

APOPTOZA W MIĘŚNIACH SZKIELETOWYCH I NERKACH PO OSTRYM I PRZEWLEKŁYM WYSIŁKU FIZYCZNYM

APOPTOSIS IN SKELETAL MUSCLES AND KIDNEY
AFTER ACUTE AND CHRONIC EXERCISE

Marzena PODHORSKA-OKOŁÓW

Katedra Histologii i Embriologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie: Rola apoptozy w organizmie dojrzałym polega na usuwaniu komórek zbędnych, uszkodzonych lub potencjalnie niebezpiecznych. Do czynników indukujących apoptozę należą m.in. czynniki uszkadzające DNA jądrowe, takie jak: stres oksydacyjny czy częściowe niedotlenienie komórek. Wysiłek fizyczny, zwłaszcza w nietrenowanych organizmach może prowadzić do powstania uszkodzeń w wielu narządach. Wykazano, że intensywny wysiłek fizyczny może powodować wystąpienie apoptozy w aktywnych mięśniach szkieletowych, jednak jest ona ograniczona jedynie do jąder komórkowych. Przypuszczalnie odmiennosc przebiegu apoptozy we włóknach szkieletowych wynika z obecności w każdym z nich setek jąder komórkowych, dlatego uszkodzenie pojedynczych jąder nie wpływa na ogólny metabolizm i funkcję całego włókna. W odróżnieniu od mięśni, apoptoza w nerkach po intensywnym wysiłku ma klasyczny przebieg i jest ograniczona jedynie do komórek kanalików dystalnych i cewek zbiorczych. Mechanizm powysiłkowej indukcji apoptozy w mięśniach i nerkach jest prawdopodobnie złożony. Podczas intensywnego wysiłku zarówno w bezpośrednio pracujących mięśniach szkieletowych, jak i narządach odległych, niezaangażowanych bezpośrednio może dojść do wystąpienia stresu oksydacyjnego. W mięśniach szkieletowych stres oksydacyjny wynika ze zwiększonego zużycia tlenu, natomiast w nerce jest spowodowany zmniejszeniem przepływu krwi i częściowym niedotlenieniem komórek kanalików nerkowych, z następową ich reperfuzyją po zakończeniu wysiłku. Ponadto, w kanalikach nerkowych apoptoza może być również indukowana przez specyficzne receptory angiotensyny II (Ang II), AT1 i AT2. Ich ekspresja wzrasta podczas intensywnego wysiłku w wyniku aktywacji nerkowego układu renina-angiotensyna. Regularny wysiłek fizyczny ma bardzo korzystny wpływ na utrzymanie prawidłowego funkcjonowania narządów, przez co może zapobiegać powstawaniu wielu zaburzeń i chorób. Wykazano, że stopniowe przystosowanie się do intensywnego wysiłku znacznie ogranicza uszkodzenie struktur komórkowych, a także występowanie nasilonej apoptozy zarówno w mięśniach szkieletowych, jak i nerkach. W trenowanych organizmach wykształcają się odpowiednie mechanizmy adaptacyjne. W mięśniach szkieletowych wzrasta aktywność enzymów obrony antyoksydacyjnej – dysmutazy nadadtlenkowej (SOD) i peroksydazy glutationowej (GPx), natomiast w nerce stopniowo zmniejsza się stężenie Ang II oraz ekspresja receptorów AT1 i AT2. Istotą treningu adaptacyj-

nego jest stopniowe przystosowywanie się całego organizmu do wzrastającego poziomu obciążenia fizycznego, co zapobiega występowaniu uszkodzeń i umożliwia utrzymanie prawidłowej funkcji wielu narządów.

Słowa kluczowe: apoptoza, mięśnie szkieletowe, nerki, wysiłek fizyczny.

Summary: Apoptosis in adult organism plays a role in removing of unnecessary, damaged or potentially dangerous cells. Apoptosis inducing factors include DNA damaging factors, such as oxidative stress or partial ischemia. Physical exercise may lead to disturbance and damage in many organs, especially in untrained organisms. It has been demonstrated that an intense exercise could finally lead to apoptosis in skeletal muscles, however apoptotic changes were restricted to single myonuclei. The reason is probably related to the presence of hundreds myonuclei in single myofiber, therefore the damage of single myonuclei is not important in overall metabolism and function of the entire myofiber. In contrast to the skeletal muscle, exercise-induced apoptosis in the kidney displayed characteristic morphological features of classical apoptotic cell death, and was confined to the distal tubules and collecting ducts. The mechanism in which post-exercise apoptosis is activated seems to be complex and may involve oxidative stress occurring not only in skeletal muscles but also in many distant organs. The oxidative stress during exercise might be a result of considerable increase in oxygen utilization in working skeletal muscles or of ischemia–reperfusion phenomenon, which could occur especially in not working organs, such as kidney. Moreover, the kidney apoptosis could be induced by angiotensin II (Ang II) receptors, AT1 and AT2, which expression increased in response to the activation of renin-angiotensin system during intense exercise. However, the moderate, regular exercise training is known to improve the physiological and functional capacity of many organs what finally may lead to prevention of a number of disorders. The moderate adaptive training was demonstrated to reduce post-exercise damage, including apoptosis in skeletal muscles as well as in kidney. In trained individuals may develop adaptive mechanisms. In working skeletal muscles increased activities of antioxidant enzymes, superoxide dismutases (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) while in kidney progressively decreased the Ang II releasing, followed by decreased expression of AT1 and AT2 receptors. The moderate, increasing activity regular training is associated with beneficial changes in metabolic functions of many organs.

Key words: apoptosis, skeletal muscle, kidney, physical exercise.

APOPTOZA

W organizmach wielokomórkowych homeostaza komórek jest utrzymywana poprzez równowagę między ich proliferacją i śmiercią. W warunkach fizjologicznych procesowi powstawania nowych komórek stale towarzyszy zjawisko eliminacji komórek zbędnych lub uszkodzonych. Usuwanie tych komórek następuje w wyniku uruchomienia w nich procesu apoptozy, która jest jednym z dwóch rodzajów śmierci. W odróżnieniu od nekrozy, apoptoza jest fizjologicznym, genetycznie zaprogramowanym procesem eliminacji pojedynczych komórek. Stanowi główny mechanizm regulujący liczbę komórek i ostateczny kształt narządów podczas rozwoju osobniczego. W organizmie dojrzałym w drodze apoptozy usuwane są komórki niepotrzebne lub potencjalnie niebezpieczne. Charakteryzuje ją szereg specyficznych zmian biochemicznych i morfologicznych. Komórka umierająca wskutek apoptozy w wyniku utraty wody i elektrolitów stopniowo zmniejsza swoją objętość, co prowadzi do utraty jej połączeń z sąsiednimi komórkami i macierzą. Chromatyna jądra komórkowego ulega charakterystycznej, obwodowej kondensacji. Cytoplazma ulega zagęszczeniu, natomiast organella

komórkowe pozostają niezmienione. Błona komórkowa komórki apoptotycznej nie zostaje uszkodzona, tworzą się jedynie charakterystyczne uwypuklenia na obkurczającej się komórce. W końcowych stadiach apoptozy jądro komórkowe oraz zagęszczona cytoplazma ulegają fragmentacji. Ostatecznie cała komórka rozpada się na tzw. ciała apoptotyczne. Zawierają one fragmenty zgęszczonej chromatyny jądrowej, cytoplazmy oraz niezmienione organella komórkowe. Ciała apoptotyczne otoczone są błoną komórkową, co zapobiega wydostawaniu się na zewnątrz ich zawartości i powstawaniu odczynów zapalnych. W wyniku aktywacji procesu apoptozy w błonie komórkowej dochodzi do translokacji fosfatydyloseryny z powierzchni wewnątrzkomórkowej na powierzchnię zewnątrzkomórkową, co umożliwia sąsiednim komórkom lub makrofagom natychmiastowe rozpoznanie umierającej komórki i fagocytozę ciałek apoptotycznych [44, 50].

Charakterystyczne zmiany morfologiczne zachodzące w komórce umierającej w drodze apoptozy są wynikiem uaktywnienia w niej licznych przemian biochemicznych, pozostających pod ścisłą kontrolą genetyczną. Zaprogramowana aktywacja szlaków biochemicznych doprowadza do wybiórczej proteolizy wybranych składników komórek i rozkładu DNA na nukleosomy, czyli fragmenty zawierające ok. 180–200 par zasad lub ich wielokrotności [96].

W przebiegu apoptozy wyróżnia się trzy etapy: **indukcja**, w którym podejmowana jest decyzja o śmierci, **egzekucja**, w którym dochodzi do nieodwracalnej proteolizy kluczowych białek w komórce przez proteazy, zwane kaspazami, oraz **degradacja**, w którym następuje usuwanie ciałek apoptotycznych przez sąsiednie komórki i/lub makrofagi. Faza egzekucji i degradacji przebiega podobnie w większości komórek i prowadzi do powstania charakterystycznych biochemicznych i morfologicznych zmian, natomiast faza indukcji może przebiegać różnie w zależności od czynnika wywołującego apoptozę. Rozróżnia się dwie podstawowe ścieżki indukcji apoptozy: zewnątrzpochodną, tzw. receptorową oraz wewnątrzpochodną, tzw. mitochondrialną. Indukcja apoptozy w drodze zewnątrzpochodnej zachodzi w komórkach mających na swej powierzchni receptory, zwane receptorami śmierci. Należy do nich rodzina receptorów TNF (*tumor necrosis factor*), np. TNF typu I, FAS (CD95) oraz dwa receptory dla TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*). Połączenie receptora ze specyficznym ligandem oraz cytoplazmatycznym białkiem adaptorowym prowadzi do aktywacji kaspazy 8, która z kolei powoduje uruchomienie tzw. kaskady kaspaz, prowadzącej do aktywacji kaspaz wykonawczych 3, 6 i 7 [26]. Niekiedy transdukcja sygnału apoptotycznego przez receptor TNF typu I powoduje rozkład obecnej w błonie komórkowej sfingomieliny na fosfocholinę i ceramid, który może być czynnikiem kierującym komórkę na drogę apoptozy. Indukcja apoptozy ścieżką wewnątrzpochodną, zwaną mitochondrialną, zachodzi w wyniku zadziałania na komórkę bodźców uszkadzających lub stresowych, takich jak: niedotlenienie, stres oksydacyjny, promieniowanie ultrafioletowe czy brak czynników wzrostu, prowadzących nieuchronnie do uszkodzenia DNA. W komórce z uszkodzonym DNA następuje wzrost ekspresji białka p53, zwanego „strażnikiem genomu”, co powoduje zatrzymanie komórki w fazie G1 cyklu komórkowego, pozwalając na ewentualną naprawę uszkodzeń. Jeśli uszkodzenie DNA jest zbyt duże, białko p53 indukuje ekspresję białka proapoptotycznego Bax, a także ekspresję

receptora Fas w błonie komórkowej. Białko Bax przemieszcza się do błony zewnętrznej mitochondriów, gdzie bierze udział w tworzeniu tzw. megakanałów, przez które uwalniane są do cytoplazmy z przestrzeni międzybłonowej proapoptotyczne białka, takie jak cytochrom c oraz czynnik indukujący apoptozę AIF (*apoptosis inducing factor*). Uwolniony cytochrom c wraz z cytoplazmatycznym białkiem Apaf-1 (*apoptosis protease activating factor*) i prokaspazą 9 tworzy kompleks zwany apoptosomem, w którym przy udziale energii dochodzi do powstania aktywnej kaspazy 9. Ta z kolei aktywuje kaspazy wykonawcze: 3, 6 i 7. Mitochondrialny czynnik AIF może bezpośrednio aktywować kaspazy wykonawcze oraz bierze udział w zmianach symetrii błony komórkowej (translokacja fosfatidyloseryny do zewnętrznej powierzchni błony) [93].

Kaspazy wykonawcze biorą udział w degradacji białek szkieletu aktynowego komórki wpływając na powstanie uwypukleń błony komórkowej. Powodują także proteolizę enzymów naprawczych DNA, jak również białek hamujących nukleazy. To z kolei prowadzi do aktywacji nukleaz, głównie DNA-zy aktywowanej przez kaspazy, czyli CAD (*caspase activated DNA-se*). Nukleaza CAD powoduje fragmentację DNA jądrowego na fragmenty wielkości nukleosomu lub jego wielokrotności, będące biochemicznym markerem komórki apoptotycznej [96].

Klasyczna apoptoza została opisana w komórkach jednojądrzastych. W ostatnich latach ukazało się szereg doniesień na temat występowania tego procesu w wielojądrzastych włóknach mięśni szkieletowych [60]. Przebieg tego procesu w komórkach wielojądrzastych różni się morfologicznie od klasycznej apoptozy brakiem fragmentacji całej komórki na ciała apoptotyczne, zmiany są ograniczone jedynie do pojedynczych jąder komórkowych [71].

W organizmie dojrzałym apoptoza ogrywa ważną rolę w wielu procesach fizjologicznych, takich jak wymiana komórek nabłonkowych oraz w eliminacji komórek patologicznie zmienionych (zmutowanych, zainfekowanych, nowotworowych). Zaburzenia funkcjonowania apoptozy mogą być przyczyną rozwoju wielu chorób, takich jak choroby nowotworowe czy degeneracyjne [87]. W ostatnich latach wykazano również obecność apoptozy w wielu narządach po intensywnym wysiłku fizycznym, zwłaszcza w nietreningowanych organizmach [60, 67–69, 77].

MECHANIZMY APOPTOZY W WYSIŁKU FIZYCZNYM

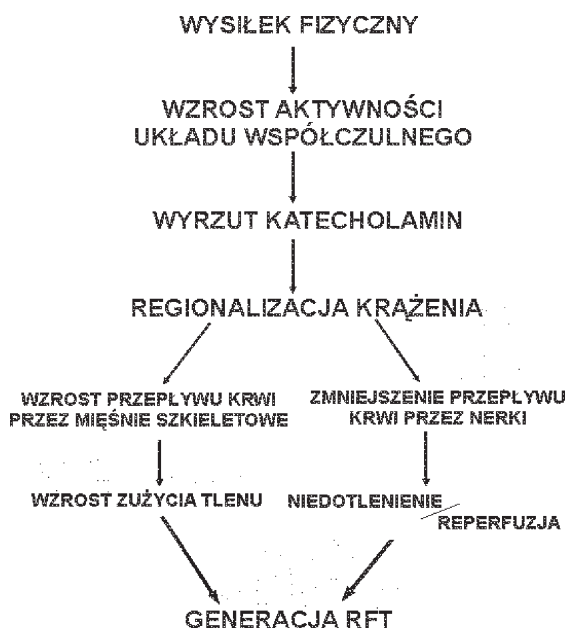
Mechanizm wystąpienia apoptozy po wysiłku fizycznym nie jest w pełni wyjaśniony. W wielu doniesieniach podkreśla się rolę stresu oksydacyjnego w indukcji apoptozy powysiłkowej [60]. Stres oksydacyjny występuje w wyniku zaburzenia równowagi między produkcją reaktywnych form tlenu (RFT) a wewnątrzkomórkowymi systemami tzw. obrony antyoksydacyjnej. W komórkach istnieje wiele systemów antyoksydacyjnych, umożliwiających obniżenie stężenia RFT [36]. Należą do nich enzymy rozkładające RFT, takie jak dysmutaza ponadtlenkowa (SOD, *superoxide dismutase*), katalaza (CAT, *catalase*) czy peroksydaza glutationowa (GPX, *glutathione peroxida-*

se), a także związki nieenzymatyczne, takie jak: metalotioneina (MT), zredukowany glutation oraz witaminy C i E [24].

RFT powodują utlenianie różnych składników komórki, takich jak: lipidy, białka czy DNA, co prowadzi do utraty ich biologicznej funkcji [28, 35]. RFT mogą indukować apoptozę bezpośrednio, w wyniku uszkodzenia DNA, z następową aktywacją białka p53 lub pośrednio, wpływając na aktywację lub hamowanie czynników transkrypcyjnych genów regulujących proces apoptozy, np. z rodziny genów TNF- α , Bcl-2 [28, 89]. Ponadto, wykazano, że RFT przez utlenianie kardiolipiny, fosfolipidu występującego jedynie w błonie mitochondrialnej, mogą bezpośrednio wpływać na uwalnianie z mitochondrium cytochromu c [54].

Stres oksydacyjny podczas wysiłku fizycznego może wystąpić nie tylko w narządach bezpośrednio zaangażowanych (np. mięśnie szkieletowe), ale również w narządach odległych, niebiorących bezpośrednio udziału w wysiłku (np. wątroba, nerki). W wielu doniesieniach wykazano istotną rolę stresu oksydacyjnego, jako głównego czynnika indukującego apoptozę podczas wysiłku fizycznego w mięśniach szkieletowych, komórkach krwi i tymocytach [1, 3, 48, 49, 60]. Znacznie zwiększone zużycie tlenu (nawet 100-krotnie) przez intensywnie pracujące mięśnie szkieletowe może prowadzić do zwiększonego wytwarzania RFT przez mitochondrialny łańcuch oddechowy [20]. Natomiast powstawanie RFT w niepracujących narządach odległych jest prawdopodobnie związane ze zmianami dystrybucji przepływu krwi w organizmie. W wyniku wysiłku fizycznego ulega aktywacji część współczulna układu autonomicznego, przejawiająca się wzmożonym wyrzutem katecholamin wpływających m.in. na regulację układu naczyniowego i przepływu krwi (regionalizacja krążenia, czyli wzrost przepływu przez pracujące mięśnie, zmniejszenie przepływu przez niepracujące narządy, np. nerki czy wątrobę). Z powodu zmniejszenia przepływu krwi w narządach niebiorących bezpośrednio udziału w wysiłku może dojść do częściowego niedotlenienia komórek, z następową ich reperfuzją po jego zakończeniu. Proces niedotlenienia/reperfuzji jest jednym z najczęstszych mechanizmów generujących RFT (ryc. 1) [15].

Innym czynnikiem mogącym brać udział w indukcji zmian apoptotycznych w niektórych narządach po wysiłku fizycznym jest angiotensyna II (Ang II). Wzrost aktywności układu współczulnego oraz redystrybucja krwi podczas wysiłku powodują pobudzenie układu renina-angiotensyna. Końcowy, aktywny peptyd tego układu, Ang II, powstaje w wyniku rozkładu krążącego we krwi nieaktywnego decapeptydu, Ang I, przez enzym śródbłónka naczyń płucnych, zwany konwertazą angiotensyny [14]. Zwiększone stężenie Ang II w wielu narządach może powodować uszkodzenia komórek, prowadzące nawet do ich śmierci w drodze apoptozy [7, 9, 62]. Ang II działa na komórki poprzez swoje receptory – AT1 i AT2, których aktywacja prowadzi do różnych efektów [42]. Większość znanych funkcji Ang II, takich jak: skurcz naczyń czy wydzielanie aldosteronu, a na poziomie komórkowym – proliferacja i wzrost komórek, jest związana z jej działaniem przez receptor AT1. Natomiast aktywacja receptora AT2 wpływa na rozszerzenie naczyń, a na poziomie komórkowym powoduje zahamowanie wzrostu komórek, ich różnicowanie się lub wejście na drogę apoptozy [16]. Wiele ostatnich badań wykazało jednak, że tak przeciwstawne procesy, jak apoptoza i proliferacja są wynikiem jednoczesnego współdziałania obu receptorów [12, 64, 65].



RYCINA 1. Mechanizmy prowadzące do wytwarzania RFT podczas wysiłku fizycznego. W wyniku regionalizacji krążenia w bezpośrednio zaangażowanych w wysiłek mięśniach szkieletowych następuje znaczny wzrost zużycia tlenu prowadzący do generacji RFT. W niezaangażowanych bezpośrednio w wysiłek nerkach zmniejszenie przepływu krwi, a następnie przywrócenie prawidłowego krążenia po zaprzestaniu wysiłku może przypominać mechanizm niedotlenienia/reperfuzji prowadzący do produkcji RFT

APOPTOZA W MIĘŚNIACH SZKIELETOWYCH PO WYSIŁKU FIZYCZNYM

Normalne, dojrzałe włókno mięśniowe jest wysoce wyspecjalizowane i nie ma zdolności do podziału. Częściowa regeneracja uszkodzonych włókien mięśniowych może zachodzić jedynie dzięki obecności komórek satelitarnych, które są nieaktywnymi mioblastami, mającymi zdolność proliferacji i odtwarzania wielojądrzastych zespólni. W dojrzałym włóknie mięśniowym, będącym wielojądrzastym syncytium, występowanie apoptozy jest trudne do zdefiniowania ze względu na jego odmienną morfologię. Klasyczna apoptoza została opisana w komórkach jednojądrzastych, zrozumiałe jest więc nieuchronne obumarcie całej komórki w wyniku uszkodzenia jej jądra. Dotychczasowe doniesienia na temat możliwości występowania apoptozy w wielojądrzastych włóknach mięśniowych są nadal kontrowersyjne. Część autorów uważa, że apoptoza, a właściwie programowana śmierć komórki, występuje jedynie podczas rozwoju mięśni regulując liczbę powstających włókien mięśniowych oraz ostateczny kształt i wielkość mięśnia, a także w niecałkowicie dojrzałych mięśniach szkieletowych noworodków z atrofią rdzeniowo-mięśniową [21, 22]. W ostatnich latach opisuje się jednak występowanie apoptozy w dojrzałych włóknach mięśni szkieletowych, w takich stanach patologicznych, jak dystrofie mięśniowe czy atrofia odnerwienna mięśni, a także w wyniku wysiłku fizycznego [77].

Jednorazowy, intensywny wysiłek fizyczny

Wpływ wysiłku fizycznego na mięśnie szkieletowe dojrzałego organizmu jest badany już od wielu lat. Wysiłek o znacznej intensywności, zwłaszcza w organizmach nietrenowanych, może przyczynić się do uszkodzenia włókien mięśniowych. Stopień uszkodzenia zależy od rodzaju wykonywanych skurczów mięśniowych. Skurcze ekscentryczne (w których mięsień jest rozciągany) powodują większe uszkodzenie aktywnych mięśni niż skurcze izometryczne (bez zmiany długości mięśnia) czy koncentryczne (w których mięsień jest skracany) [62]. Do niedawna przypuszczano, że powysiłkowe uszkodzenie mięśni szkieletowych związane jest z wystąpieniem w nich zmian martwiczych oraz zapalnych. Jednak w ostatnim dziesięcioleciu pojawiły się doniesienia o występowaniu powysiłkowej apoptozy w mięśniach szkieletowych [60].

Dotychczasowe dane literaturowe oraz własne obserwacje [67–69] wskazują, że intensywny wysiłek fizyczny może indukować zmiany o charakterze apoptotycznym w nietrenowanych mięśniach szkieletowych. W badaniach własnych, przeprowadzonych zarówno na zdrowych, jak i dystroficznych (mdx) myszach, które spontanicznie biegały na kółku treningowym przez 16 godzin, przy użyciu metody TUNEL wykazano obecność zmian apoptotycznych w pojedynczych jądrach, z największym ich nasileniem w ciągu pierwszych sześciu godzin od zaprzestania wysiłku [68, 69]. Badania w mikroskopie elektronowym wykazały obecność zmian morfologicznych typowych dla apoptozy jedynie w pojedynczych jądrach włókien mięśniowych. Nigdy nie obserwowano zmian cytoplazmatycznych ani obecności ciałek apoptotycznych. Odmienność przebiegu apoptozy w komórkach wielojądrzastych, jakimi są dojrzałe włókna mięśniowe, w porównaniu z klasyczną apoptozą, opisywaną w komórkach jednojądrzastych, wynika prawdopodobnie z różnic w morfologii włókien mięśni szkieletowych. Uszkodzenie pojedynczych jąder w komórce wielojądrzastej nie prowadzi do zaburzeń jej funkcjonowania, gdyż ich utrata nie wpływa na całkowity metabolizm włókna mięśniowego. Nadal jednak nieznanym jest sposób usuwania apoptotycznych jąder.

Obecność apoptozy we włóknach mięśniowych po ostrym wysiłku została potwierdzona przy użyciu wielu metod. Za pomocą elektroforezy, stwierdzono obecność charakterystycznej dla apoptozy, regularnej fragmentacji DNA (tzw. „drabinki” DNA) [67, 69]. W pojedynczych jądrach mięśniowych wykazano powysiłkowy wzrost ekspresji białka p53, a także ubikwitinację białek jądrowych, co wskazywałoby na przeznaczenie tych jąder do degradacji [77, 78]. W sarkoplazmie, przy użyciu metody immunocytochemicznej, potwierdzonej Western Blottingiem, wykazano znaczne zmniejszenie ekspresji antyapoptotycznego białka Bcl-2 oraz zwiększenie ekspresji proapoptotycznego białka Bax w pierwszych sześciu godzinach po zaprzestaniu wysiłku, kiedy obserwuje się nasilenie zmian apoptotycznych. Stosunek Bcl-2/Bax uległ odwróceniu po kilku dniach odpoczynku. Apoptoza w jądrach włókien mięśniowych po intensywnym wysiłku fizycznym jest indukowana drogą wewnątrzpochną. Uszkodzenie DNA jądrowego powoduje wzrost ekspresji białka p53, które z kolei wpływa na zwiększenie ekspresji białka proapoptotycznego Bax. Ciekawe, że w tych samych włóknach, w których obserwowano wzrost ekspresji Bax, wykazano jednocześnie zwiększoną ekspresję receptora Fas w błonie komórkowej, również w pierwszych

sześciu godzinach od zaprzestania wysiłku, co wskazywałoby równoczesną możliwość powysiłkowej aktywacji apoptozy drogą zewnątrzpochodną [69].

Mechanizm indukcji apoptozy we włóknach mięśniowych poddanych intensywnemu wysiłkowi fizycznemu jest złożony i niedostatecznie jeszcze poznany. Podkreśla się ważną rolę stresu oksydacyjnego występującego podczas intensywnych ćwiczeń w aktywnych mięśniach szkieletowych. Zwiększony metabolizm tkanki mięśniowej i wzrost zapotrzebowania na tlen (nawet 100-krotny) powoduje, że w pracujących mięśniach dochodzi do rozszerzenia w nich tętniczek i zwieraczy przedwłośniczkowych. Wzrost zużycia tlenu może jednak prowadzić do niewydolności wewnątrzkomórkowych układów redukcyjnych, czego skutkiem jest zwiększone wytwarzanie RFT. Dodatkowo, w pracujących mięśniach szkieletowych, zwłaszcza podczas skurczów ekscentrycznych, może dochodzić również do zmian przepływu krwi przez wywołaną wysiłkiem hipoksję (niedotlenienie) i następującą po niej reperfuzję (przekrwienie). Przypomina to klasyczny mechanizm niedotlenienia/reperfuzji, mogący prowadzić do generacji RFT [51]. Ponadto, mechaniczne uszkodzenia włókien w wyniku nadmiernego wysiłku fizycznego może wywołać w nich proces zapalny, z naciekaniem neutrofili, mających zdolność wytwarzania RFT [72].

Niezależnie od mechanizmu wytwarzania, RFT zaburzając strukturę i funkcję białek, lipidów i DNA jądrowego, oraz wpływając na aktywację lub hamowanie czynników transkrypcyjnych regulujących m.in. aktywację genów pro- i antyapoptotycznych, mogą indukować apoptozę w aktywnych włóknach mięśniowych. W większości badań stwierdzono istotny wzrost wytwarzania RFT w mięśniach szkieletowych po wysiłku fizycznym, oznaczając produkty ich reakcji ze składnikami komórkowymi, do których najczęściej należy oznaczanie stopnia nasilenia peroksydacji lipidów [23, 34, 43, 73, 94]. Metody bezpośredniego oznaczania RFT są niezwykle kosztowne i mało czułe ze względu na krótki okres półtrwania RFT, stąd najczęściej stosowaną metodą ich wykrywania jest badanie poziomu wskaźników peroksydacji lipidów, najbardziej znanego biologicznego procesu wolnorodnikowego. Najczęściej oznacza się poziom TBARS (substancji reagujących z kwasem tiobarbiturowym), MDA (malonydialdehydu) i 4-HDA (4-hydroksyalkenali). W pojedynczych doniesieniach nie opisano jednak zmian poziomu peroksydacji lipidów po intensywnym wysiłku fizycznym [80]. Sprzeczne rezultaty wynikają prawdopodobnie z rodzaju metody oznaczania poziomu produktów peroksydacji lipidów, a także z różnic w intensywności ćwiczeń.

W prawidłowych warunkach, w odpowiedzi na zwiększone wytwarzanie RFT w komórkach, dochodzi do wzrostu aktywności systemu obrony antyoksydacyjnej, którego zadaniem jest zneutralizowanie nadmiernej ilości RFT. Ponieważ w pracujących mięśniach szkieletowych stwierdzono w porównaniu z innymi narządami największy wzrost wytwarzania RFT, mechanizmy obrony antyoksydacyjnej powinny być w nich dobrze rozwinięte. Istotnie, wykazano w porównaniu z innymi narządami stosunkowo dużą aktywność enzymów obrony antyoksydacyjnej, jak i związków nieenzymatycznych nawet w spoczynkowych mięśniach. Zarówno u zwierząt, jaki i u ludzi stwierdzono również znaczny wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych, głównie SOD i GPX, w mięśniach szkieletowych nawet po jednorazowym, intensywnym wysiłku fizycznym

[32–34, 73, 90]. W systemie obrony antyoksydacyjnej mięśni szkieletowych istotną rolę ogrywają również związki nieenzymatyczne zarówno endo-, jak i egzogenne. Wykazano znaczny wzrost ekspresji metalotioneiny (MT) oraz jej korelację z poziomem peroksydacji lipidów w mięśniach szkieletowych w odpowiedzi na ostry wysiłek fizyczny [60]. Ponadto, stwierdzono ważną rolę witaminy E w usuwaniu RFT generowanych podczas wysiłku. Jak wykazano w licznych badaniach, brak witaminy E w diecie powoduje znaczny wzrost wytwarzania RFT w mięśniach szczurów poddanych wysiłkowi fizycznemu [25, 34, 41].

Trening adaptacyjny

Wbrew doniesieniom o możliwości szkodliwego działania intensywnego wysiłku fizycznego nie tylko na mięśnie szkieletowe, w licznych badaniach wykazano jego korzystny wpływ na utrzymanie prawidłowego funkcjonowania narządów, a także zapobieganie powstawaniu wielu chorób [13, 18, 27, 37, 57]. Podkreśla się ogromne znaczenie stopniowego treningu adaptacyjnego w zapobieganiu występowania uszkodzeń powysiłkowych. Istotną rolę odgrywa prawdopodobnie rozwinięcie się w wielu narządach mechanizmów adaptacyjnych do zwiększonego wysiłku fizycznego.

W badaniach własnych stwierdzono znaczne zmniejszenie nasilenia apoptozy w mięśniach szkieletowych po 8-tygodniowym treningu adaptacyjnym. Przy użyciu wielu metod, w tym Western Blottingu oraz RT-PCR, Siu i wsp. [84] wykazali znaczny wzrost ekspresji antyapoptotycznego białka Bcl-2 i jego m-RNA oraz białek stresowych z rodziny HSP70 (*heat shock protein*) w mięśniach szkieletowych szczurów po adaptacji wysiłkowej. Białka HSP70, produkowane w komórce w odpowiedzi na różne formy stresu, np. stres oksydacyjny czy podwyższenie temperatury, zapobiegają degradacji innych białek komórkowych oraz przyspieszają rozpad i usuwanie białek zniszczonych lub niepotrzebnych [31]. W najnowszych doniesieniach podkreśla się również antyapoptotyczne działanie białek HSP70 przez hamowanie uwalniania cytochromu c z mitochondriów [47], a także przez ich bezpośrednie wiązanie się z cytoplazmatycznym białkiem Apaf-1 i blokowaniem tworzenia się apoptosomu [5]. Ponadto, mięśnie szkieletowe po treningu adaptacyjnym wykazywały znacznie zmniejszoną ekspresję proapoptotycznego białka Bax.

Stopniowy trening zwiększa zdolność mięśni szkieletowych do wykonywania wysiłków oraz zwiększa maksymalną zdolność do pochłaniania tlenu nawet o 20%. Podczas systematycznego treningu zwiększa się ilość kapilarów (nawet o 15%), wzrasta zawartość mioglobiny, a także liczba mitochondriów i ich wydajność, co wpływa na podniesienie zdolności tkanki mięśniowej do tlenowego metabolizmu [62]. W wielu doniesieniach wykazano zmniejszenie poziomu peroksydacji lipidów w mięśniach szkieletowych poddanych treningowi adaptacyjnemu, co prawdopodobnie wiąże się ze wzrostem zdolności mięśnia szkieletowego do pochłaniania i redukcji tlenu [23, 53, 74, 90]. Ponadto, w mięśniach szkieletowych po adaptacji wysiłkowej stwierdzono znaczny wzrost aktywności enzymów obrony antyoksydacyjnej, SOD oraz GPX, co wskazuje na ich istotną rolę w mechanizmie przystosowania się tkanki mięśniowej do długotrwałego wysiłku fizycznego i związanej z nim zwiększonej generacji RFT [6, 27, 30, 34, 35, 49,

56, 70, 76, 82]. Trening adaptacyjny wywołuje też istotne zmiany w stężeniu nieenzymatycznych antyoksydantów. Zaobserwowano, że stężenie witaminy E, egzogenego antyoksydanta, w mięśniach poddanych przewlekłemu wysiłkowi ulega znacznemu obniżeniu, natomiast dostarczenie witaminy E w diecie podczas długotrwałych ćwiczeń wpływa na zmniejszenie wytwarzania RFT [41]. Postuluje się nawet możliwość przyjmowania zwiększonej ilości witaminy E przez aktywnie trenujących [46]. W badaniach Bobillier Chaumont [8] stwierdzono, że trening adaptacyjny nie wpływa na stężenie MT w mięśniach szkieletowych, co może sugerować nieistotną rolę MT w procesie adaptacyjnym mięśni szkieletowych.

APOPTOZA W NERKACH PO WYSIŁKU FIZYCZNYM

Apoptoza pełni w nerkach ważną rolę nie tylko podczas ich rozwoju, ale również w organizmie dojrzałym umożliwiając wymianę niepotrzebnych komórek nabłonkowych kanalików nerkowych. W prawidłowej, dojrzałej nerce apoptozę obserwuje się w stosunkowo małym stopniu, jednak może ulec znacznemu nasileniu w uszkodzeniach lub chorobach nerek [86]. Obecność nasilonej apoptozy w kanalikach nerkowych stwierdzono w ostrej niedokrwiennej niewydolności nerek [29]. Ponadto zaburzenia w prawidłowym przebiegu apoptozy mogą doprowadzić do rozwoju wielu chorób nerek, takich jak: zapalenie śródmiąższowe czy zwłóknienie nerek [9].

Jednorazowy, intensywny wysiłek fizyczny

Liczne badania z ostatnich lat wykazały, że w dojrzałej nerce najbardziej wrażliwe na uszkodzenie i śmierć w drodze apoptozy są komórki kanalików nerkowych oraz podocyty kłębków nerkowych [17, 58].

W badaniach własnych stwierdzono istotny wzrost apoptozy, badanej metodą TUNEL, w kanalikach nerkowych po intensywnym wysiłku fizycznym [66]. Zmiany apoptotyczne ograniczone są do komórek kanalików dystalnych i cewek zbiorczych, natomiast nigdy nie stwierdzono ich obecności w kanalikach proksymalnych. Obserwacja w mikroskopie elektronowym potwierdziła obecność charakterystycznych, obkurczonych komórek apoptotycznych, ze skondensowaną chromatyną, a także obecność ciałek apoptotycznych jedynie w kanalikach dystalnych oraz cewkach zbiorczych. Ciała apoptotyczne są usuwane bezpośrednio do światła kanalika, co wydaje się prostszym sposobem niż ich fagocytoza przez makrofagi czy sąsiednie komórki. Podobnie, badania przeprowadzone na nerkach po niedotlenieniu/reperfuzji wykazały obecność apoptozy jedynie w komórkach kanalików dystalnych [55]. Co więcej, zaobserwowano silną ekspresję proapoptotycznego białka Bax w komórkach kanalików dystalnych, natomiast w komórkach kanalików proksymalnych silną ekspresję antyapoptotycznego białka Bcl-2, co może stanowić częściowe wyjaśnienie ograniczenia apoptozy jedynie do kanalików dystalnych [55, 79]. Potwierdzałoby to możliwość indukcji apoptozy w kanalikach dystalnych po intensywnym wysiłku fizycznym w drodze mechanizmu

niedotlenienie/reperfuzja. Wiadomo, że nawet nieznaczne niedotlenienie komórek kanalików nerkowych może spowodować ich uszkodzenie. Ze względu na małą zdolność produkcji ATP drogą glikolizy, komórki kanalika proksymalnego są bardziej wrażliwe na niedotlenienie niż komórki kanalika dystalnego, mające znacznie większą zdolność glikolityczną. Dlatego też niedotlenienie komórek kanalika proksymalnego prowadzi do niedoboru ATP, co powoduje ich śmierć drogą nekrozy, natomiast niedotlenienie komórek kanalika dystalnego, przy ich zdolności do beztlenowej syntezy ATP, może prowadzić do ich śmierci w drodze apoptozy [10, 58].

Ekspresja białek z rodziny Bcl-2 jest zależna od białka p53, którego aktywacja w wyniku nieodwracalnego uszkodzenia DNA może skierować komórkę na drogę apoptozy. W badaniach własnych stwierdzono silną ekspresję białka p53 w jądrach i jednocześnie zmiany apoptotyczne [65].

Pomimo że nerki nie są narządem biorącym bezpośrednio udziału w wysiłku fizycznym, wywiera on duży wpływ na ich czynność. Podczas intensywnego wysiłku dochodzi do aktywacji układu współczulnego, wzrostu stężenia katecholamin i Ang II, czego efektem jest skurcz naczyń i zmniejszenie przepływu krwi przez nerki (RBF, *renal blood flow*). Skurcz tętniczek kłębuszkowych doprowadzających i odprowadzających prowadzi do zmniejszenia filtracji kłębuszkowej (GFR, *glomerular filtration rate*) i spadku diurezy. Przy intensywnym wysiłku fizycznym RBF może zmniejszyć się nawet o 30–40% [85]. Skurcz naczyń, który w zależności od intensywności wysiłku może doprowadzić do niedotlenienia komórek kanalików nerkowych z następującym ich rozszerzeniem po zakończeniu wysiłku, przypomina mechanizm niedotlenienia/reperfuzji, będący jedną z najczęstszych przyczyn wzrostu produkcji RFT.

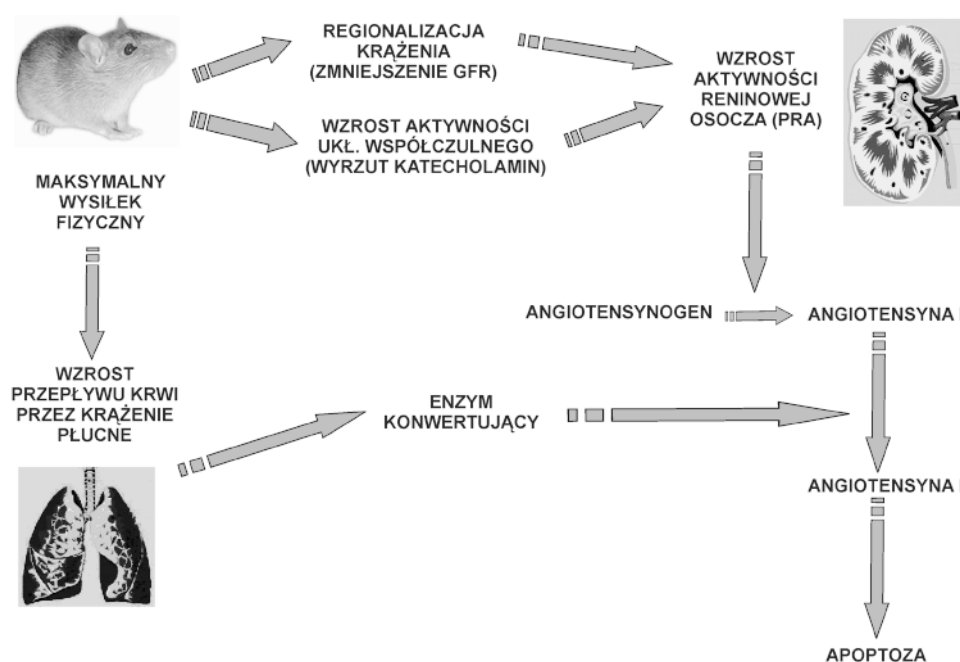
Wyniki licznych badań na temat wzrostu wytwarzania RFT w nerkach podczas wysiłku fizycznego są wciąż kontrowersyjne. Niektóre dane z piśmiennictwa [2, 27] oraz własne obserwacje wskazują, że intensywnemu wysiłkowi fizycznemu towarzyszy wzrost stężenia wskaźników peroksydacji lipidów w nerce szczura, natomiast w innych badaniach nie wykazano tych zmian [49, 81]. Różnice najprawdopodobniej wynikają z użycia różnych gatunków zwierząt, modeli ich trenowania (rodzaj i intensywność ćwiczeń), a także z zastosowania różnych metod do oznaczania wskaźników peroksydacji lipidów.

Dotychczasowe dane literaturowe oraz własne badania nie wykazały zmian w aktywności enzymów SOD, CAT czy GPx w nerkach po intensywnym wysiłku fizycznym. Przypuszcza się, że endogenne systemy antyoksydacyjne nerki jest zdolny do efektywnego usunięcia ilości RFT generowanych podczas wysiłku i dlatego nie obserwuje się wzrostu jego aktywności [49, 81, 82].

W systemie obrony antyoksydacyjnej komórek oprócz enzymów ważną rolę pełnią również związki nieenzymatyczne, do których należy m.in. MT. Jest to niskocząsteczkowe białko ochronne komórki. Pełni funkcję detoksykacyjną, chroniąc komórkę przed działaniem metali ciężkich (np. kadm, rtęć, ołów) poprzez ich wiązanie i tworzenie nieaktywnych kompleksów [19]. Ponadto MT ma zdolność do dezaktywacji wolnych rodników tlenowych, co pozwoliło na zaliczenie jej do systemu antyoksydacyjnego komórki [92]. Wykazano również antyapoptotyczne działanie MT nie tylko poprzez dezaktywację RFT, mogących uszkodzić DNA, ale również poprzez hamowanie uwal-

niania cytochromu c z mitochondriów [11, 91]. Nerka jest narządem, w którym MT pełni szczególnie ważną rolę, chroniąc komórki kanalików proksymalnych przed działaniem zarówno toksycznym metali ciężkich, jak i uszkodzającym RFT [63]. Antyoksydacyjne oraz antyapoptotyczne właściwości MT wykazano w wielu badaniach związanych z wytwarzaniem RFT w wyniku niedotlenienia/reperfuzji w mięśniu sercowym [39, 40, 92]. Stwierdzono również znaczny wzrost ekspresji tego białka w kanalikach nerkowych podczas stresu oksydacyjnego w wyniku ich niedotlenienia i następowej reperfuzji [88]. Ponadto, MT znacznie zmniejsza nefro- i kardiotoxyczność wielu leków przeciwnowotworowych, takich jak cisplatyna, doxorubicyna, których metabolizm generuje RFT [4, 19, 45]. Ostatnie własne badania z zastosowaniem metody immunocytochemicznej i półilościowej oceny reakcji barwnej wg skali IRS (wg Remmele i Stegnera) wykazały, że po intensywnym wysiłku ekspresja MT wzrasta w kanalikach proksymalnych nerki, natomiast nie obserwowano jej w komórkach kanalików dystalnych [63]. Antyoksydacyjna i antyapoptotyczna ochrona kanalików proksymalnych przez MT mogłaby wyjaśnić brak występowania zmian apoptotycznych w komórkach tych kanalików w odpowiedzi na generowane podczas wysiłku RFT. Natomiast pozbawione ochronnego działania MT komórki kanalików dystalnych w wyniku uszkodzenia przez RFT umierają wskutek apoptozy.

Aktywacja układu współczulnego podczas wysiłku fizycznego oraz wzrost stężenia katecholamin powoduje pobudzenie układu renina-angiotensyna w aparacie przykłębkowym nerki. Ang II, końcowy, aktywny „produkt” tego układu odgrywa ważną rolę w regulacji ciśnienia tętniczego poprzez wpływ na naczynia krwionośne, jak również w regulacji transportu jonów sodu i wody w kanalikach dystalnych oraz cewkach zbiorczych w nerce. Ponadto, wykazano, że Ang II poprzez swoje receptory, AT1 i AT2, może bezpośrednio stymulować zarówno proliferację, jak i apoptozę komórek (ryc. 2) [83]. Do niedawna uważano, że oba receptory wywierają przeciwny efekt na poziomie komórkowym, jednak ostatnie badania oraz własne obserwacje wykazały, że współdziałanie między nimi determinuje wejście komórki na drogę proliferacji lub apoptozy [12, 65]. Apoptoza w komórce może być indukowana nie tylko w wyniku aktywacji receptora AT1, prowadzącej do wzrostu generacji RFT, lecz także przez aktywację receptora AT2 przez wytwarzanie w błonie komórkowej ceramidu [9, 94, 95]. Ponadto, stymulacja zarówno receptora AT1, jak i AT2 może prowadzić do zwiększenia w komórce ekspresji białka p53 i uruchomienia w niej procesu apoptotycznego (ryc. 3). Natomiast nieprawidłowa stymulacja receptorów może być przyczyną rozwoju wielu procesów patologicznych [38]. W badaniach własnych, z zastosowaniem metody immunocyto-chemicznej, potwierdzonej metodą Western Blottingu, zaobserwowano wzrost ekspresji zarówno białka receptorowego AT1, jak i AT2 w komórkach kanalka dystalnego i cewek zbiorczych po intensywnym wysiłku fizycznym [64]. Zarówno zmiany apoptotyczne, jak i ekspresja receptorów AT1 i AT2 współlistnieją w tym samym rodzaju komórek, co może sugerować istotną rolę receptorów Ang II w indukcji apoptozy w komórkach kanalików dystalnych i cewek zbiorczych po wysiłku [65]. Z drugiej strony, po przewlekłej infuzji Ang II stwierdzono obecność komórek apoptotycznych w kanalikach proksymalnych, zarówno *in vitro* oraz *in vivo*



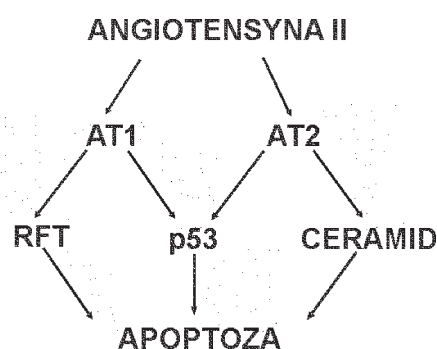
RYCINA 2. Mechanizm aktywacji układu renina-angiotensyna podczas wysiłku fizycznego. Efektem wzrostu aktywności układu współczulnego oraz redystrybucji krwi podczas wysiłku jest zmniejszenie filtracji kłębuszkowej nerek (GFR), co prowadzi do wzrostu aktywności reninowej osocza. Ang II powstaje w wyniku rozkładu przez reninę angiotensynogenu na Ang I, która z kolei pod wpływem enzymu konwertującego w naczyniach płucnych ulega przemianie w aktywny peptyd Ang II. Ang II jest czynnikiem mogącym indukować w komórkach proces apoptozy

[7, 12]. Prawdopodobnie aktywacja receptorów AT1 i AT2 w komórkach poszczególnych kanalików nerkowych zależy od stężenia Ang II.

Należy jednak podkreślić, że Ang II przez receptor AT1 może indukować wewnątrz-komórkową produkcję RFT, co mogłoby wskazywać na wspólną ścieżkę obu przy-puszczalnych mechanizmów indukcji apo-ptozy po wysiłku fizycznym.

Trening adaptacyjny

Regularny wysiłek fizyczny wpływa na poprawę funkcji hemodynamicznych, hormonalnych oraz metabolicznych w wielu narządach [8]. Trening wywołuje w narzą-



RYCINA 3. Schemat przypuszczalnych mechanizmów aktywacji apoptozy poprzez receptory angiotensyny II, AT1 i AT2 (wg [9], zmodyfikowane)

dach zmiany adaptacyjne, polegające na przystosowaniu się do poziomu realizowanej aktywności fizycznej [62].

Ostatnie badania własne wykazały brak nasilenia apoptozy w kanalikach nerkowych po 8-tygodniowym treningu adaptacyjnym, mimo że parametry intensywności wysiłku w ostatnich tygodniach treningu znacznie przewyższały parametry jednorazowego wysiłku. Prawdopodobnie w komórkach kanalików dystalnych i cewek zbiorczych rozwinęły się antyapoptotyczne mechanizmy adaptacyjne. Podczas regularnego wysiłku dochodzi do stopniowego zmniejszenia aktywacji układu współczulnego, stężenia katecholamin i obniżenia wytwarzania Ang II. Prowadzi to do zmniejszenia ekspresji receptorów AT1 i AT2 w komórkach kanalików nerkowych, co zostało wykazane w badaniach własnych przy użyciu metody immunocytochemicznej oraz Western Blottingu.

Rezultatem zmniejszenia poziomu Ang II podczas systematycznego wysiłku fizycznego jest niewystępowanie niedotlenienia i reperfuzji, a w konsekwencji, brak wzrostu wytwarzania RFT w nerce [75]. W wielu doniesieniach wykazano zmniejszenie stopnia peroksydacji lipidów w różnych narządach, w tym również w nerkach po długotrwałym, regularnym wysiłku fizycznym [52, 53]. Własne obserwacje również wskazują, że 8-tygodniowy trening adaptacyjny nie powoduje wzrostu wskaźników peroksydacji lipidów, w przeciwieństwie do jednorazowego, intensywnego wysiłku fizycznego. Po regularnym treningu aktywność enzymów obrony antyoksydacyjnej SOD, CAT i GPx w nerkach nie ulega zmianie, podobnie jak po jednorazowym, intensywnym wysiłku fizycznym [30, 36, 49, 76]. W naszych badaniach stwierdzono również brak zmian ekspresji nieenzymatycznego antyoksydanta – MT, w komórkach kanalików proksymalnych po treningu adaptacyjnym. Powyższe dane wskazują na nieistotną rolę antyoksydacyjnego systemu zarówno enzymatycznego, jak i nieenzymatycznego w procesie adaptacyjnym w narządach niebiorących bezpośrednio udziału w wysiłku, takich jak nerki. Mechanizm antyapoptotycznej adaptacji komórek kanalików nerkowych po długotrwałym treningu jest związany prawdopodobnie ze zmniejszoną ekspresją receptorów Ang II, AT1 i AT2.

PODSUMOWANIE

Wysiłek fizyczny, w wyniku aktywacji układu współczulnego, wyrzutu katecholamin i zwiększonej produkcji Ang II jest dużym stresem, mogącym doprowadzić do zmian w wielu narządach, zwłaszcza w nieprzystosowanych organizmach. Z dotychczasowych doniesień oraz z własnych obserwacji wynika, że intensywny wysiłek fizyczny może indukować apoptozę w narządach zarówno bezpośrednio zaangażowanych w wysiłek, takich jak mięśnie szkieletowe, jak i niebiorących bezpośredniego udziału, takich jak np. nerki. Proces apoptozy we włóknach mięśni szkieletowych dotyczy jedynie pojedynczych jąder, co wynika z ich odmiennej morfologii. Apoptoza w kanalikach nerkowych jest ograniczona do komórek kanalików dystalnych oraz cewek zbiorczych, a jej przebieg przypomina klasyczną apoptozę. Mechanizm indukcji apoptozy po

intensywnym wysiłku fizycznym jest prawdopodobnie złożony i różny w narządach bezpośrednio pracujących oraz niezaangażowanych bezpośrednio. W aktywnych mięśniach szkieletowych apoptoza jest indukowana stresem oksydacyjnym, natomiast w nerkach indukcja apoptozy jest bardziej złożona i przypuszczalnie jest związana zarówno z aktywacją receptorów Ang II, AT1 i AT2, jak również ze stresem oksydacyjnym. Trening adaptacyjny prowadzi do zmniejszenia nasilenia apoptozy zarówno w mięśniach szkieletowych, jak i w kanalikach nerkowych. W procesie adaptacji mięśni szkieletowych do wysiłku fizycznego odgrywa istotną rolę zwiększenie aktywności enzymów sytemu obrony antyoksydacyjnej, a także ekspresji białka antyapoptotycznego Bcl-2 oraz HSP70. Natomiast w nerkach adaptacja jest związana prawdopodobnie z fizjologicznym, stopniowym zmniejszaniem się aktywacji układu współczulnego, spadkiem stężenia katecholamin i zmniejszeniem produkcji Ang II oraz ekspresji jej receptorów, AT1 i AT2.

Istotą długotrwałego treningu wysiłkowego jest powstanie w narządach odpowiednich mechanizmów adaptacyjnych, co zapobiega powstawaniu powysiłkowych uszkodzeń oraz umożliwia wykonywanie nawet intensywnych ćwiczeń bez zaburzenia funkcji narządów.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ARSLAN S, ERDEM S, KILINC K, SIVRI A, TAN E, HASCELİK Z. Free radical changes in rat muscle tissue after exercise. *Rheumatol Int* 2001; **20**: 109–112.
- [2] AYDIN C, INCE E, KOPARAN S, CANGUL IT, NAZIROGLU M, AK F. Protective effects of long term dietary restriction on swimming exercise-induced oxidative stress in the liver, heart and kidney of rat. *Cell Biochem Funct* 2005, w druku – Epub ahead of print.
- [3] AZENABOR AA, HOFFMAN-GOETZ L. Intrathymic and intrasplenic oxidative stress mediates thymocyte and splenocyte damage in acutely exercised mice. *J Appl Physiol* 1999; **86**: 1823–1827.
- [4] BAEK SM, KWON CH, KIM JH, WOO JS, JUNG JS, KIM YK. Differential roles of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in cisplatin-induced cell death in renal proximal tubular epithelial cells. *J Lab Clin Med* 2003; **142**: 178–186.
- [5] BEERE HM, WOLF BB, CAIN K, MOSSER DD, MAHBOUBI A, KUWANA T, TAILOR P, MORIMOTO RI, COHEN GM, GREEN DR. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol* 2000; **2**: 469–475.
- [6] BENDERITTER M, HADJ-SAAD F, LHUISSIER M, MAUPOIL V, GUILLAND JC, ROCHETTE L. Effects of exhaustive exercise and vitamin B₆ deficiency on free radical oxidative process in male trained rats. *Free Radic Biol Med* 1996; **21**: 541–549.
- [7] BHASKARAN M, REDDY K, RADHAKRISHNAN N, FRANKIN, DING G, SINGHAL PC. Angiotensin II induces apoptosis in renal proximal tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **284**: F955–F965.
- [8] BOBILLIER CHAUMONT S, MAUPOIL V, LAHET JJ, BERTHELOT A. Effect of exercise training in metallothionein levels of hypertensive rats. *Med Sci Sport Exerc* 2001; **33**: 724–728.
- [9] BONNET F, CAO Z, COOPER ME. Apoptosis and angiotensin II: yet another renal regulatory system? *Exp Nephrol* 2001; **9**: 295–300.
- [10] BONVENTRE JV. Mechanism of ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 1993; **43**: 1160–1178.
- [11] BUTCHER HL, KENNETTE WA, COLLINS O, ZALUPS RK, KOROPATNICK J. Metallothionein mediates the level and activity of nuclear factor kappa B in murine fibroblasts. *J Pharmacol Exp Ther* 2004; **310**: 589–598.

- [12] CAO Z, KELLY DR, COX A, CASLEY D, FORBES JM, MARTINELLO P, DEAN R, GILBERT RE, COOPER ME. Angiotensin type 2 receptor is expressed in the adult rat kidney and promotes cellular proliferation and apoptosis. *Kidney Int* 2000; **58**: 2437–2451.
- [13] CHICCO AJ, HYDOCK DS, SCHNEIDER CM, HAYWARD R. Low intensity exercise training during doxorubicin treatment protects against cardiotoxicity. *J Appl Physiol* 2005; **100**: 519–527.
- [14] DI BONA GF. Peripheral and central interactions between the renin-angiotensin system and the renal sympathetic nerves in control of renal function. *Ann N Y Acad Sci* 2001; **940**: 395–406.
- [15] DI MEO S, VENDITTI P. Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept* 2001; **10**: 125–140.
- [16] DIMMELER S, RIPPMMANN V, WEILAND U, HANDELER J, ZEIHNER AM. Angiotensin II induces apoptosis of human endothelial cells. *Circ Res* 1997; **81**: 970–976.
- [17] DING, REDDY K, KAPASI AA, FRANKIN, GIBBONS N, KASINATH BS, SINGHAL PC. Angiotensin II induces apoptosis in rat glomerular epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; **283**: F173–F180.
- [18] DONALDSON LJ. Sport and exercise: the public health challenge. *Br J Sports Med* 2000; **34**: 409–415.
- [19] DZIĘGIEL P, SUROWIAK P, ZABEL M. Correlation of histopathological and biochemical appraisal of anthracyclin-induced myocardium damage. *Folia Histochem Cytobiol* 2002; **40**: 127–128.
- [20] FEHRENBACH E, NORTHOFF H. Free radicals, exercise, apoptosis and heat shock proteins. *Exerc Immunol Rev* 2001, **7**: 66–89.
- [21] FIDZIAŃSKA A, GOEBEL HH, WARLO I. Acute infantile spinal muscular atrophy. *Brain* 1990; **113**: 433–445.
- [22] FIDZIAŃSKA A. Human ontogenesis. Ultrastructural characteristic of developing human muscle. *J Neuropathol Exp Neurol* 1980, **39**: 475–486.
- [23] FRANKIEWICZ-JOZKO A, FAFF J, SIERADZAN-GABELSKA B. Changes in concentration of tissue free radical marker and serum creatine kinase during the post-exercise period in rats. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996; **74**: 470–474.
- [24] GALLE J. Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transpl* 2001; **16**: 2135–2137.
- [25] GOLDFARB AH, MCINTOSH MK, BOYER BT, FATOUROS J. Vitamin E effects on indexes of lipid peroxidation in muscle from DHEA-treated and exercised rats. *J Appl Physiol* 1994; **76**: 1630–1635.
- [26] GRZELAKOWSKA-SZTABERT B. Apoptoza i nowotwory. *Post Biol Kom* 2000; **27** Suppl: 9–43.
- [27] GUNDUZ F, SENTURK UK, KURU O, AKTEKIN B, AKTEKIN MR. The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. *Physiol Res* 2004; **53**: 171–176.
- [28] GWINNER W, GRONE HJ. Role of reactive oxygen species in glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transpl* 2000; **15**: 1127–1132.
- [29] HAUSER P, OBERBAUER R. Tubular apoptosis in the pathophysiology of renal disease. *Wien Klin Wochenschr* 2002; **114**: 671–677.
- [30] HONG H, JOHNSON P. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in exercised and hypertensive rat tissues. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; **27**: 923–931.
- [31] JETHON Z, MURAWSKA-CIAŁOWICZ E, DZIĘGIEL P, PODHORSKA-OKOŁÓW M. Udział białek stresowych w adaptacji wysiłkowej. *Post Biol Kom* 2005; **32**: 697–706.
- [32] JI LL, FU RG. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J Appl Physiol* 1992a; **72**: 549–554.
- [33] JI LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 1992b; **25**: 225–231.
- [34] JI LL. Antioxidants and oxidative stress. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; **222**: 283–292.
- [35] JI LL. Exercise, oxidative stress, and antioxidants. *Am J Sports Med* 1996; **24**: S20–S24.
- [36] JI LL. Exercised-induced modulation of antioxidant defense. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **959**: 82–92.
- [37] JIN H, YANG R, LI W, LU H, RYAN AM, OGASAWARA AK, VAN PEBORGH J, PAONI NF. Effects of exercise training on cardiac function, gene expression, and apoptosis in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; **279**: H2994–H3002.
- [38] KAJSTURA J, CIGOLA E, MALHOTRA A, LI P, CHENG W, MEGGS LG, ANVERSA P. Angiotensin II induces apoptosis of adult ventricular myocytes *in vitro*. *J Mol Cell Cardiol* 1997; **29**: 859–870.
- [39] KANG YJ, LI G, SAARI JT. Metallothionein inhibits ischemia-reperfusion injury in mouse heart. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999; **276**: H993–H997.
- [40] KANG YJ, LI Y, SUN X, SUN X. Antiapoptotic effect and inhibition of ischemia/reperfusion-induced myocardial injury in metallothionein-overexpressing transgenic mice. *Am J Pathol* 2003; **163**: 1579–1586.

- [41] KANTER MM, NOLTE LA, HOLLOSZY JO. Effect of antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J Appl Physiol* 1993; **74**: 965–969.
- [42] KASCHINA E, UNGER T. Angiotensin AT1/AT2 receptors: regulation, signalling and function. *Blood Press* 2003; **12**: 70–88.
- [43] KAYATEKIN BM, GONENC S, ACIKGOZ O, UYSAL N, DAYI A. Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol* 2002; **87**: 141–144.
- [44] KERR JFR, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-range implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; **26**: 239–253.
- [45] KIMURA T, FUJITA I, ITOH N, MUTO N, NAKANISHI T, TAKAHASHI K, AZUMA J, TANAKA K. Metallothionein acts as a cytoprotectant against doxorubicin toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; **292**: 299–302.
- [46] KUMAR CT, REDDY VK, PRASAD M, THYAGARAJU K, REDDANNA P. Dietary supplementation of vitamin E protects heart tissue from exercise-induced oxidative stress. *Mol Cell Biochem* 1992; **111**: 109–115.
- [47] LI CY, LEE JS, KO YG, KIM JI, SEO JS. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2000; **275**: 25665–25671.
- [48] LIN YS, KUO HL, KUO C, WANG S, YANG B, CHEN H. Antioxidant administration inhibits exercise-induced thymocyte apoptosis in rats. *Med Sci Sports Exerc* 1999; **31**: 1594–1598.
- [49] LIU J, YEO HC, OVERVIK-DOUKIE, HAGEN T, DONIGER SJ, CHYU DW, BROOKS GA, AMES BN. Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol* 2000; **89**: 21–28.
- [50] MAJNO G, JORIS I. Apoptosis, oncosis and necrosis. *Am J Pathol* 1995; **146**: 3–15.
- [51] MARTINEZ-CAYUELA M. Oxygen free radicals and human disease. *Biochimie* 1995; **77**: 147–161.
- [52] MIYAZAKI H, OH-ISHI S, OOKAWARA T, KIZAKI T, TOSHINAI K, HA S, HAGA S, JI LL. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *Eur J Appl Physiol* 2001; **84**: 1–6.
- [53] NIESS AM, DICKHUTH HH, NORTHOFF H, FEHRENBACH E. Free radicals and oxidative stress in exercise – immunological aspects. *Exerc Immunol Rev* 1999; **5**: 22–56.
- [54] NOMURA K, IMAI H, KOUMURA T, KOBAYASHI T, NAKAGAWA Y. Mitochondrial phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase inhibits the release of cytochrome c from mitochondria by suppressing the peroxidation of cardiolipin in hypoglycaemia-induced apoptosis. *Biochem J* 2000; **351**: 183–193.
- [55] OBERBAUER R, SCHWARZ C, REGELE HM, HANSMANN C, MEYER TW, MEYER G. Regulation of renal tubular cell apoptosis and proliferation after ischemic injury to a solitary kidney. *J Lab Clin Med* 2001; **138**: 343–351.
- [56] OH-ISHI S, KIZAKI T, OOKAWARA T, SAKURAI T, IZAWA T, NAGATA N, OHNO H. Endurance training improves the resistance of rat diaphragm to exercise-induced oxidative stress. *Am J Crit Care Med* 1997; **156**: 1579–1585.
- [57] OZTASAN N, TAYSI S, GUMUSTEKIN K, ALTINKAYNAK K, AKTAS O, TIMUR H, SIKTAR E, KELES S, AKAR S, AKCAY F, DANE S, GUL M. Endurance training attenuates exercise-induced oxidative stress in erythrocytes in rat. *Eur J Appl Physiol* 2004; **91**: 622–627.
- [58] PADANILAM BJ. Cell death induced by acute renal injury: a perspective on the contributions of apoptosis and necrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003 **284**: F608–F627.
- [59] PENKOWA M, KELLER P, KELLER C, HIDALGO J, GIRALT M, PEDERSEN BK. Exercise-induced metallothionein expression in human skeletal muscle fibres. *Exp Physiol* 2005; **90**: 477–486.
- [60] PHANEUF S, LEEUWENBURGH C. Apoptosis and exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000; **33**: 393–396.
- [61] PIERZCHALSKI P, REISS K, CHENG W, CIRIELLI C, KAJSTURA J, NITAHARA JA, RIZK M, CAPOGROSSI MC, ANVERSA P. p53 induces myocyte apoptosis via activation of renin-angiotensin system. *Exp Cell Res* 1997; **234**: 57–65.
- [62] PILACZYŃSKA-SZCZĘŚNIAK Ł, CELICHOWSKI J. Wpływ wysiłku fizycznego na mięśnie szkieletowe. [w] Górski J [red.]. Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002: 145–152.
- [63] PODHORSKA-OKOŁÓW M, DZIEGIEL P, DOLINSKA-KRAJEWSKA B, CEGIELSKI M, DUMANSKA M, JETHON Z, ROSSINI K, CARRARO U. Expression of metallothionein in renal tubules of rats exposed to acute and endurance exercise. *Folia Histochem Cytobiol* 2006 – w druku.

- [64] PODHORSKA-OKOŁÓW M, DZIEGIEL P, GOMULKIEWICZ A, DOLINSKA-KRAJEWSKA B, MURAWSKA-CIAŁOWICZ E, JETHON Z, ZABEL M. The role of AT1 and AT2 angiotensin receptors in the mechanism of apoptosis in renal tubular cells after physical exercise. *Rocz Akad Med Białymst* 2004a; **49** Suppl.1: 8–10.
- [65] PODHORSKA-OKOŁÓW M, DZIEGIEL P, GOMULKIEWICZ A, KISIELA D, DOLINSKA-KRAJEWSKA B, JETHON Z, CARRARO U, ZABEL M. Exercise-induced apoptosis in rat kidney is mediated by both angiotensin AT1 and AT2 receptors. *Histol Histopathol* 2006; **21**: 459–466.
- [66] PODHORSKA-OKOŁÓW M, DZIEGIEL P, MURAWSKA-CIAŁOWICZ E, KRAJEWSKA B, CIESIELSKA U, JETHON Z, ZABEL M. Exercise-induced apoptosis in the renal tubular cells of the rat. *Folia Morphol* 2004b; **63**: 213–216.
- [67] PODHORSKA-OKOŁÓW M, KRAJEWSKA B, CARRARO U, ZABEL M. Apoptosis in mouse skeletal muscles after physical exercise. *Folia Histochem Cytobiol* 1999; **37**: 127–128.
- [68] PODHORSKA-OKOŁÓW M, SANDRI M, BRUSON A, CARRARO U, MASSIMO M L, ARSLAN P, MONTI D, COSSARIZA A, FRANCESCHI C. Apoptotic myonuclei appear in adult skeletal muscle of normal and mdx mice after a mild exercise. *Basic Appl Myol* 1995; **5**: 87–90.
- [69] PODHORSKA-OKOŁÓW M, SANDRI M, ZAMPIERI S, BRUN B, ROSSINI K, CARRARO U. Apoptosis of myofibers and satellite cells: exercise-induced damage in skeletal muscle of the mouse. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; **24**: 518–531.
- [70] POHLMAN TH, HARLAN JM. Adaptive responses of the endothelium to stress. *J Surg Res* 2000; **89**: 85–119.
- [71] PRIMEAU AJ, ADHIHETTY PJ, HOOD DA. Apoptosis in heart and skeletal muscle. *Can J Appl Physiol* 2002; **27**: 349–395.
- [72] PYNE DB. Regulation of neutrophil function during exercise. *Sports Med* 1994; **17**: 245–258.
- [73] RADAK Z, ASANO K, INOUE M, KIZAKI T, OH-ISHI S, SUZUKI K, TANIGUCHI N, OHNO H. Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 1995; **79**: 129–135.
- [74] RADAK Z, KANEKO T, TAHARA S, NAKAMOTO H, OHNO H, SASVARI M, NYAKAS C, GOTO S. The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic Biol Med* 1999; **27**: 69–74.
- [75] RAY CA, HUME KM. Sympathetic neural adaptation to exercise training in humans: insight from microneurography. *Med Sci Sports Exerc* 1998; **30**: 387–391.
- [76] REDDY AVULA CP, FERNANDEZ G. Modulation of antioxidant enzymes and lipid peroxidation in salivary gland and other tissues in mice by moderate treadmill exercise. *Aging (Milano)* 1999; **11**: 246–252.
- [77] SANDRI M, CARRARO U, PODHORSKA-OKOŁÓW M, RIZZI C, ARSLAN P, MONTI D, FRANCESCHI C. Apoptosis, DNA damage and ubiquitin expression in normal and mdx fibers after exercise. *FEBS Lett* 1995; **373**: 291–295.
- [78] SANDRI M, PODHORSKA-OKOŁÓW M, GEROMEL V, RIZZI C, ARSLAN P, FRANCESCHI C, CARRARO U. Exercise induces myonuclear ubiquitination and apoptosis in dystrophin deficient muscle of mice. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; **56**: 45–57.
- [79] SCHWARZ C, HAUSER P, STEININGER R, REGELE H, HEINZE G, MAYER G, OBERBAUER R. Failure of BCL-2 up-regulation in proximal tubular epithelial cells of donor kidney biopsy specimens is associated with apoptosis and delayed graft function. *Lab Invest* 2002; **82**: 941–948.
- [80] SELMAN C, MCLAREN JS, COLLINS AR, DUTHIE GG, SPEAKMAN JR. Antioxidant enzyme activities, lipid peroxidation, and DNA oxidative damage: the effects of short-term voluntary wheel running. *Arch Biochem Biophys* 2002; **401**: 255–261.
- [81] SEMIN I, ACIKGOZ O, GONENC S, UYSAL N, KAYATEKIN BM. Antioxidant enzyme levels in intestinal and renal tissues after a 60-minute exercise in untrained mice. *Acta Physiol Hung* 2001; **88**: 55–62.
- [82] SEMIN I, KAYATEKIN BM, GONENC S, ACIKGOZ O, UYSAL N, DELEN Y, GURE A. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme levels of intestinal, renal and muscle tissues after a 60-minute exercise in trained mice. *Indian J Physiol Pharmacol* 2000; **88**: 55–62.
- [83] SIRAGY HM. AT1 and AT2 receptor in the kidney: role in health and disease. *Semin Nephrol* 2004; **24**: 93–100.
- [84] SIU P, BRYNER RW, MARTYN JK, ALWY SE. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles. *FASEB J* 2004; **18**: 1150–1162.

- [85] SMOLEŃSKI O. Wpływ wysiłku fizycznego na czynność nerek. [w] Górski J [red.]. Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002: 145–152.
- [86] SORENSON CM. Life, death and kidneys: regulation of renal programmed cell death. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1998; **7**: 5–12.
- [87] STELLER H Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 1995; **267**: 1456–1462.
- [88] TAKAHASHI T, ITANO Y, NOJI S, MATSUMOTO K, TAGA N, MIZUKAWA S, TODA S, MATSUMI M, MORITA K, HIRAKAWA M. Induction of renal metallothionein in rats with ischemic renal failure. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2001; **110**: 147–160.
- [89] TYLICKI L, RUTKOWSKI B, HORL WH. Antioxidants: a possible role in kidney protection. *Kidney Blood Press Res* 2003; **26**: 303–314.
- [90] VENDITTI P, DI MEO S. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Arch Biochem Biophys* 1996; **331**: 63–68.
- [91] WANG G, KLEIN JB, KANG YJ. Metallothionein inhibits doxorubicin-induced mitochondrial cytochrome c release and caspase-3 activation in cardiomyocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2001a; **298**: 461–468.
- [92] WANG G, ZHOU Z, KLEIN JB, KANG J. Inhibition of hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in metallothionein-overexpressing cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001b; **280**: H2292–H2299.
- [93] WÓJCIK C. Apoptoza. [w] Kawiak J, Zabel M [red.]. Seminaria z cytofizjologii. Urban & Partner, Wrocław 2002: 88–101.
- [94] WOLF G. Angiotensin II as a mediator of tubulointerstitial injury. *Nephrol Dial Transplant* 2000a; **15** Suppl6: 61–63.
- [95] WOLF G. Free radical production and angiotensin. *Curr Hypertens Rep* 2000b; **2**: 167–173.
- [96] WYLLIE AH, MORRIS RG, SMITH AL, DUNLOP D. Chromatin cleavage in apoptosis: association with condensed chromatin morphology and dependence on macromolecular synthesis. *J Pathol* 1984; **142**: 67–77.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 05.04. 2006 r.

Przyjęto: 05.05. 2006 r.

ul. Chalubińskiego 6a, 50-368 Wrocław

e-mail: mapod@hist.am.wroc.pl