

Rozprawa doktorska

Mgr Mateusz Bosiacki

Tytuł: METABOLIZM ENERGETYCZNY I BIOGENEZA MITOCHONDRIOW W
MIĘŚNIACH SZCZURÓW PODDANYCH IMERSJI W ZIMNEJ WODZIE

Tytuł ang. Energy metabolism and mitochondrial biogenesis in muscles of rats subjected to
cold water immersion

STRESZCZENIE

Ekspozycja na niskie temperatury może być rozpatrywana jako czynnik stresogenny, który może prowadzić do reakcji adaptacyjnych. Można przypuszczać, że zimno może być czynnikiem pozytywnie modyfikującym proces starzenia się mięśni poprzez usprawnienie mechanizmów związanych z biogenezą mitochondriów i syntezą ATP, po uwzględnieniu przeciwwskazań, indywidualnego dostosowania temperatury, czasu trwania, formy ekspozycji oraz płci. Biorąc powyższe pod uwagę w niniejszej pracy postawiono hipotezę o możliwości pozytywnego wpływu wysiłku fizycznego w zimnej wodzie na biogenezę mitochondriów i metabolizm energetyczny mięśni starzejących się szczurów. Celem pracy była (1) ocena wpływu wysiłku fizycznego w zimnej wodzie na parametry stanu energetycznego, zawartość związków purynowych i biogenezę mitochondriów w mięśniach starzejących się szczurów (2) ocena zmian stężenia związków wysokoenergetycznych i zmian ekspresji białek regulujących dynamikę mitochondriów w mięśniach, jako wskaźników wpływu wysiłku fizycznego w zimnej wodzie i ich przydatności w monitorowaniu zmian adaptacyjnych. Cele szczegółowe obejmowały: oznaczenie stężenia ATP (adenozyno-5'-trifosforanu); ADP (adenozyno-5'-difosforanu); AMP (adenozyno-5'-monofosforanu); Ado (adenozyny); wartości potencjału energetycznego adenylanów (AEC); wartości puli nukleotydów adenylowych (TAN) oraz ekspresji mRNA i białka koaktywatora 1α receptora γ aktywowanego przez proliferatory peroksysomów (PGC- 1α); ekspresji mRNA mitofuzyny 1 (Mfn1); mitofuzyny 2 (Mfn2); ekspresji mRNA Opa1; ekspresji mRNA Drp1 w mięśniach szkieletowych starzejących się szczurów poddanych treningowi fizycznemu w zimnej wodzie. Badania przeprowadzono na 64

osobnikach starzejących się szczurów obu płci stada niekrewniaczego Wistar (32 samców i 32 samic), będących w chwili rozpoczęcia doświadczenia w wieku 15 miesięcy. Badania zostały przeprowadzone za zgodą Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Szczecinie (Uchwała nr: 4/2014). Szczury losowo przydzielono do grup badawczych: Grupy kontrolne (n = 16 osobników): zwierzęta przebywające w warunkach sedenteryjnych - Grupa kontrolna samce (n = 8), Grupa kontrolna samice (n = 8); Grupy badane 5°C (n = 24 osobniki): zwierzęta wykonujące trening pływacki w zimnej wodzie o temperaturze 5°C ± 2°C - Grupa 5°C samce (n = 12), Grupa 5°C samice (n = 12); Grupy badane 36°C (n = 24 osobniki): zwierzęta poddane treningowi pływackiemu w wodzie o temperaturze komfortu ciepłego (36°C ± 2°C) - Grupa 36°C samce (n = 12), Grupa 36°C samice (n = 12). Zwierzęta w przeprowadzonym doświadczeniu były poddawane treningowi pływackiemu przez 9 tygodni. Podczas pierwszego tygodnia badań czas trwania pierwszego treningu pływackiego wynosił 2 minuty (pierwszego dnia) i był wydłużany dziennie o 0,5 minuty, aż do osiągnięcia czasu treningu wynoszącego 4 minuty (w piątym dniu pierwszego tygodnia). Od drugiego do ósmego tygodnia czas treningu pływackiego zwierząt wynosił 4 minuty dziennie. Treningi prowadzono codziennie przez 5 dni w tygodniu. Po zakończeniu badań, czterdzieści osiem godzin po ostatnim treningu pływackim przeprowadzono sekcję zwierząt. W tkance mięśni szkieletowych uda szczurów wykonano badania stężenia ATP, ADP, AMP, Ado (metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC), ekspresji białka PGC-1 α (metodą Western blot), ekspresji genów *PGC1A*, *Mfn1*, *Mfn2*, *Opa1*, *Drp1* metodą łańcuchowej reakcji polimerazy z obrazowaniem w czasie rzeczywistym (qRT PCR). Przeprowadzone badania wykazały, że pływanie w wodzie o temperaturze komfortu ciepłego wpłynęło na poprawę metabolizmu energetycznego mięśni starzejących się szczurów poprzez zwiększenie tempa metabolizmu (wyrażone jako zwiększenie stężenia ATP, ADP, TAN, AEC) oraz nasilenie fuzji mitochondrialnej (wyrażone jako zwiększenie ekspresji mRNA białek regulujących *Mfn1*, *Mfn2*). Pływanie w zimnej wodzie wpłynęło na poprawę metabolizmu energetycznego mięśni starzejących się szczurów poprzez zwiększenie tempa metabolizmu energetycznego mięśni (wyrażone jako zwiększenie stężenia ATP, ADP, TAN, AEC) oraz nasilenie biogenezy i dynamiki mitochondriów (wyrażone jako zwiększenie ekspresji mRNA białek czynników regulujących fuzję *Mfn1*, *Mfn2*, *Opa1* oraz fizję mitochondriów *Drp1*). Stężenie związków wysokoenergetycznych i ekspresja białek regulujących dynamikę mitochondriów w mięśniach mogą być przydatnym wskaźnikiem w monitorowaniu zmian adaptacyjnych zachodzących w starzejących się mięśniach pod wpływem wysiłku fizycznego w zimnej wodzie. Można przypuszczać, że fuzja jest niezbędna do optymalizacji funkcji mitochondriów, aby umożliwić

komórkom mięśniowym sprostać zwiększonemu zapotrzebowaniu na energię podczas wysiłku fizycznego w zimnej wodzie. Stanowi krótkoterminową adaptację do zmieniających się warunków środowiskowych oraz wpływa korzystnie na utrzymanie bioenergetycznej wydolności mięśni w dłuższym czasie.

Przeprowadzone badania pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. Wysiłek fizyczny w zimnej wodzie może wywierać pozytywny wpływ na metabolizm energetyczny, biogenezę i dynamikę (procesy łączenia i fragmentacji) mitochondriów starzejących się mięśni szczurów.
2. Nasilenie dynamiki mitochondriów w warunkach wysiłku fizycznego w zimnej wodzie może poprawiać funkcje mitochondriów i optymalizować ich zdolności bioenergetyczne w starzejących się mięśniach szczura.
3. Zmiany stężenia związków wysokoenergetycznych i ekspresji białek regulujących dynamikę mitochondriów w mięśniach mogą być przydatnym wskaźnikiem w monitorowaniu zmian adaptacyjnych zachodzących w starzejących się mięśniach pod wpływem wysiłku fizycznego w zimnej wodzie.