοκιμαζόμενοι ήταν νηστικοί. Επίσης, η χορήγηση αμινοξέων έχει βρεθεί ότι είναι ένας πολύ αποτελεσματικός τρόπος ενεργοποίησης του μοριακού μονοπατιού της AKT-mTOR (Karlsson et al., 2004), και ίσως αυτή να είναι η εξήγηση για τα διαφορετικά ευρήματα μεταξύ της παρούσας έρευνας και αυτής των Drummond και συνεργάτες (2008).

Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της  $AKT^{ser473}$ , μετά την άσκηση, δεν μεταβλήθηκαν στα νεαρά άτομα, εύρημα το οποίο είναι σύμφωνο με προηγούμενες αναφορές (Dreyer et al., 2006; Drummond et al., 2008; Eliasson et al., 2006; Terzis et al., 2008), αν και υπάρχει μια αναφορά η όποια αναδεικνύει το αντίθετο (Creer et al., 2005). Η AMPK έχει βρεθεί ότι είναι ένας σημαντικός αναστολέας της AKT (Inoki, Zhu & Guan, 2003). Μέσα σε αυτή την έρευνα διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της AMPK, μετά την άσκηση αντιστάσεων, αυξήθηκαν σημαντικά και ίσως αυτό το γεγονός να επηρέασε αρνητικά τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της  $AKT^{ser473}$ . Ωστόσο, έχει βρεθεί ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της  $AKT^{ser473}$  είναι αυξημένα ακόμα και 24 ώρες μετά το τέλος της άσκησης αντιστάσεων, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα, και μάλιστα αυτή η αύξηση σχετίζεται και με τα αυξημένα επίπεδα της MPS (Mayhey et al., 2009). Παράλληλα, τα επίπεδα της mTOR αυξήθηκαν σημαντικά, μετά την άσκηση, τόσο στα

νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα. Τα αποτελέσματα αυτά, ίσως να αναδεικνύουν ότι η AKT<sup>ser473</sup> και η mTOR<sup>ser2448</sup>, δεν χρειάζεται να ενεργοποιηθούν εν σειρά στον ανθρώπινο σκελετικό μυ ως ανταπόκριση στην άσκηση αντιστάσεων, όπως έχει προαναφερθεί (Drummond et al., 2008; Mascher et al., 2007; Mayhew et al., 2009; Terzis et al., 2008).

Η φωσφορυλιωμένη ERK 1/2 ενεργοποιεί αρκετά άλλα μόρια του μοριακού μονοπατιού της MAPK, όπως την p90 ριβοσωμία S6 κινάση, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση αρκετών ενδοπύρηνων μεταγραφικών παραγόντων (Williamson et al., 2003). Παράλληλα, ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των δορυφορικών κυττάρων και κατέχει κυρίαρχο ρόλο στα σηματοδοτικά γεγονότα που ευθύνονται για την αναγέννηση και την υπερτροφία των μυών (Williamson et al., 2003). Η άσκηση αντιστάσεων προκαλεί άμεση αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2, τα οποία όμως επανέρχονται στις προ άσκησης τιμές μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα (Karsson et al., 2004). Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας φανέρωσαν ότι τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά, 30 λεπτά μετά το τέλος της άσκησης αντιστάσεων. Ίδια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και στην έρευνα των Drummond και συνεργάτες (2008). Αντίθετα, οι Williamson και συνεργάτες (2003) αναφέρουν ότι υπάρχει μείωση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 και της p38, αμέσως μετά την άσκηση αντιστάσεων, στα ηλικιωμένα άτομα. Φαίνεται, λοιπόν, ότι ο χρόνος λήψης του δείγματος του μυϊκού ιστού, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο για την εύρεση της υψηλότερης τιμής των επιπέδων φωσφορυλίωσης, μετά την άσκηση αντιστάσεων, αφού υπάρχει άμεση αύξηση μετά το τέλος της και γρήγορη επαναφορά στα αρχικά επίπεδα της.

Τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της p38 αυξάνονται άμεσα μετά την εφαρμογή άσκησης αντιστάσεων (Karsson et al., 2004; Williamson et al., 2003), αν και ο ακριβής ρόλος αυτής της αύξησης παραμένει ακόμα αδιευκρίνιστος. Στην παρούσα έρευνα, τα επίπεδα φωσφορυλίωσης όλων των ισομορφών της p38, αυξήθηκαν σημαντικά, τόσο στα νεαρά όσο και στα ηλικιωμένα άτομα, χωρίς όμως την παρουσία σημαντικής διαφοροποίησης στα ποσοστά αύξησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης ανάμεσα στις εξεταζόμενες ομάδες της παρούσας έρευνας. Ενδιαφέρον ήταν ότι η ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p38 γ συσχετίζεται με το ποσοστό της καταλαμβανόμενης περιοχής του μυός από τις ίνες τύπου ΙΙα. Η φωσφορυλιωμένη p38 γ εκφράζεται κυρίως στον σκελετικό μυ (Court et al., 2002; Han et al., 1996; Lechner et al., 1996) και έχει βρεθεί ότι αυξάνεται σημαντικά μετά από έναν αγώνα μαραθωνίου δρόμου (Borpart et al., 2000). Η αναστολή της p38 σε C<sub>2</sub>C<sub>12</sub> μυογενή κύτταρα προκάλεσε μείωση



των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k (Deldique et al., 2008), το οποίο φανερώνει να υπάρχει μια σχέση ανάμεσα σε αυτά τα δύο μόρια. Σε ενίσχυση αυτού, στην παρούσα έρευνα διαπιστώθηκε η ύπαρξη σημαντικής συσχέτισης ανάμεσα στην ποσοστιαία μεταβολή των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k και της p38  $\gamma$  ( $r = 0,745$ ,  $p < 0,001$ ), μετά την άσκηση.

Μέσα από την παρούσα έρευνα διαπιστώθηκε η θετική συσχέτιση μεταξύ του ποσοστού αύξησης των επιπέδων της S6 και του ποσοστού της κατεχόμενης περιοχής του μυός από τις ίνες τύπου Πα. Αυτή η συσχέτιση είναι η πρώτη φορά που αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, η μόνη λογική εξήγηση που μπορούμε να δώσουμε για αυτό το εύρημα είναι η προσπάθεια του οργανισμού των ηλικιωμένων ατόμων να μετριάσουν την μεγάλη μυϊκή απώλεια που υφίστανται, με το να «προωθεί» της αύξηση των επιπέδων φωσφορυλίωσης αυτών των πρωτεϊνών μετά την εφαρμογή βαριάς άσκησης αντιστάσεων.

Ένα από τα κύρια ερωτήματα της παρούσας έρευνας ήταν αν υπάρχουν συσχετίσεις ανάμεσα στα ποσοστά αύξησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών και των παραγόντων ατροφίας (τόσο για κάθε τύπο ίνας ξεχωριστά, όσο και για τον συνολικό) στα ηλικιωμένα άτομα. Σε αντίθεση όμως με τις υποθέσεις μας, όπου πιστεύαμε ότι θα βρίσκαμε αρνητικές συσχετίσεις, αυτές που διαπιστώθηκε να υπάρχουν ήταν θετικές. Τα ποσοστά αύξησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 συσχετίζονταν θετικά με τον παράγοντα ατροφία των ινών τύποι Ι και Πα, όπως επίσης και με τον συνολικό παράγοντα ατροφίας. Αυτές οι θετικές συσχετίσεις υπάρχουν διότι στους μύες των ηλικιωμένων ατόμων τα επίπεδα συγκέντρωσης του TNF- $\alpha$  είναι υψηλά (Kirwan et al., 2001). Ο TNF- $\alpha$  είναι υπεύθυνος για την μυϊκή ατροφία, αλλά αυξάνει τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2 (Raingeaud et al., 1995). Τα παρών αποτελέσματα της έρευνας αυτής, υποστηρίζουν ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο παράγοντας ατροφίας τόσο αυξάνονται και τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της ERK 1/2, μετά από βαριά άσκηση αντιστάσεων, στα ηλικιωμένα άτομα.

Για το τέλος αφήσαμε την πιο σημαντική συσχέτιση, κατά την γνώμη μας, που διαπιστώθηκε σε αυτή την έρευνα και είναι η πρώτη φορά που αναφέρεται. Αυτή είναι της αρνητικής συσχέτισης που υπάρχει ανάμεσα στην ηλικία και στα ποσοστά αύξησης των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k, μετά από άσκηση με αντιστάσεις. Πιθανότατα η αρνητική αυτή συσχέτιση να οφείλεται στο γεγονός ότι με την πάροδο των ετών τα ποσοστά των ινών τύπου Πα, όπως έχουμε αναφέρει σε προηγούμενη παράγραφο, μειώνονται σε σημαντικό βαθμό. Η p70S6k θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους



παράγοντες που επηρεάζουν την μυϊκή υπερτροφία (Terzis et al., 2008). Οπότε, μέσα από την διαπίστωση αυτή, αιτιολογείται εν μέρει σε μοριακό επίπεδο η μικρότερη μυϊκή υπερτροφία, σε σχέση με αυτή των νεαρών ατόμων, που παρατηρείται ακόμα και στα πολύ ηλικιωμένα άτομα (Kosek et al., 2006) μετά από χρόνια προπόνηση με αντιστάσεις.

Εν κατακλείδι, τα παρών αποτελέσματα προτείνουν ότι υπάρχει διαφοροποίηση στη ρύθμιση των επιπέδων φωσφορυλίωσης της p70S6k και της S6, τα οποία θεωρούνται σημαντικά μόρια για την μυϊκή υπερτροφία, μετά από άσκηση αντιστάσεων στους σκελετικούς μύες των ηλικιωμένων ατόμων σε σχέση με τα νεαρά, και ίσως αυτό να οφείλεται στα χαμηλότερα ποσοστά των ινών τύπου ΙΙα που διαπιστώνεται να υπάρχουν στα ηλικιωμένα άτομα.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας μπορούμε να διατυπώσουμε ότι η οξεία άσκηση με αντιστάσεις προκαλεί διαφορετική αύξηση στα επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών του μονοπατιού της AKT-mTOR, και όχι στις πρωτεΐνες του μονοπατιού της MAPK και της AMPK στους σκελετικούς μύες των ηλικιωμένων ατροφικών ατόμων σε σχέση με τα νεαρά άτομα, ενώ υπάρχει διαφορά τόσο στα αρχικά όσο και τα τις μετά της άσκησης επίπεδα φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών.

Συμπερασματικά σχετικά με τις μηδενικές υποθέσεις που έγιναν μπορούν να αναφερθούν τα παρακάτω.

- Υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα μετά από εκτέλεσης μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων, η οποία εντοπίζεται στις AKT, mTOR, p38 α,β,δ, p38 γ και ERK 1/2.
- Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά αύξησης της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στα νεαρά και ηλικιωμένα άτομα μετά από εκτέλεσης μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων, με εξαίρεση την p70S6k και της S6.
- Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα επίπεδα της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στις ηλικιωμένες γυναίκες και στους ηλικιωμένους άνδρες μετά από εκτέλεσης μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων, με εξαίρεση την p38 γ.
- Δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στα ποσοστά αύξησης της φωσφορυλίωσης των πρωτεϊνών των μοριακών μονοπατιών της AKT-mTOR, MAPK και AMPK ανάμεσα στις ηλικιωμένες ατροφικές γυναίκες και στους ηλικιωμένους ατροφικούς άνδρες μετά από εκτέλεσης μίας συνεδρίας άσκησης αντιστάσεων, με εξαίρεση την p70S6k.

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Abe, JI., Kusuhara, M., Ulevitch, RJ., Berk, BC. & Lee, JD. (1996). Big mitogen-activated protein kinase 1(BMK1) is a redox-sensitive kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 16586–16590.
- Adams, GR. (1998). Role of insulin-like growth factor-I in the regulation of skeletal muscle adaptation to increased loading. *Exercise Sport Science Review*, 26, 31-60.
- Adams, GR. (2002). Autocrine and/or paracrine insulin-like growth factor-I activity in skeletal muscle. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 403, S188–S196.
- Adams, GR., Caiozzo, VJ., Haddad, F. & Baldwin, KM. (2002). Cellular and molecular responses to increased skeletal muscle loading after irradiation. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 283, C1182–C1195.
- Adams, GR., Hather, BM., Baldwin, KM. & Dudley, GA. (1993). Skeletal muscle myosin heavy chain composition and resistance training. *European Journal of Applied Physiology*, 74, 911–915.
- Adams, K., O’Shea, P. & O’Shea, K. (1999). Aging. its effects on strength, power, flexibility, and bone density. *Strength & Conditioning Journal*. 21, 65–77.
- Allen, D.L., Linderman, J.K., Roy, R.R., Grindeland, R.E., Mukku, V. & Edgerton, V.R. (1997). Apoptosis. a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hind limb unweighting. *The American Journal of Physiology*, 273, C579-C587.
- American College of Sports Medicine (2000 a). *Guidelines for Exercise Testing and Prescription*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000, 57–90.
- American College of Sports Medicine (2000 b). Nutrition and athletic performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32, 2130–2145.
- American College of Sports Medicine Position Stand (2002). Progression models in resistance training for healthy adults. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 34(2), 364-80.

- Andersen, J.L. (2003). Muscle fibre type adaptation in the elderly human muscle. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 13, 40-47.
- Atherton, P.J., Babraj, J., Smith, K., Singh, J., Rennie, M.J. & Wackerhage, H. (2005). Selective activation of AMPK-PGC-1 $\alpha$  or PKBTSC2- mTOR signaling can explain specific adaptive responses to endurance or resistance training-like electrical muscle stimulation. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 19, 786–798.
- Baar, K. & Esser, K. (1999). Phosphorylation of p70S6k correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 276, C120–C127.
- Baar, K., Nader, G. & Bodine, S. (2006). Resistance exercise, muscle loading/ unloading and the control of muscle mass. *Essays in Biochemistry*, 42, 61-74.
- Backer, J.M., Myers, M.G. Jr., Shoelson, S.E., Chin, D.J., Sun, X.J., Miralpeix, M., Hu, P., Margolis, B., Skolnik, E.Y. & Schlessinger, J. (1992). Phosphatidylinositol 30-kinase is activated by association with IRS-1 during insulin stimulation. *EMBO Journal*, 11, 3469–3479.
- Balagopal, P., Rooyackers, O.E., Adey, D.B., Ades, P.A. & Nair, K.S. (1997). Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavychain and sarcoplasmic protein in humans. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 273, E790–E800.
- Barton-Davis, E., Shoturma, D., Musaro, A., Rosenthal, N. & Sweeney, H.L. (1998). Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 15603-15607.
- Beachle TR., Earle RW. & Wathen D. (2000) Resistance training. In Beachle TR. & Earle RW (eds.) *Essentials of strength training and conditioning* (pp 395–425). Champaign IL.: Human kinetics.

- Beneka, A., Malliou, P., Fatouros, I., Jamurtas, A., Gioftsidou, A., Godolias, G. & Taxildaris, K. (2005). Resistance training effects on muscular strength of elderly are related to intensity and gender. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 8 (3), 274-283.
- Bergström, J. (1962). Muscle electrolytes in man. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 68, 145-150.
- Biolo, G., Maggi, SP., Williams, BD., Tipton, KD. & Wolfe, RR. (1995). Increased rates of muscle protein turnover and amino acid transport after resistance exercise in humans. *The American Journal of Physiology*, 268, 514-520.
- Black, BL. & Olson, EN. (1998). Transcriptional control of muscle development by myocyte enhancer factor-2 (MEF2). proteins. *Annual Review of Cell Developmental Biology*, 14, 167-196.
- Blomstrand, E., Eliasson, J., Karlsson, HK. & Kohnke, R. (2006). Branched chain amino acids activate key enzymes in protein synthesis after physical exercise. *The Journal of Nutrition*, 136, 269-273.
- Bodine, SC. (2006). mTOR signaling and the molecular adaptation to resistance exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 38, 11, 1950-1957.
- Bodine, SC., Latres, E., Baumhueter, S., Lai, VK., Nunez, L. & Clarke, BA. (2001a). Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science*, 294, 1704-1708.
- Bodine, SC., Stitt, TN., Gonzalez, M., Kline, WO., Stover, GL., Bauerlein, R., Zlotchenko, E., Scrimgeour, A., Lawrence, JC., Glass, DJ. & Yanacopoulos, GD. (2001b). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature Cell Biology*, 3, 1014-1019.
- Bolster, DR., Crozier, SJ., Kimball, SR. & Jefferson, LS. (2002). AMP-activated protein kinase suppresses protein synthesis in rat skeletal muscle through down-regulated mammalian target of rapamycin (mTOR). signaling. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 23977-23980.



- Bolster, DR., Jefferson, LS. & Kimball, SR. (2004). Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid- and exercise-induced signaling. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 351–356.
- Bolster, DR., Kubica, N., Crozier, SJ., Williamson, DL., Farrell, PA., Kimball, SR. & Jefferson, LS. (2003). Immediate response of mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated signalling following acute resistance exercise in rat skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 15, 213–220
- Booth, FW., Tseng, BS., Fluck, M. & Carson, JA. (1998). Molecular and cellular adaptation of muscle in response to physical training. *Acta Physiologica Scandinavica*, 162, 343-50.
- Boppart, MD., Aronson, D., Gibson, L., Roubenoff, R., Abad, LW., Bean, J., Goodyear, LJ. & Fielding, RA. (1999). Eccentric exercise markedly increases c-Jun NH2-terminal kinase activity in human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 87, 1668–1673.
- Bottinelli, R., Canepari, M., Pellegrino, MA. & Reggiani, C. (1996). Force-velocity properties of human skeletal muscle fibres. myosin heavy chain isoform and temperature dependence. *Journal of Physiology*, 495, 573-586.
- Brooke, M. & Engel, WK. (1969a). The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types 1. Adult male and female. *Neurology*, 19, 387-393.
- Brooke, M. & Engel, WK. (1969b). The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types 2. Disease of the upper and lower motor neurons. *Neurology*, 19, 221-233.
- Brooke, M. & Kaiser K (1970a). Muscle fiber types. How many and what kind. *Arch Neurology*, 23, 369–379.
- Brooke, M. & Kaiser K (1970b). Three “myosin adenosine-triphosphatase” systems. the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 18, 670–672.

- Bross, R., Javanbakht, M. & Bhasin, S. (1999). Anabolic Interventions for Aging-Associated Sarcopenia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84 (10), 3420- 3430.
- Brown, M., Ross, TP. & Holloszy, JO. (1992). Effects of ageing and exercise on soleus and extensor digitorum longus muscles of female rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 63, 69–77.
- Brunet, A., Bonni, A., Zigmond, MJ., Lin, MZ., Juo, P., Hu, LS., Anderson, MJ., Arden, KC., Blenis, J. & Greenberg, ME. (1999). Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell*, 96, 857–868.
- Brunn, GJ., Fadden, P., Haystead, TA. & Lawrence, JC. Jr., (1997). The mammalian target of rapamycin phosphorylates sites having a (Ser/Thr)-Pro motif and is activated by antibodies to a region near its COOH terminus. *The Journal of Biological Chemistry*, 272, 32547–32550.
- Burnett, PE., Barrow, RK., Cohen, NA., Snyder, SH. & Sabatini, DM. (1998). RAFT1 phosphorylation of the translational regulators p70 S6 kinase and 4E-BP1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 1432–1437.
- Campbell, W., Young, VR., Joseph, LJ. & Evans, WJ. (1995). Effects of resistance training and dietary protein intake on protein metabolism in older adults. *The American journal of physiology*, 268, 1143-1153.
- Cerniglia, L., Delmonico, M., Lindle, R., Hurley, B. & Rogers, M. (2007). Effects of acute supine rest on mid-thigh cross-sectional area as measured by computed tomography. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 27, 249–253.
- Chen. Z., Gibson, TB., Robinson, F., Silvestro, L., Pearson, G., Xu, B., Wright, A., Vanderbilt, C. & Cobb, MH. (2001). MAP kinases. *Chemical Reviews*, 101, 2449–2476.

- Chesley, A., MacDougall, JD., Tarnopolsky, MA., Atkinson, SA. & Smith, K. (1992). Changes in human muscle protein synthesis after resistance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 73, 1383- 1388.
- Chilibeck, PD., Paterson, DH., Cunningham, DA., Taylor, AW. & Noble, EG. (1997). Muscle capillarization, O<sub>2</sub> diffusion distance, and VO<sub>2</sub> kinetics in old and young individuals. *European Journal of Applied Physiology*, 82, 63–69.
- Coffey, VG., Zhong, Z., Shield, A., Canny, BJ., Chibalin, AV., Zierath, JR. & Hawley, JA. (2006). Early signaling responses to divergent exercise stimuli in skeletal muscle from well-trained humans. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20, 190–200.
- Coggan, AR., Spina, JR., King, DS., Rogers, MA., Brown, M., Nemeth, PM. & Holloszy, JO. (1992). Skeletal muscle adaptations to endurance training in 60- to 70-yr-old men and women. *European Journal of Applied Physiology*, 72, 1780-1786.
- Conboy, IM., Conboy, MJ., Smythe, GM. & Rando, TA. (2003). Notch mediated restoration of regenerative potential to aged muscle. *Science*, 302, 1575-1577.
- Corpas, E., Harman, SM. & Blackman, MR. (1993). Human growth hormone and human aging. *Endocrine reviews*, 14, 20–39.
- Court, NW., dos Remedios, CG., Cordell, J. & Bogoyevitch, MA. (2002). Cardiac expression and subcellular localization of the p38 mitogen-activated protein kinase member, stress-activated protein kinase-3 (SAPK3). *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 34, 413-426.
- Creer, A., Gallagher, P., Slivka, D., Jemiolo, B., Fink, W. & Trappe, S. (2005). Influence of muscle glycogen availability on RK1/2 and Akt signaling after resistance exercise in human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 99, 950–956.
- Cross, DA., Alessi, DR., Cohen, P., Andjelkovich, M. & Hemmings, BA. (1995). Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature*, 378, 785–789.

- Crowley, MA. & Matt, KS. (1996). Hormonal regulation of skeletal muscle hypertrophy in rats. The testosterone to cortisol ratio. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 73, 66-72.
- Cuthbertson, D., Smith, K., Babraj, J., Leese, G., Waddell, T., Atherton, P., Wackerhage, H., Taylor, PM. & Rennie MJ. (2005). Anabolic signaling deficits underlie amino acid resistance of wasting, aging muscle. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 19, 422–424.
- Cuthbertson, DJ., Babraj, J., Smith, K., Wilkes, E., Fedele, MJ., Esser, K. & Rennie, M. (2006). Anabolic signaling and protein synthesis in human skeletal muscle after dynamic shortening or lengthening exercise. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 290, 731–738.
- Czech, MP. (1985). The nature and regulation of the insulin receptor. structure and function. *Annual Review of Physiology*, 47, 357–381.
- Datta, SR., Brunet, A. & Greenberg, ME. (1999). Cellular survival. a play in three Akts. *Genes & Development*, 13, 2905–2927.
- Davidson, YS., Clague, JE., Horan, MA. & Pendleton, N.( 1999). The effect of aging on skeletal muscle capillarization in a murine model. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 54, 448–451.
- De Meyts, P. & Whittaker, J. (2002). Structural biology of insulin and IGF1 receptors. implications for drug design. *Nature reviews. Drug Discovery*, 1, 769–783.
- Deak, M., Clifton, A., Lucocq, L. & Alessi, D. (1998). Mitogen- and stress-activated protein kinase-1 (MSK1). is directly activated by MAPK and SAPK2/p38, and may mediate activation of CREB. *EMBO Journal*, 15, 6552–6563.
- Degens, H., Turek, Z., Hoofd, LJC. & Binkhorst, RA. (1994). Capillary proliferation related to fibre types in hypertrophied aging rat m. plantaris. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 345, 669–676.

- Deldicque, L., Theisen, ZD. & Francaux, ZM. (2005). Regulation of mTOR by amino acids and resistance exercise in skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 94, 1–10.
- Deldicque, L., Atherton P, Patel, R., Theisen, D., Nielens, H., Rennie, MJ. & Francaux, M. (2008). Decrease in Akt/PKB signalling in human skeletal muscle by resistance exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 104, 57–65.
- Dennis, PB., Pullen, N., Kozma, SC. & Thomas, G. (1996). The principal rapamycin-sensitive p70s6k phosphorylation sites T229 and T389 are differentially regulated by rapamycin-insensitive kinase-kinases. *Molecular and cellular biology*, 16, 6242–6251.
- Deshmukh, A., Coffey, VG., Zhong, Z., Chibalin, AV., Hawley, JÁ. & Zierath, JR. (2006). Exercise-induced phosphorylation of the novel Akt substrates AS 160 and filamin A in human skeletal muscle. *Diabetes*, 55, 1776–1782.
- Dirks, AJ. & Leeuwenburgh, C. (2005). The role of apoptosis in age related skeletal muscle atrophy. *Sports Medicine*, 35, 473-483.
- Doherty, TJ. (2003). Invited review. aging and sarcopenia. *European Journal of Applied Physiology*, 95, 1717-1727.
- Dreyer, HC., Blanco, CE., Sattler, FR., Schroeder, ET. & Wiswell, RA. (2006). Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle & Nerve*, 33, 242-253.
- Dreyer, HC., Fujita, S., Cadenas, JG., Chinkes, DL., Volpi, E. & Rasmussen, BB. (2006). Resistance exercise increases AMPK activity and reduces 4E-BP1 phosphorylation and protein synthesis in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 576, 613–624.
- Drummond MJ, Fry CS, Glynn EL, Dreyer HC, Dhanani S, Timmermann KL, Volpi E., Rasmussen BB. (2009). Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *The Journal of Physiology*, 587, 1535-1546.



- Drummond, MJ., Dreyer, HC., Pennings, B., Fry, CS., Dhanani, S., Dillon, EL., Sheffield-Moore, M., Volpi, E. & Rasmussen, BB. (2008). Skeletal muscle protein anabolic response to resistance exercise and essential amino acids is delayed with aging. *European Journal of Applied Physiology*, 104, 1452–1461.
- Dubowitz, V. & Serwy, AC. (2007). *Muscle Biopsy. A Practical Approach*. Philadelphia: Elsevier Limited.
- Dufner, A. & Thomas, G. (1999). Ribosomal S6 Kinase Signaling and the Control of Translation. *Experimental Cell Research*, 253, 100–109.
- Dutta, C. & Hadley, EC. (1996). The significance of sarcopenia in old age. *Journal of Gerontology* 50 (A), 1–4.
- Dutta, C., Hadley, EC. & Lexell, J. (1997). Sarcopenia and physical performance in old age. overview. *Muscle & Nerve*, 5, 5–9.
- Eliasson, J., Elfegoun, T., Nilsson, J., Köhnke, R., Ekblom, B. & Blomstrand, E. (2006). Maximal lengthening contractions increase p70 S6 kinase phosphorylation in human skeletal muscle in the absence of nutritional supply. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 291, 1197-1205.
- Endo, F. & Elsas, LJ. (1984). Structural analysis and subunit interaction of insulin receptor from membranes of cultured embryonic chick heart cells. *Endocrinology*, 115, 1828–1837.
- Erbay, E. & Chen, J. (2001). The mammalian target of rapamycin regulates C2C12 myogenesis via a kinase-independent mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*, 276, 36079–36082.
- Evans, WJ. (1995). What is sarcopenia? *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 50, 5–8.
- Evans, WJ., Phinney, SD. & Young, VR. (1982). Suction applied to a muscle biopsy maximizes sample size. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 14(1), 100-110.

- Fatouros, IG., Jamurtas, AZ., Viliotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K. & Deliconstantinos, G. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 36, 2065-2072.
- Fatouros, IG., Tournis, S., Leontsini, D., Jamurtas, AZ, Sxina, M., Thomakos, P., Manousaki, M., Douroudos, I., Taxildaris, K. & Mitrakou, A. (2005). Leptin and Adiponectin Responses in Overweight Inactive Elderly Following Resistance Training and Detraining are Intensity-Related. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(11), 5970-5977.
- Fiatarone-Singh, M., Wenjing, D., Manfredi, T., Solares, G., O'Neill, E., Clements, K., Ryan, N., Kehayias, J., Fielding, R. & Evans, W. (1999). Insulin-like growth factor I in skeletal muscle after weight-lifting exercise in frail elders. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 40, 135-143.
- Fiatarone-Singh, MA., Marks, EC., Ryan, ND., Meredith, CN., Lipsitz, LA. & Evans, WJ. (1990). High-intensity strength training in nonagenarians. effects on skeletal muscle. *JAMA : the Journal of the American Medical Association*, 263, 3029-3034.
- Fielding, R. (1995). Effects of exercise training in the elderly. impact of progressive-resistance training on skeletal muscle and whole-body protein metabolism. *Proceedings of the Nutrition Society*, 54, 665-675.
- Fielding, R., LeBrasseur, N., Cuoco, A., Bean, J., Mizer, K. & Fiatarone-Singh, M. (2002). High-Velocity Resistance Training Increases Skeletal Muscle Peak Power in Older Women. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50, 655-662.
- Fielding, R., Meredith, CN., O'Reilly, KP., Frontera, R., Cannon, JG. & Evans, WJ. (1991). Enhanced protein breakdown after eccentric exercise in young and older men. *European Journal of Applied Physiology*, 71, 674-679.
- Flynn, MA., Nolph, GB., Baker, AS. & Krause, G. (1992). Aging in humans. a continuous 20-year study of physiologic and dietary parameters. *Journal of the American College of Nutrition*, 11, 660-672.

- Forbes, GB. (1999). Longitudinal changes in adult fat free mass. Influence of body weight. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 70, 1025-1031.
- Forsberg, AM., Nilsson, E., Werneman, J., Bergstrom, J. & Hultman, E. (1991). Muscle composition in relation to age and sex. *Clinical Science*, 81, 249-256.
- Frischknecht, R. (1998). Effect of training on muscle strength and motor function in the elderly. *Reproduction, Nutrition, Development*, 38, 167-174.
- Fröjdö, S., Vidal, H. & Pirola, L. (2009). Alterations of insulin signaling in type 2 diabetes. A review of the current evidence from humans, *Biochimica & Biophysica Acta*, 1792, 83–92.
- Frontera, WR., Meredith, CN., O'Reily, K., Knuttgen, HG. & Evans, W. (1988). Strength conditioning in older men. Skeletal muscle hypertrophy and improved function *European Journal of Applied Physiology*, 64, (3), 1038-1044.
- Frontera, WR., Hughes, V., Fielding, R., Fiatarone, M., Evans, W. & Roubenoff, R. (2000). Aging of skeletal muscle. a 12-yr longitudinal study. *European Journal of Applied Physiology*, 88, 1321-1326.
- Frost, RA, Nystrom, GJ. & Lang, CH. (2003). Tumor necrosis factor-alpha decreases insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid expression in C2C12 myoblasts via a Jun N-terminal kinase pathway. *Endocrinology*, 144, 1770–1779.
- Fry, AC. (2004). The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports medicine*, 34, 663–679.
- Fujita, S., Abe, T., Drummond, MJ., Cadenas, JG., Dreyer, HC., Sato, Y., Volpi, E. & Rasmussen, BB. (2007). Blood flow restriction during low intensity resistance exercise increases S6K1 phosphorylation and muscle protein synthesis. *European Journal of Applied Physiology*, 103, 903–910.
- Funai, K., Parkington, JD., Carambula, S. & Fielding, RA. (2006). Age associated decrease in contraction-induced activation of downstream targets of Akt/mTor signaling in skeletal muscle. *American journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 290, 1080–1086.

- Gallagher, D., Ruts, E., Visser, M., Heshka, S., Baumgartner, RN., Wang, J., Pierson, RN., Pi-Sunyer, FX. & Heymsfield, SB. (2000). Weight stability masks body composition changes in elderly men. Visceral fat increase and lean tissue loss. *The American Journal of Physiology*, 279, 366-375.
- Galvao, DA. & Taaffe, DR. (2005). Resistance exercise dosage in older adults. single-versus multiset effects on physical performance and body composition. *Journal of the American Geriatrics Society*, 53, 2090-2097.
- Gao, X., Zhang, Y., Arrazola, P., Hino, O., Kobayashi, T., Yeung, RS., Ru, B. & Pan, D. (2002). Tsc tumour suppressor proteins antagonize amino-acid-TOR signalling. *Nature Cell Biology*, 4, 699-704.
- Gerasimovskaya, E., Tucker, D., Weiser-Evans, M., Wenzlau, J., Klemm, D., Banks, M. & Stenmark, K. (2005). Extracellular atp-induced proliferation of adventitial fibroblasts requires phosphoinositide 3-kinase, akt, mammalian target of rapamycin, and p70 s6 kinase signaling pathways. *The Journal of Biological Chemistry*, 280 (3), 1838-1848.
- Gingras, AC., Raught, B. & Sonenberg, N. (2001). Regulation of translation initiation by FRAP/mTOR. *Genes & Development*, 15, 807-826.
- Goberdhan, DC. & Wilson, C. (2003). PTEN. tumour suppressor, multifunctional growth regulator and more. *Human Molecular Genetics*, 12, 239-248.
- Gordon, SE., Lake, JA., Westerkamp, CM. & Thomson, DM (2008). Does AMP-activated protein kinase negatively mediate aged fast-twitch skeletal muscle mass? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 36 (4), 179-186.
- Green, H., Goreham, C., Ouyang, J., Ball-Burnett, M. & Ranney, D. (1999). Regulation of fiber size, oxidative potential, capillarization in human muscle by resistance exercise. *American Journal of Physiology*, 276, 591-596.
- Greiwe, JS., Cheng, B., Rubin, DC., Yarasheski, KE. & Semenkovich, CF. (2001). Resistance exercise decreases skeletal muscle tumor necrosis factor alpha in frail

elderly humans. *The FASEB Journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 15, 475–482.

Haddad, F. & Adams, GR. (2006). Aging-sensitive cellular and molecular mechanisms associated with skeletal muscle hypertrophy. *European Journal of Applied Physiology*, 100, 1188-1203.

Haidet, GC. & Parsons, D. (1991). Reduced exercise capacity in senescent beagles. an evaluation of the periphery. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology*, 260, 173–182.

Hakkinen, K., Kallinen, M., Izquierdo, M., Jokelainen, K., Lassila, H., Mälikä, E., Kraemer, WJ., Newton, R. & Alen, M. (1998). Changes in agonist antagonist EMG, muscle CSA, and force during strength training in middle-aged and older people. *European Journal of Applied Physiology*, 84, 1341–1349.

Hakkinen, K., Kraemer, WJ., Newton, R. & Alen, M. (2001). Changes in electromyographic activity, muscle fibre and force production characteristics during heavy resistance/power strength training in middle aged and older men and women. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171, 51-62.

Hakkinen, K., Newton, RU., Gordon, SE., McCormick, M., Volek, JS., Nindl, BC., Gotshalk, LA., Campbell, WW., Evans, WJ., Hakkinen, A., Humphries, BJ. & Kraemer, WJ. (1998). Changes in muscle morphology, electromyographic activity and force production characteristics during progressive strength training in young and older men. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 53, 415-423.

Häkkinen, K., Pastinen, UM., Karsikas, R. & Linnamo, V. (1995). Neuro muscular performance in voluntary bilateral and unilateral contraction and during electrical stimulation in men at different ages. *European Journal of Applied Physiology*, 432, 913-920.

Häkkinen, K., Pakarinen, A., Kraemer, WJ., Häkkinen, A., Valkeinen, H. & Alen, M. (2001). Selective muscle hypertrophy, changes in EMG and force, and serum



- hormones during strength training in older women. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 569-580.
- Han, J., Lee, J.D., Jiang, Y., Li, Z., Feng, L. & Ulevitch, R.J. (1996). Characterization of the structure and function of a novel MAP kinase kinase (MKK6). *The Journal of Biological Chemistry*, 271, 2886–2891.
- Hardt, S.E. & Sadoshima, J. (2002). Glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . A novel regulator of cardiac hypertrophy and development. *Circulation Research*, 90, 155–163.
- Harridge, S.D.R., Kryger, A. & Stensgaard, A. (1999). Knee extensor strength, activation, and size in very elderly people following strength training. *Muscle & Nerve*, 22, 831–839.
- Hasten, D.L., Pak-Loduca, J. & Obert, K.A. (2002). Resistance exercise acutely increases MHC and mixed muscle protein synthesis rates in 78-84 and 23-32 yr olds. *American Journal of Physiology*, 278, 620-626.
- Hawke, T.J. & Garry, D.J. (2001). Myogenic satellite cells. physiology to molecular biology. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 534–551.
- Hedstrom, M., Cristea, A., Dalen, N. & Larsson, L. (2007). Effects of ageing and gender on contractile properties in human skeletal muscle and single fibers. *Acta Physiologica*, 190, 229-241.
- Hernandez, J.M., Fedele, M.J. & Farrell, P.A. (2000). Time course evaluation of protein synthesis and glucose uptake after acute resistance exercise in rats. *European Journal of Applied Physiology*, 88, 1142–1149.
- Herrington, J. & Carter-Su, C. (2001). Signaling pathways activated by the growth hormone receptor. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 12, 252–257.
- Hikida, R., Staron, R., Hagerman, F., Walsh, S., Kaiser, E., Shell, S. & Hervey, S. (2000). Effects of High-Intensity Resistance Training on Untrained Older Men. II. Muscle Fiber Characteristics and Nucleo-Cytoplasmic Relationships. *Journal of Gerontology*, 55, 347-354.

- Hikida, RS., Walsh, S., Barylski, N., Campos, G., Hagerman, F. & Staron, R. (1998). Is hypertrophy limited in elderly muscle fibers? A comparison of elderly and young strength-trained men. *Basic and Applied Myology*, 8, 419-427.
- Holloway, L., Butterfield, G., Hintz, RL., Gesundheit, N. & Marcus, R. (1994). Effects of recombinant human growth hormone on metabolic indices, body composition, and bone turnover in healthy elderly women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 79, 470-479.
- Hopp, P. (1993). Effects of age and resistance training on skeletal muscle. a review. *Physical Therapy*, 73, 361-373.
- Hornberger, TA. & Chien, S. (2006). Mechanical stimuli and nutrients regulate rapamycin-sensitive signaling through distinct mechanisms in skeletal muscle. *Journal of Cellular Biochemistry*, 97, 1207–1216.
- Hornberger, TA., Chu, WK., Mak, YW., Hsiung, JW., Huang, SA. & Chien, S.(2006). The role of phospholipase D and phosphatidic acid in the mechanical activation of mTOR signaling in skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103 (12), 4741-4746.
- Hornberger, TA., Mateja, RD., Chin, ER., Andrews, JL. & Esser, K.A., (2005). Aging does not alter the mechanosensitivity of the p38, p70S6k, and JNK2 signaling pathways in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 98 (4), 1562-1566.
- Hornberger, TA., Stuppard, R., Conley, KE., Fedele, MJ., Fiorotto, ML., Chin, ER. & Esser, KA. (2004). Mechanical stimuli regulate rapamycin sensitive signaling by a phosphoinositide 3-kinase-, protein kinase B- and growth factor-independent mechanism. *The Biochemical Journal*, 380, 795–804.
- Hurley, BF. & Hagberg, JM. (1998). Optimizing health in older persons. aerobic or strength training? *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 26, 61–89.
- Inoki, K., Li, Y., Zhu, T., Wu, J. & Guan, KL. (2002). TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nature Cell Biology*, 4, 648-657.

- Inoki, K., Zhu, T. & Guan, KL. (2003). TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell*, 115, 577-590.
- Ivey, F., Roth, S., Ferrell, R., Tracy, B., Lemmer, J., Hurlbut, D., Martel, G., Siegel, E., Fozard, J., Metter, J., Fleg, J. & Hurley, BF. (2000). Effects of age, gender, and myostatin genotype on the hypertrophic response to heavy resistance strength training. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 55, 641-648.
- Izquierdo, M., Hakkinen, K., Ibanez, J., Kraemer, W. & Gorostiaga, E. (2005). Effects of combined resistance and cardiovascular training on strength, power, muscle cross-sectional area, and endurance markers in middle-aged men. *European Journal of Applied Physiology*, 94, 70-75.
- Jacinto, E., Loewith, R., Schmidt, A., Lin, S., Ruegg, MA., Hall, A. & Hall, MN. (2004). Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. *Nature Cell Biology*, 6, 1122-1128.
- Janssen, I., Baumgartner, RN., Ross, R., Rosenberg, IH. & Roubenoff, R. (2004). Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women. *American Journal of Epidemiology*, 159, 413-421.
- Jiang, Y., Chen, C., Li, Z., Guo, W., Gegner, JA., Lin, S. & Han, J. (1996). Characterization of the structure and function of a new mitogen-activated protein kinase (p38). *The Journal of Biological Chemistry*, 271, 17920-17926.
- Jubrias, S., Esselman, P., Price, L., Cress, E. & Conley, K. (2001). Large energetic adaptations of elderly muscle to resistance and endurance training. *European Journal of Applied Physiology*, 90, 1663-1670.
- Kano, Y., Shimegi, S., Furukawa, H., Matsudo, H. & Mizuta, T. (2002). Effects of aging on capillary number and luminal size in rat soleus and plantaris muscles. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 57, 422-427.

- Karlsson, HK., Nilsson, PA., Nilsson, J., Chibalin, AV., Zierath, JR. & Blomstrand, E. (2004). Branched-chain amino acids increase p70S6k phosphorylation in human skeletal muscle after resistance exercise. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 287, 1–7.
- Kato, H., Okubo, Y., Matsumura, Y., Roberts, CT. Jr, Sugahara, K. & LeRoith, D. (2000). The tyrosine kinase activity of the chicken insulin receptor is similar to that of the human insulin receptor. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 64, 903–906.
- Kim, J., Cross, JM. & Bamman, MM. (2005). Impact of resistance loading on myostatin expression and cell cycle regulation in young and older men and women. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 288, 1110–1119.
- Kimball, SR., O'Malley, J., Anthony, J., Crozier, S. & Jefferson, L. (2004). Assessment of biomarkers of protein anabolism in skeletal muscle during the life span of the rat. sarcopenia despite elevated protein synthesis. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 287, 772–780.
- Kirwan, JP., Krishnan, RK., Weaver, JA., del Aguila, LF. & Evans, WJ. (2001). Human aging is associated with altered TNF-alpha production during hyperglycemia and hyperinsulinemia. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 281, 1137–1143.
- Koopman, A., Zorenc, HG., Gransier, RJJ., Cameron-Smith, D. & Van Loon, L. (2006). Increase in S6K1 phosphorylation in human skeletal muscle following resistance exercise occurs mainly in type II muscle fibers. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 290, 1245-1252.
- Korhonen, M., Cristea, A., Alen, M., Häkkinen, K., Sipilä, S., Mero, A., Viitasalo, J., Larsson, L. & Suominen, H. (2006). Aging, muscle fiber type, and contractile function in sprint-trained athletes. *Journal of Applied Physiology*, 101, 906-917.
- Kosek, DJ., Kim, J., Petrella, JK., Cross, JM. & Bamman, MM. (2006). Efficacy of 3 days/wk resistance training on myofiber hypertrophy and myogenic mechanisms in young vs. older adults. *European Journal of Applied Physiology*, 101, 531–544.

- Kraemer, WJ., Fleck, SJ. & Evans, WJ. (1996). Strength and power training. physiological mechanisms of adaptation. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 24, 363–397.
- Kraemer, WJ., Häkkinen, K., Newton, R., Nindl, B., Volek, J., McCormick, M., Gotshalk, L., Gordon, S., Fleck, S., Campbell, W., Putukian, M. & Evans, WJ. (1999). Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. *Journal of Applied Physiology*, 87(3), 982-992.
- Krawiec, BJ., Nystrom, GJ., Frost, RA., Jefferson, LS. & Lang, CH. (2007). AMP-activated protein kinase agonists increase mRNA content of the muscle-specific ubiquitin ligases MAFbx and MuRF1 in C2C12 cells. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 292, 1555-1567.
- Kubica, N., Bolster, DR., Farrell, PA., Kimball, SR., & Jefferson, LS. (2005). Resistance exercise increases muscle protein synthesis and translation of eukaryotic initiation factor 2Bepsilon mRNA in a mammalian target of rapamycin-dependent manner. *The Journal of Biological Chemistry*, 280, 7570–7580.
- Kubo, K., Kanehisa, H., Azuma, K., Ishizu, M., Kuno, SY., Okada, M. & Fukunaga, T. (2003). Muscle architectural characteristics in young and elderly men and women. *International Journal of Sports Medicine*, 24, 125-130.
- Kumar, V., Selby, A., Rankin, D., Patel, R., Atherton, P., Hildebrandt, W., Williams, J., Smith, K., Seynnes, O., Hiscock, N. & Rennie, MJ. (2009). Age-related differences in the dose-response relationship of muscle protein synthesis to resistance exercise in young and old men. *Journal of Physiology*, 587 (1), 211-217.
- Kyriakis, JM. & Avruch, J. (2001). Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiological Reviews*, 81, 807–869.
- Lambert, CP. & Evans, WJ. (2002). Effects of aging and resistance exercise on determinants of muscle strength. *AGE*, 25, 73-78.
- Lange, KH., Andersen, JL., Beyer, N., Isaksson, F., Larsson, B., Rasmussen, MH., Juul, A., Bulow, J. & Kjaer, M. (2002). GH administration changes myosin heavy chain



isoforms in skeletal muscle but does not augment muscle strength or hypertrophy, either alone or combined with resistance exercise training in healthy elderly men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 87(2), 513-523.

Lange, KH., Isaksson, F., Juul, A., Rasmussen, MH., Bulow, J. & Kjaer, M. (2000). Growth hormone enhances effects of endurance training on oxidative muscle metabolism in elderly women. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 279, 989-996.

Laser, M., Kasi, VS., Hamawaki, M., Cooper, Gt., Kerr, CM. & Kuppaswamy, D. (1998). Differential activation of p70 and p85 S6 kinase isoforms during cardiac hypertrophy in the adult mammal. *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 24610-24619.

Lechner, C., Zahalka, MA., Giot, JF., Moller, NP. & Ullrich, A. (1996). ERK6, a mitogen-activated protein kinase involved in C2C12 myoblast differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 4355-4359.

Lee, WS., Cheung, WH., Qin, L., Tang, N. & Leung, KS. (2006). Age-associated decrease of type IIA/B human skeletal muscle fibers. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 450, 231-237.

Léger, B., Cartoni, R., Praz, M., Lamon, S., Deriaz, O., Crettenand, A., Gobelet, C., Rohmer, P., Konzelmann, M., Luthi, F. & Russell, AP. (2006). Akt signalling through GSK-3 $\beta$ , mTOR and Foxo1 is involved in human skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *The Journal of Physiology*, 576 (3), 923-933.

Lemmer, JT., Hurlbut, DE., Martel, GF., Tracy, BL., Ivey, FM., Metter, EJ., Fozard, JL., Fleg, JL. & Hurley, BF. (1999). Age and gender responses to strength training and detraining. *Medicine & Science In Sports & Exercise*, 32 (8), 1505-1512.

Lexell, J. & Downham, D. (1992). What is the effect of ageing on type 2 muscle fibres? *Journal of the Neurological Sciences*, 107, 250-251.

- Lexell, J. & Taylor, CC. (1991). Variability in muscle fiber areas in whole human quadriceps muscle. effects of increasing age. *Journal of Anatomy*, 174, 239-249.
- Lexell, J. (1995). Human aging, muscle mass, and fiber type composition. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 50, 11-16.
- Lexell, J. (1997). Evidence for nervous system degeneration with advancing age. *The Journal of Nutrition*, 127, 1011-1013.
- Lexell, J., Downham, DY., Larsson, Y., Bruhn, E. & Morsing, B. (1995). Heavy-resistance training in older Scandinavian men and women. short- and long-term effects on arm and leg muscles. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 5 (3), 79-341.
- Lexell, J., Taylor, CC. & Sjostrom, M. (1988). What is the cause of ageing atrophy? *Journal of the Neurological Sciences*, 84, 275-294.
- Li, Z., Jiang, Y., Ulevitch, RJ. & Han, J. (1996). The primary structure of p38 gamma. a new member of p38 group of MAP kinases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 228, 334-340.
- Li, Y., Corradetti, MN., Inoki, K. & Guan, KL. (2004). TSC2. filling the GAP in the mTOR signaling pathway. *Trends in Biochemical Sciences*, 29, 32-38.
- Lian, J., Yan, X., Peng, J. & Jiang, SW. (2008). The mammalian target of rapamycin pathway and its role in molecular nutrition regulation. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52, 393 – 399.
- Liu, MY., Cai, S., Espejo, A., Bedford, MT. & Walker, CL. (2002). 14-3-3 interacts with the tumor suppressor tuberlin at Akt phosphorylation site(s). *Cancer research*, 62, 6475-6480.
- Long, X., Lin, Y., Ortiz-Vega, S., Yonezawa, K. & Avruch, J. (2005). Rheb binds and regulates the mTOR kinase. *Current Biology*, 15, 702-713.

- Long, YC., Widegren, U. & Zierath M JR. (2004). Exercise-induced mitogen-activated protein kinase signaling in skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 227–232.
- Lupu, F., Terwilliger, JD., Lee, K., Segre, GV. & Efstratiadis, A. (2001). Roles of growth hormone and insulin-like growth factor 1 in mouse postnatal growth. *Developmental Biology*, 229, 141–162.
- Macaluso, A., Nimmo, MA., Foster, JE., Cockburn, M., McMillan, NC. & De Vito, G. (2002). Contractile muscle volume and agonist-antagonist coactivation account for differences in torque between young and older women. *Muscle & Nerve*, 25, 858–863.
- Maehama, T., Taylor GS & Dixon, JE. (2001). PTEN and myotubularin. novel phosphoinositide phosphates. *Annual Review of Biochemistry*, 70, 247–279.
- Manfredi, TJ, Fielding, RA., O'Reilly, KP., Meredith, CN., Lee, HY. & Evans, WJ. (1991). Plasma creatine kinase activity and exercise-induced muscle damage in older men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23, 1028–1034.
- Manning, BD., Tee, AR., Logsdon, MN., Blenis, J. & Cantley, LC (2002). Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberlin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. *Molecular Cell*, 10, 151–162.
- Marcus, R., Butterfield, G., Holloway, L., Gilliland, L., Baylink, DJ., Hintz, RL. & Sherman, BM. (1990). Effects of short term administration of recombinant human growth hormone to elderly people. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 70, 519–527.
- Martel, G., Roth, S., Ivey, F., Lemmer, J., Tracy, B., Hurlbut, D., Metter, J., Hurley, B. & Rogers, M. (2006). Age and sex affect human muscle fibre adaptations to heavy-resistance strength training. *Experimental Physiology*, 91, 457–464.
- Mascher, H., Andersson, H., Nilsson, PA., Ekblom, B. & Blomstrand, E. (2007). Changes in signaling pathways regulating protein synthesis in human muscle in the recovery period after endurance exercise. *Acta Physiologica*, 191, 67–75.

- Mayhew, DL., Kim, JS., Cross, JM., Ferrando, AA. & Bamman, MM. (2009). Translational signaling responses preceding resistance training-mediated myofiber hypertrophy in young and old humans. *European Journal of Applied Physiology*, 107 (5), 1655-1662.
- McComas AJ. (1996). *Skeletal muscle. Form and function*. Champaign Il.: Human Kinetics.
- McElhinny, AS., Kakinuma, K., Sorimachi, H., Labeit, S. & Gregorio, CC. (2002). Muscle-specific RING finger-1 interacts with titin to regulate sarcomeric M-line and thick filament structure and may have nuclear functions via its interaction with glucocorticoid modulatory element binding protein-1. *The Journal of Cell Biology*, 157, 125–136.
- Minghua, Li., Chunmei, Li. & Parkhouse, W. (2003). Age-related differences in the des IGF-1-mediated activation of Akt-1 and p70 S6K in mouse skeletal muscle. *Mechanisms of Ageing and Development*, 124, 771-778.
- Mingrone, G., Marino, S., DeGaetano, A., Capristo, E., Heymsfield, SB., Gasbarrini, G. & Greco, AV. (2001). Different limit to the body's ability of increasing fat-free mass. *Metabolism*, 50, 1004–1007.
- Mitchell, ML., Byrnes, WC. & Mazzeo, RS. (1990). A comparison of skeletal muscle morphology with training between young and old Fischer 344 rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 58, 21–35.
- Mittendorfer, B., Andersen, JL., Plomgaard, P., Saltin, B., Babraj, JA., Smith, K. & Rennie, MJ. (2005). Protein synthesis rates in human muscles. neither anatomical location nor fibre-type composition are major determinants. *The Journal of Physiology*, 563, 203–211.
- Monemi, M., Eriksson, PO., Eriksson, A. & Thornell, LE. (1998). Adverse changes in fibre type composition of the human masseter versus biceps brachii muscle during aging. *Journal of the Neurological Sciences*, 154, 35-48.

- Moritani, T. & DeVries, HA. (1980). Potential for gross muscle hypertrophy in older men. *Journal of Gerontology*, 35, 672-682.
- Morris, RT., Spangenburg, EE. & Booth, FW. (2004). Responsiveness of cell signaling pathways during the failed 15-day regrowth of aged skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 96, 398-404.
- Morse, CI., Thom, JM., Davis, JM., Birch, KM. & Narici MV.(2004). Reduced plantar flexor specific torque in the elderly is associated with a lower activation capacity. *European Journal of Applied Physiology*, 92, 219-226.
- Morse, CI., Thom, JM., Reeves, ND., Birch, KM. & Narici, MV. (2005). In vivo physiological cross-sectional area and specific force are reduced in the gastrocnemius of elderly men. *European Journal of Applied Physiology*, 99, 1050-1055.
- Nader, G. & Esser, A. (2001). Intracellular signaling specificity in skeletal muscle in response to different modes of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 90, 1936-1942.
- Nair, KS. (2000). Age-related changes in muscle. *Mayo Clinic Proceedings*, 75, 14-18.
- Narici, MV. & Maganaris, CN. (2006). Adaptability of elderly human muscles and tendons to increased loading. *Journal of Anatomy*, 208, 433-443.
- Narici, MV., Maganaris, CN., Reeves, ND. & Capodaglio P. (2003). Effect of aging on human muscle architecture. *European Journal of Applied Physiology*, 95, 2229-2234.
- Nebreda, AR. & Gavin ,AC. (1999). Cell survival demands some Rsk. *Science*, 286, 1309-1310.
- Nellist, M., Goedbloed, MA. & Halley, DJ. (2003). Regulation of tuberous sclerosis complex (TSC). function by 14-3-3 proteins. *Biochemical Society Transactions*, 31, 587-591.



- Nikolic, M., Malnar-Dragojevic, D., Bobinac, D., Bajek, S., Jerkovic, R., Soic-Vranic, T. (2001). Age-related skeletal muscle atrophy in humans. an immunohistochemical and morphometric study. *Collegium Antropologicum*, 25, 545-555.
- Nojima, H., Tokunaga, C., Eguchi, S., Oshiro, N., Hidayat, S., Yoshino, K., Hara, K., Tanaka, N., Avruch, J. & Yonezawa, K. (2003). The mammalian target of rapamycin (mTOR). partner, raptor, binds the mTOR substrates p70 S6 kinase and 4E-BP1 through their TOR signaling (TOS) motif. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 15461–15464.
- Olivier, AR., Ballou, LM. & Thomas, G. (1988). Differential regulation of S6 phosphorylation by insulin and epidermal growth factor in Swiss mouse 3T3 cells. Insulin activation of type 1 phosphatase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85, 4720–4724.
- Osman, A., Pendergrass, M., Koval, J., Maezono, K., Cusi, K., Pratipanawater, T. & Mandarino, L. (2000). Regulation of MAP kinase pathway activity in vivo in human muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 278, 992–999.
- Overend, TJ., Cunningham, DA., Paterson, DH. & Lefcoe, MS. (1992). Thigh composition in young and elderly men determined by computed tomography. *Clinical Physiology*, 12, 629-640.
- Pain, VM (1996). Initiation of protein synthesis in eukaryotic cells. *European Journal of Biochemistry*, 236, 747–771.
- Pallafacchina, G., Calabria, E., Serrano, AL., Kalhovde, JM & Schiaffino, S. (2002). A protein kinase B-dependent and rapamycin-sensitive pathway controls skeletal muscle growth but not fiber type specification. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 9213–9218.
- Parente, V., D'Antona, G., Adami, R., Miotti, D., Capodaglio, P., De Vito, G. & Bottinelli, R. (2008). Long-term resistance training improves force and unloaded shortening velocity of single muscle fibres of elderly women. *European Journal of Applied Physiology*, 104, 5, 885-893.

- Parise, G., Mihic, S., MacLennan, D., Yarasheski, KE. & Tarnopolsky, MA. (2001). Effects of acute creatine monohydrate supplementation on leucine kinetics and mixed-muscle protein synthesis. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 1041–1047.
- Parkington, JD., LeBrasseur, NK., Siebert, AP. & Fielding, RA. (2004). Contraction-mediated mTOR, p70S6k, and ERK1/2 phosphorylation in aged skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 97, 243–248.
- Parkington, JD., Siebert, AP., LeBrasseur, NK. & Fielding, RA. (2003). Differential activation of mTOR signaling by contractile activity in skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 285, 1086–1090.
- Pearson, G., Robinson, F., Beers Gibson, T., Xu, BE., Karandikar, M., Berman, K. & Cobb, MH. (2001). Mitogen-activated protein (MAP). kinase pathways. Regulation and physiological functions. *Endocrine Reviews*, 22, 153–183.
- Pellizzoni, L., Lotti, F., Maras, B., & Pierandrei-Amaldi, P. (1998). Cellular nucleic acid binding protein binds a conserved region of the 5' UTR of *Xenopus laevis* ribosomal protein mRNAs. *Journal of Molecular Biology*, 267, 264–275.
- Petrella, JK., Kim, JS., Cross, JM., Kosek, DJ. & Bamman, MM. (2006). Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 291, 937-946.
- Phillips, SK., Rook, KM., Siddle, NC., Bruce, SA. & Woledge, RC. (1993). Muscle weakness in women occurs at an earlier age than in men, but strength is preserved by hormone replacement therapy. *Clinical Science*, 84, 95-98.
- Phillips, SM., Tipton, KD., Aarsland, A., Wolf, SE. & Wolfe, RR. (1997). Mixed muscle protein synthesis and breakdown after resistance exercise in humans. *American Journal of Physiology*, 273, 99–107.

- Phillips, SM., Tipton, KD., Ferrando, AA., & Wolfe, RR. (1999). Resistance training reduces the acute exercise induced increase in muscle protein turnover. *The American Journal of Physiology*, 276 (39), 118-124.
- Potter, CJ., Pedraza, LG., Xu, T. (2002) Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. *Nature Cell Biology*, 4, 658-665.
- Proud, CG. (2002). Regulation of mammalian translation factors by nutrients. *European Journal of Biochemistry*, 269, 5338–5349.
- Raingeaud, J., Gupta, S., Rogers, J., Dickens, M., Han, J., Ulevitch, RJ. & Davis, RJ. (1995). Pro-inflammatory cytokines and environmental stress cause p38 mitogen-activated protein kinase activation by dual phosphorylation on tyrosine and threonine. *The Journal of Biological Chemistry*, 270, 7420–7426.
- Ramaswamy, S., Nakamura, N., Sansal, I., Bergeron, L. & Sellers, WR. (2002). A novel mechanism of gene regulation and tumor suppression by the transcription factor FKHR. *Cancer Cell*, 2, 81–91.
- Rantanen, T., Guralnik, JM., Ferrucci, L., Leveille, S. & Fried, L. (1999). Co-impairments. strength and balance as predictors of severe walking disability. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 54, 172-176.
- Raught, B., Gingras, AC. & Sonenberg, N. (2001). The target of rapamycin (TOR). proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 7037–7044.
- Reeves, ND., Narici, MV. & Maganaris, CN. (2004). Effect of resistance training on skeletal muscle-specific force in elderly humans. *Journal of Applied Physiology*, 96 (3), 885–892.
- Rennie, M. & Tipton, K. (2000). Protein and amino acid metabolism during and after exercise and the effects of nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 20, 457-483.
- Rennie, M. (2005). Body maintenance and repair. how food and exercise keep the musculoskeletal system in good shape. *Experimental Physiology*, 90 (4), 427–436.

- Reynolds, TH., Bodine, SC. & Lawrence, JC. (2002). Control of Ser<sup>248</sup> phosphorylation in the mammalian target of rapamycin by insulin and skeletal muscle load. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 17657–17662.
- Reynolds, TH., Reida, P., Larkina, LM. & Denge, DR. (2004). Effects of aerobic exercise training on the protein kinase B (PKB)/mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in aged skeletal muscle. *Experimental Gerontology*, 39, 379–385.
- Rice, CL., Cunningham, DA., Paterson, DH. & Leffoe, MS. (1989). Arm and leg composition determined by computed tomography in young and elderly men. *Clinical Physiology*, 9, 207-220.
- Rogers, MA. & Evans, WJ. (1993). Changes in skeletal muscle with aging. effects of exercise training. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 21, 65–102.
- Rommel, C., Bodine, SC., Clarke, BA., Rossman, R., Nunez, L., Stitt, TN., Yancopoulos, GD. & Glass, DJ. (2001). Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3).K/Akt/mTOR and PI(3).K/Akt/GSK3 pathways. *Nature Cell Biology*, 3, 1009–1013.
- Rooyackers, OE., Adey, DB., Ades, PA. & Nair, KS.(1996). Effect of age on in vivo rates of mitochondrial protein synthesis in human skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 15364–15369.
- Rosenberg, IH. (1989). Summary comments. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 50, 1231–1233.
- Roth, SM., Martel, GF., Ivey, FM., Lemmer, JT., Metter, EJ., Hurley, BF. & Rogers MA.(2000a). Skeletal muscle satellite cell populations in healthy young and older men and women. *The Anatomical Record*, 260, 351–358.
- Roth, SM., Martel, GF., Ivey, FM., Lemmer, JT., Metter, EJ., Hurley, BF. & Rogers, MA. (2000b). High-volume, heavy-resistance strength training and muscle damage in young and older women. *European Journal of Applied Physiology*, 88, 1112–1118.

- Roux, PP., Ballif, BA., Anjum, R., Gygi, SP. & Blenis, J. (2004). Tumor-promoting phorbol esters and activated Ras inactivate the tuberous sclerosis tumor suppressor complex via p90 ribosomal S6 kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 13489-13494.
- Rudman, D., Feller, AG., Nagraj, HS., Gergans, GA., Lalitha, PY., Goldberg, AF., Schlenker, RA., Cohn, L., Rudman, IW. & Mattson, DE. (1990). Effects of human growth hormone in men over 60 years old. *The New England Journal of Medicine*, 323, 1-6.
- Saini, A., Faulkner, S., Al-Shanti, N. & Stewart, C. (2009). Powerful signals for weak muscles. *Ageing Research Reviews*, 8 (4), 251-267.
- Sakamoto, K., Aschenbach, WG., Hirshman, MF. & Goodyear, LJ. (2003). Akt signaling in skeletal muscle. regulation by exercise and passive stretch. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 285, 1081-1088.
- Sakamoto, K., Hirshman, MF., Aschenbach, WG. & Goodyear, LJ. (2002). Contraction regulation of Akt in rat skeletal muscle. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 11910-11917.
- Salomon, F., Cuneo, R. & Sonksen, PH. (1991). Growth hormone and protein metabolism. *Hormone Research*, 36 (1), 41-43.
- Sandri, M., Sandri, C., Gilbert, A., Skurk, C., Calabria, E., Picard, A., Walsh, K., Schiaffino, S., Lecker, SH. & Goldberg, AL. (2004). Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell*, 117, 399-412.
- Sarbassov, DD., Ali, SM. & Sabatini, DM. (2005). Growing roles for the mTOR pathway. *Current Opinion in Cell Biology*, 17, 596-603.
- Sarbassov, DD., Ali, SM., Kim, DH., Guertin, DA., Latek, RR., Erdjument-Bromage, H., Tempst, P. & Sabatini, DM. (2004). Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Current Biology*, 14, 1296-1302.



- Sassone-Corsi, P., Mizzen, CA., Cheung, P., Crosio, C., Monaco, L., Jacquot, S., Hanauer, A. & Allis, CD. (1999). Requirement of Rsk-2 for epidermal growth factor-activated phosphorylation of histone H3. *Science*, 285, 886–891.
- Sheffield-Moore, M., Paddon-Jones, D., Sanford, AP., Rosenblatt, JI., Matlock, AG., Cree, MG. & Wolfe, RR. (2005). Mixed muscle and hepatic derived plasma protein metabolism is differentially regulated in older and younger men following resistance exercise. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 288, 922–929.
- Shepherd, PR., Withers, DJ. & Siddle, K. (1998). Phosphoinositide 3-kinase, the key switch mechanism in insulin signalling. *Biochemical Journal*, 333, 471–490.
- Shi, H., Zeng, C., Ricome, A., Hannon, KM., Grant, AL. & Gerrard, DE. (2007). Extracellular signal-regulated kinase pathway is differentially involved in beta-agonist-induced hypertrophy in slow and fast muscles. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 292, 1681–1689.
- Siu, PM., Bryner, RW., Martyn, JK. & Always, SE. (2004). Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *The FASEB Journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 18, 1150-1152.
- Smith, GI., Atherton, P., Villareal, DT., Frimel, TN., Rankin, D., Rennie, MJ. & Mittendorfe, B. (2008). Differences in Muscle Protein Synthesis and Anabolic Signaling in the Postabsorptive State and in Response to Food in 65–80 Year Old Men and Women. *PLoS ONE*, 3(3), 386-395.
- Stein, TP. & Bolster, DR. (2006). Insights into muscle atrophy and recovery pathway based on genetic models. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 9, 395-402.
- Sun, H., Charles, CH., Lau, LF. & Tonks, NK. (1993). MKP-1 (3CH134), and immediate early gene product, is a dual specificity phosphatase that dephosphorylates MAP kinase in vivo. *Cell*, 75, 487–493.

- Sun, XJ., Rothenberg, P., Kahn, CR., Backer, JM., Araki, E., Wilden, PA., Cahill, DA., Goldstein, BJ. & White, MF. (1991). Structure of the insulin receptor substrate IRS-1 defines a unique signal transduction protein. *Nature*, 352, 73–77.
- Taaffe, DR. & Marcus, R. (1997). Dynamic muscle strength alterations to detraining and retraining in elderly men. *Clinical Physiology*, 17, 311–324.
- Taaffe, DR., Pruitt, L., Pyka, G., Guido, D. & Marcus, R. (1996). Comparative effects of high- and low-intensity resistance training on thigh muscle strength, fiber area, and tissue composition in elderly women. *Clinical Physiology*, 16, 381-392.
- Tannerstedt, J., Apró, W. & Blomstrand, E. (2009). Maximal lengthening contractions induce different signaling responses in the type I and type II fibers of human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 106(4), 1412-1418.
- Tapon, N., Ito, N., Dickson, BJ., Treisman, JE. & Hariharan, IK. (2001). The *Drosophila* tuberous sclerosis complex gene homologs restrict cell growth and cell proliferation. *Cell*, 105, 345-355.
- Tee, AR., Anjum, R. & Blenis, J. (2003). Inactivation of the tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products occurs by phosphoinositide 3-kinase/Akt-dependent and -independent phosphorylation of tuberin. *The Journal of Biological Chemistry*, 278, 37288-37296.
- Terzis, G., Georgiadis, G., Stratakos, G., Vogiatzis, I., Kavouras, S., Manta, P., Mascher, H. & Blomstrand E. (2008). Resistance exercise-induced increase in muscle mass correlates with p70S6 kinase phosphorylation in human subjects. *European Journal of Applied Physiology*, 102, 145–152.
- Tesseraud, S., Abbas, M., Duchene, V., Bigot, K., Vaudin, P. & Dupont, J. (2006). Mechanisms involved in the nutritional regulation of mRNA translation. Features of the avian model. *Nutrition Research Reviews*, 19, 104–116.
- Thelen, DG., Schultz, AB., Alexander, NB. & Ashton-Miller, JA. (1996). Effects of age on rapid ankle torque development. *Journal of Gerontology*, 51, 226-232.

- Thompson, LV. (1994). Effects of age and training on skeletal-muscle physiology and performance. *Physical Therapy*, 74, 71–81.
- Thomson, DM. & Gordon, SE. (2005). Diminished overload-induced hypertrophy in aged fast-twitch skeletal muscle is associated with AMPK hyperphosphorylation. *European Journal of Applied Physiology*, 98, 557–564.
- Thomson, S., Clayton, AL., Hazzalin, CA., Rose, S., Barratt, MJ. & Mahadevan, LC. (1999a). The nucleosomal response associated with immediate-early gene induction is mediated via alternative MAP kinase cascades. MSK1 as a potential histone H3/HMG-14 kinase. *EMBO Journal*, 18, 4779–4793.
- Thomson, S., Mahadevan, LC. & Clayton, AL. (1999b). MAP kinasemediated signalling to nucleosomes and immediate-early gene induction. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 10, 205–214.
- Toogood, AA. & Shalet, SM. (1998). Ageing and growth hormone status. *Baillière's Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 12, 281-296.
- Toth, MJ., Matthews, DE., Tracy, RP. & Previs, MJ. (2005). Age-related differences in skeletal muscle protein synthesis. relation to markers of immune activation. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 288, 883-891.
- Tracy, BL., Ivey, FM., Hurlbut, D., Martel, GF., Lemmer, JT., Siegel, EL., Metter, EJ., Fozard, JL., Fleg, JL., & Hurley, BF. (1999). Muscle quality. II. Effects of strength training in 65- to 75-yr-old men and women. *Journal of Applied Physiology*, 86(1), 195-201.
- Trappe, S., Godard, M., Gallagher, P., Carroll, C., Rowden, G. & Porter, D. (2001). Resistance training improves single muscle fiber contractile function in older women. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 281, 398-406.
- Trappe, S., Williamson, D., Godard, M., Porter, D., Rowden, G. & Costill, D. (2000). Effect of resistance training on single muscle fiber contractile function in older men. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 143–152.

- Trappe, TA., Raue, U. & Tesch, PA. (2004). Human soleus muscle protein synthesis following resistance exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, 182, 189–196.
- Turinsky, J. & Damrau-Abney, A. (1999). Akt kinases and 2-deoxyglucose uptake in rat skeletal muscles in vivo. study with insulin and exercise. *The American journal of physiology*, 276, 277–282.
- Verney, J., Kadi, F., Saafi, MA., Piehl-Aulin, K. & Denis, C. (2006). Combined lower body endurance and upper body resistance training improves performance and health parameters in healthy active elderly. *European Journal of Applied Physiology*, 97, 288-297.
- Visser, M., Kritchevsky, S., Goodpaster B., Newman, A., Nevitt, M., Stamm, E. & Harris T. (2002). Leg muscle mass and composition in relation to lower extremity performance in men and women aged 70 to 79. the health, aging and body composition study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50, 897-904.
- Volpi, E., Sheffield-Moore ,M., Rasmussen ,BB. & Wolfe, RR. (2001). Basal muscle amino acid kinetics and protein synthesis in healthy young and older men. *Journal of the American Medical Association*, 286, 1206-1212.
- Voorhies, LE., Ravelli, ACJ., Dongelmans, PCA., Deurenberg, P. & Van Staveren, WAA. (1991). Physical activity questionnaire for the elderly. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 23, 974–979.
- Wang, X. & Proud, CG. (2006). The mTOR pathway in the control of protein synthesis, *Physiology*, 21, 362-369.
- Welle, S., Totterman, S. & Thornton, C. (1996). Effect of age on muscle hypertrophy induced by resistance training. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 51, 270-275.
- Welle, S., Bhatt, K., Shah, B. & Thornton, C. (2002). Insulin-like growth factor-1 and myostatin mRNA expression in muscle. comparison between 62-77 and 21-31 yr old men. *Experimental Gerontology*, 37, 833–839.

- Welle, S., Thornton, C., & Statt, M. (1995). Myofibrillar protein synthesis in young and old human subjects after three months of resistance training. *The American Journal of Physiology*, 268, 422–427.
- Welle, S., Thornton, C., Jozefowicz, R. & Statt, M. (1993). Myofibrillar protein synthesis in young and old men. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 264, 693–698.
- Weng, LP., Smith, WM., Brown, JL. & Eng, C. (2001). PTEN inhibits insulin-stimulated MEK/MAPK activation and cell growth by blocking IRS-1 phosphorylation and IRS-1/Grb-2/Sos complex formation in a breast cancer model. *Human Molecular Genetics*, 10, 605–616.
- Weng, Q., Kozlowski, M., Belham, C., Zhang, A., Comb, M.J. & Avruch, J., (1998). Regulation of the p70 S6 kinase by phosphorylation in vivo. *The Journal of Biological Chemistry*. 273, 16621-16629.
- White, M.F. (2002). IRS proteins and the common path to diabetes, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 283, 413–422.
- Wickelgren, I. (1996). New populations of old add to poor nations' burdens. *Science* 273, 46–50.
- Widegren, U., Jiang, X., Krook, A., Chibalin, A., Bjornholm, M., Tally, M., Roth, R., Henrikssen, J., Wallberg-Henrikssen, H. & Zierath, J. (1998). Divergent pathways of exercise on metabolic and mitogenic signaling pathways in human skeletal muscle. *The FASEB Journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 12, 1379–1389.
- Williams, GN., Higgins, MJ. & Lewek, MD. (2002). Aging skeletal muscle. physiologic changes and the effects of training. *Physical Therapy*, 82, 62-68.
- Williamson, D., Kubica, N., Kimball, SR. & Jefferson, LS. (2006) Exercise-induced alterations in extracellular signal-regulated kinase 1/2 and mammalian target of rapamycin (mTOR) signaling to regulatory mechanisms of mRNA translation in mouse model. *The Journal of Physiology*, 573, 497-510.



- Williamson, D., Gallagher, P., Carroll, C., Raue, U. & Trappe, S. (2001). Reduction in hybrid single muscle fiber proportions with resistance training in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 1955–1961.
- Williamson, D., Gallagher, P., Harber, M., Hollon, C. & Trappe, S. (2003). Mitogen-activated protein kinase (MAPK). pathway activation. effects of age and acute exercise on human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 547, 977–987.
- Williamson, D., Godard, M., Porter, D, Costill, D. & Trappe, S. (2000). Progressive resistance training reduces myosin heavy chain co-expression in single muscle fibers from older men. *European Journal of Applied Physiology*, 88, 627–633.
- Wretman, C., Lionikas, A., Widegren, U., Lannergren, J., Westerblad, H. & Henriksson, J (2001). Effects of concentric and eccentric contractions on phosphorylation of MAPKerk1/2 and MAPKp38 in isolated rat skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 535, 155–164.
- Yarasheski, KE., Campbell, JA., Smith, K., Rennie, MJ., Holloszy, JO. & Bier, DM. (1992). Effect of growth hormone and resistance exercise on muscle growth in young men. *The American Journal of Physiology*, 25, 261-267.
- Yarasheski, KE., Zachwieja, JJ. & Bier, DM.. (1993). Acute effects of resistance exercise on muscle protein synthesis rate in younger and elderly men and women. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 265, 210–214.
- Yu, M., Blomstrand, E., Chibalin, AV., Krook, A. & Zierath, JR. (2001). Marathon running increases ERK1/2 and p38 MAP kinase signalling to downstream targets in human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 536, 273–282.
- Yu, M., Stepto, NK., Chibalin, AV., Fryer, LGD., Carling, D., Krook, A., Hawley, JA. & Zierath, JR. (2003). Metabolic and mitogenic signal transduction in human skeletal muscle after intense cycling exercise. *Journal of Physiology*, 546, 327–335.