

# **Wpływ wysiłku pływackiego na stężenie mitochondrialnego cholesterolu oraz metabolizm energetyczny w warunkach stresu oksydacyjnego**

**mgr Damian Józef Flis**

Rozprawa na stopień doktora nauk o zdrowiu



**Promotorzy:**

**dr hab. Wiesław Ziółkowski**

**dr hab. Jan Jacek Kaczor**

Wydział Nauk o Zdrowiu  
Gdański Uniwersytet Medyczny

Gdańsk, 2018

## **Streszczenie pracy w języku polskim**

### *Wprowadzenie*

Brak systematycznej aktywności fizycznej jest jedną z głównych przyczyn wielu chorób. Z drugiej strony regularna aktywność fizyczna zapobiega takim schorzeniom jak: nowotwory, cukrzyca, choroby układu krążenia, udary i inne. Dane z piśmiennictwa dowodzą również, że trening pływacki łagodzi objawy, poprawia jakość, a nawet może doprowadzić do wydłużenia życia w chorobie neurodegeneracyjnej, jaką jest Stwardnienie Zanikowe Boczne (ALS). Wielu z wymienionych wyżej chorób towarzyszą dysfunkcję mitochondriów, związane z zaburzeniami w obrębie struktur komórkowych utworzonych przez mitochondria i błony retikulum endoplazmatycznego (MAMs) w tym procesie.

### *Cel pracy*

Celem pracy było wykazanie czy długotrwały wysiłek pływacki, w tkankach zdrowych szczurów oraz trening pływacki w mięśniach szkieletowych mysz z ALS, wpłyną na: modyfikacje stężenia cholesterolu we frakcji komórkowej i mitochondrialnej, poprawę funkcji mitochondriów oraz stężenie markerów wolnorodnikowego uszkodzenia makromolekuł.

### *Materiały i metody*

Badania zostały wykonane z wykorzystaniem dwóch modeli eksperymentalnych. Badania dotyczące wpływu jednorazowego, długotrwałego wysiłku pływackiego na stres oksydacyjny, modyfikację stężeń cholesterolu we frakcji komórkowej i mitochondrialnej oraz funkcję mitochondriów zostały przeprowadzone na szczurach rasy Wistar. Z kolei, badania dotyczące wpływu treningu pływackiego na stres oksydacyjny, metabolizm energetyczny oraz stężenie cholesterolu we frakcji komórkowej i mitochondrialnej w atroficznych mięśniach szkieletowych, zostały przeprowadzone na myszach transgenicznych B6SJL-Tg (SOD1G93A) 1Gur/J, które są mysim modelem ludzkiej choroby ALS.

W zebranych materiale, od zwierząt poddawanych wysiłkowi i niepływającym, zostały oznaczone: stężenie cholesterolu we frakcji komórkowej i mitochondrialnej, ilość białka kaweoliny-1, stężenie markerów wolnorodnikowego uszkodzenia makromolekuł,

pęcznienie mitochondriów, aktywności enzymów (syntazy cytrynianowej, oksydazy cytochromowej, katalazy).

### *Wyniki*

Jednorazowy, długotrwały wysiłek pływacki, we frakcji komórkowej serc, spowodował wzrost stężenia markerów stresu oksydacyjnego, mierzonych za pomocą: grup karbonylowych białek oraz indeksu peroksydacji lipidów - dienów. Ten sam wysiłek spowodował również zwiększenie ilości białka kaweoliny-1 w mitochondriach izolowanych z mięśni szkieletowych szczurów. Zmianie tej towarzyszyło obniżenie stężenia cholesterolu w tych strukturach oraz zwiększenie oporności na pęcznienie mitochondriów indukowane chlorkiem wapnia. Podobnych zmian nie obserwowano w mitochondriach izolowanych z wątrób zwierząt. Co więcej, w wyniku długotrwałego wysiłku pływackiego doszło do zwiększenia poziomu markerów wolnorodnikowego uszkodzenia makromolekuł, które co ciekawe, obserwowane były w mitochondriach izolowanych z wątrób, a nie w mitochondriach izolowanych z mięśni szkieletowych.

Progresja choroby u mysz z ALS była związana z obniżeniem ilości kaweoliny-1 i akumulacją cholesterolu we frakcji mitochondrialnej. Zmianom tym towarzyszyło pogorszenie metabolizmu tlenowego oraz wyższy poziom markerów wolnorodnikowego uszkodzenia makromolekuł. Wyniki badań potwierdziły, że trening pływacki wydłuża życie mysz ALS, czemu towarzyszy zmiana w komponentach MAMs (podwyższenie ilości kaweoliny-1 oraz obniżenie stężenia cholesterolu we frakcji mitochondrialnej). Co więcej, trening pływacki podtrzymywał również funkcję energetyczną mitochondriów i obniżał poziom markerów peroksydacji białek i lipidów.

### *Wnioski*

Uzyskane wyniki wykazują, że protekcyjne zmiany wywołane jednorazowym, długotrwałym wysiłkiem pływackim są związane z obniżeniem stężenia cholesterolu w obrębie mitochondriów izolowanych z mięśni szkieletowych szczurów, a zmiana ta jest skorelowana ze wzrostem ilości kaweoliny-1 w tych strukturach. W wyniku powyższych zmian dochodzi do zwiększenia oporności mitochondriów na pęcznienie wywołane jonami wapnia. Warto zauważyć, że zmiany te były obserwowane jedynie w tkankach kurczliwych (serce, mięśnie szkieletowe).

Z kolei badania z użyciem mysiego modelu ludzkiej choroby ALS wykazują, że w tej jednostce chorobowej, dochodzi do modyfikacji komponentów MAMs. Odwrócenie zmian w obrębie tych struktur poprzez trening pływacki towarzyszyło wydłużeniu życia tych zwierząt. Wyniki te sugerują, że modyfikacja komponentów MAMs, spowodowana treningiem, może odgrywać kluczową rolę w spowolnieniu rozwoju choroby - ALS.

## **Streszczenie pracy w języku angielskim**

### *Introduction*

A lack of systematic physical activity is one of the main causes of many diseases. On the other hand, regular physical activity prevents such diseases as: cancer, diabetes, cardiovascular diseases, strokes and others. Data from the literature also prove that swim training alleviates symptoms, improves quality of life, and may even extend the lifespan in neurodegenerative disease - Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS). Many of the diseases mentioned above are accompanied with mitochondrial dysfunction, which are related to disorders within the cell structures formed by the mitochondria and the endoplasmic reticulum membranes (MAMs).

### *Aim of the study*

The aim of this study was to investigate the effects of a long-lasting acute swimming, in tissues of healthy rats, and swim training in skeletal muscle of ALS mice on: modification of cholesterol concentration in the cellular and mitochondrial fraction, mitochondrial function and the level of lipid and protein peroxidation markers.

### *Materials and Methods*

The studies were performed using two experimental models. Firstly, studies on the effect of long-lasting acute swimming on oxidative stress, modification of cholesterol concentrations in the cellular and mitochondrial fraction, and mitochondrial function were performed on Wistar rats. Secondly, studies on the effect of swim training on oxidative stress, energy metabolism and cholesterol concentration in the cellular and mitochondrial fraction in atrophic skeletal muscles were carried out on B6SJL-Tg (SOD1G93A) 1Gur/J transgenic mice, which are a mouse model of human ALS disease. In the collected material, from the animals assigned to swim and non-swim groups was measured: cholesterol concentration in the cellular and mitochondrial fraction, the Caveolin-1 protein content, the concentration of free radical macromolecules damage, mitochondrial swelling and enzyme activities (citrate synthase, cytochrome c oxidase, catalase).

### *Results*

A long-lasting acute swimming caused an increase markers of oxidative stress, measured by: proteins carbonyl groups and the index of lipid peroxidation - dienes in the cellular fraction of the hearts. Moreover, after acute exercise the elevated amount of caveolin-1 in the mitochondria isolated from rats' skeletal muscle was observed. This modification was accompanied with lower cholesterol levels in these structures and increased resistance to calcium-induced swelling of mitochondria. However, similar changes were not observed in mitochondria isolated from livers. Additionally, as the result of prolonged swimming, there was an increase in the level of lipid and protein peroxidation markers, which, interestingly, were observed in mitochondria isolated from the liver but not in the mitochondria isolated from skeletal muscles.

Progression of ALS was associated with a decrease in the level of caveolin-1 and the accumulation of cholesterol in the mitochondrial fraction. These changes were accompanied with deterioration of aerobic metabolism and higher level of free radical macromolecules damage. Our results confirmed that swim training extends the lifespan of ALS mice, which was associated with an alteration in the components of MAMs (increase in the caveolin-1 level and lower cholesterol level in the mitochondrial fraction). What is more, swim training also maintained the energy function of mitochondria and reduced the level of markers of protein and lipid peroxidation.

### *Conclusion*

The obtained results show that protective modifications induced by a long-lasting swimming are associated with a decrease in cholesterol concentration in the mitochondria isolated from the skeletal muscles of rats. This change correlates with the increase in the caveolin-1 level in these structures. As the result of these changes, an inhibition of mitochondrial swelling was observed. It is worth noting that these modifications were observed only in contractile tissues (heart, skeletal muscles).

Studies using the mouse model of human disease - ALS show that in the development of this disease, the components of MAMs are modified. Reversal of changes within these structures through swim training was accompanied with the prolongation of lifespan in ALS mice. These data suggest that modification of MAMs may play a crucial role in the exercise-induced deceleration of ALS development.