



**Znanstveno-raziskovalno središče Koper**  
**Garibaldijeva 1, 6000 Koper**

## **VALIDACIJA MARKERJA MIŠIČNE KAKOVOSTI**

***Končno poročilo o rezultatih raziskave***

**Boštjan ŠIMUNIČ<sup>1</sup>, Armin Paravlič<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> **Znanstveno-raziskovalno središče Koper, Inštitut za kineziološke raziskave, Slovenija**

<sup>2</sup> **Univerza v Ljubljani, Fakulteta za šport, Ljubljana, Slovenija**

*Koper, 10.11.2021*

## UVOD

Mišična masa ali volumen je do nedavnega bil prvi biomarker mišičnega statusa, tudi v športu. A v letu 2019 so nove smernice podale potrebo po novem biomarkerju mišične kakovosti, ki bi moral nadomestiti mišično maso vsaj na področju sarkopenije, a tudi širše. Danes poznamo nekaj predlogov biomarkerja mišične kakovosti, kot npr. specifična sila ali moč, t.j. največja sila ali moč, normirana na volumen mišice (Marco Narici, Franchi in Maganaris 2016). A izjemno težko je izmeriti mišično silo/moč ali volumen ene mišice oziroma skupine mišice in pri tem izločiti vpliv motorične kontrole. Trenutni biomarkerji mišične kakovost temeljijo na: invazivnih postopkih (histoloških in elektroforetskih preiskavah mišičnih vlaken); zapletena in manj zanesljiva preiskava z ultrazvokom; drage in zamudne tehnike slikanja z magnetno resonanco. Prejšnje študije so poročale o kakovosti mišic kot meri fenotipa mišic (odstotek mišičnih vlaken tipa I ali II); infiltracija medmišične ali znotrajmišične maščobe ali koncentracija vezivnega tkiva znotraj mišice (Hamrick, McGee-Lawrence in Frechette 2016); delež kostameroev kot merilo mišične strukturne celovitosti (Li in sod. 2013).

Pomembno je, da je že leta 2016 Simpozij o kakovosti mišic (ki je potekal na Mednarodni konferenci o raziskavah krhkosti in sarkopenije) izdal smernice s potrebo po standardiziranem ocenjevanju kakovosti mišic (Correa-de-Araujo idr. 2017). Ugotovljeno je bilo, da spremembe v sestavi mišičnega (tkiva), ki temeljijo na premikih fenotipa mišičnih vlaken, prekomerni ravni med-in znotraj-mišičnega maščobnega tkiva in znotrajmišične maščobe, negativno vplivajo na mišično presnovo in največjo silovitost mišice (Goodpaster et al. 2000). Simpozij je poudaril potrebo po metodah, ki na enostaven in hiter način ocenijo mišično kakovost (v povezavi z njeno sestavo) v različnih kliničnih okoljih in z minimalnim bremenom za merjenje.

Kakovost mišic je relativno nov izraz, ki se nanaša na mikro- in makroskopske spremembe v mišični arhitekturi in sestavi (McGregor, Cameron-Smith in Poppitt 2014). Za ocenjevanje kakovosti mišic v raziskovalnih okoljih so bila uporabljena visoko občutljiva slikovna orodja, kot sta MRI in CT, npr. z določitvijo infiltracije maščobe v mišico in z uporabo oslabitve mišice (Heymsfield et al. 2015). Izraz mišična kakovost se uporablja tudi za razmerja med mišično močjo in apendikularno skeletno mišično maso (Lynch et al. 1999) ali mišično prostornino (Tracy in sod., 1999). Poleg tega je bila kakovost mišic tudi ocenjena z meritvami faznega kota, pridobljenimi z bioimpedančno preiskavo (Heymsfield in sod. 2015). Zaenkrat še ni univerzalnega soglasja o metodi za ocenjevanja mišične kakovosti v klinični praksi ali športu.

Cilj projekta je izvesti raziskavo na mladih športnikih in nešportnikih ter na starejših športnikih in nešportnikih in primerjati izbrane neinvazivne biomarkerje mišične kakovosti. Ti bodo izhajali iz naslednjega nabora: elektromišična učinkovitost (TMG/M-val), Tenziomigrafija mišice, Hitrost krčenja, Največja kontrakcija glede na mišični presek. Cilj raziskave je validirati neinvazivni biomarker mišične kakovosti za rabo v športu.

## METODE

Projekt je bil predlagan v širšem obsegu financiranja, a žal ni bil odobren v celoti. Tako smo izvedli validacijo na vzorcu mladih in starejših športnikih. Študija je bila izvedena s sofinanciranjem raziskovalnih projektov J7-2605 Validacija markerja mišične kakovosti za diagnosticiranje sarkopenije in L7-9421 Dekompozicija tenziomiograma skeletne mišice in identifikacija kontraktilnih parametrov občutljivih na mišične prilagoditve.

## Preiskovanci

V raziskavo smo vključili 50 moških preiskovancev (Tabela 1). Vsi postopki so bili odobreni s strani Komisije za medicinsko etiko Republike Slovenije (Št. 0120-84/2020/4) in vsi preiskovanci so podpisali pisno soglasje pred pričetkom raziskave.

**Tabela 1:** Osnovne antropometrične značilnosti preiskovancev

	Mlajši	Starejši	p-vrednost
N	21	59	
Starost / leta	28,3 ± 10,9	69,0 ± 5,0	< 0,001
Telesna višina / cm	176,4 ± 10,8	164,3 ± 6,8	< 0,001
Telesna masa / kg	76,7 ± 15,5	70,8 ± 11,1	0,066
Indeks telesne mase / kg/m <sup>2</sup>	24,4 ± 3,0	26,2 ± 3,5	0,032

## Raziskovalni načrt

Izvedli smo presečno raziskavo. Preiskovance smo razdelili v dve skupini: mlajši (N=21) in starejše (N=59) športnike. Vse primerjave so narejene glede na ti dve skupini.

## Meritve

Izvedli smo meritve Tenziomiografije in elektromiografije mečne mišice soleus desne noge, v tem vrstnem redu:

- S tenziomiografijo mišice soleus smo izmerili mehanski odziv (odebelitev mišičnega trebuha) med izometrično kontrakcijo, ki jo povzroči eno-milisekundni največji električni monofazni pravokotni impulz. Električni impulz smo pripeljali na kožo nad trebuh mišic z dvema samolepilnima 5 cm elektrodama (PALS), anodo nameščeno 5 cm distalno in katodo nameščeno 5 cm proksimalno od merilne točke. Merilno točko smo določili na srednji točki mišičnega trebuha mišice. Iz dveh shranjenih odzivov smo izračunali povprečni maksimalni odmik (Dm) ter povprečni čas zakasnitve (Td; od impulza do 10 % Dm) in čas krčenja (Tc; od 10 % do 90 % Dm).
- Z elektromiografijo smo izmerili največjo amplitudo vala M med izometričnim krčenjem, izvajenim z največjim električnim dražljajem preko stimulacije tibialnega motoričnega živca v predelu poplitealne fose.

## Statistika

Vsi podatki so navedeni s povprečnimi vrednostmi in vrednostmi standardnega odklona. Najprej smo preverili in normalnost in homogenost porazdelitve podatkov v obeh skupinah. Ker niso bile kršene, smo vse statistične odločitve izvedli z uporabo t-testa neodvisnih skupin. Vse odločitve smo sprejemali pri stopnji tveganja 0,05. V primeru statističnih razlik, smo poročali tudi velikost efekta kot Cohenov d. V nadaljevanju smo izvedli klasifikacijsko analizo z uporabo ROC – *Receiver operating characteristic* krivulje in analizo specifičnosti ter občutljivosti.

## REZULTATI

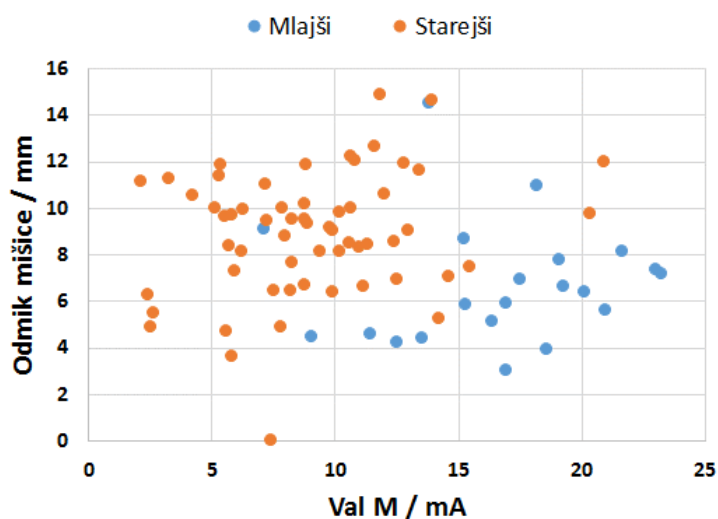
Med mlajšimi in starejšimi preiskovanci so bile razlike v starosti in telesni višini (Tabela 1), in sicer so bili mlajši preiskovanci tudi višji od starejših.

**Tabela 2:** Primerjava mlajših in starejših športnikov v spremenljivkah kakovosti mišice soleus.

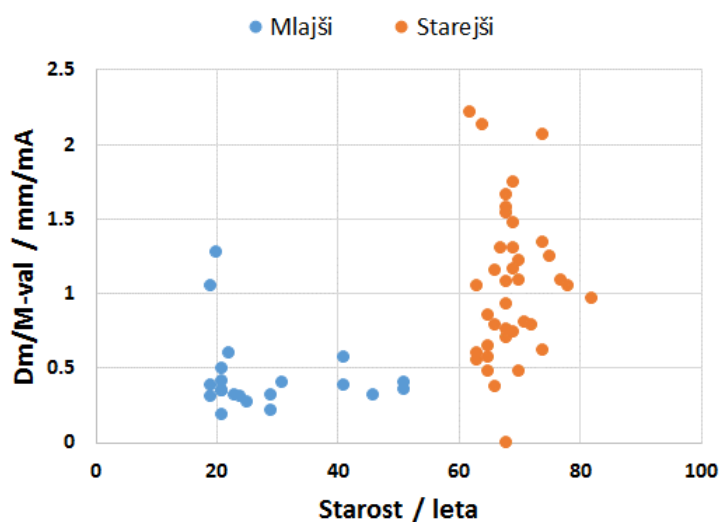
	Mlajši	Starejši	p-vrednost (ES)
Največji odmik trebuha mišice / mm	6,69 ± 2,65	9,01 ± 2,42	< 0,001 (0,88)
Največja amplituda vala M / mA	16,67 ± 4,32	9,10 ± 3,91	< 0,001 (1,75)
Razmerje največjih amplitud odmika trebuha mišice in vala M / mm/mA	0,44 ± 0,26	1,22 ± 0,79	< 0,001 (3,00)

ES – Velikost efekta, kot Cohenova d-vrednost

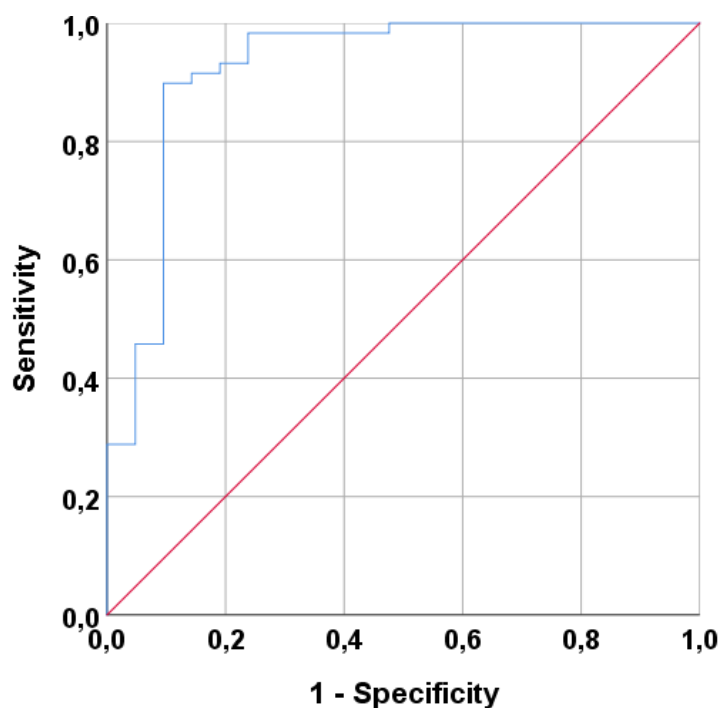
**Slika 1:** Prikaz podatkov odmika trebuha mišice in vala M mišice soleus vseh v raziskavo vključenih preiskovancev.



**Slika 2:** Razmerje amplitud omika mišice (Dm) in amplitude vala M mišice soleus glede na starost preiskovancev.



**Slika 3:** Analiza ROC (Receiver operating characteristic curve) za klasifikacijo mlajših in starejših preiskovancev na osnovi razmerja med amplitudo mehanskega odziva in vala M mišice soleus.



Površina pod krivuljo je 0,924 ( $p < 0,001$ ). Pri mejni vrednosti razmerja amplitud dm in vala M 0,600 mm/mA je občutljivost klasifikacije 0,898 in specifičnost 0,905.

## DISKUSIJA

Ugotovili smo, da je indeks elektromehanske učinkovitosti mišice soleus statistično in praktično značilen marker mišične kakovosti, saj uspešno klasificira med skupinama z bolj kakovostno mišico (mlajši) in skupino z manj kakovostno mišico (starejši). Pri tem smo uporabili metodo znanih razlik z dvema skupinama, kajti danes ni znanega zlatega standarda za mero mišične kakovosti.

Klasifikacija je bila uspešna pri površini krivulje ROC 0,924 in občutljivostjo 0,898 in specifičnostjo 0,905. Pri tem je bila najboljša mejna vrednost razmerja Dm in amplitude vala M 0,600 mm/mA. Metoda se je v preteklosti izkazala kot ponovljiva (Paravlič in sod., 2018).

Kakovost mišic je relativno nov izraz, ki se nanaša na mikro- in makroskopske spremembe v mišični arhitekturi in sestavi. Mišično kakovost so ocenjevali z MRI in CT (Heymsfield et al. 2015), kot razmerje med mišično močjo in apendikularno skeletno mišično maso (Lynch et al. 1999) ali mišično prostornino (Tracy in sod., 1999), z meritvami faznega kota bioimpedančne preiskave (Heymsfield in sod. 2015). Zaenkrat še ni univerzalnega soglasja o metodi za ocenjevanja mišične kakovosti v klinični praksi ali športu. Naš pristop poda razmerje med mehanskim in električnim odzivom mišice na posamičen električni dražljaj, kjer so nižje vrednosti pokazatelj višje mišične kakovosti.

## ZAKLJUČEK

Razmerje med amplitudo tenziomiografije (Dm) in elektromiografije (val M) je pokazatelj kakovosti mišice soleus ob primerjavi dveh skupin (mlajši in starejši preiskovanci), kateri imajo teoretično različno mišično kakovost.

## ZAHVALA

Izvedbo programa je omogočilo sofinanciranje Fundacije za šport.

## LITERATURA

Narici, Marco, Martino Franchi, and Constantinos Maganaris. 2016. "Muscle Structural Assembly and Functional Consequences." *Journal of Experimental Biology*. doi:10.1242/jeb.128017.

Hamrick, Mark W., Meghan E. McGee-Lawrence, and Danielle M. Frechette. 2016. "Fatty Infiltration of Skeletal Muscle: Mechanisms and Comparisons with Bone Marrow Adiposity." *Frontiers in Endocrinology*. doi:10.3389/fendo.2016.00069.

Heymsfield, Steven B., M. Cristina Gonzalez, Jianhua Lu, Guang Jia, and Jolene Zheng. 2015. "Skeletal Muscle Mass and Quality: Evolution of Modern Measurement Concepts in the Context of Sarcopenia." In *Proceedings of the Nutrition Society*. doi:10.1017/S0029665115000129.

Li, Ruowei, Marco V. Narici, Robert M. Erskine, Olivier R. Seynnes, Jörn Rittweger, Rado Pišot, Boštjan Šimunič, and Martin Flück. 2013. "Costamere Remodeling with Muscle Loading and Unloading in Healthy Young Men." *Journal of Anatomy*. doi:10.1111/joa.12101.

Correa-de-Araujo, Rosaly, Michael O. Harris-Love, Iva Miljkovic, Maren S. Fragala, Brian W. Anthony, and Todd M. Manini. 2017. "The Need for Standardized Assessment of Muscle Quality in Skeletal Muscle Function Deficit and Other Aging-Related Muscle Dysfunctions: A Symposium Report." *Frontiers in Physiology*. doi:10.3389/fphys.2017.00087.

Goodpaster, Bret H., David E. Kelley, F. Leland Thaete, Jing He, and Robert Ross. 2000. "Skeletal Muscle Attenuation Determined by Computed Tomography Is Associated with Skeletal Muscle Lipid Content." *Journal of Applied Physiology*. doi:10.1152/jappl.2000.89.1.104.

McGregor, Robin A., David Cameron-Smith, and Sally D. Poppitt. 2014. "It Is Not Just Muscle Mass: A Review of Muscle Quality, Composition and Metabolism during Ageing as Determinants of Muscle Function and Mobility in Later Life." *Longevity and Healthspan*. doi:10.1186/2046-2395-3-9.

Lynch, N. A., E. J. Metter, R. S. Lindle, J. L. Fozard, J. D. Tobin, T. A. Roy, J. L. Fleg, and B. F. Hurley. 1999. "Muscle Quality. I. Age-Associated Differences between Arm and Leg Muscle Groups." *Journal of Applied Physiology*. doi:10.1152/jappl.1999.86.1.188.

Tracy, B. L., F. M. Ivey, D. Hurlbut, G. F. Martel, J. T. Lemmer, E. L. Siegel, E. J. Metter, J. L. Fozard, J. L. Fleg, and B. F. Hurley. 1999. "Muscle Quality. II. Effects of Strength Training in 65- to 75-Yr-Old Men and Women." *Journal of Applied Physiology*. doi:10.1152/jappl.1999.86.1.195.





Paravlič A, Zubac D, Šimunič B. Reliability of the twitch evoked skeletal muscle electromechanical efficiency: A ratio between tensiomyogram and M-wave amplitudes. J Electromyogr Kinesiol. 2017;37:108-116. doi:10.1016/j.jelekin.2017.10.002

Prof. dr. Boštjan Šimunič  
Vodja projekta

prof. dr. Rado Pišot  
Direktor