

WIESŁAW ZIÓŁKOWSKI¹, KAROL CIEMIŃSKI², DAMIAN JÓZEF FLIS³

¹Klinika Rehabilitacji
Gdański Uniwersytet Medyczny
Aleja Zwycięstwa 30, 80-219 Gdańsk

²Studia Doktoranckie
Akademia Wychowania Fizycznego w Poznaniu
Królowej Jadwigi 27/39, 61-871 Poznań

³Zakład Fizjologii i Biochemii
Akademia Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku
Górskiego 1, 80-336 Gdańsk
E-mail: wieslaw.ziolkowski@gumed.edu.pl
karcie91@gmail.com
damian.flis@awf.gda.pl

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA ORAZ „TRENING MITOCHONDRIÓW” W STWARDNIENIU ZANIKOWYM BOCZNYM

WSTĘP

Co łączy ze sobą Stefano Borgonovo, Gianluce Signorini, Fernando Ricksena czy Krzysztofa Nowaka? Odpowiedź jest jedna, za to niezwykle przejmująca: śmiertelna choroba określana mianem stwardnienia zanikowego bocznego (ang. amyotrophic lateral sclerosis, ALS). Wymienieni na wstępie to znakomici niegdyś piłkarze nożni, ludzie ponadprzeciętnie aktywni i jak na sportowców przystało, wydawałoby się, zdrowi. Jak wiadać, do czasu. Stwardnienie zanikowe boczne określa się także mianem choroby Henriego Louisa Gehriga, słynnego amerykańskiego baseballisty, zwanego też „żelaznym koniem”. Ten znakomity sportowiec grał w American League dopóki starczało mu sił i potrafił uderzyć w piłkę. W swoje 36 urodziny H. Gehrig usłyszał diagnozę i dowiedział się co nastąpi w najbliższych, ostatnich, latach jego życia.

Do dziś wiele kontrowersji budzi fakt zachorowalności na ALS właśnie u sportowców. Czy zatem aktywność fizyczna jest czynnikiem ryzyka dla jej wystąpienia, czy

też to zwykły mit? Czy trening u ludzi z rozpoznaną chorobą ALS jest wskazany, czy może doprowadzić do pogorszenia stanu zdrowia?

CZYM ZATEM JEST STWARDNIENIE ZANIKOWE BOCZNE

Chorobę jaką jest stwardnienie zanikowe boczne, można w skrócie określić trzema wyrażeniami: neurodegeneracyjna, nieuleczalna i szybko postępująca. Częstość występowania choroby szacuje się na 2-4:100 000 u ludzi dorosłych i w wieku starszym, podczas gdy u młodszych występuje zdecydowanie rzadziej, bo 1-3:500 000. ALS charakteryzuje się selektywną śmiercią motoneuronów (neuronów ruchowych, odpowiedzialnych głównie za kontrolowanie skurczów mięśni) kory ruchowej, pnia mózgu i rdzenia kręgowego (ANDERSEN 2006). Zmiany obserwowane u pacjentów wraz z rozwojem tej chronicznej choroby dotyczą: utraty napięcia mięśniowego, niedowładów, zaniku mięśni i spastyczności (ROWLAND 1998). Bardzo interesujący jest fakt, że przy braku możliwości wykony-

Słowa kluczowe: ALS, mitochondria, MAMs/MERCs, neurodegeneracja, stres oksydacyjny, trening

*Prezentowane wyniki badań zostały uzyskane i opracowane dzięki realizacji badań finansowanych przez: Narodowe Centrum Nauki (NCN) Grant nr NCN 2013/09/B/NZ7/02538 *Trening pływakowski a długość życia, metabolizm oksydacyjny i wolnorodnikowy u myszy ze stwardnieniem zanikowym bocznym (ALS)*. Termin realizacji grantu (w latach): 2014-2017, oraz Komitet Badań Naukowych (KBN) Grant nr N N404 168434: *Wpływ zmian w poziomie cholesterolu w mitochondriach na ich funkcje, stres oksydacyjny i proces apoptozy*. Termin realizacji grantu (w latach): 2008-2011.

wania i kontrolowania ruchu, pacjenci mogą poruszać oczami, a także zachowują pełnię zdolności umysłowych, czego najlepszym przykładem był genialny brytyjski astrofizyk Stephen Hawking.

Wśród zdiagnozowanych pacjentów, u prawie 90% przypadków lekarze nie są w stanie ustalić przyczyn choroby. W związku z tym wyróżniamy dwie formy stwardnienia zanikowego bocznego: sporadyczną (o nieznannej etiologii) i rodzinną, w której dochodzi do dziedziczenia mutacji genów wywołujących ALS. Pod względem przebiegu choroby, obie jej formy są identyczne, niezależnie od rodzaju mutacji i genu, którego dotyczy. W badaniach naukowych tej jednostki chorobowej przełom nastąpił w 1993 r. To właśnie w tym roku odkryto jedną z mutacji, której wystąpienie jest związane z rodzinną formą ALS. Mutacja ta dotyczy genu dysmutazy ponadtlenkowej zależnej od miedzi i cynku (*SOD1*), w którym dochodzi do zmiany alaniny w glicynę w pozycji 93. Odkrycie to już w kolejnym roku pozwoliło na stworzenie zwierzęcego modelu ludzkiego ALS, dzięki czemu badacze na całym świecie otrzymali możliwość testowania potencjalnych leków oraz sposobów terapeutycznych mogących poprawić jakość i wydłużyć życie osób z tą jednostką chorobową (ROSEN i współaut. 1993, GURNEY i współaut. 1994). Do dziś odkryto ponad 40 różnych genów, których mutacje związane są z pojawieniem się objawów charakterystycznych dla ALS (MEJZINI i współaut. 2019). Poznanie tych genów pozwoliło stworzyć nowe modele zwierzęce stwardnienia zanikowego bocznego, których w tej chwili jest dostępnych ponad 50 (<https://www.jax.org>). Mimo wielu lat badań przedklinicznych i klinicznych prowadzonych na modelach zwierzęcych i próbach na osobach chorych, nie udało się dotąd określić jednego, idealnego leku na ALS. Obecnie, mimo badań wykorzystujących związki lekoopodobne, terapię genową czy komórki macierzyste, jedynym lekiem wykorzystywanym w tej chorobie jest riluzol, jednak jego efektywność jest ograniczona, gdyż przedłuża życie pacjentów o kilka miesięcy, bez poprawy funkcji mięśni (MILLER i współaut. 2012). W związku z tym konieczne jest poszukiwanie nowych mechanizmów związanych z poprawą funkcji motorycznych oraz wydłużeniem życia osób cierpiących na tę chorobę.

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA A RYZYKO WYSTĄPIENIA ALS

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA A ALS

Czy zatem aktywność fizyczna niesie ze sobą zwiększone ryzyko zachorowalności na

ALS? Wyniki analiz tego problemu pochodzące z różnych ośrodków badawczych są niespójne, a czasami wręcz przeciwstawne. Mają one jednak jedną cechę wspólną, a mianowicie sposób ich przeprowadzenia, oparty na retrospektywnej analizie aktywności fizycznej pacjentów ALS, wykonanej w formie ankietowej.

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA WPŁYWA NIEKORZYSTNIE NA RYZYKO WYSTĄPIENIA ALS

U podstaw takiego stwierdzenia leży hipoteza mówiąca o ryzyku pojawienia się choroby na skutek zwiększonego metabolizmu tkankowego wywołanego systematycznym wysiłkiem, któremu towarzyszy stres oksydacyjny oraz zależna od glutaminianu ekscytotoksyczność skutkująca obumieraniem neuronów (LONGSTRETH i współaut. 1991, NIKOLAIDIS i współaut. 2012).

Zespół z Wielkiej Brytanii przeanalizował przypadki chorych ze spontaniczną odmianą ALS wśród mieszkańców Północnej Anglii w latach 2009-2013. U 175 chorych na ALS i 350 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną, przeprowadzono indywidualne wywiady i przy użyciu kwestionariusza wyliczono całkowitą objętość aktywności fizycznej, wydatek energetyczny tych aktywności oraz ich intensywność. Średnie dzienne wartości wspomnianych wskaźników u badanych wyliczono cofając się do ostatnich 15 lat życia przed pojawianiem się choroby. Uzyskane wyniki pokazały, że chorzy z ALS wykazywali wyższą aktywność fizyczną w porównaniu do osób kontrolnych, zarówno związaną z pracą zawodową, jak i z aktywnością prowadzoną w czasie wolnym. Autorzy tych badań dokumentują, że udział w dodatkowej aktywności fizycznej odpowiadającej 10 kJ/kg/dzień, co można przyrównać do około 45-minutowego szybkiego marszu, był konsekwentnie związany ze zwiększonym ryzykiem ALS, szczególnie, gdy był prowadzony w wieku dorosłym (HARWOOD i współaut. 2016). Badania te nie pokazały, aby aktywność fizyczna wiązała się z wcześniejszym pojawieniem się objawów chorobowych.

Jednak badania te nie odpowiadają na pytanie, dlaczego i jak aktywność fizyczna miałaby predysponować do rozwoju ALS, czy jest czynnikiem bezpośrednio zaangażowanym w ten proces, czy tylko pośrednio zwiększa ryzyko wystąpienia ALS u ludzi z predyspozycjami genetycznymi tej choroby. Badania zespołu międzynarodowego (BEGHI i współaut. 2010) przynoszą podobne konkluzje. Korzystając z populacyjnych rejestrów ALS, badacze z Włoch, Wielkiej Brytanii i Irlandii, włączyli w badania nowo zdiagnozowanych pacjentów z pewnym, prawdopodobnym lub możliwym ALS (61 pacjentów),

z uwzględnieniem podwójnej kontroli (112 osób) dopasowanej pod względem wieku i płci dla każdego pacjenta. W porównaniu z grupą kontrolną pacjenci z ALS mieli dłuższą ekspozycję na aktywność fizyczną związaną z pracą zawodową (10,7 *vs.* 7,3 lat; $p=0,02$), jak i sportową (9,6 *vs.* 5,2 lat; $p=0,005$). Autorzy nie wykazali jednak związku między wystąpieniem ALS z incydentami urazowymi u chorych.

Przedstawione powyżej dane mogłyby sugerować zwiększone ryzyko wystąpienia choroby u sportowców. Czy tak jest w rzeczywistości?

PRZYPADKI ALS U SPORTOWCÓW

Pierwszym opisanym sportowcem zmarłym na ALS był wspomniany amerykański baseballista Henry Louis Gehrig, nazwiskiem którego nazwano tę jednostkę chorobową. Jednak szerokim echem odbił się artykuł zatytułowany *The sinister side of Italian soccer* zamieszczony na łamach *Lancet Neurology* w 2003 r., mówiący o zachorowaniu na ALS piłkarzy włoskich (BERETTA i współaut. 2003). Spośród 24 000 piłkarzy aktywnych w latach 1960-1996 w trzech najlepszych ligach włoskich (A, B, C) zidentyfikowano 8 przypadków śmierci z powodu ALS, podczas gdy przewidywana liczba zgonów z powodu ALS powinna kształtować się na poziomie 0,69. Także inne badania potwierdziły te obserwacje (BELLI i VANACORE 2005; CHIO i współaut. 2005, 2009; TAIOLI 2007). Zespół badaczy z Włoch (PUPILLO i współaut. 2020) opublikował kolejną pracę na ten temat. Celem tych badań było określenie związku między uprawianiem zawodowo piłki nożnej a ryzykiem ALS w dużej kohorcie z przedłużoną obserwacją. Zidentyfikowano wszystkich zawodowych piłkarzy trenujących w latach 1959-2000. Aktywność każdego zawodnika była analizowana od 15 roku życia. Uwzględniono w badaniach przypadki ALS u piłkarzy, które po raz pierwszy zdiagnozowano w latach 1959-2018. Standaryzowany współczynnik zachorowalności w całej próbie chorych byłych piłkarzy nożnych wyniósł 1,91 (34 przypadki zachorowalności *vs.* 17,8 spodziewanych przypadków) i 4,66 u osób w wieku poniżej 45 lat. Średni wiek w chwili rozpoznania ALS u byłych piłkarzy nożnych kształtował się na poziomie 45,0 lat, co w porównaniu do średniego wieku zachorowania na ALS w populacji ogólnej (65,2 lat), wskazuje na około 20 lat wcześniejsze pojawienie się symptomów chorobowych. Autorzy pracy wnioskujeją zatem, że zawodowi piłkarze są bardziej narażeni na rozwój ALS niż populacja ogólna i rozwijają chorobę w wieku młodszym niż oczekiwano. Kilka czynników może być zaangażowanych w rozwój

ryzyka ALS u profesjonalnych piłkarzy. Piłka nożna to „sport kontaktowy”, w którym gracze mogą nawiązywać kontakt wielokrotnie w trakcie meczu. Oznacza to, że zawodnicy doznają kilku poważnych kontuzji podczas całej aktywności zawodowej. Co więcej ustalono, że zdarzenia traumatyczne są czynnikami ryzyka ALS (BLECHER i współaut. 2019), jak opisano we włoskich (PUPILLO i współaut. 2012) i europejskich (PUPILLO i współaut. 2018) badaniach kliniczno-kontrolnych. Do hipotetycznych czynników sprzyjających wyjaśnieniu nadmiernego występowania ALS u byłych piłkarzy autorzy zaliczyli także: (1) energiczną aktywność fizyczną, (2) urazy związane z piłką nożną i mikrourazy związane z uderzeniami piłki głową, (3) nielegalne substancje toksyczne lub przewlekłe nadużywanie leków (przeciwzapalnych) oraz (4) narażenie na pestycydy (CHIO i współaut. 2005, VANACORE i współaut. 2006, MANUEL i HECKMAN 2011). Co więcej, według hipotezy LONGSTRETH i współaut. (1991) wpływ toksyn na neurony ruchowe może być wzmocniony przez energiczną aktywność fizyczną.

AKTYWNOŚĆ FIZYCZNA NIE ZWIĘKSZA RYZYKA WYSTĄPIENIA ALS

Jak wspomniano na wstępie, brak jest jednoznaczności wskazującej na związek między aktywnością fizyczną a ryzykiem wystąpienia ALS, co pokazują analizy dokonane przez europejskie konsorcjum badawcze. W badaniach przeprowadzonych w latach 2008-2012, ujęto 652 pacjentów z ALS, z uwzględnieniem reprezentatywnej grupy kontrolnej z Francji, Irlandii, Włoch, Zjednoczonego Królestwa i Serbii. Uzyskane wyniki dokumentują, że ogólna aktywność fizyczna była związana ze zmniejszonym prawdopodobieństwem wystąpienia ALS, podobnie jak aktywność fizyczna związana z pracą i zorganizowaną działalnością sportową. Zaobserwowano odwrotną korelację między ALS a czasem trwania aktywności fizycznej, jednak, co warto podkreślić - odwrotną korelację między ALS a działalnością sportową stwierdzono u kobiet, ale nie u mężczyzn oraz u osób z powtarzającymi się wydarzeniami traumatycznymi. Autorzy tych badań wyciągają wniosek, że aktywność fizyczna nie jest czynnikiem ryzyka ALS i może ostatecznie chronić przed chorobą (PUPILLO i współaut. 2014). Jak podają autorzy, możliwe mechanizmy leżące u podstaw neuroprotekcji wywołanej ćwiczeniami obejmują zmiany w morfologii neuronów ruchowych, interakcjach mięśniowo-nerwowych, aktywacji gleju i poziomie ekspresji genów białek antyapoptotycznych i antyoksydacyjnych oraz produkcji czynników neurotroficznych (MCCRATE i KASPAR 2008, PUPILLO i współ-

aut. 2014). Także wyniki badań innych zespołów badaczy nie potwierdzają zależności między aktywnością fizyczną a wystąpieniem przypadków ALS. Z obserwacji dokonanej przez badaczy ze Szwajcarii, która objęła 92 pacjentów wynika, że brak jest dostatecznych dowodów wskazujących na tę zależność u byłych piłkarzy i hokeistów cierpiących na ALS. Co więcej, autorzy stawiają hipotezę, że to nie zwiększona aktywność fizyczna jako taka, ale inne nieznane czynniki środowiskowe i/lub profil genetyczny lub styl życia sprzyjające aktywności fizycznej zwiększają podatność na ALS. Jednocześnie zwracają uwagę na potencjalny związek między urazami głowy, które pojawiły się u badanych w przeszłości, a ryzykiem związanym z przyspieszoną neurodegeneracją (FEDDERMANN-DEMONT i współaut. 2017).

Obserwacje te idą w parze z wynikami holenderskich badań kliniczno-kontrolnych, w których także nie zaobserwowano związku między aktywnością fizyczną i ALS, choć odnotowano pojawianie się objawów chorobowych w młodszym wieku wśród osób z wyższą skumulowaną aktywnością fizyczną prowadzoną w czasie wolnym (VELDINK i współaut. 2005).

TRENING W ALS

Brak jest jednoznacznego stanowiska orzekającego, czy aktywność fizyczna związana jest z ryzykiem wystąpienia ALS. W niedawno opublikowanej pracy autorzy stwierdzili, że lekka aktywność fizyczna była odwrotnie związana z ryzykiem ALS, podczas gdy intensywna wiązała się z wyższym ryzykiem wystąpienia choroby (BANDRES-CIGA i współaut. 2019). Co ciekawe, poza wspomnianymi przypadkami zachorowalności na ALS u piłkarzy nożnych, nie odnotowano przypadku choroby np. u kolarzy szosowych również z Włoch (CHIO i współaut. 2009), co może wskazywać na konieczność poszukiwania innych czynników ryzyka związanego z aktywnością fizyczną, a nie tylko tych związanych ze wzmożonym metabolizmem komórkowym. Zapewne także rodzaj podejmowanej aktywności może być kluczowym elementem rozważań nad zwiększeniem lub zmniejszeniem ryzyka choroby u ludzi. Autorzy tego artykułu nie znaleźli także ani jednego doniesienia o pojawieniu się ALS u byłych zawodowych pływaków. Temat specyficznej aktywności w wodzie został podjęty w następnych rozdziałach.

TRENING U CHORYCH ZE STWARDNIENIEM ZANIKOWYM BOCZNYM

Cele fizjoterapii pacjentów z ALS, w miarę przechodzenia ich stanu chorobowego od

etapu I do etapu VI (od stadium wczesnego choroby, gdy pacjent wykazuje się niezależnością w mobilności, poprzez etapy charakteryzujące się narastającym osłabieniem grup mięśniowych kończyn dolnych i górnych, postępującą słabością, pogorszeniem mobilności i wytrzymałości, aż do pełnego paraliżu i przebywaniem w stadium wegetacji) w ciągu 12 miesięcy, zmieniają się od optymalizacji pozostałych funkcji, do utrzymania funkcjonalnej mobilności, a ostatecznie do maksymalizacji jakości życia, co zostało opisane przez DAL BELLO-HAASA i współaut. już 1998 r.

Jak zatem trening oparty o zaprogramowane ćwiczenia wpisuje się w tę strategię u pacjentów z ALS?

Z uwagi na postępującą chorobę, eksperymentalne podejście do tematu treningu u chorych z ALS, napotyka wiele trudności i ograniczeń. Niemniej istnieją doniesienia kilku zespołów badawczych, które ten trudny temat podjęły.

Wynika z nich, że trening osób z ALS głównie prowadzony jest w oparciu o ćwiczenia aktywne i pasywne, rytmiczne i oporowe o umiarkowanej intensywności.

I tak, DAL BELLO-HAAS i współaut. (2007) podjęli się określenia wpływu ćwiczeń oporowych na funkcjonowanie, zmęczenie i jakość życia osób z ALS. Pacjenci zostali losowo przydzieleni do dwóch grup. Pierwszej (n=13), która otrzymała program treningowy do wykonywania w domu, składający się z codziennych ćwiczeń rozciągających i ćwiczeń oporowych 3 razy w tygodniu, lub do drugiej grupy tzw. „opiekuńczej” (n=14), która wykonywała tylko codzienne ćwiczenia rozciągające. Badanie ukończyło 8. uczestników ćwiczeń oporowych i 10 osób poddanych zwykłej opiece. Po 6 miesiącach grupa z ćwiczeniami oporowymi miała m.in. znacząco wyższe wyniki w funkcjonalnej skali ratingowej ALS (ang. ALS Functional Rating Scale-Revised, ALSFRS-R), wykorzystywanej do oceny mowy, oddychania, odżywiania i innych podstawowych czynności pacjenta. Nie wystąpiły żadne zdarzenia niepożądane związane z interwencją, a w grupie wykonującej ćwiczenia oporowe stwierdzono mniejszy spadek siły nóg mierzony metodą maksymalnego dobrowolnego skurczu izometrycznego. Autorzy tych badań wskazują zatem na potencjalne korzyści dla podtrzymania zdrowia, płynące z włączenia do programu rehabilitacyjnego ćwiczeń oporowych (DAL BELLO-HAAS i współaut. 2007).

W innym badaniu SANJAK i współaut. (2010) zaaplikowali przez okres 8 tygodni powtarzalne ćwiczenia rytmiczne z udziałem wspomagającego treningu na bieżni. Czas trwania sesji ćwiczeń zamykał się w 30 min

i zawierał 5-minutowe wysiłki przedzielone 5-minutowymi okresami wypoczynku. Liczba dni treningowych to 3 w tygodniu. Również i w tym badaniu zaobserwowano korzyści dla pacjentów z ALS. W porównaniu ze stanem wyjściowym, prędkość chodu, dystans i długość kroku podczas testu 6MWT (6 minutowy test chodu) uległy znacznej poprawie

Tabela 1. Efekty różnych programów ćwiczeń u pacjentów z ALS.

Źródło	Badana grupa	Protokół treningowy	Rezultaty
BELLO-HAAS i współaut. 2007	27 osób podzielonych na dwie grupy: 13 osób – ćwiczenia oporowe i rozciągające, 14 osób – ćwiczenia rozciągające	Zindywidualizowany zestaw ćwiczeń oporowych kończyn górnych i dolnych realizowany 3 razy w tygodniu przez 6 miesięcy	Poprawa wyników w teście funkcjonalnym ALSFRS, lepsza jakość życia, mniejszy spadek siły.
DRORY i współaut. 2001	25 osób podzielonych na dwie grupy: 14 osób – ćwiczenia oporowe, 11 osób – tradycyjne zabiegi pielęgnacyjne	Zindywidualizowany zestaw ćwiczeń oporowych realizowany 2 razy dziennie przez 15 minut w okresie do 12 miesięcy	Poprawa wyników w teście funkcjonalnym ALSFRS oraz testach spastyczności.
SANJAK i współaut. 2010	13 osób zakwalifikowano do badania (6 osób ukończyło badanie)	Protokół treningu aerobowego na bieżni trwał 60 minut i składał się z 6 interwałów po 5 minut przeplatanych 5 minutami odpoczynku. Realizowany 3 razy w tygodniu przez okres 8 tygodni	Poprawa wyników w teście funkcjonalnym ALSFRS i testach zmęczenia, zwiększenie prędkości chodu, odległość i długość kroku.
VAN GROENESTIJN i współaut. 2011	40 osób zakwalifikowanych do badania (badania nie ukończyło 35 % badanych)	Protokół ćwiczeń aerobowych realizowany 3 razy w tygodniu, dwa razy w tygodniu w domu i raz w tygodniu podczas zajęć grupowych w szpitalu przez okres 16 tygodni. Ćwiczenia w domu na ergometrze rowerowym i stepie przez 15-30 min z intensywnością 50-75 % tętna zapasowego (HRR). Zajęcia grupowe: 5 min rozgrzewki, 30 min ćwiczeń aerobowych (ergometr rowerowy, step, bieżnia) oraz 20 min ćwiczeń wzmacniających	Poprawa wyników w teście funkcjonalnym ALSFRS.
LUNETTA i współaut. 2016	30 osób zakwalifikowanych do badania i podzielonych na 3 podgrupy (22 osoby ukończyły badanie)	Protokół treningowym był odmienny dla każdej podgrupy: jazda na cykloergometrze przez 20 min (1A), ćwiczenia antygravitacyjne 6 grup mięśniowych w 3 seriach po 3 powtórzenia (1B) ćwiczenia rozciągające realizowane przez 20 min na 6 grupach mięśniowych (1C). Każdy model wykonywany był codziennie przez 2 tygodnie każdego miesiąca przez okres 6 miesięcy	Poprawa wyników w teście funkcjonalnym ALSFRS.
CLAWSON i współaut. 2018	59 osób zakwalifikowanych do badania i podzielonych na 3 podgrupy (44 osoby ukończyły badanie)	Protokół treningowym był odmienny dla każdej podgrupy: trening oporowy dla 7 grup mięśniowych w 3 seriach z narastającym obciążeniem, trening aerobowy na kończyny górne i dolne (po 10 min) poprzedzony 5 min rozgrzewką, trening gibkości dla 6 grup mięśniowych w 4 seriach po 30 s. Każdy model wykonywany był 3 razy w tygodniu przez okres 24 tygodni	Brak istotnych różnic w teście funkcjonalnym ALSFRS oraz teście FVC.

już po 4 tygodniach treningu, a wypracowane korzyści utrzymywały się także po 8 tygodniach treningu. Zanotowano także pozytywny wpływ na wyniki uzyskane za pomocą skali oceny funkcjonalnej.

Ciekawe wyniki badań opublikował także zespół Christiana Lunetty (LUNETTA i współaut. 2016), których celem było przeprowadzenie randomizowanego, kontrolowanego badania dla określenia efektów trzech ściśle monitorowanych programów ćwiczeń, w porównaniu ze „zwykłą opieką” (grupa kontrolna) w kohorcie pacjentów z ALS. Program ćwiczeń obejmował 3 podgrupy wspomagania: ćwiczenia aktywne na cykloergometrze (1A), odpowiednio tylko ćwiczenia aktywne (1B) i pasywne (1C). Ponadto, pacjenci z tej grupy i ich opiekunowie zostali przeszkoleni w zakresie codziennego programu ćwiczeń pasywnych w domu. Grupa kontrolna była poddana ćwiczeniom pasywnym i rozciągającym 2 razy w tygodniu. Okres ćwiczeń dla obu grup wynosił 6 miesięcy, a pacjentów oceniano m.in. za pomocą skorygowanej skali ALSFRS-R. Oceniano także pacjentów 6 miesięcy po okresie terapii. Po 6 i 12 miesiącach badań grupa ćwicząca miała istotnie wyższy wynik w skali ALSFRS-R w porównaniu z grupą kontrolną. Jednak nie stwierdzono wpływu ćwiczeń na przeżycie oraz pogorszenie oddychania. Podsumowując, chociaż nie wykazano wpływu na przeżycie, uzyskane dane sugerują, że ściśle monitorowany program ćwiczeń może znacząco zmniejszyć pogorszenie motoryczne u pacjentów z ALS.

CLAWSON i współautorzy (2018) podjęli się z kolei oceny bezpieczeństwa i tolerancji ćwiczeń oporowych i wytrzymałościowych u pacjentów z ALS, mierzonej zdolnością do ukończenia tego sześciomiesięcznego badania. Uczestnicy badania zostali losowo przydzieleni do grup badawczych: 1. grupa wykonująca ćwiczenia oporowe, 2. wytrzymałościowe i 3. ćwiczenia rozciągające/zakresu ruchu (schemat ćwiczeń zalecany większości pacjentów z ALS). Wszystkie ćwiczenia wykonywano w domu według zindywidualizowanego schematu opracowanego przez fizjoterapeutę przeszkolonego w zakresie terapii ALS. Podstawową miarą wyniku była tolerancja ćwiczeń po 24 tygodniach określona przez 50% uczestników, którzy wykonali co najmniej 50% zalecanego schematu ćwiczeń. Posłużono się także wspomnianą wcześniej skalą ALSFRS-R oraz wynikami uzyskanymi z pomiarów nasilonej pojemności życiowej (ang. forced vital capacity, FVC). Wszystkie trzy formy programów ćwiczeń uznano za bezpieczne, ponieważ nie było różnic w szybkości postępu choroby między grupami. Nie było także różnic w wynikach ALSFRS-

-R i FVC, jednak analiza wykazała tendencję do mniejszej liczby upadków u pacjentów w grupach pierwszej i drugiej (CLAWSON i współaut. 2018). Efekty różnych programów ćwiczeń u pacjentów z ALS zestawiono w Tabeli 1.

Przedstawione wyniki badań, ze względu na swoją specyfikę i stronę aplikacyjną, nie skupiają się na analizie mechanizmów, które na poziomie komórkowym i molekularnym pozwoliłyby wyjaśnić, czy i jak działa trening w organizmach dotkniętych tą chorobą. Takie możliwości stwarzają badania z wykorzystaniem zwierzęcych modeli choroby ALS, o czym będzie mowa w ostatniej części tego artykułu.

TRENING W STWARDNIENIU ZANIKOWYM BOCZNYM - TERAPIA POLEPSZAJĄCA JAKOŚĆ ŻYCIA CHORYCH. BADANIA Z WYKORZYSTANIEM ZWIERZĘCYCH MODELI LUDZKIEJ CHOROBY ALS

O tym, jak działa trening w modelach zwierzęcych choroby ALS decyduje kilka podstawowych elementów. Po pierwsze intensywność wysiłków składających się na program treningowy i po drugie, równie, a może znacznie bardziej istotny jest rodzaj treningu.

Większość ćwiczeń aplikowanych w modelach eksperymentalnych prowadzona była w umiarkowanej i niskiej intensywności, o czym jest mowa poniżej.

Zespół Marka Tarnopolskiego (MAHONEY i współaut. 2004) przeprowadził eksperyment, w którym odszedł od wyżej wspomnianej koncepcji. Zaaplikował on asymptomatycznym, około 40-dniowym myszom SOD1 G93A trening biegowy na bieżni ruchomej, przez pierwsze 3 tygodnie treningu ze wzrastającym czasem trwania jednostek treningowych, począwszy od 20, dalej 25 i 30 min, 3 razy w tygodniu. Po tym okresie nastąpił dalszy wzrost objętości jednostek treningowych do 45 minut dziennie 5 razy w tygodniu. Intensywność ćwiczeń także uległa zwiększeniu poprzez wzrost szybkości biegu związanego ze zwiększeniem przesuwu bieżni z 9 m/min., aż do 22 m/min. Każda jednostka biegowa zawierała w pierwszej fazie „rozgrzewkę” oraz końcową fazę uspokojenia (10 min, przy szybkości przesuwu bieżni 9-14 m/min., każda). Autorzy badań wyszli z założenia, że intensywne ćwiczenia zaaplikowane myszom przed wystąpieniem objawów chorobowych, wywołują pozytywne zmiany w potencjale antyoksydacyjnym zwierząt, które przełożą się na ich stan zdrowotny w późniejszym okresie. Jednak wyniki badań pokazały trend przeciwny. Trenowane zwierzęta z mutacją w genie *SOD1* wykazały wcześniejsze pojawienie się objawów choroby

oraz żyły krócej niż zwierzęta chore, ale nie trenowane. Zjawiska te szczególnie widoczne były u samców. Chore trenowane samce wypadły także najgorzej w testach z użyciem RotaRod System, który pozwala na badanie koordynacji ruchowej oraz odporności na zmęczenie u myszy. W innych badaniach LIEBETANZ i współaut. (2004) zaaplikowali myszom z ALS trening biegowy z wykorzystaniem systemu zautomatyzowanych kołowrotek. Myszy od 5 tygodnia życia podlegały ćwiczeniom, których skumulowany czas wynosił około 400 min. dziennie, co odpowiadało przebytemu dziennemu dystansowi nawet 3-4,5 km dla myszy w wieku około 5 do 17 tygodnia życia. Jednak, co warto podkreślić, intensywność tych ćwiczeń była niewielka, gdyż prędkość obrotów koła wynosiła 3,4 m/min. Autorzy odnotowali w grupie aktywnej nieistotną statystycznie większą średnią długość życia w porównaniu do grupy kontrolnej (133,7 vs. 129,1 dni). Badania te pokazały, że nie objętość, ale intensywność ćwiczeń może być przyczyną efektów destrukcyjnych u zwierząt z ALS.

W innych badaniach zastosowano ćwiczenia na bieżni ruchomej o umiarkowanej intensywności (prędkość przesuwu taśmy na bieżni ruchomej 16-17 m/min.) i odnotowano pozytywne efekty treningu przejawiające się zarówno przesunięciem w czasie pojawienia się objawów chorobowych, jak i wydłużeniem życia (KIRKINEZOS i współaut. 2003, VELDINK i współaut. 2003, KASPAR i współaut. 2005). Znaczące pozytywne efekty dla zwiększenia przeżywalności zwierząt uzyskano także poprzez jednoczesne zastosowanie treningu biegowego w kołach biegowych w klatce oraz podanie za pomocą adenowirusa insulinopodobnego czynnika wzrostu (IGF) (KASPAR i współaut. 2005). Pokazano, że czas trwania samej aktywności wpływa na uzyskanie korzyści terapeutycznych związanych z ćwiczeniami, przy czym 6- i 12-godzinna ekspozycja na ćwiczenia w kole do biegania zapewnia znacznie większe efekty w zakresie funkcji motorycznych i zwiększa przeżycie w porównaniu do braku aktywności oraz 2-godzinnych ćwiczeń dziennie. Okazało się jednak w tym badaniu, że oba czynniki, tj. trening i traktowanie IGF, uzupełniają się i przynoszą jeszcze większe korzyści dla przeżywalności myszy i ich motoneuronów. Co więcej, trening powoduje ponadto zwiększoną ekspresję genów białek antyapoptotycznych Bcl-xL i Bcl-2.

Pomimo znacznych sukcesów różnych badaczy w poznawaniu omawianego problemu, zespół naukowców z Francji i Hiszpanii zasiał wątpliwość, czy pozytywne efekty widoczne po treningach biegowych, rzeczywiście są wynikiem treningu czy zmian środo-

wiska (GERBER i współaut. 2012). Zespół ten zastosował „prawdziwie” kontrolną grupę, czyli myszy SOD1 G93A, które przenoszono z klatek na unieruchomioną bieżnię. Oprócz tej grupy była także: grupa kontrolna, czyli myszy SOD1 G93A, które nie opuszczały klatek (grupa „klatkowa” prowadząca siedzący tryb życia), jak również myszy z tą samą mutacją, ale poddane treningowi na bieżni z prędkością przesuwu taśmy: 5, 10 i 21 cm/s przez 15 min. dziennie, 5 dni w tygodniu. Warto zaznaczyć, że prędkość 21 cm/s odpowiada 12,6 m/min., czyli bardzo umiarkowanej intensywności wysiłku. Głównym odkryciem tego zespołu było to, że samo przekładanie zwierząt z mutacją w genie *SOD1* z klatki na bieżnię wydłuża życie w porównaniu do grupy kontrolnej i ten efekt jest porównywalny z, uzyskanym po treningu (21 cm/s). Jednak przekładanie zwierząt na nieruchomą bieżnię nie spowodowało już tak pozytywnych efektów w utrzymaniu masy ciała zwierząt, co trening. Co ciekawe, autorzy udowodnili ponadto, że myszy z grupy „prawdziwie kontrolnej” charakteryzują się znacznie większą przeżywalnością neuronów ruchowych w porównaniu z myszami chorymi z grupy prowadzącej „siedzący tryb życia”. Ponadto, ta neuroprotekcja była skorelowana ze znacznym zachowaniem średniej powierzchni ciała komórki neuronu, szczególnie dużego neuronu ruchowego. Warto tu jednak dodać, że opisana protekcja była jednak w grupie „prawdziwie” kontrolnej znacznie słabsza w porównaniu do grup trenowanych (10 i 21 cm/s). Odnotowano także wyraźnie zwiększoną reaktywność gleju w tej grupie myszy w porównaniu z grupą ALS prowadzącą „siedzący tryb życia”. Wyniki badań pokazują, że czynnikiem protekcyjnym może być sama zmiana środowiska, która towarzyszy protokołom treningowym. Należy tu jednak także podkreślić, że niewielkie różnice między efektami przenoszenia zwierząt z klatki na bieżnię a treningiem mogą wynikać z niewielkiej intensywności wysiłku, szczególnie przy zastosowaniu przesuwu taśmy na bieżni na poziomie 5 cm/s.

Kluczowe w aplikacyjnym podejściu do treningu w ALS okazało się zastosowanie treningu pływackiego. Pionierskie badania zespołu Charbonniera z 2009 r. pokazały, że przynosi on dużo większe efekty niż trening biegowy. Trening ten przesunął pojawienie się pierwszych objawów chorobowych oraz wydłużał życie zarówno w porównaniu do grupy zwierząt nietrenowanych, jak i podlegających treningowi biegowemu (DEFORGES i współaut. 2009). Trening pływacki prowadzony był u myszy SOD1 G93A od 70 do 115 dnia życia 30 min dziennie przez 5 dni

w tygodniu. Co ważne, autorzy uwzględnili tzw. grupę „prawdziwie” kontrolną, czyli myszy przenoszone z klatki do pojemnika z wodą, która nie zakrywała myszy, a przez to nie wymuszała konieczności pływania. Temperatura wody w zbiornikach dla obu grup była jednakowa. Trening biegowy prowadzony analogicznie odbywał się na bieżni ruchomej przy prędkości przesuwu taśmy wynoszącym 13 m/min. Zwierzęta z grupy pływającej wykazały zmniejszoną redukcję masy ciała, znacznie lepsze wyniki w teście siły chwytu kończyn górnych oraz teście oceniającym zachowanie w środowisku „otwartego terenu” (behawioralny test „open-field test”). Ponadto, zwierzęta z omawianej grupy charakteryzowały się największą ochroną lędźwiowych motoneuronów ruchowych, szcze-

gólnie tych o powierzchni neuronu wraz z drzewem dendrytycznym między 300 a 700 μm^2 . Zmniejszona ekspresja kaspazy 3 w grupie pływającej wskazywała także na ograniczenie procesu apoptozy w lędźwiowych mononeuronach ruchowych. Na koniec, jedynie trening pływacki był w stanie ograniczyć astrogliozę wywołaną ALS, zmniejszając zarówno procesy proliferacyjne, jak i procesy przerostowe. Autorzy sugerują zatem, że trening pływacki sprzyja przeżyciu komórek nie tylko w neuronie ruchowym, ale także w otaczającym go środowisku komórkowym, co skutkuje zachowaniem integralności funkcjonalnych obwodów neuronalnych. Obserwacje te potwierdza również fakt, że trening oparty na pływaniu wyraźnie sprzyjał znacznemu utrzymaniu populacji oligodendrocytów.

Tabela 2. Efekty różnych protokołów treningowych w modelach zwierzęcych ALS

Źródło	Badana grupa	Protokół treningowy	Rezultaty
KIRKINEZOS i współaut. 2003	myszy SOD1 G93A (15 samic i 15 samców) z grupą kontrolną	Trening biegowy na bieżni wykonywany przez 10 tygodni, 5 razy w tygodniu, 30 min dziennie, prędkość 13 m/min	Wzrost długości życia o 10 dni u samców i o 5 dni u samic.
VELDINK i współaut. 2003	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1Gur (30 samic i 35 samców) z grupą kontrolną	Trening biegowy na bieżni wykonywany przez 8 tygodni, 5 razy w tygodniu, 45 min dziennie, prędkość 16 m/min	Wzrost długości życia o 4 dni u samic. Brak różnic w długości życia samców.
LIEBETANZ i współaut. 2004	myszy SOD1 G93A (19 samic i 18 samców) z grupą kontrolną	Trening biegowy w kołach obrotowych wykonywany codziennie przez 15 tygodni, 40 x 10 min, prędkość 3,4 m/min	Wzrost długości życia o 4,6 dnia.
MAHONEY i współaut. 2004	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1Gur oraz myszy typu dzikiego B6SJL (samce i samice)	Trening biegowy na bieżni wykonywany od 40 dnia życia, realizowany 20, 25 i 30 min dziennie, 3 razy w tygodniu przez pierwsze 3 tygodnie, a następnie 45 min dziennie, 5 razy w tygodniu. Początkowe obciążenie wynosiło 9 m/min i stopniowe wzrastało do 22 m/min. Trening został zakończony, gdy myszy nie były w stanie utrzymać prędkości 9 m/min przez 45 min	Skrócenie długości życia o około 12 dni u samców i wzrost długości życia o około 3 dni u samic.
KASPAR i współaut. 2005	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1Gur z grupą kontrolną	Trening biegowy w kołach obrotowych wykonywany codziennie od 40 do 90 dnia życia przez 2, 6 lub 12 godzin, prędkość 5 rpm/min	Wzrost długości życia o 41,5 dnia dla treningu 6-godzinnego oraz o 25,5 dnia dla treningu 12-godzinnego. Brak efektu dla treningu 2 godzinowego.
DEFORGES i współaut. 2009	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-Tg (SOD1-G93A) 1Gur/J (samce) oraz myszy typu dzikiego B6SJL	Trening biegowy na bieżni wykonywany od 70 do 115 dnia życia, 5 razy w tygodniu, 30 min, prędkość 13 m/min. Trening pływacki wykonywany od 70 do 115 dnia życia, 5 razy w tygodniu, 30 min dziennie, z maksymalnym przepływem wody 5 L/min	Trening pływacki: - opóźnienie pojawienia się pierwszych symptomów choroby o 16 dni wobec grupy kontrolnej oraz o 13 dni wobec grupy trenującej na bieżni. - zwiększenie długości życia osobników o 26 dni w stosunku do grupy kontrolnej i grupy trenującej na bieżni.

CARRERAS i współaut. 2010	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1Gur z grupą kontrolną	Trening biegowy na bieżni. Protokół treningowy umiarkowanej intensywności (MEX) rozpoczął się w 30 dniu życia. W pierwszych dwóch tygodniach polegał na 20 min biegu, 3 dni w tygodniu z prędkością 10 m/min. Następnie 30 minut, 3 dni w tygodniu, prędkość 10 m/min. Protokół treningowy wysokiej intensywności (HEX) był identyczny jak MEX w pierwszych dwóch tygodniach. Następnie składał się z 60 min ćwiczeń, 5 dni w tygodniu przy prędkości 20 m / min. W obu protokołach wyodrębniono po 3 podgrupy trenujące do 70, 95 oraz 120 dnia życia	Trening o umiarkowanej intensywności (MEX) opóźnił wystąpienie deficytu motorycznego o ponad tydzień. Trening o wysokiej intensywności nieznacznie przyspieszył początkowe stadium deficytu motorycznego. Gęstość neuronów ruchowych w odcinku lędźwiowym była istotnie większa w grupie MEX w porównaniu z grupą nietrenującą w 95 dniu.
GERBER i współaut. 2012	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-Tg (SOD1-G93A) 1Gur/J (samce) z grupą kontrolną	Trening biegowy na bieżni wykonywany był od 60 do 90 dnia życia, 5 dni w tygodniu, 15 min dziennie. Grupę podzielono na trzy podgrupy intensywności: 5 cm / s (n = 10), 10 cm/s (n = 10) i 21 cm / s (n = 10)	Myszy kontrolne przekładane na bieżnię bez jej uruchomienia (przez 15 minut, 5 dni w tygodniu) żyły o 11,6 % dłużej niż myszy kontrolne żyjące w warunkach zamkniętych. Nie odnotowano różnic w długości życia pomiędzy grupą kontrolną, przekładaną na bieżnię a grupami treningowymi. Trening na bieżni z prędkością 10 i 21 cm/s działał protekcyjnie na neurony ruchowe.
DESSEILLE i współaut. 2017	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-Tg (SOD1-G93A) 1Gur/J (samce) oraz myszy typu dzikiego B6SJL	Trening biegowy na bieżni wykonywany od 70 do 115 dnia życia, 5 razy w tygodniu, 30 min dziennie, prędkość 13 m/min. Trening pływacki wykonywany od 70 do 115 dnia życia, 5 razy w tygodniu, 30 min dziennie, z maksymalnym przepływem wody 5 L/min.	Trening pływacki bardziej niż trening na bieżni wpływa na poprawę metabolizmu glukozy, oraz obniża stres oksydacyjny u myszy z ALS.
FLIS i współaut. 2018	myszy SOD1 G93A mutacja B6SJL-Tg (SOD1-G93A) 1Gur/J (samce) oraz myszy typu dzikiego B6SJL	Trening pływacki wykonywany od 70 do 115 dnia życia. Od 70 do 105 dnia życia, 5 razy w tygodniu, 30 min dziennie, z maksymalnym przepływem wody 5 L/min. Od 105 do 115 dnia życia, 3 razy w tygodniu, 30 min dziennie, z maksymalnym przepływem wody 5 L/min	Wzrost długości życia o 9,5 dnia, poprawa funkcji mitochondriów, obniżenie stres oksydacyjnego

W kolejnych pracach tego zespołu dowiedziano, że trening pływacki poprawia metabolizm glukozy poprzez mechanizm zależny od autofagii komórkowej zaangażowanej w ekspresję białek transportujących glukozę z krwi do komórek mięśniowych (ang. glucose transporter type 4, Glut4) oraz enzymy metabolizmu glukozy (dehydrogenazę aldehydu 3 fosfoglicerynowego) (DESSEILLE i współaut. 2017). Ponadto, trening pływacki u myszy chorych wywołuje także akumulację triglicerydów oraz zwiększoną ekspresję białek transportujących lipidy w mięśniach szkieletowych (DESSEILLE i współaut. 2017). Tre-

ning ten jest także w stanie modyfikować niewłaściwe działanie szlaku sygnałowego BDNF/TrKB (ang. brain-derived neurotrophic factor/tropomycyn receptor kinase B), co skutkuje redukcją śmierci motoneuronów (JUST-BORRAS i współaut. 2020). Efekty treningu zdrowotnego w zwierzęcym modelu choroby ALS zestawiono w Tabeli 2.

Autorzy niniejszego artykułu nie ukrywają, że odkrycia tego zespołu stały się inspiracją dla ich badań, ale także okazały się uzupełnieniem wyników uzyskanych przez autorów we wcześniejszych badaniach modelowych, których celem było zrozumienie

zmian zachodzących w mitochondriach komórek kurczliwych po wysiłkach typu pływackiego.

„TRENING MITOCHONDRIÓW”

Zespół z Japonii wykazał w 1991 r., że długotrwały wysiłek pływacki powoduje obniżenie stężenia cholesterolu w mitochondriach serc szczurów prawie o 50%. Odkrycie to było interesujące z dwóch powodów. Po pierwsze, zgodnie ze stanem naszej wiedzy, nie ma innego fizjologicznego czynnika, który powoduje modyfikację w stężeniu cholesterolu w mitochondriach (KEATISUWAN i współaut. 1991). Znane są natomiast sytuacje patologiczne, którym towarzyszy nagromadzanie się cholesterolu w tych organellach, takie jak niedotlenienie (ROUSLIN i współaut. 1982), nowotwór (CAMPBELL i współaut. 2002), cukrzyca (PATEL i KATYARE 2006), starzenie (PEPE 2005), traktowanie alkoholem (GARCIA-RUIZ i FERNANDEZ-CHECA 2006) czy denerwacja mięśni (KUMAR i SHARMA 2009). Po drugie, nie znany był skutek zmian w stężeniu cholesterolu dla funkcji mitochondriów oraz całej komórki, a założenie, że zmiany te są przypadkowe, wydawało się wręcz nierealne.

W 2010 r. nasz zespół opublikował pracę, w której przy użyciu chelatora cholesterolu, cyklometylodekstryny (CMD), wykazał, że modyfikacja stężenia cholesterolu wpływa na funkcję mitochondriów, zmianę stanu konformacji mitochondriów, ale z drugiej strony, zwiększa oporność mitochondriów na proces pęcznienia (ZIÓLKOWSKI i współaut. 2010). Podobne rezultaty uzyskano porównując efekty 2% CMD i 3-godzinne wysiłku pływackiego u szczurów, z dodatkowym obciążeniem stanowiącym 3% masy ciała. Choć wysiłek pływacki powodował wzrost wskaźników stresu oksydacyjnego w homogenatach serc, to mitochondria wyizolowane z serc od zwierząt po wysiłku pływackim, jak i potraktowanych 2% CMD, miały zbliżone stężenia cholesterolu oraz podobną zwiększoną oporność na proces pęcznienia indukowanego chlorkiem wapnia (ZIÓLKOWSKI i współaut. 2013). Co więcej, ten sam wysiłek pływacki, podobnie jak w sercach szczurów, indukował zmiany w stężeniach cholesterolu w mitochondriach izolowanych z mięśni szkieletowych, a nie wątroby, co skłoniło nas do postawienia hipotezy, że obserwowane zmiany odnoszą się właśnie do tkanek kurczliwych (mięśni szkieletowych i serca). Ciekawą obserwacją okazał się także wzrost stężenia markerów stresu oksydacyjnego (grup karbonylowych i dienów lipidów) tylko w mitochondriach izolowanych z wątroby. Pokazało to istnienie zależności pomię-

dzy modyfikacją struktur mitochondrialnych zawierających cholesterol a stresem oksydacyjnym i potwierdziło, że jest to zmiana korzystna dla tych organelli. Dodatkowe dowody potwierdzające mitoprotekcję za sprawą wysiłku pływackiego modyfikującego stężenie mitochondrialnego cholesterolu, zależnego od białka kaweoliny 1, przyniosły badania pęcznienia mitochondriów wywołanego jonami wapnia. Mitochondria wyizolowane z mięśni szkieletowych, a nie wątroby zwierząt poddanych wysiłkowi, były bardziej odporne na pęcznienie (FLIS i współaut. 2016). Podatność na pęcznienie mitochondriów jest zjawiskiem ściśle powiązanym z inicjowaniem śmierci komórek zależnej od mitochondriów. Co ciekawe, ten sam wysiłek pływacki indukował stres oksydacyjny, którego wskaźniki widoczne były tylko we frakcji pozamitochondrialnej, a nie mitochondrialnej. Tym bardziej zaskakujące, gdyż towarzyszyła temu fosforylacja białka p66Shc, kluczowego gracza w sygnalizacji komórkowej, któremu przypisuje się udział w wytwarzaniu nadtlenku wodoru (H_2O_2) w mitochondriach poprzez reakcję z cytochromem c, co w konsekwencji prowadzi do aktywacji megakanalu mitochondrialnego (mPTP). Jednak ani aktywność enzymów antyoksydacyjnych, ani poziomy białek antyapoptotycznych (Bcl2) i proapoptotycznych (Bax) nie były zaburzone przez długotrwałe pływanie (ZIÓLKOWSKI i współaut. 2015).

Wyniki tych badań pozwoliły wysnuć przypuszczenie, że obserwowane zmiany w tkankach kurczliwych, pochodzących od zwierząt poddanych wysiłkowi pływackiemu, są protekcyjne, także mitoprotekcyjne. Hipotetyczna kaskada zdarzeń, która ma miejsce w następstwie długotrwałego wysiłku pływackiego przedstawia się następująco: wysiłek pływacki doprowadza do zwiększenia ilości kaweoliny 1 w mitochondriach, czemu towarzyszy obniżenie cholesterolu w tych strukturach, zmniejszenie ich pęcznienia oraz podtrzymanie funkcji. Zadaliliśmy sobie pytanie, czy w sytuacji patologii związanej z nagromadzeniem się cholesterolu w mitochondriach, wysiłek pływacki będzie w stanie te negatywne zjawiska odwrócić. Postanowiliśmy zatem sprawdzić, czy mogą one leżeć także u podstaw ochronnego działania treningu pływackiego w modelu zwierzęcym stwardnienia zanikowego bocznego.

Badania dotyczące wpływu treningu pływackiego na metabolizm oksydacyjny, zmiany w stężeniach mitochondrialnego cholesterolu oraz stres oksydacyjny, zostały przeprowadzone na myszach transgenicznym SOD1 G93A (model ALS) oraz myszach B6SJL, które posłużyły, jako zwierzęta kontrolne (FLIS i współaut. 2018, 2019). Procedura tre-

ningowa myszy został oparta na podstawie opisanej przez DEFORGES i współaut. (2009) i przeprowadzona w specjalnie zaprojektowanym i wykonanym przez nas basenie z regulowanym przepływem wody dla uzyskania efektu oporu. Trening pływacki był wykonywany 5 razy w tygodniu; w czasie treningu myszy pływały 30 min w wodzie o temperaturze 30°C. W 105 dniu życia częstotliwość treningu została zredukowana do 3 sesji w tygodniu. Zmianie uległy również obciążenia zwierząt: przepływ prądu wody i czas wysiłku (maksymalnie 30 min), które zostały dobierane indywidualnie do możliwości myszy. Trening trwał do 115 dnia życia zwierząt zarówno ALS, jak i kontrolnych (WT).

Okazało się, że średnia długość życia myszy ALS wyniosła około 126 dni, zaś trening pływacki spowodował jej wydłużenie do około 135 dnia. Wynik ten potwierdził wcześniejsze obserwacje zespołu Charbonniera (DEFORGES i współaut. 2009) i wydaje się być jednym z najsilniej działających czynników terapeutycznych w tym modelu stwardnienia zanikowego bocznego.

Trening pływacki przyczynił się istotnie do spowolnienia zarówno spadków masy ciała, jak i siły uścisku kończyn przednich. Pomiar masy ciała myszy był prowadzony, aż do momentu śmierci zwierząt, zaś badanie siły uścisku kończyn przednich tych zwierząt do 15 tygodnia życia, czyli do okresu, w którym u zwierząt występowały pierwsze objawy chorobowe.

Kluczowym wynikiem było jednak to, że wraz z rozwojem choroby następuje dysfunkcja mitochondriów mięśni szkieletowych, wyrażająca się redukcją wskaźnika kontroli oddechowej mitochondriów oraz aktywnością enzymu mitochondrialnego syntazy cytrynianowej. Co ciekawe, zmiany w energetyce mitochondriów były widoczne tylko u zwierząt w stanie terminalnym, a nie u zwierząt z pierwszymi objawami choroby. Tylko aktywność syntazy cytrynianowej uległa zmniejszeniu u myszy z ALS zarówno w grupie wykazującej pierwsze objawy chorobowe, jak i grupie terminalnej. Trening pływacki w sposób znaczący poprawił bioenergetykę mitochondriów. Choroba spowodowała również obniżenie aktywności enzymów metabolizmu beztlenowego, zaś trening pływacki spowodował wzrosty w ich aktywnościach. Reasumując, udokumentowaliśmy, że stwardnienie zanikowe boczne doprowadza do zmniejszenia metabolizmu zarówno tlenowego, jak i beztlenowego, zaś trening pływacki zwiększa jego potencjał.

Dla prawidłowej funkcji mitochondriów niezbędna jest równowaga w stężeniu mitochondrialnego cholesterolu. U zwierząt chorych obserwowaliśmy znaczące nagromadza-

nie się cholesterolu w homogenatach z mięśni, ale i w mitochondriach. Jak zaznaczono wcześniej, akumulacja cholesterolu w mitochondriach ma miejsce w warunkach patologicznych, także związanych ze zmniejszoną ruchomością kończyn (KUMAR i SHARMA 2009). Akumulacja cholesterolu w mitochondriach skutkuje dysfunkcją tych organelli. Tym ciekawiej prezentują się wyniki stężenia cholesterolu w izolowanych mięśniach zwierząt z ALS, ale poddanych treningowi pływackiemu. Widać tu znaczącą redukcję nagromadzania się tego steroidu w mitochondriach, której jak wspomniano wcześniej, towarzyszy poprawa bioenergetyki tych organelli komórkowych. Jak wykazaliśmy, stężenie mitochondrialnego cholesterolu odwrotnie koreluje z ilością obecnej w mitochondriach kaweoliny 1 (FLIS i współaut. 2018). Ilość tego białka uległa znaczącej redukcji w mitochondriach mięśni szkieletowych u zwierząt chorych na ALS w stadium terminalnym. Trening pływacki zwiększył ilość tego białka w mitochondriach mięśnia szkieletowego. Zaburzenie równowagi w stężeniu mitochondrialnego cholesterolu, jak i ilości kaweoliny 1, związane jest z generacją stresu oksydacyjnego oraz zaburzeniem struktur utworzonych między błoną zewnętrzną mitochondriów a błoną siateczki śródplazmatycznej (ang. mitochondria-associated membranes and the term mitochondria-ER contacts, MAMs lub MERCs). Stwardnieniu zanikowemu bocznemu towarzyszy także stres oksydacyjny (HALON i współaut. 2014, FLIS i współaut. 2018, HALON-GOLABEK i współaut. 2018). Wskaźniki stresu oksydacyjnego (stężenie grup sulfhydrylowych, dienów lipidów) oraz aktywność katalazy (enzymu antyoksydacyjnego) potwierdziły jego obecność w mitochondriach i homogenatach mięśni szkieletowych zarówno u zwierząt, u których wystąpiły pierwsze objawy choroby, jak i w stadium terminalnym. Trening pływacki znacząco zredukował stres oksydacyjny w grupie zwierząt terminalnych, co uznaje się za główną strategię leczenia w tej jednostce chorobowej. Uzyskane wyniki pokazały także, co stanowi największe *novum* tych badań, że trening pływacki modyfikuje składniki struktur utworzonych między błoną zewnętrzną mitochondriów a błoną siateczki śródplazmatycznej komórek mięśniowych (MAMs/MERCs). Struktury te, zawierają zarówno białka (w tym kaweolinę 1), jak i lipidy (zwłaszcza cholesterol) oraz biorą udział w regulacji: sygnalizacji Ca^{2+} , bioenergetyki mitochondriów i apoptozy. Zakłócenie funkcjonowania tych struktur jest ważnym mechanizmem zaangażowanym m.in. w rozwój ALS (SZYMANSKI i współaut. 2017). Wykazaliśmy, że oba badane przez nas elemen-

ty MAMs (tj. kaweolina 1 i mitochondrialny cholesterol) ulegają nie tylko modyfikacjom w okresie choroby, lecz także i to, że trening pływacki redukuje opisane zmiany.

Skoro zmiany w składnikach tych struktur wiążą się z rozwojem ALS, to każdy sposób przeciwdziałający tym modyfikacjom, jak trening pływacki, należy uznać za działanie lecznicze.

Trening pływacki w grupie zwierząt kontrolnych (zdrowych) nie przynosił korzyści w poprawie energetyki mięśni ani istotnych zmian w ekspresji białek będących typowym efektem treningu wytrzymałościowego. Jednak w grupie zwierząt chorych z ALS zmiany te były znaczące, w odróżnieniu do zwierząt nietrenujących lub trenujących na bieżni, u których występowały one w znacznie mniejszym stopniu lub w ogóle. Sumarycznie, trening pływacki:

- wydłuża życie zwierząt;
- przedłuża okres pojawienia się pierwszych objawów chorobowych;
- redukuje spadki masy ciała oraz masy i siły mięśniowej;
- chroni motoneurony ruchowe poprzez hamowanie procesu apoptozy, astrogliozy i zwiększenie przeżywalności komórek wspomagających neurony oraz modyfikację szlaku sygnałowego BDNF/TrkB;
- poprawia energetykę mięśni, funkcję mitochondriów oraz modyfikuje struktury komórkowe zależne od mitochondriów (MAMs/MERCs);
- redukuje stres oksydacyjny.

Na koniec warto przypomnieć również i to, że trening pływacki, w odróżnieniu od biegowego, prowadzony jest w odciążeniu oraz oparty jest na ćwiczeniach o dużej amplitudzie i częstotliwości ruchów kończyn tylnych zwierząt ($4,86 \pm 0,40$ cm i $373,9 \pm 47,6$ cykli/min.), preferencyjnie aktywując subpopulację dużych neuronów ruchowych. Z kolei, trening oparty na bieganiu, opisywany jako ćwiczenia o niskiej amplitudzie i częstotliwości ruchów kończyn tylnych ($3,79 \pm 0,23$ cm i $234,2 \pm 24,5$ cykli/min), preferencyjnie aktywuje subpopulację małych neuronów ruchowych (BEAUMONT i GARDINER 2002, DEFORGES i współaut. 2009). Jak widać, różnica wynikająca ze specyfiki wykonywanych ruchów mogła przełożyć się na końcowe efekty obu treningów u zwierząt z ALS. Istotne wydają się także badania zespołów zajmujących się zagadnieniem pobudliwości motoneuronów w przebiegu choroby ALS, która ostatecznie leży u podstaw utraty komórek mięśniowych (SAXENA i współaut. 2013, MARTINEZ-SILVA i współaut. 2018, BACZYK i współaut. 2020). Pojedynczy mięsień zawiera setki jednostek motorycznych, czyli związek włókien mięśniowych unerwio-

nych, a przez to kontrolowanych przez neuron ruchowy. Składają się one z kilku różnych typów, różniących się liczbą włókien mięśniowych, szybkością kurczenia się tych włókien i ich męczliwością. Więcej na ten temat można znaleźć w artykule CELICHOWSKI i KRUTKI w tym zeszycie KOSMOSU. W ALS neurony ruchowe giną, co prowadzi do odnerwienia włókien mięśniowych. Badacze sugerują, że w przebiegu ALS neurony ruchowe stają się mniej aktywne lub hipopobudliwe oraz że zjawisko to zależy od typu jednostek motorycznych. Okazuje się, że duże jednostki motoryczne zawierające szybko kurczące się włókna mięśniowe rozpadają się wcześniej niż mniejsze jednostki motoryczne. Mierzac aktywność jednostek motorycznych w dwóch mysich modelach ALS, MARTINEZ-SILVA i współaut. (2018) wykazali, że duże neurony ruchowe są hipopobudliwe. Innymi słowy, neurony ruchowe, które są najbardziej podatne na ALS, reagują zbyt słabo na polecenia układu nerwowego i wcześniej umierają. Co więcej, badania neuronów ruchowych pochodzących od ludzi z ALS potwierdziły tendencję do zmiany pobudliwości ze stanu nadpobudliwego (WÄNGER i współaut. 2014) w stan hipopobudliwości (SAREEN i współaut. 2014, DEVLIN i współaut. 2015, NAUJOCK i współaut. 2016) w trakcie choroby. Co ciekawe, zwiększenie pobudliwości motoneuronów promowało ich neuroprotekcję, której towarzyszyło zmniejszenie zjawisk patologicznych typowych dla ALS, podczas gdy zmniejszenie pobudliwości motoneuronów wywoływało zmiany odwrotne i przyspieszyło chorobę (SAXENA i współaut. 2013). Wykazano także, że zwiększona pobudliwość motoneuronów przyczynia się do przywrócenia struktur synaptycznych oraz to, że choć spadek pobudliwości motoneuronów jest wczesnym zjawiskiem towarzyszącym ALS, to jest równocześnie zdarzeniem odwracalnym (BACZYK i współaut. 2020). Czy trening pływacki, aktywujący właśnie duże motoneurony, wpływa na ich pobudliwość, a przez to na ich zwiększone przeżycie, pozostaje tematem do wyjaśnienia.

WNIOSKI

Choć nie określono w pełni roli aktywności fizycznej w etiologii stwardnienia zanikowego bocznego, to aplikacja ćwiczeń u chorych może przyczynić się do podtrzymania funkcji mięśni i całego organizmu oraz redukcji bądź spowolnienia wyniszczających zmian postępujących wraz z rozwojem choroby. Mimo że wyniki badań uzyskanych na modelu zwierzęcym choroby nie zostały jeszcze wdrożone do rehabilitacji klinicznej, to szczególnie te związane z odpowied-

nio dobranym protokołem ćwiczeń w wodzie, mogą przynieść pacjentom korzyści zdrowotne. Trening pływacki wydłuża życie, spowalnia spadki masy ciała i redukcji siły mięśni, działa protekcyjnie na neurony i mięśnie. Znacząco także poprawia metabolizm mitochondriów, prawdopodobnie poprzez modyfikację miejsc kontaktowych struktur MAMs oraz zmniejszenie stresu oksydacyjnego. Wydaje się, że obecne i przyszłe wyniki badań tego problemu, mogą wytyczyć nowe drogi w działaniach rehabilitacyjnych u chorych z ALS.

Streszczenie

Wiele kontrowersji budzi rola aktywności fizycznej w etiologii stwardnienia zanikowego bocznego (ALS). Terapia ruchem u osób ze zdiagnozowanym ALS wydaje się być zatem wyzwaniem i wymaga dowodów potwierdzających jej efektywność. Celem tej pracy jest pokazanie potencjalnych możliwości treningu zdrowotnego w poprawie jakości życia u chorych z ALS, jak również przedstawienie mechanizmów, poprzez które ten trening oddziałuje. Efektywność ćwiczeń u chorych sprowadza się głównie do podtrzymania funkcji mięśni i całego organizmu. Dużo więcej danych pochodzi z badań z wykorzystaniem modeli zwierzęcych choroby ALS. Dowiedziano, że najbardziej efektywny, trening pływacki, istotnie wydłuża życie zwierząt, opóźnia pojawienie się pierwszych objawów choroby, zmniejsza redukcję masy ciała oraz degradację mięśni. Znacząco także poprawia metabolizm mitochondriów, prawdopodobnie poprzez modyfikację miejsc kontaktowych struktur błonowych mitochondriów i siateczki śródplazmatycznej oraz zmniejszenie stresu oksydacyjnego. Wydaje się, że obecne i przyszłe wyniki badań będą mogły pomóc w opracowaniu nowych działań rehabilitacyjnych u chorych z ALS.

LITERATURA

- ANDERSEN P. M., 2006. *Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene*. Curr. Neurol. Neurosci. Rep. 6, 37-46.
- BACZYK M., ALAMI N. O., DELESTREE N., MARTINOT C., TANG L., COMMISSO B., BAYER D., DOISNE N., FRANKEL W., MANUEL M., ROSELLI F., ZYTNIICKI D., 2020. *Synaptic restoration by cAMP/PKA drives activity-dependent neuroprotection to motoneurons in ALS*. J. Exp. Med. 217, doi.org/10.1084/jem.20191734.
- BANDRES-CIGA S., NOYCE A. J., HEMANI G., NICOLAS A., CALVO A., MORA G., TIENARI P. J., STONE D. J., NALLS M. A., SINGLETON A. B., CHIO A., TRAYNOR B. J., 2019. *Shared polygenic risk and causal inferences in amyotrophic lateral sclerosis*. Ann. Neurol. 85, 470-481.
- BEAUMONT E., GARDINER P., 2002. *Effects of daily spontaneous running on the electrophysiological properties of hindlimb motoneurons in rats*. J. Physiol. 540, 129-38.
- BEGHI E., LOGROSCINO G., CHIO A., HARDIMAN O., MILLUL A., MITCHELL D., SWINGLER R., TRAYNOR B. J., 2010. *Amyotrophic lateral sclerosis, physical exercise, trauma and sports: results of a population-based pilot case-control study*. Amyotroph. Lateral Scler. 11, 289-92.
- BELLI S., VANACORE N., 2005. *Proportionate mortality of Italian soccer players: is amyotrophic lateral sclerosis an occupational disease?* Eur. J. Epidemiol. 20, 237-42.
- BELLO-HAAS V. D., FLORENCE J. M., KLOOS A. D., SCHEIRBECKER J., LOPATE G., HAYES S. M., PIORO E. P., MITSUMOTO H., 2007. *A randomized controlled trial of resistance exercise in individuals with ALS*. Neurology 68, 2003-2007.
- BERETTA S., CARRI M. T., BEGHI E., CHIO A., FERRARESE C., 2003. *The sinister side of Italian soccer*. Lancet Neurol. 2, 656-657.
- BLECHER R., ELLIOTT M. A., YILMAZ E., DETTORI J. R., OSKOUIAN R. J., PATEL A., CLARKE A., HUTTON M., MCGUIRE R., DUNN R., DEVINE J., TWADDLE B., CHAPMAN J. R., 2019. *Contact sports as a risk factor for amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review*. Global Spine J. 9, 104-118.
- CAMPBELL A. M., CAPUANO A., CHAN S. H., 2002. *A cholesterol-binding and transporting protein from rat liver mitochondria*. Biochim. Biophys. Acta 1567, 123-132.
- CARRERAS I., YURUKER S., AYTAN N., HOSSAIN L., CHOI J. K., JENKINS B. G., KOWALL N. W., DEDEOGLU A., 2010. *Moderate exercise delays the motor performance decline in a transgenic model of ALS*. Brain Res. 1313, 192-201.
- CHIO A., BENZI G., DOSSENA M., MUTANI R., MORA G., 2005. *Severely increased risk of amyotrophic lateral sclerosis among Italian professional football players*. Brain 128, 472-476.
- CHIO A., CALVO A., DOSSENA M., GHIGLIONE P., MUTANI R., MORA G., 2009. *ALS in Italian professional soccer players: the risk is still present and could be soccer-specific*. Amyotroph. Lateral Scler. 10, 205-209.
- CLAWSON L. L., CUDKOWICZ M., KRIVICKAS L., BROOKS B. R., SANJAK M., ALLRED P., ATASSI N., SWARTZ A., STEINHORN G., UCHIL A., RILEY K. M., YU H., SCHOENFELD D. A., MARAGAKIS N. J., 2018. *A randomized controlled trial of resistance and endurance exercise in amyotrophic lateral sclerosis*. Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener. 19, 250-258.
- DAL BELLO-HAAS V., KLOOS A. D., MITSUMOTO H., 1998. *Physical therapy for a patient through six stages of amyotrophic lateral sclerosis*. Phys. Ther. 78, 1312-1324.
- DEFORGES S., BRANCHU J., BIONDI O., GRONDARD C., PARISSET C., LECOLLE S., LOPES P., VIDAL P. P., CHANOINE C., CHARBONNIER F., 2009. *Motoneuron survival is promoted by specific exercise in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis*. J. Physiol. 587, 3561-3572.
- DESSEILLE C., DEFORGES S., BIONDI O., HOUEBINE L., D'AMICO D., LAMAZIERE A., CARADEUC C., BERTHO G., BRUNETEAU G., WEILL L., BASTIN J., DJOUADI F., SALACHAS F., LOPES P., CHANOINE C., MASSAAD C., CHARBONNIER F., 2017. *Specific physical exercise improves energetic metabolism in the skeletal muscle of amyotrophic-lateral-sclerosis mice*. Front. Mol. Neurosci. 10, doi: 10.3389/fnmol.2017.00332.
- DEVLIN A. C., BURR K., BOROOAH S., FOSTER J. D., CLEARY E. M., GETI I., VALLIER L., SHAW C. E., CHANDRAN S., MILES G. B., 2015. *Human iPSC-derived motoneurons harbouring TARDBP or C9ORF72 ALS mutations are dysfunctional despite maintaining viability*. Nat. Commun. 6, doi: 10.1038/ncomms6999.
- DRORY V. E., GOLTSMAN E., REZNIK J. G., MOSEK A., KORCZYN A. D., 2001. *The value of muscle exercise in patients with amyotrophic lateral sclerosis*. J. Neurol Sci 191, 133-137.
- FEDDERMANN-DEMONT N., JUNGE A., WEBER K. P., WELLER M., DVORAK J., TARNUTZER A. A.,

2017. *Prevalence of potential sports-associated risk factors in Swiss amyotrophic lateral sclerosis patients*. Brain Behav. 7, doi: 10.1002/brb3.630.
- FLIS D. J., OLEK R. A., KACZOR J. J., RODZIEWICZ E., HALON M., ANTOSIEWICZ J., WOZNAK M., GABBIANELLI R., ZIOLKOWSKI W., 2016. *Exercise-induced changes in caveolin-1, depletion of mitochondrial cholesterol, and the inhibition of mitochondrial swelling in rat skeletal muscle but not in the liver*. Oxid Med Cell Longev 2016, doi: 10.1155/2016/3620929.
- FLIS D. J., DZIK K., KACZOR J. J., HALON-GOLABEK M., ANTOSIEWICZ J., WIECKOWSKI M. R., ZIOLKOWSKI W., 2018. *Swim training modulates skeletal muscle energy metabolism, oxidative stress, and mitochondrial cholesterol content in amyotrophic lateral sclerosis mice*. Oxid. Med. Cell. Longev. 2018, doi: 10.1155/2018/5940748.
- FLIS D. J., DZIK K., KACZOR J. J., CIEMINSKI K., HALON-GOLABEK M., ANTOSIEWICZ J., WIECKOWSKI M. R., ZIOLKOWSKI W., 2019. *Swim training modulates mouse skeletal muscle energy metabolism and ameliorates reduction in grip strength in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis*. Int. J. Mol. Sci. 20, doi: 10.3390/ijms20020233.
- GARCIA-RUIZ C., FERNANDEZ-CHECA J. C., 2006. *Mitochondrial glutathione: hepatocellular survival-death switch*. J. Gastroenterol. Hepatol. 21 (Suppl. 3), S3-S6.
- GERBER Y. N., SABOURIN J. C., HUGNOT J. P., PERRIN F. E., 2012. *Unlike physical exercise, modified environment increases the lifespan of SOD1G93A mice however both conditions induce cellular changes*. PLoS One 7, e45503.
- GURNEY M. E., PU H., CHIU A. Y., DAL CANTO M. C., POLCHOW C. Y., ALEXANDER D. D., CALIENDO J., HENTATI A., KWON Y. W., DENG H. X. i współaut., 1994. *Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation*. Science 264, 1772-1775.
- HALON M., KACZOR J. J., ZIOLKOWSKI W., FLIS D. J., BORKOWSKA A., POPOWSKA U., NYKA W., WOZNAK M., ANTOSIEWICZ J., 2014. *Changes in skeletal muscle iron metabolism outpace amyotrophic lateral sclerosis onset in transgenic rats bearing the G93A hmsOD1 gene mutation*. Free Radic. Res. 48, 1363-1370.
- HALON-GOLABEK M., BORKOWSKA A., KACZOR J. J., ZIOLKOWSKI W., FLIS D. J., KNAP N., KASPERUK K., ANTOSIEWICZ J., 2018. *hmsOD1 gene mutation-induced disturbance in iron metabolism is mediated by impairment of Akt signalling pathway*. J. Cachexia Sarcopenia Muscle 9, 557-569.
- HARWOOD C. A., WESTGATE K., GUNSTONE S., BRAGE S., WAREHAM N. J., McDERMOTT C. J., SHAW P. J., 2016. *Long-term physical activity: an exogenous risk factor for sporadic amyotrophic lateral sclerosis? Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal. Degener.* 17, 377-384.
- JUST-BORRAS L., HURTADO E., CILLEROS-MANE V., BIONDI O., CHARBONNIER F., TOMAS M., GARCIA N., TOMAS J., LANUZA M. A., 2020. *Running and swimming prevent the deregulation of the BDNF/TrkB neurotrophic signalling at the neuromuscular junction in mice with amyotrophic lateral sclerosis*. Cell. Mol. Life Sci. 77, 3027-3040.
- KASPAR B. K., FROST L. M., CHRISTIAN L., UMAPATHI P., GAGE F. H., 2005. *Synergy of insulin-like growth factor-1 and exercise in amyotrophic lateral sclerosis*. Ann. Neurol. 57, 649-655.
- KEATISUWAN W., KINJO M., KOYAMA T., 1991. *Changes in phospholipid constituents in mitochondrial membranes after long lasting exercise in rat heart*. Life Sci. 48, 2173-2181.
- KIRKINEZOS I. G., HERNANDEZ D., BRADLEY W. G., MORAES C. T., 2003. *Regular exercise is beneficial to a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis*. Ann. Neurol. 53, 804-807.
- KUMAR R., SHARMA S., 2009. *Lipid profile changes in mouse gastrocnemius muscle after denervation and beta-adrenoceptor stimulation*. Indian J. Exp. Biol. 47, 314-319.
- LIEBETANZ D., HAGEMANN K., VON LEWINSKI F., KAHLE E., PAULUS W., 2004. *Extensive exercise is not harmful in amyotrophic lateral sclerosis*. Eur. J. Neurosci. 20, 3115-3120.
- LONGSTRETH W. T., NELSON L. M., KOEPEL T. D., VAN BELLE G., 1991. *Hypotheses to explain the association between vigorous physical activity and amyotrophic lateral sclerosis*. Med. Hypotheses 34, 144-148.
- LUNETTA C., LIZIO A., SANSONE V. A., CELLOTTO N. M., MAESTRI E., BETTINELLI M., GATTI V., MELAZZINI M. G., MEOLA G., CORBO M., 2016. *Strictly monitored exercise programs reduce motor deterioration in ALS: preliminary results of a randomized controlled trial*. J. Neurol. 263, 52-60.
- MAHONEY D. J., RODRIGUEZ C., DEVRIES M., YASUDA N., TARNOPOLSKY M. A., 2004. *Effects of high-intensity endurance exercise training in the G93A mouse model of amyotrophic lateral sclerosis*. Muscle Nerve 29, 656-662.
- MANUEL M., HECKMAN C. J., 2011. *Stronger is not always better: could a bodybuilding dietary supplement lead to ALS? Exp. Neurol.* 228, 5-8.
- MARTINEZ-SILVA M. L., IMHOFF-MANUEL R. D., SHARMA A., HECKMAN C. J., SHNEIDER N. A., ROSELLI F., ZYTNIICKI D., MANUEL M., 2018. *Hypoexcitability precedes denervation in the large fast-contracting motor units in two unrelated mouse models of ALS*. Elife 7, doi: 10.7554/eLife.30955.
- MCCRATE M. E., KASPAR B. K., 2008. *Physical activity and neuroprotection in amyotrophic lateral sclerosis*. Neuromolecular Med. 10, 108-117.
- MEJZINI R., FLYNN L. L., PITOUT I. L., FLETCHER S., WILTON S. D., AKKARI P. A., 2019. *ALS genetics, mechanisms, and therapeutics: where are we now? Front. Neurosci.* 13, doi: 10.3389/fnins.2019.01310.
- MILLER R. G., MITCHELL J. D., MOORE D. H., 2012. *Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND)*. Cochrane Database Syst. Rev. 2012, doi: 10.1002/14651858.CD001447.
- NAUJOCK M., STANSLOWSKY N., BUFLER S., NAUMANN M., REINHARDT P., STERNECKERT J., KEFALAKES E., KASSEBAUM C., BURSCH F., LOJEWSKI X., STORCH A., FRICKENHAUS M., BOECKERS T. M., PUTZ S., DEMESTRE M., LIEBAU S., KLINGENSTEIN M., LUDOLPH A. C., DENGLE R., KIM K. S., HERMANN A., WEGNER F., PETRI S., 2016. *4-Aminopyridine induced activity rescues hypoexcitable motor neurons from amyotrophic lateral sclerosis patient-derived induced pluripotent stem cells*. Stem Cells 34, 1563-1575.
- NIKOLAIDIS M. G., KYPAROS A., SPANOU C., PASCHALIS V., THEODOROU A. A., VRABAS I. S., 2012. *Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues*. J. Exp. Biol. 215, 1615-1625.

- PATEL S. P., KATYARE S. S., 2006. *Insulin status-dependent alterations in lipid/phospholipid composition of rat kidney microsomes and mitochondria*. *Lipids* 41, 819-825.
- PEPE S., 2005. *Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on age-related changes in cardiac mitochondrial membranes*. *Exp. Gerontol.* 40, 369-376.
- PUPILLO E., MESSINA P., LOGROSCINO G., ZOCCOLELLA S., CHIO A., CALVO A., CORBO M., LUNETTA C., MICHELI A., MILLUL A., VITELLI E., BEGHI E., 2012. *Trauma and amyotrophic lateral sclerosis: a case-control study from a population-based registry*. *Eur. J. Neurol.* 19, 1509-1517.
- PUPILLO E., MESSINA P., GIUSSANI G., LOGROSCINO G., ZOCCOLELLA S., CHIO A., CALVO A., CORBO M., LUNETTA C., MARIN B., MITCHELL D., HARDIMAN O., ROONEY J., STEVIC Z., BANDETTINI DI POGGIO M., FILOSTO M., COTELLI M. S., PERINI M., RIVA N., TREMOLIZZO L., VITELLI E., DAMIANI D., BEGHI E., 2014. *Physical activity and amyotrophic lateral sclerosis: a European population-based case-control study*. *Ann. Neurol.* 75, 708-716.
- PUPILLO E., POLONI M., BIANCHI E., GIUSSANI G., LOGROSCINO G., ZOCCOLELLA S., CHIO A., CALVO A., CORBO M., LUNETTA C., MARIN B., MITCHELL D., HARDIMAN O., ROONEY J., STEVIC Z., BANDETTINI DI POGGIO M., FILOSTO M., COTELLI M. S., PERINI M., RIVA N., TREMOLIZZO L., VITELLI E., DAMIANI D., BEGHI E., 2018. *Trauma and amyotrophic lateral sclerosis: a european population-based case-control study from the EURALS consortium*. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener.* 19, 118-125.
- PUPILLO E., BIANCHI E., VANACORE N., MONTALTO C., RICCA G., ROBUSTELLI DELLA CUNA F. S., FUMAGALLI F., CASTELLANI M., POLI F., ROMEO F., TOMMASI D., LAZZARO P., BEGHI E., 2020. *Increased risk and early onset of ALS in professional players from Italian Soccer Teams*. *Amyotroph. Lateral Scler. Frontotemporal Degener.* 21, 403-409.
- ROSEN D. R., SIDDIQUE T., PATTERSON D., FIGLEWICZ D. A., SAPP P., HENTATI A., DONALDSON D., GOTO J., O'REGAN J. P., DENG H. X. i współaut., 1993. *Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis*. *Nature* 362, 59-62.
- ROUSLIN W., MACGEE J., GUPTA S., WESSELMAN A., EPPS D. E., 1982. *Mitochondrial cholesterol content and membrane properties in porcine myocardial ischemia*. *Am. J. Physiol.* 242, H254-H259.
- ROWLAND L. P., 1998. *Diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis*. *J. Neurol. Sci.* 160 (Suppl 1), S6-S24.
- SANJAK M., BRAVVER E., BOCKENEK W. L., NORTON H. J., BROOKS B. R., 2010. *Supported treadmill ambulation for amyotrophic lateral sclerosis: a pilot study*. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* 91, 1920-1929.
- SAREEN D., GOWING G., SAHABIAN A., STAGGENBORG K., PARADIS R., AVALOS P., LATTER J., ORNELAS L., GARCIA L., SVENDSEN C. N., 2014. *Human induced pluripotent stem cells (iNPCs) that migrate and integrate in the rodent spinal cord*. *J. Comp. Neurol.* 522, 2707-2728.
- SAXENA S., ROSELLI F., SINGH K., LEPTIEN K., JULIEN J. P., GROS-LOUIS F., CARONI P., 2013. *Neuroprotection through excitability and mTOR required in ALS motoneurons to delay disease and extend survival*. *Neuron* 80, 80-96.
- SZYMANSKI J., JANIKIEWICZ J., MICHALSKA B., PATA-LAS-KRAWCZYK P., PERRONE M., ZIOLKOWSKI W., DUSZYNSKI J., PINTON P., DOBRZYŃ A., WIECKOWSKI M. R., 2017. *Interaction of mitochondria with the endoplasmic reticulum and plasma membrane in calcium homeostasis, lipid trafficking and mitochondrial structure*. *Int. J. Mol. Sci.* 18, doi: 10.3390/ijms18071576.
- TAIOLI E., 2007. *All causes of mortality in male professional soccer players*. *Eur. J. Public Health* 17, 600-604.
- VAN GROENESTIJN A. C., VAN DE PORT I. G., SCHRODER C. D., POST M. W., GRUPSTRA H. F., KRUITWAGEN E. T., VAN DER LINDE H., VAN VLIET R. O., VAN DE WEERD M. G., VAN DEN BERG L. H., LINDEMAN E., 2011. *Effects of aerobic exercise therapy and cognitive behavioural therapy on functioning and quality of life in amyotrophic lateral sclerosis: protocol of the FACTS-2-ALS trial*. *BMC Neurol.* 11, doi: 10.1186/1471-2377-11-70.
- VANACORE N., BINAZZI A., BOTTAZZI M., BELLI S., 2006. *Amyotrophic lateral sclerosis in an Italian professional soccer player*. *Parkinsonism Relat. Disord.* 12, 327-329.
- VELDINK J. H., BAR P. R., JOOSTEN E. A., OTTEN M., WOKKE J. H., VAN DEN BERG L. H., 2003. *Sexual differences in onset of disease and response to exercise in a transgenic model of ALS*. *Neuromuscul. Disord.* 13, 737-743.
- VELDINK J. H., KALMIJN S., GROENEVELD G. J., TITULAER M. J., WOKKE J. H., VAN DEN BERG L. H., 2005. *Physical activity and the association with sporadic ALS*. *Neurology* 64, 241-245.
- WANGER B. J., KISKINIS E., MELLIN C., WISKOW O., HAN S. S., SANDOE J., PEREZ N. P., WILLIAMS L. A., LEE S., BOULTING G., BERRY J. D., BROWN R. H. JR., CUDKOWICZ M. E., BEAN B. P., EGGAN K., WOOLF C. J., 2014. *Intrinsic membrane hyperexcitability of amyotrophic lateral sclerosis patient-derived motor neurons*. *Cell Rep.* 7, 1-11.
- ZIOLKOWSKI W., SZKATULA M., NURCZYK A., WAKABAYASHI T., KACZOR J. J., OLEK R. A., KNAP N., ANTOSIEWICZ J., WIECKOWSKI M. R., WOZNIAK M., 2010. *Methyl-beta-cyclodextrin induces mitochondrial cholesterol depletion and alters the mitochondrial structure and bioenergetics*. *FEBS Lett.* 584, 4606-4610.
- ZIOLKOWSKI W., VADHANA M. S. D., KACZOR J. J., OLEK R. A., FLIS D. J., HALON M., WOZNIAK M., FEDELI D., CARLONI M., ANTOSIEWICZ J., GABBIANELLI R., 2013. *Exercise-induced heart mitochondrial cholesterol depletion influences the inhibition of mitochondrial swelling*. *Exp. Physiol.* 98, 1457-1468.
- ZIOLKOWSKI W., FLIS D. J., HALON M., VADHANA D. M., OLEK R. A., CARLONI M., ANTOSIEWICZ J., KACZOR J. J., GABBIANELLI R., 2015. *Prolonged swimming promotes cellular oxidative stress and p66Shc phosphorylation, but does not induce oxidative stress in mitochondria in the rat heart*. *Free Radic. Res.* 49, 7-16.

KOSMOS Vol. 69, 4, 639–654, 2020

WIESŁAW ZIÓLKOWSKI¹, KAROL CIEMIŃSKI², DAMIAN JÓZEF FLIS³

¹Department of Rehabilitation Medicine, Medical University of Gdansk, 30 Zwycięstwa Al., 80-219 Gdańsk, ²School of Postgraduate Studies, Poznan University of Physical Education, 27/39 Królowej Jadwigi Str., 61-871 Poznań, ³Department of Physiology and Biochemistry, Gdansk University of Physical Education and Sport, 1 Górskiego Str., 80-336 Gdańsk, E-mail: wieslaw.ziolkowski@gumed.edu.pl, karcie91@gmail.com, damian.flis@awf.gda.pl

PHYSICAL ACTIVITY AND “MITOCHONDRIA TRAINING” IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

Summary

The role of physical activity in the etiology of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) raises a lot of controversy. Therefore, a therapy based on exercise training in people diagnosed with ALS seems to be a challenge and requires evidence confirming its effectiveness. The aim of this work is to show the potential possibilities of health training to improve the quality of life in patients with ALS, as well as to present the mechanisms through which this training works. The effectiveness of exercise in patients mainly relates to maintaining the functions of the muscles and the entire body. Much more data come from studies using animal models of ALS. It has been proven that the most effective swim training significantly extends the life of animals, delays the onset of the first symptoms of the disease, reduces weight loss and muscle degradation. It also significantly improves the metabolism of mitochondria, probably by modification of the contact sites of the mitochondrial membrane structures and the endoplasmic reticulum, and reducing oxidative stress. It seems that the current and future research results on this topic may help to develop a new way in rehabilitation activities in patients with ALS.

Key words: ALS, neurodegeneration, MAMs/MERCs, mitochondria, oxidative stress, training

Wiesław Ziółkowski: ukończył studia w Akademii Wychowania Fizycznego w Gdańsku w zakresie specjalności „Sportowa odnowa biologiczna i fizjoterapia”. W tej samej Uczelni w 2001 r. uzyskał stopień doktora nauk o kulturze fizycznej, a funkcję promotora w Jego przewodzie doktorskim pełnił profesor Jerzy Popinigis. W 2014 r. Rada Wydziału Nauk o Zdrowiu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach przyznała Mu stopień doktora habilitowanego nauk o zdrowiu. W bieżącym roku zaś uzyskał tytuł profesora nauk medycznych i nauk o zdrowiu. Jest autorem 31 publikacji indeksowanych przez Web of Science, kierował 2 grantami badawczymi finansowanymi z NCN i KBN, dotyczącymi wpływu modyfikacji struktur mitochondriów wywołanych wysiłkiem/treningiem pływackim oraz chorobą (stwardnieniem zanikowym bocznym) na funkcję, stres oksydacyjny i bioenergetykę mięśni szkieletowych. Aktualnie zatrudniony jest na stanowisku profesora uczelni w Klinice Rehabilitacji Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego.

Karol Ciemiński ukończył studia w Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku uzyskując tytuł magistra wychowania fizycznego. Odbił również studia podyplomowe na kierunku „Żywność i wspomaganie dietetyczne w sporcie”. Obecnie jest doktorantem w Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu. Jest autorem publikacji naukowych o tematyce treningu pływackiego w stwardnieniu zanikowym bocznym oraz treningu sportowego, opublikowanych w zagranicznych i polskich czasopismach. Na co dzień trener i pasjonat siatkówki.

Damian Józef Flis ukończył studia w Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu im. Jędrzeja Śniadeckiego w Gdańsku. Doktorat z dyscypliny naukowej nauk o zdrowiu uzyskał w Gdańskim Uniwersytecie Medycznym. Jest współautorem 25 publikacji indeksowanych przez Web of Science, kieruje grantem badawczym dotyczącym protekcji mitochondriów w warunkach wysiłku fizycznego. Aktualnie zatrudniony na stanowisku adiunkta w Zakładzie Fizjologii i Biochemii Akademii Wychowania Fizycznego i Sportu w Gdańsku.