

MILAN ČABRIĆ,

Filozofski fakultet u Splitu,

OOUR Prirodoslovno-matematičke znanosti

NIGEL T. JAMES,

Department of Human Biology and Anatomy

University of Sheffield, England

Primljeno 3. 1. 1983.

Knez  
Paraf između

## PROMENE NA MITOHONDRIJALNOM APARATU SKELETNIH MIŠIĆA POSLE JEDNOKRATNOG TRČANJA »DO OTKAZA« NAKON HIPOKINEZIJE

### SAŽETAK

Dugotrajno trčanje nakon osmonedeljnog perioda hipokinezije inicira niz destruktivnih promena na mitohondrijama, posebno onima u mišićnim vlaknima tipa I.

### 1. UVOD

U stručnoj literaturi nismo našli na istraživanja koja su se bavila ispitivanjem morfo-funkcionalnih promena na mitohondrijalnom aparatu skeletnih mišića posle fizičkog opterećenja doziranog neposredno nakon ograničavanja kretanja. Međutim, smatramo da je taj problem veoma aktuelan kako u fizikalnoj tako i u sportskoj medicini. Sigurno je da ne može biti irelevantan podatak o tome šta se događa u mišićnoj stanici, a posebno u mitohondrijalnom aparatu stanice (koji u aerobnim uslovima obezbeđuje energiju za mišićni rad), u toku dugotrajnog opterećenja doziranog neposredno nakon perioda hipokinezije ili imobilizacije. Zbog toga je i osnovni cilj sprovedenog istraživanja bio da se, u već navedenim eksperimentalnim uslovima, detektuju kako strukturne tako i ultrastrukturne promene na mitohondrijama oba tipa mišićnih vlakana (tipa I i II).

### 2. METODIKA ISPITIVANJA

Ispitivani uzorak bio je sastavljen od pet pasa-mesjanaca, muškog pola, starosti od 2-4 godine, odabranih po principu slučajnog uzorka.

Eksperimentalne životinje držane su 8 nedelja (56 dana) u pojedinačnim boksovima dimenzija 120 x 90 x 91 mm. Hranjene su dva puta dnevno. Dnevni obrok je bio sastavljen od približno 350 g mesa, 20 g masnoća, 250-300 g kaše i različitih žitarica, 150 g posnog mleka, 120 g povrća i 20 g soli. Sve životinje imale su mogućnost neograničenog konzumiranja vode. U prostorijama, u kojima su se nalazili boksovi sa psima, bilo je dnevno osvetljenje, a temperatura prostorija je iznosila 15-17°C.

Nakon 8-nedeljne hipokinezije psi su bili opterećeni jednokratnim trčanjem »do otkaza« na treadmill-u. Brzina trčanja, regulisana brzinom kretanja pokretnе trake, iznosila je 1,5 m s<sup>-1</sup> pri nagibu trake od 12°. Prosečno vreme trčanja iznosilo je 176 minuta.

Svakoj eksperimentalnoj životinji uzet je ukupno tri puta uzorak mišića: pre i posle 56 dana hipokinezije i nakon trčanja na treadmill-u. Uzorak tkiva uzet je lon-

gitudinalnom incizijom, uz prethodnu lokalnu anesteziju Novokainom, iz predela m. vastus lateralis.

Tkivo je neposredno nakon biopsije fiksirano, u toku 3 sata, u 3%gluteraldehidu rastvorenom u 0,1 M PO<sub>4</sub> buferu pri pH 7,4. Nakon ovoga tkivo je post-fiksirano u 2% vodenom rastvoru OsO<sub>4</sub> u toku jednog sata i pri temperaturi od 4°C. Posle fiksacije tkivo je dehidrirano u alkoholima (od 25% do 100%) i ukalupljeno u EPON.

Za potrebe elektronske mikroskopije sečene su ultra tankne krišćice mišićnog tkiva, približne veličine od 250 Å, koje su, zatim, kontrastovane u toku 15 min. sa 3% uranil acetatom, a nakon toga dva minuta u olovo citratu (Palade /4/).

### 3. REZULTATI ISPITIVANJA

Period ograničenog kretanja od 56 dana inicirao je smanjenje prosečne površine poprečnog preseka mišićnih vlakana za 45,4%, došlo je do smanjenja prosečne gustine kapilarne mreže od 31,9%, zabeleženo je veoma značajno smanjenje broja mionukleusa na jedinicu poprečnog preseka mišića (od 77,2%), gustina mionukleusa na jedinicu zapremine mišićnog tkiva je smanjena za 55,5%, a također je smanjena i prosečna zapremina mionukleusa za 75,8%. Istovremeno, prema hipotezi koju je postavio Arrighi /1/, očekivana koncentracija DNK (korelirana sa frekvencijom mionukleusa) smanjila se sa  $1,54 \times 10^5$  pg mm<sup>-3</sup> DNK na  $1,26 \times 10^5$  pg mm<sup>-3</sup> DNK. Detaljniji podaci o ovome su dati u Čabrić i James /2,3/.

Nakon perioda hipokinezije detektovali smo povećanje dimenzija lizosoma, posebno sekundarnih lizosoma i fagosoma, a također i povećanje broja i dimenzija masnih kapljica. U nekoliko navrata je detektovana i destrukcija miofibera, odnosno miofibrila.

U tkivu uzetom nakon 8-nedeljne hipokinezije registrovali smo, u odnosu na stanje pre ograničavanja kretanja, smanjenje dimenzija mitohondrija i to kako u vlaknima tipa I tako i u vlaknima tipa II. Istovremeno, mitohondrije su bile izrazito tamne.

Posle jednokratnog trčanja »do otkaza« mogle su se zapaziti značajne izmene u mitohondrijalnom aparatu, posebno kod onih u vlaknima tipa I. Registrovali smo pojavu gigantskih mitohondrija, odnosno bubreњe mitohondrija. Karakteristično za ove mitohondrije je pojava prozračnog matriksa. Istovremeno je, u više navrata, primećeno pucanje spoljašnjih membrana, rastezanje i deformacija kristi, kao i potpuna destrukcija mitohondrija.

#### 4. DISKUSIJA

Jednokratno trčanje »do otkaza«, a nakon 8-nedeljne hipokinezije, prouzročilo je značajne destruktivne promene na mitohondrijalnom aparatu skeletnih mišića. Podatak da su te promene bile veće kod mitohondrija u vlaknima tipa I verovatno se može objasniti činjenicom da je eksperimentalno opterećenje bilo, pretežno, tipa Izdržljivosti i da su ova vlakna, kao što je poznato, time bila u većoj meri opterećena nego vlakna tipa II. Atrofijčne pojave, koje su se u toku hipokinezije razvijale i unutar mitohondrijalnog aparata — kao posledica drastičnog smanjenja funkcionalne aktivnosti mišićne stanice — verovatno predstavljaju glavni razlog za destrukciju tog aparata u toku dugotrajnog naprezanja. Svakako, ostaje još niz pitanja za koja nemamo prave odgovore kao

recimo: Zašto je do destruktivnih promena došlo samo u jednom broju mitohondrija? Kako ova destrukcija utiče na proliferaciju mitohondrija u nekom vremenu koje sledi posle opterećenja? To su sve pitanja koja, čini nam se, ne bi bilo bez značaja ispitati u nekom budućem istraživanju.

#### 5. ZAKLJUČAK

Na osnovu sprovedenog istraživanja moguće je zaključiti da dugotrajno trčanje nakon 8-nedeljnog perioda hipokinezije inicira niz destruktivnih promena na mitohondrijama, posebno onima u mišićnim vlaknima tipa I.

#### 6. LITERATURA

1. Arrighi, P. E. (1974) Mammalian Chromosomes. In: The Cell Nucleus. Vol. II, H. Busch, ed., Academic Press, London.
2. Čabrić, M. i James, N. T. (1983) Stereološka analiza miokapilara kod hipokineziranih pasa. Kineziologija (u štampi).
3. Čabrić, M. i James, N. T. (1983) Stereološka analiza mišićnih vlakana i mionukleusa kod hipokineziranih pasa. Fiz. kultura (u štampi).
4. Palade, G. E. (1952) A study of fixation for microscopy. J. Exp. Med., 95, 285.

Čabrić, M.; James, N. T.

UDC 591.86 : 599.742 : 613.731

#### CHANGES IN THE MITOCHONDRIAL APPARATUS OF SKELETAL MUSCLE AFTER HYPOKINESIS FOLLOWED BY A SINGLE SESSION OF RUNNING TO EXHAUSTION

hypokinesis / overexertion / mitochondria / skeletal muscle

Structural and ultrastructural changes in mitochondria of type I and type II muscle fibres were investigated in five male mongrel dogs subjected to fifty-six days of hypokinesis followed by a single session of running to exhaustion on a treadmill. Samples of muscle tissue were taken before and after the period of inactivity and after the running session and they were examined by light and electron microscopy.

In samples taken after the running session significant changes were observed in mitochondria, particularly those of type I muscle fibres. Giant, i. e. swollen, mitochondria characterized by a translucent matrix were present. Furthermore, bursting of outer mitochondrial membranes, stretching and deformation of cristae and even total destruction of mitochondria was noticed in a number of cases.

It is concluded that prolonged running after an eight week period of hypokinesis gives rise to a number of destructive changes in mitochondria. These changes are especially visible in type I muscle fibres.

Милан Чабрић Нигел Т. Джеймс

#### ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ МИТОХОНДРИЙ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО БЕГА »ДО ОТКАЗА« ПОСЛЕ ГИПОКИНЕЗИИ

Проведено исследование структурных и ультраструктурных изменений митохондрий I вида и II вида в мышечных волокнах у пяти собак, которые провели 56 дней в состоянии гипокинезии и затем один раз бежали до отказа. Пробы мышечной ткани брались до и после периода гипокинезии и после бега, после чего проведено исследование при помощи светового и электронного микроскопов.

В пробах, которые брались после бега обнаружены значительные изменения в митохондриях, в особенности, I вида. Обнаружены гигантские, т. е. отекшие митохондрии с прозрачной структурой. Затем, внешняя оболочка митохондрий рухнет, искакажутся их выпуклые части, а иногда митохондрии совсем уничтожаются.

Авторы делают вывод, что продолжительный бег после шести недель гипокинезии вызывает ряд нарушений в митохондриях. Эти изменения особенно ярко выявляются в волокнах мышц I вида.