



Ny doktorsavhandling

Mitokondrier – muskelcellernas kraftverk:

anpassnings- och överlevnadskonstnärer som är
avgörande för prestation och hälsa.

Med hjälp av avancerade biokemiska metoder kan man "titta in" i muskelcellens invecklade energiproducerande maskineri och studera de förändringar som ligger bakom ökad prestationsförmåga i uthållighetsidrotter.



MICHAEL TONKONOGI

I oktober 2000 har en doktorsavhandling med titel "Mitochondrial function in human skeletal muscle: with special reference to exercise and training" lagts fram och försvarats av Michail Tonkonogi. Avhandlingen berör olika aspekter av anpassning av aerob energiproduktion i human muskel till uthållighetsträning och akut fysiskt arbete av olika typer. Ordet "aerob" syftar på att processen är syrekrävande. Muskelcellernas framställning av kemisk energi med hjälp av syre sker i specialiserade delar av cellen som kallas mitokondrier.

I mitokondrier används syre för att oxidera organiska födoämnen och därmed frigöra energi som kan omvandlas till adenosintrifosfat (ATP). Nedbrytning av ATP utgör i sin tur den omedelbara energikällan för cellens energikrävande processer inklusive muskelkontraktion.

Aerob ATP produktion är, till skillnad från anaeroba (icke syrekrävande) processer, inte associerad med ansamling av slagprodukter (t.ex. mjölksyra och oorganisk fosfat) som inverkar negativt på arbetsförmågan. Hög muskulär aerob potential har därmed en avgörande betydelse för prestationsförmågan i uthållighetskrävande idrottsgrenar då den medför att en hög arbetsintensitet kan upprätthållas utan att anaeroba slagprodukter ansamlas.

En av förklaringar till detta är att både den aeroba och anaeroba metabolismen stimuleras av samma signaler (fr.a. ökade halter av ADP som är en nedbrytningsprodukt av ATP). Hög aerob potential möjliggör att samma syrekonsumention och aerob energiproduktion kan uppnås vid en lägre stimuleringsnivå (dvs. lägre halt av ADP), vilket ger en minskad anaerob metabolism och därmed ökad uthållighet.

Muskulaturens behov av energi varierar beroende på aktivitetsstatus. Hastigheten av mitokondriell ATP produktion måste därför regleras för att kunna matcha cellens varierande energikrav. Muskelceller har utvecklat ett komplicerat regleringssystem som tillåter mycket precis kontroll av aerob ATP produktion i ett brett intervall.

Detta regleringssystem består av flera samverkande mekanismer. Den viktigaste fysiologiska mekanism som anpassar aerob ATP produktion till muskelcellens energibehov är stimulering av mitokondriell respiration och ATP-produktion med ADP (Fig.1). Avhandlingen riktar särskilt intresse mot träningsinducerad anpassning av de kontroll- och styrningsmekanismer som reglerar aerob energiproduktion i muskel. Sådan anpassning kan ha betydelse för ökning av prestationsförmåga.

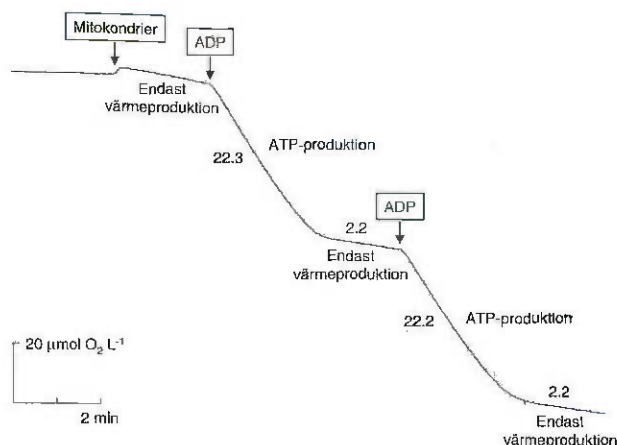


Fig. 1. ADP-kontroll av mitokondriell respiration. I frånvaro av ADP är hastigheten på mitokondriell syreförbrukning låg. Ingen produktion av ATP kan ske och syreförbrukningen resulterar endast i värmeproduktion. När ADP tillsätts tilltar mitokondriell syreförbrukning och ATP produceras (det här tillståndet liknar situationen vid fysiskt arbete när ADP-koncentration ökar). När allt tillsatt ADP har omvandlats till ATP återgår syreförbrukningen till vilonivå och bara värme produceras. Detta respirationsexperiment genomfördes på mitokondrier isolerade från human muskelfävnad erhållen med nålbiopsiteknik. Pilar markerar tidpunkter för tillsatser av mitokondrier och ADP till mätkammaren. Siffror anger hastighet på mitokondriell syreförbrukning (i mmol syre per liter lösning per minut).

På bilden syns en stor mitokondrie i nära anslutning till z-band och de kontraktile filamenten, aktin och myosin. I mitokondrien sker energi- och värmeproduktion med hjälp av syre. ATP produktionen regleras för att passa muskelcellens behov av energi. Ju större syretransport till mitokondrierna desto högre energiomsättning, med avgörande betydelse i konditionsidrotter.

Metodik

Studier av aerob metabolism på mitokondrienivå hos människan är metodologiskt komplicerade. För att förstå hur mitokondriell funktion påverkas av en förändrad cellulär miljö och ökat energikrav vid fysiskt arbete och träning behöver man vid upprepade tillfällen utföra direkta mätningar på mitokondrier från muskelfävnad. Tidigare metoder har krävt relativt stora muskelprov (0,5-1 g) och krävt kirurgiskt ingrepp. På grund av detta har endast ett fåtal studier av mitokondriefunktion kunnat utföras på human muskel, än färre har belyst idrottsfysiologiska frågeställningar.

Genom ett omfattande metodutvecklingsarbete har vår forskningsgrupp fått tillgång till tre metoder för studier av integrerad mitokondriell funktion i små muskelprov (~50 mg) erhållna med nålbiopsiteknik (Tonkonogi & Sahlin 1997; Tonkonogi et al. 1998). Metoderna bygger antingen på att mitokondrier frigörs och isoleras från vävnaden eller på att muskelcellmembranet permeabiliseras med hjälp av kemiska substanser vilket möjliggör att mitokondrier blir tillgängliga för analys.

Denna metodarsenal som är unik både på nationell och på internationell nivå möjliggjorde genomförande av arbetsfysiologiska experiment på friska

försökspersoner och utgjorde därmed grunden till den aktuella avhandlingen. Mätningar av syrekonsumtion och ATP produktion på isolerade mitokondrier och permeabiliserade muskelfibrer från human muskel öppnade möjligheten att undersöka om akut arbete och träning inducerar inte bara kvantitativa men även kvalitativa förändringar av aerob metabolism, som kan ligga bakom förbättringar av prestationsförmåga.

Effekter av uthållighetsträning på mitokondriefunktionen

Kontroll av aerob energi produktion
Det är välkänt att uthållighetsträning ger ökad aktivitet av mitokondriella enzymer samt ökad antal och storlek av mitokondrier i muskulaturen. Dessa förändringar anses vara en av orsaker till ökad uthållighet. Det var däremot oklart huruvida dessa kvantitativa förändringar är associerade med kvalitativa förändringar av integrerad mitokondriell funktion. Vi har funnit att aktivering av mitokondriernas energiproduktion kräver starkare ADP-stimulering (större ökning av ADP-halt) hos aerobt vältränade individer än hos otränade (Tonkonogi et al. 1998, 1999).

Ett annat fynd var att kreatin visade sig förstärka ADP-stimuleringen av aerob energiproduktion och att denna effekt av kreatin var mera uttalad hos

vältränade individer (Fig. 2) (Tonkonogi et al. 1998). Sänkt ADP-känslighet hos vältränade individer kan vara en anpassning som förhindrar obalans i ATP-ADP systemet i vilande muskel. Å andra sidan, resulterar ökad kreatinkänslighet hos vältränade atleter i kraftigare förstärkning av ADP-signalen vid fysiskt arbete och därmed snabbare mobilisering av aerob energiproduktion när ATP-behovet ökar. Samverkan mellan ADP/ATP- och kreatin/fosfokreatin mekanismer för reglering av mitokondriell funktion utgör ett sofistikerat system för kontroll av aerob energiproduktion som kan markant förfinas med uthållighetsträning.

Mitokondriell värmeproduktion

Under de senaste åren har man kunnat påvisa att en del av muskulaturens syrekonsumtion inte leder till att ATP bildas, utan att den energi som frigörs när näringsämnen oxideras omvandlas till värme (Brand et al. 1994; Rolfe & Brand 1996). Konsekvensen av detta är att en del av födans energiinnehåll försvinner som värme och därför inte kan lagras i form av fett. Detta fenomen kan ha stor betydelse för viktkontroll. Vi har undersökt hur kopplingen mellan mitokondriell syrekonsumtion och ATP-produktion påverkas av uthållighetsträning.



Det har visat sig att mitokondriernas värmeproduktion framkallad av fettsyra oleat (en stimulator av mitokondriell värmeproduktion) fördubblades efter 6 veckor av uthållighetsträning (Fig. 3), medan den i frånvaro av oleat var oförändrad (Tonkonogi et al. 2000a). Resultaten tyder på att vältränade individer kan ha ökad värmeproduktion jämfört med otränade under förhållanden när mitokondrier exponeras för ökad koncentration av fettsyror (t.ex. vid intag av fettrik mat, stress). Fysisk träning skulle därmed kunna motverka övervikt både genom att öka energiförbrukningen och genom att påverka mitokondriernas värmeproduktion.

Mitokondriell antioxidativ försvar
Mitokondrier utgör både en viktig källa för fria radikaler och även främsta angreppsmål för reaktiva syreföreningar. Detta fenomen kan vara av stor fysiologisk betydelse i muskelvävnad som kännetecknas av hög mitokondrietäthet och hastighet på syreförbrukning. Den ökade mitokondriella syrekonsumtionen under fysiskt arbete kan leda till ökad produktion av reaktivt syre och oxidativ stress. Mitokondrier har utvecklat ett system som försvarar mitokondriella strukturer från attacker av fria radikaler. Vi har genomfört en studie där vi studerade inverkan av 6 veckors uthållighetsträning på mitokondriellt antioxidativt försvar hos människa (Tonkonogi et al. 2000b). Vi har funnit att träning ökade muskulär aerob potential med ungefär 50% medan aktivitet av enzymer involverade i antioxidativt försvar och koncentration av antioxidant glutation förblev oförändrade. Det har också visat sig att aerob funktion hos mitokondrier isolerade från muskelprov tagna efter genomförandet av träningsprogrammet blev känsligare för oxidativ stress.

Dessa resultat verkar förvånande med tanke på muskelvävnadens stora anpassningsförmåga. Det är oklart varför mitokondriernas antioxidativt försvar inte tillväxer i samma grad som aerob potential i samband med uthållighetsträning. Det är möjligt att den obalansen som uppstår mellan muskels pro- och antioxidativa kapacitet till följd av träning utgör en viktig förutsättning (signal) för muskulaturens adaptation till ökade energikrav. Det finns experimentella belägg för att oxidativ stress stimulerar syntes av vissa regulatoriska proteiner som är involverade i nybildning av mitokondrier

(Miranda et al. 1999).

Med tanke på det ovanstående kan man ifrågasätta det okontrollerade användandet av antioxidanter som förekommer bland idrottsutövare. Det är möjligt att extra supplementering med antioxidanter motverkar själva syftet med träningen genom att minska eller helt eliminera träningseffekten.

Effekter av akut arbete på mitokondriefunktionen

En av de svåraste frågor som en tränare eller en idrottsutövare ställs inför när ett träningsprogram ska läggas upp är hur ett träningspass med viss inriktning kommer att påverka prestation under nästa träningspass och dess tränings-effekt. Man behöver, med andra ord, veta vilka akuta effekter olika typer av arbete har på de fysiologiska system man önskar stimulera och hur lång tid återhämtningen tar.

Somliga resultat genererade i *in vitro* experiment och i djurstudier tyder på att mitokondriell funktion i skelettmuskel kan vara nedsatt efter höginintensivt eller långvarigt arbete eller vid arbete av excentriskt karaktär. Om så är fallet kan man fundera på om det är optimalt att planera ett uthållighetspass kort efter ett intensivt intervall- eller styrketräningspass. Vi har studerat inverkan av långvarigt alternativt höginintensivt uttröttande arbete samt excentriskt cykelarbete på muskulär aerob funktion hos människa. Resultaten presenterade i Tabell 1, visar att maximal ADP-stimulerad respiration var opåverkad av uttröttande arbete på 75% av VO_2max eller av excentriskt cykelarbete, medan den ökade med 21% efter hög-intensivt intermittent arbete (data från Tonkonogi et al. 1998, 1999, Walsh et al. 2001). Mitokondriell syreförbrukning vid suboptimal ADP-stimulering i närvaro av fysiologisk koncentration av kreatin ökade signifikant efter både långvarigt arbete vid 75% av VO_2max och vid höginintensivt intermittent arbete.

Sammantaget visar dessa resultat att maximal aerob potential i skelettmuskel är väl skyddad mot potentiellt destruktiva förändringar av intracellulär miljö under fysiskt arbete. Resultaten visade att mitokondriell syreförbrukning till och med ökade när mitokondrierna studerades i närvaro av kreatin. Ett annat fynd var att aktivitet av citrat syntetas (ett viktigt reglerande mitokondriellt enzym) ökade omedelbart efter cykelarbete på 75% av VO_2max (Tonkonogi et al. 1997).

Man kan spekulera att dessa akuta effekter kan bidra till att uppvärmning har en positiv inverkan på prestationsförmåga.

Analyserna i ovanbeskrivna studier genomfördes i en kemisk miljö vars sammansättning i huvudsak motsvarar den biokemiska miljön i en vilande cell. Resultaten ger därför svar på frågan om fysiskt arbete orsakar bestående förändringar i mitokondriefunktion, som kvarstår när cellens kemiska miljö normaliseras. För att kunna studera om ansamling av slagprodukter (t.ex. mjölksyra) orsakar akuta reversibla förändringar i aerob funktion behöver man studera mitokondrier i en förändrad miljö. Vi har undersökt effekter av ökad mjölksyrakhalt (inom fysiologiska gränser) på mitokondriell funktion (Tonkonogi & Sahlin 1999).

Resultaten visade att mitokondriell respiration i frånvaro av ADP (endast värmeproduktion) fördubblades i närvaro av mjölksyra. Ett annat fynd var att mitokondriernas maximala energiproduktion var oförändrad när mjölksyra adderades till aktiva (ATP-producerande) mitokondrier medan exposition av inaktiva mitokondrier för mjölksyra minskade deras kapacitet. Dessa data tyder på att under fysiologiska förhållanden mjölksyraansamling inte påverkar den maximala aeroba energiproduktionen negativt.

Avslutande kommentar

Studier innefattade i den aktuella avhandlingen visar att muskulär aerob funktion har en fantastisk förmåga att anpassa sig till fysiskt arbete både på kort och på lång sikt. Med hjälp av moderna analysmetoder har vi påvisat att uthållighetsträning och akut arbete frammanar både kvantitativa och även tydliga kvalitativa förändringar av mitokondriell funktion som gör kontroll av aerob energiproduktion i skelettmuskel effektivare och verkningfullare.

Resultaten visar också att akut fysiskt arbete hos människor, till skillnad från tidigare djurstudier, är väl tolererat av muskelmitokondrier. Denna kunskap kan utgöra grunden för optimering av träningsmodeller inriktade på utveckling av hög muskulär aerob potential. Detta är viktigt med tanke på att ökning av lokal aerob potential utgör en av de viktigaste resurserna för förbättring av prestationsförmåga inom uthållighetskrävande idrottsgrenar, särskilt för erfarna idrottsutövare med lång träningsbakgrund.



Fyndet att mitokondriell fettsyre-inducerad värmeproduktion ökar till följd av uthållighetsträning ger ett annat perspektiv på fysiska aktivitetens betydelse för förebyggande och behandling av sjuklig övervikt som är ett tilltagande problem i västvärlden. Klarläggande av fysiologiska mekanismer bakom detta sjukdomstillstånd kan eventuellt leda fram till utveckling av nya strategier för behandling och prevention som bygger på mitokondriernas underbara förmåga att mycket snabbt anpassa sig till ändrade energikrav.

Som det ofta noteras inom vetenskapen har fynden i den här avhandlingen väckt flera frågor än de har givit

svar på. Mycket arbete återstår att göra för att till fullo förstå mysteriet bakom adaptation av aerob funktion i human muskel till fysiskt arbete. Detta fenomen kommer att förbli ett intressant forskningsfält än lång tid framöver.

Slutligen vill jag tacka Centrum för Idrottsforskning för det långsiktiga ekonomiska stödet som möjliggjorde genomförande av detta avhandlingsarbete.

Är Ni intresserade av ett eget exemplar (kostnadsfritt) av avhandlingen kan Ni skicka förfrågan till Michail Tonkonogi, Avd. för Fysiologi och Farmakologi, KI, Box 5626, 114 86 Stockholm, eller maila på michail.tonkonogi@fyfa.ki.se

Fig. 2. Sambandet mellan helkroppss maximal syreupptagning (VO₂max) och kreatin-medierad ökning av mitokondriell syreförbrukning vid submaximal ADP koncentration.

Data visar att ökning av mitokondriell respiration som utlöstes av kreatin-tillsats är större hos individer med hög aerob träningsstatus (uttryckt som VO₂max). Detta tyder på att kreatinkontroll av muskulär mitokondriell funktion är i högre grad utvecklad hos vältränade individer än hos otränade. Försöket genomfördes på permeabiliserade muskelfibrer erhållna från nålbiopsimaterial (data från Tonkonogi et al. 1998).

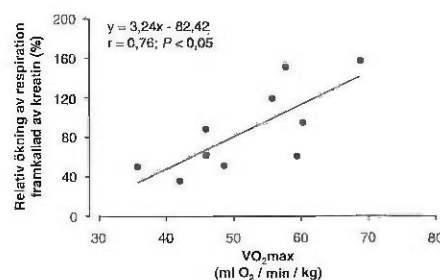
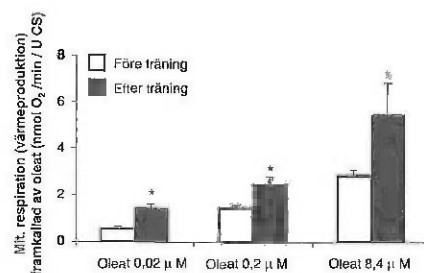


Fig. 3. Effekt av 6 veckors uthållighetsträning på mitokondriell värmeproducerande syreförbrukning framkallad av fettsyra oleat.

Resultaten visar att samma koncentration av oleat (en stimulator av mitokondriell värmeproduktion) ger en högre värmeproducerande respiration hos mitokondrier isolerade från muskelbiopsier tagna efter genomförandet av träningsprogrammet. Tre olika koncentrationer av oleat användes. Hastighet på syreförbrukning anges i relation till citrat syntetas (CS) aktivitet i mitokondriepreparation för att kompensera för träningsinducerad ökning av mitokondriemängd. n=8; *P < 0,05 (data från Tonkonogi et al. 2000a).



Tabell 1. Mitokondriell respirationshastighet uppmätt i permeabiliserade muskelfibrer erhållna från muskelbiopsier tagna före och omedelbart efter olika typer av fysiskt arbete.

Typ av arbete		Maximal ADP-stimulerad respiration	Kreatin-stimulerad respiration vid submaximal ADP konc.
Långvarigt arbete	Före	1.38 ± 0.07	1.42 ± 0.06
	Efter	1.41 ± 0.06	1.75 ± 0.13*
Högintensivt	Före	1.53 ± 0.11	1.41 ± 0.12
	Efter	1.85 ± 0.13*	1.73 ± 0.11*
Excentriskt arbete	Före	1.19 ± 0.07	
	Efter	1.17 ± 0.12	

Mitokondriell respiration är uttryckt i mmol O₂ min⁻¹ kg⁻¹ muskel. Medelvärden ± SEM. Långvarigt arbete, n = 10. Högintensivt intermittent arbete, n = 8. Excentriskt arbete, n = 6. * P < 0.05 jämfört med motsvarande värde före arbetet. Data från Tonkonogi et al. 1998, 1999; Walsh et al. 2001.

Referenser

- Publikationer som ingår i den aktuella avhandlingen är markerade med *.
- Brand, M. D., L. F. Chien, E. K. Ainscow, D. F. Rolfe, and R. K. Porter. The causes and functions of mitochondrial proton leak. *Biochim Biophys Acta* 1187: 132-9, 1994.
- Miranda, S., R. Fonca, J. Guerrero, and F. Leighorn. Oxidative stress and upregulation of mitochondrial biogenesis genes in mitochondrial DNA-depleted HeLa cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 258: 44-9, 1999.
- Rolfe, D. F., and M. D. Brand. Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. *Am J Physiol* 271: C1380-9, 1996.
- *Tonkonogi, M., and K. Sahlin. Rate of oxidative phosphorylation in isolated mitochondria from human skeletal muscle: effect of training status. *Acta Physiol Scand* 161: 345-53, 1997.
- *Tonkonogi, M., B. Harris, and K. Sahlin. Mitochondrial oxidative function in human saponin-skinned muscle fibres: effects of prolonged exercise. *J Physiol (Lond)* 510: 279-86, 1998.
- *Tonkonogi, M., B. Harris, and K. Sahlin. Increased activity of citrate synthase in human skeletal muscle after a single bout of prolonged exercise. *Acta Physiol Scand* 161: 435-6, 1997.
- *Tonkonogi, M., B. Walsh, T. Tiivel, V. Saks, and K. Sahlin. Mitochondrial function in human skeletal muscle is not impaired by high intensity exercise. *Pflügers Arch* 437: 562-8, 1999.
- *Tonkonogi, M., and K. Sahlin. Actively phosphorylating mitochondria are more resistant to lactic acidosis than inactive mitochondria. *Am J Physiol* 277: C288-93, 1999.
- *Tonkonogi, M., A. Krook, B. Walsh, and K. Sahlin. Endurance training increases stimulation of uncoupling of skeletal muscle mitochondria in humans by non-esterified fatty acids: an uncoupling-protein-mediated effect? *Biochem J* 351: 805-810, 2000.
- *Tonkonogi, M., B. Walsh, M. Svensson, and K. Sahlin. Mitochondrial function and antioxidant defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. *J Physiol (Lond)* 528(2): 379-388, 2000.
- *Walsh, B., M. Tonkonogi, C. Malm, and K. Sahlin. Effect of eccentric exercise on muscle oxidative metabolism in man. *Med Sci Sports Exerc*, in press, 2001.