

Αναζητήσεις στη Φυσική Αγωγή & τον Αθλητισμό
τόμος 8 (2), 152 - 164
Δημοσιεύτηκε: 30 Σεπτεμβρίου 2010



Inquiries in Sport & Physical Education
Volume 8 (2), 152 - 164
Released: September 30, 2010

www.hape.gr/emag.asp

ISSN 1790-3041



Η Επίδραση της Οξείας Αερόβιας Άσκησης και Προπόνησης στη Μιτοχονδριακή Βιογένεση Μυρσίνη Κολυφά¹ & Βασίλης Μούγιος²

¹Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών

²Τμήμα Επιστήμης Φυσικής Αγωγής και Αθλητισμού, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης

Περίληψη

Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι η αερόβια άσκηση και προπόνηση οδηγούν στην αύξηση του αριθμού και του όγκου των μιτοχονδρίων (γνωστή ως μιτοχονδριακή βιογένεση) και, κατά συνέπεια, στη βελτίωση της οξειδωτικής ικανότητας του μυϊκού κυττάρου. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετά στοιχεία για τα μοριακά γεγονότα που μεσολαβούν, ώστε να επιτευχθεί αυτή η προσαρμογή. Συνεπώς, τα τελευταία χρόνια, με την πολύτιμη συμβολή της τεχνολογικής ανάπτυξης, γίνεται μια προσπάθεια να διερευνηθεί η επίδραση της άσκησης στη γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών και να προσδιοριστούν τα σηματοδοτικά μονοπάτια καθώς και μεταγραφικοί παράγοντες που την καθορίζουν. Από τα μέχρι τώρα στοιχεία φαίνεται ότι, για να μεταφερθεί το μηχανικό ερέθισμα της άσκησης στον πυρήνα του κυττάρου (όπου εδρεύουν τα περισσότερα μιτοχονδριακά γονίδια), είναι απαραίτητη η υψηλή συγκέντρωση Ca^{2+} και η ενεργοποίηση ενζύμων που εξαρτώνται από αυτό, σε συνδυασμό με την ενεργοποίηση της εξαρτώμενης από το AMP κινάσης μέσω της διατάραξης του ενεργειακού ισοζυγίου. Παράλληλα, η αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου συμβάλλει πιθανότατα στη μιτοχονδριακή βιογένεση. Ως σημαντικότερος ρυθμιστής της θεωρείται ο συνενεργοποιητής 1 του ενεργοποιούμενου από πολλαπλασιαστές των υπεροξυσωμάτων υποδοχέα γ (PGC-1). Αυτός εν συνεχεία ελέγχει μια σειρά από μεταγραφικούς παράγοντες, όπως οι ενεργοποιούμενοι από πολλαπλασιαστές των υπεροξυσωμάτων υποδοχείς PPARα και γ, οι πυρηνικοί αναπνευστικοί παράγοντες NRF1 και 2 και ο μεταγραφικός παράγοντας των μιτοχονδρίων TFAM. Η οξεία αερόβια άσκηση προκαλεί αύξηση των επιπέδων mRNA και πρωτεΐνης του PGC-1, καθώς και μεταγραφικών παραγόντων, με ποικιλία ευρημάτων ως προς το μέγεθος και τη χρονική στιγμή της κορύφωσής τους. Η λήψη δειγμάτων μυϊκής βιοψίας ως και 48 ώρες μετά τερματισμό της άσκησης εξασφαλίζει μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα για την κινητική του mRNA και της πρωτεΐνης. Τα άτομα που προπονούνται συστηματικά αερόβια διακρίνονται από την υπεροχή τους στις τιμές mRNA και πρωτεΐνης του PGC-1 και των PPAR. Ένα αξιοσημείωτο εύρημα είναι ότι η οξεία έντονη διαλειμματική άσκηση διάρκειας 30 s και μεγάλης έντασης στο ποδήλατο, καθώς και η προπόνηση με τα ίδια χαρακτηριστικά αυξάνουν τη γονιδιακή έκφραση του PGC-1 και προωθούν τη μιτοχονδριακή βιογένεση εξίσου αποτελεσματικά με τη συνεχόμενη μέθοδο προπόνησης υπομέγιστης έντασης και μεγάλου όγκου.

Λέξεις κλειδιά: *γονιδιακή έκφραση, μεταγραφικοί παράγοντες, μιτοχονδριακό DNA*

The Effect of Acute Aerobic Exercise and Training on Mitochondrial Biogenesis

Myrsini Kolifa¹ & Vassilis Mougios²

¹Dep. of Physical Education and Sports Science, University of Athens, Hellas

²Dep. of Physical Education and Sports Science, Aristotle University of Thessaloniki, Hellas

Abstract

It is well established that aerobic exercise and training lead to increased mitochondrial density and number (known as mitochondrial biogenesis) which consequently improves the oxidative capacity of muscle fibers. However, there is little experimental evidence regarding the molecular events that mediate this adaptation. As a result, and with the valuable contribution of technological development, there is a growing scientific interest in the effect of exercise on gene expression of mitochondrial proteins and the clarification of the signalling events and transcription factors which determine mitochondrial biogenesis. The available body of knowledge indicates that the mechanical stimulus of exercise is transported to the nucleus (where most mitochondrial genes are found) through the increased concentration of Ca^{2+} and the activation of Ca^{2+} -dependent enzymes, as well as through the activation of AMP-dependent protein kinase as a result of energy imbalance. The increased production of reactive oxygen species is another putative signal path for mitochondrial biogenesis. The most important regulator of mitochondrial biogenesis is considered to be peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 (PGC-1). This, in turn, controls a series of transcription factors, including peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR) α and β , nuclear respiratory factors 1 and 2, and mitochondrial transcription factor, TFAM. Acute aerobic exercise increases the levels of mRNA and protein of PGC-1 and transcription factors, with diversity regarding the magnitude and timing of their peaks. Continuing muscle biopsy sampling for 48 h after the end of exercise ensures a more reliable kinetic response. Aerobically trained subjects are characterized by increased levels of mRNA and protein of PGC-1 and PPARs. Finally, a remarkable finding is that high-intensity interval cycling lasting 30 s and interval training of the same characteristics increase gene expression of PGC-1 and promote mitochondrial biogenesis as effectively as the continuous submaximal high-volume training.

Key words: *gene expression, transcription factors, mitochondrial DNA*

Γενική εισαγωγή

Η αλματώδης ανάπτυξη της τεχνολογικής γνώσης τα τελευταία χρόνια έχει προσφέρει νέα εργαλεία στην επιστημονική προσπάθεια για τη διαλεύκανση των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο και ευθύνονται για τις προσαρμογές που προκαλεί η άσκηση. Σύγχρονες μέθοδοι, όπως η συγκόλληση γονιδίων και ο ανασυνδυασμός του DNA, η τεχνολογία μεταφοράς DNA και η ποσοτική ανάλυση DNA και RNA με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), έχουν στρέψει το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας στην επίδραση της άσκησης στη γονιδιακή έκφραση, η οποία μεσολαβεί ανάμεσα στο μηχανικό ερέθισμα (άσκηση ή προπόνηση) και το φαινότυπο (προσαρμογή). Ειδικότερα, γίνεται προσπάθεια να περιγραφεί σε ποια επίπεδα και με ποιους μηχανισμούς διαφοροποιείται η γονιδιακή έκφραση από την άσκηση.

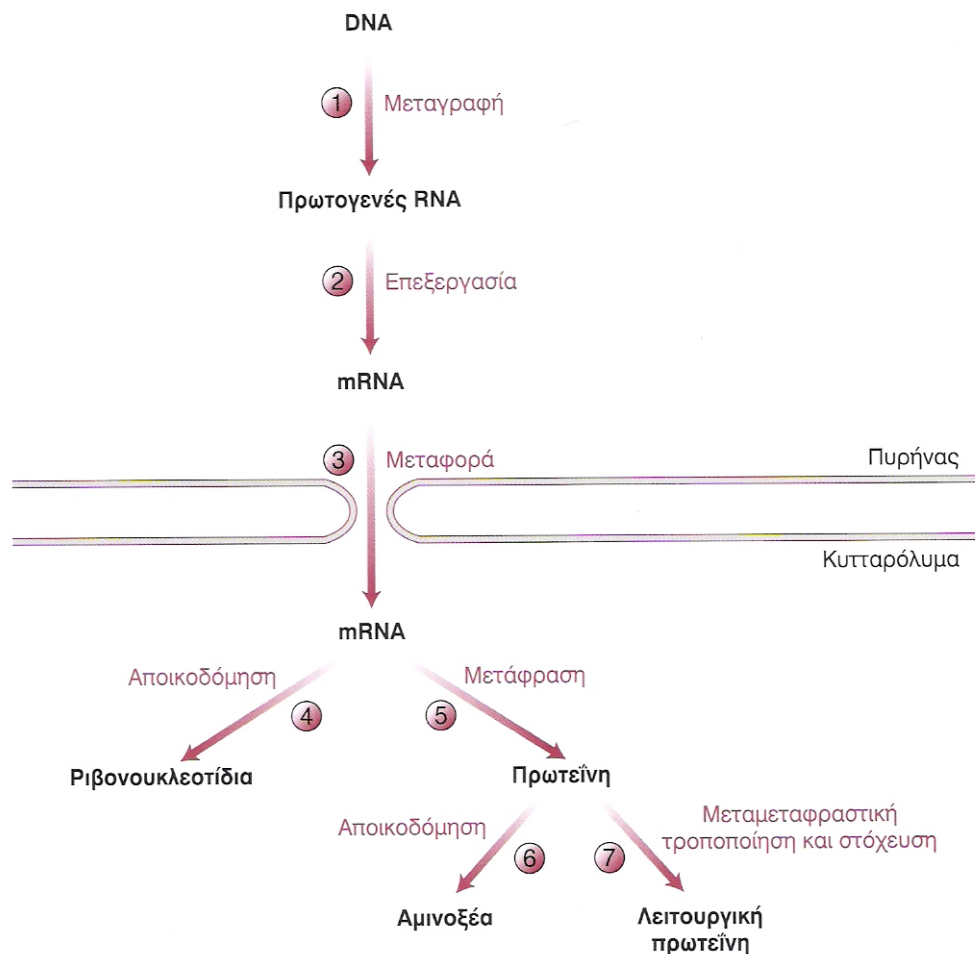
Ο σκελετικός μύς εμφανίζει διαφορετικές προσαρμογές ανάλογα με το μηχανικό ερέθισμα στο οποίο υποβάλλεται. Για παράδειγμα, η προπόνηση δύναμης έχει ως αποτέλεσμα τη μυϊκή υπερτροφία, ενώ η προπόνηση αντοχής αυξάνει τη μιτοχονδριακή βιογένεση και μετατρέπει τις μυϊκές ίνες από γλυκολυτικές σε οξειδωτικές (Hollloszy, 2008).

Ως μιτοχονδριακή βιογένεση ορίζεται η κυτταρική διεργασία που περιλαμβάνει τη σύνθεση ή την αποδόμηση του μιτοχονδρίου (Hood, 2001). Η γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών είναι φυσικό να έχει απασχολήσει αρκετά τους ερευνητές, αν λάβουμε υπόψη την αξία του μιτοχονδρίου όχι μόνο στο πλαίσιο της άσκησης, αλλά και γενικότερα για τη ζωή του κυττάρου και του οργανισμού. Τα μιτοχόνδρια, εκτός του ότι αποτελούν τον κύριο τόπο παραγωγής ATP μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο στη γονιδιακή έκφραση, διαθέτοντας αυτόνομο DNA που συνεργάζεται με το DNA του πυρήνα. Για τον παραπάνω λόγο είναι σημαντικά και για τη βιωσιμότητα του κυττάρου και παρουσιάζουν έντονο κλινικό ενδιαφέρον (Hood, 2001; Lee & Wei, 2005).

Σχετικές θεωρίες

Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι η προπόνηση αντοχής με κατάλληλη συχνότητα και ένταση μπορεί να αυξήσει τη μιτοχονδριακή πυκνότητα (δηλαδή τον όγκο των μιτοχονδρίων ως ποσοστό του συνολικού όγκου ενός ιστού) κατά 50-100% μέσα σε διάστημα 6 εβδομάδων. Αυτό αυτομάτως οδηγεί σε

αύξηση της αερόβιας απόδοσης, ανεξαρτήτως των αλλαγών που επέρχονται από τη σαφώς μικρότερη βελτίωση στη VO_{2max} (Davies, Packer, & Brooks, 1981; Fitts, Booth, Winder, & Holloszy, 1975). Ειδικότερα, αυξάνεται η ικανότητα παραγωγής ATP μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και μειώνεται η διαταραχή του ενεργειακού ισοζυγίου κατά την υπομέγιστη άσκηση, όπως αποδεικνύεται από τις χαμηλότερες τιμές ADP, AMP, P_i και γαλακτικού οξέος, καθώς και από τη μικρότερη μείωση της φωσφοκρεατινής. Η αυξημένη παραγωγή ATP για τις ίδιες τιμές ADP ορίζεται ως αυξημένη ευαισθησία των μιτοχονδρίων στο ADP. Παράλληλα, η αυξημένη μιτοχονδριακή πυκνότητα δεν οδηγεί μόνο σε μειωμένη παραγωγή γαλακτικού οξέος, αλλά και σε αυξημένη οξείδωσή του, ιδίως σε μυϊκές ίνες παράπλευρες από εκείνες στις οποίες παράγεται. Τέλος, παρατηρείται αύξηση στη χρησιμοποίηση του λίπους στην ίδια απόλυτη μέτρια ένταση, σε σύγκριση με πριν την προπόνηση, και μείωση της οξείδωσης γλυκόζης και γλυκογόνου (Holloszy, 2008; Hood, 2001).



Σχήμα 1. Σημεία ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης (Μουγιος, 2008, με την ευγενική άδεια του συγγραφέα και του εκδότη).

Επίπεδα ελέγχου γονιδιακής έκφρασης μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Η συνεργασία πυρήνα-μιτοχονδρίου

Από το στάδιο της μεταγραφής ενός γονιδίου μέχρι την παραγωγή λειτουργικής πρωτεΐνης μεσολαβούν αρκετές φάσεις (Σχήμα 1), στις οποίες η αερόβια άσκηση μπορεί να επιδράσει σημαντικά.

Αρχικά η μεταγραφή του DNA σε RNA καθορίζεται από πρωτεΐνες που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες (transcription factors) και στην ουσία επιλέγουν τα γονίδια που θα μεταγραφούν. Η άσκηση επηρεάζει θετικά τη γονιδιακή έκφραση αρκετών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τα μιτοχόνδρια και την οξειδωτική ικανότητα. Εν συνεχεία το πρωτογενές RNA υφίσταται ειδική επεξεργασία, ώστε να μετατραπεί σε αγγελιαφόρο RNA (mRNA). Η μεταφορά του mRNA μέσα από την πυρηνική μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα δεν είναι γνωστό κατά πόσο μπορεί να επηρεαστεί από την άσκηση. Από τη φάση αυτή και μετά το mRNA είτε αποικοδομείται, είτε συνεχίζει προς τη μετάφραση σε πρω-

τεΐνη, αποτέλεσμα που εξαρτάται από τη σταθερότητά του. Η ηλεκτρική διέγερση χαμηλής συχνότητας έχει βρεθεί ότι επηρεάζει θετικά τη σταθερότητα του κυτοχρώματος c, συστατικού της αναπνευστικής αλυσίδας (Freyssenet, Connor, Takahashi, & Hood, 1999). Η αύξηση πολλών πρωτεϊνών που σχετίζονται με τον αερόβιο μεταβολισμό ως αποτέλεσμα της αερόβιας άσκησης ή της προπόνησης χωρίς παράλληλη αύξηση του mRNA τους καταδεικνύει πόσο σημαντικός είναι ο έλεγχος της μετάφρασης. Τέλος, είναι πιθανό η άσκηση να μεταβάλλει την ταχύτητα αποικοδόμησης των πρωτεϊνών και τη στόχευσή τους, ώστε να αποκτήσουν το λειτουργικό τους ρόλο, όπως συμβαίνει με τις πρωτεΐνες μεμβρανών (Μουγιος, 2008).

Ένα βασικό χαρακτηριστικό της μιτοχονδριακής βιογένεσης είναι ότι προϋποθέτει τη συνεργασία του DNA του μιτοχονδρίου με το DNA του πυρήνα. Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA), παρά το γεγονός ότι κωδικοποιεί αποκλειστικά 13 πρωτεΐνες της αναπνευστικής αλυσίδας, απαιτεί την επίδραση μεταγραφικών παραγόντων του πυρήνα προκειμένου να μεταγραφεί (Hood, 2001). Η είσοδος των πρωτεϊνών στο μιτοχόνδριο επιτυγχάνεται μέσω ενός πολύπλοκου πρωτεϊνικού συμπλέγματος της εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης του οργανιδίου (Hood, 2001).

Μεταγραφικοί παράγοντες που καθορίζουν τις μιτοχονδριακές προσαρμογές στην άσκηση

Οι περισσότερες μελέτες που εξέτασαν την επίδραση της άσκησης στη μιτοχονδριακή βιογένεση χρησιμοποίησαν μοντέλα ζώων ή καλλιέργειες κυττάρων, ενώ εκείνες που αναφέρονται σε ανθρώπους και κυρίως σε αθλητές υψηλού επιπέδου είναι αρκετά περιορισμένες, για λόγους που σχετίζονται με τη μειωμένη συμμόρφωσή τους στις αλλαγές του προπονητικού προγράμματος και στις παρεμβατικές μεθόδους στις οποίες υποχρεούνται να υποβληθούν. Μάλιστα, αρκετοί ερευνητές δεν εφάρμοσαν πρωτόκολλα άσκησης, αλλά τη χρόνια ηλεκτρική διέγερση ή τη φαρμακευτική αγωγή (π.χ. θυρεοειδικές ορμόνες), των οποίων οι επιδράσεις προσομοιάζουν με εκείνες της άσκησης (Hood, 2001).

Στο επίπεδο της μεταγραφής έχουν αναφερθεί αρκετοί παράγοντες που φαίνεται να εμπλέκονται στην αύξηση της μιτοχονδριακής πυκνότητας. Από αυτούς τον πρωταρχικό ρόλο φαίνεται ότι παίζει ο συνενεργοποιητής 1 του ενεργοποιούμενου από πολλαπλασιαστές των υπεροξυσωμάτων υποδοχέα γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1, PGC-1), ο οποίος έχει βρεθεί ότι αυξάνεται κατά την έκθεση σε κρύο περιβάλλον, τόσο στο λιπώδη ιστό όσο και στο σκελετικό μυ (Puigserver et al., 1998). Συγκεκριμένα, αυξημένα επίπεδα mRNA του PGC-1 προώθησαν τη μιτοχονδριακή βιογένεση στους μύες (Puigserver et al., 1998; Wu et al., 1999) και στο μυοκάρδιο επιμύων (Lehman et al., 2000) και διαφοροποίησαν τη σύσταση των μυών προς ένα πιο οξειδωτικό τύπο (Lin et al., 2002). Ο λόγος για τον οποίο ο συγκεκριμένος συνενεργοποιητής θεωρείται τόσο σημαντικός είναι ότι διαθέτει θέσεις σύνδεσης με τα περισσότερα γονίδια του πυρήνα που κωδικοποιούν μιτοχονδριακές πρωτεΐνες (Irrcher, Adhietty, Joseph, Ljubicic, & David, 2003).

Οι ενεργοποιούμενοι από πολλαπλασιαστές των υπεροξυσωμάτων υποδοχείς (peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR) είναι μεταγραφικοί παράγοντες με τρία κύρια μέλη, τα α, γ και δ. Κάθε μέλος επιτελεί διαφορετική λειτουργία, με το α να παίζει ρόλο στην οξειδωση των λιπαρών οξέων (Ferre, 2004), το γ να σχετίζεται με τη λιπογένεση και την ευαισθησία στην ινσουλίνη (Gurnell, 2005) και το δ να αυξάνει τον καταβολισμό του λίπους, είτε με την ενεργοποίηση γονιδίων προς αυτή τη κατεύθυνση, είτε με την αλλαγή της σύστασης του μύος προς περισσότερες ίνες οξειδωτικού χαρακτήρα (Luquet et al., 2003, Wang et al., 2004). Ο PGC-1, εκτός από συνενεργοποιητής του PPARγ, φαίνεται ότι μπορεί να επηρεάσει και τον PPARα (Vega, Huss, & Kelly, 2000). Παράλληλα, κινητοποιεί τους πυρηνικούς αναπνευστικούς παράγοντες (nuclear respiratory factors, NRF) 1 και 2 (Wu et al., 1999), οι οποίοι αυξάνονται σε κατάσταση υποξίας του μύος (Scarpulla et al. 1996). Οι NRF-1 και 2, με τη σειρά τους, φέρονται να ελέγχουν το μιτοχονδριακό μεταγραφικό παράγοντα A (MTFA, Virbasius & Scarpulla, 1994), που εισέρχεται στο μιτοχόνδριο μέσω του πρωτεϊνικού συμπλέγματος Tom & Tim και καθορίζει τη μετάφραση και μετάφραση του mtDNA (Hood, 2001; Lee & Wei, 2005). Παράλληλα, ελέγχει τη γονιδιακή έκφραση πολλών άλλων πρωτεϊνών της αναπνευστικής αλυσίδας και ιδίως του κυτοχρώματος c (Evans & Scarpulla, 1989).

Σηματοδοτικά μονοπάτια επίδρασης της άσκησης

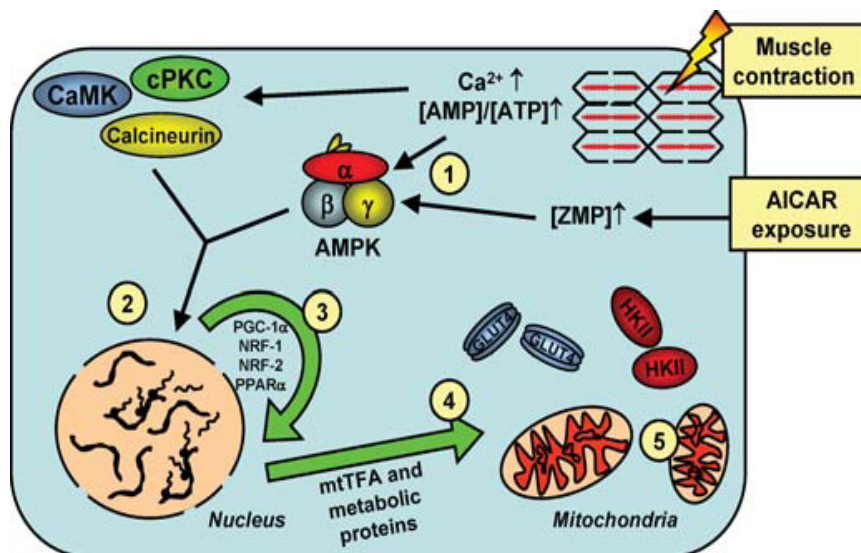
Παρά το γεγονός ότι εδώ και 35 χρόνια είναι αποδεκτό ότι η αερόβια άσκηση βελτιώνει την αναπνευστική ικανότητα του μύος μέσω της αύξησης των μιτοχονδριακών ενζύμων (Holloszy, 1967), υπάρχουν περιορισμένα στοιχεία για τους μηχανισμούς που μεταφράζουν το μηχανικό ερέθισμα της άσκησης σε κυτταρική προσαρμογή (Ojuka et al., 2002). Ως κυριότερα σηματοδοτικά μονοπάτια που μεσολαβούν ώστε να οδηγηθούμε στη μιτοχονδριακή βιογένεση θεωρούνται α) η αυξημένη συγκέν-

τρωση ασβεστίου (Ca^{2+}) στο σαρκόπλασμα κατά τη διάρκεια της μυϊκής συστολής (Chin, 2004), β) η διατάραξη του ενεργειακού ισοζυγίου και οι αυξημένες τιμές ADP και AMP (Jørgensen, Richter, & Wojtaszewski, 2006) και γ) η αυξημένη παραγωγή δραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS) (Lee & Wei, 2005).

Αυξημένη συγκέντρωση Ca^{2+} . Είναι γνωστός ο ρόλος του Ca^{2+} στον κύκλο συστολής-χαλάρωσης του μυϊκού κυττάρου, καθώς η διέγερση του τελευταίου συνεπάγεται διάχυση του Ca^{2+} από τους σάκους τους σαρκοπλασματικού δικτύου και αύξηση της συγκέντρωσής του κατά αρκετές φορές (Chin & Allen, 1996). Αυτή η δραματική αύξηση του Ca^{2+} και η χρονική της διάρκεια θεωρείται ότι αποτελεί σήμα που μεταφέρεται στον πυρήνα μέσω κάποιων ενζύμων που εξαρτώνται από αυτό, όπως η καλσινευρίνη, η καλμοντουλίνη και η πρωτεϊνική κινάση C, τα οποία επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση (Chin, 2004). Τις πρώτες ενδείξεις ότι το Ca^{2+} παίζει σημαντικό ρόλο στην γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών αποτέλεσαν στοιχεία μελετών με καλλιέργειες κυττάρων από επίμυες, στις οποίες επιχειρήθηκε να αυξηθούν οι τιμές του Ca^{2+} με φαρμακευτικό τρόπο, όπως χορήγηση καφεΐνης (Freysenet et al., 1999; Ojuka et al., 2002; Ojuka, Jones, Han, Chen, & Holloszy, 2003). Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και έρευνες *in vivo* με γενετικά τροποποιημένους επίμυες στους οποίους τα επίπεδα Ca^{2+} ήταν φύσει υψηλά ή χαμηλά. Στην πρώτη περίπτωση χαρακτηρίζονταν από υψηλές ποσότητες της οξειδάσης του κυτοχρώματος c (Chen et al., 2001), ενώ στη δεύτερη από χαμηλές τιμές αφυδρογονάσης του ηλεκτρικού οξέος (Chin et al., 2003). Ενίσχυση της άποψης ότι το Ca^{2+} πιθανότατα παίζει καθοριστικό ρόλο στις μιτοχονδριακές προσαρμογές αποτελεί το εύρημα ότι αφυδρογονάσεις του μιτοχονδρίου δεν ενεργοποιούνται όταν η συγκέντρωσή του είναι χαμηλή (McCormack & Denton, 1994), όπως και το ότι είναι απαραίτητο στοιχείο για φωσφορυλιώσεις που λαμβάνουν χώρα στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου (Azarashvily, Tyynela, Baumann, Evtodienko, & Saris, 2000).

Η διατάραξη του ενεργειακού ισοζυγίου και η αύξηση των ADP και AMP. Η άσκηση χαρακτηρίζεται από δραματική αύξηση της ενεργειακής δαπάνης σε σύγκριση με την κατάσταση ηρεμίας. Η μυϊκή συστολή έχει ως συνέπεια την αύξηση των ADP και AMP, ενώ οι τιμές του ATP παραμένουν σχετικά σταθερές. Εν συνεχεία, οι αυξημένες τιμές του AMP ενεργοποιούν την εξαρτώμενη από το AMP κινάση (AMPK), όπως καταδεικνύουν μελέτες με ηλεκτρική διέγερση και με άσκηση σε επίμυες και ανθρώπους, με τρόπο ανάλογο με την ένταση της άσκησης. Ειδικότερα, η AMPK διαθέτει 3 υπομονάδες (α, β και γ), από τις οποίες η α είναι η καταλυτική και η γ δεσμεύει το AMP (Jørgensen et al., 2006). Η ενεργοποίηση του ενζύμου με φαρμακευτικό τρόπο, όπως με τη χορήγηση ριβονουκλεοτιδίου του 5-αμινο-4-ιμιδαζολοκαρβοξαμιδίου (AICAR), είχε ως αποτέλεσμα την προώθηση της μιτοχονδριακής βιογένεσης (Winder et al., 2000) και την αυξημένη γονιδιακή έκφραση του μεταφορέα γλυκόζης GLUT4 (Holmes, Sparling, Olson, Winder, & Dohm, 2008). Μάλιστα, φαίνεται πως η AMPK φωσφορυλιώνει πρώτα τον PGC-1, ο οποίος, όπως προαναφέραμε, ελέγχει τους περισσότερους μεταγραφικούς παράγοντες (PPARγ, NRF-1, TFAM) που σχετίζονται με τις μιτοχονδριακές προσαρμογές (Holloszy, 2008). Παράλληλα, υπάρχει το ενδεχόμενο ο μηχανισμός της AMPK και ο μηχανισμός του Ca^{2+} να συνδέονται μεταξύ τους, καθώς υπάρχουν ενδείξεις για δραστηριοποίηση του ενζύμου και από την εξαρτώμενη από το Ca^{2+} και την καλμοδουλίνη πρωτεϊνική κινάση (Jørgensen et al., 2006). Αναλυτικότερα, το σηματοδοτικό μονοπάτι του ασβεστίου και της AMPK αναπαρίστανται στο Σχήμα 2.

Αυξημένη παραγωγή ROS. Στα μιτοχόνδρια, εκτός από μεγάλες ποσότητες ATP, παράγονται και ROS, όπως το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H_2O_2). Τα μόρια αυτά σχηματίζονται από ηλεκτρόνια που μεταβιβάζονται πρόωρα στο οξυγόνο και είναι ιδιαίτερα δραστικά. Μάλιστα, υπολογίζεται ότι από το οξυγόνο που καταναλώνεται κατά τη διάρκεια του αερόβιου μεταβολισμού, ποσοστό 1-5% μετατρέπεται σε ROS (Chance, Sies, & Boveris, 1979). Επιπλέον, η παραγωγή ROS ενισχύεται σε καταστάσεις υπολειπόμενης της αναπνευστικής αλυσίδας ή σε ηλικιωμένα άτομα (Lee & Wei, 2005). Ειδικότερα, σε περίπτωση μεταλλάξεων, απώλειας του mtDNA και έντονου μεταβολικού στρες έχει παρατηρηθεί ενίσχυση της μιτοχονδριακής βιογένεσης, πιθανότατα με την παρέμβαση του μηχανισμού του ασβεστίου (Biswas et al., 1999). Μελέτες με φαρμακευτική αύξηση των ROS σε ηπατικά κύτταρα συνδέουν την επίδρασή τους στη μιτοχονδριακή βιογένεση με τη μεσολάβση δύο ενζύμων, της κινάσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης 3 και της πρωτεϊνικής κινάσης B ή Akt (Suliman, Carraway, Welty-Wolf, Whorton, & Piantadosi, 2003). Συγκεκριμένα, η παρεμπόδιση της δράσης των ενζύμων αυτών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση του NRF-1. Παράλληλα, υπάρχουν ενδείξεις ότι το μονοξειδίο του αζώτου (NO) ενισχύει τη γονιδιακή έκφραση του PGC-1 (Nisoli et al., 2003). Ωστόσο, τα συμπεράσματα αυτά χρειάζονται περαι-



Σχήμα 2. Ο ρόλος των σηματοδοτικών μονοπατιών του Ca^{2+} και της AMPK στη γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών. Η μυϊκή συστολή (muscle contraction) προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} και του λόγου $[AMP]/[ATP]$ στις μυϊκές ίνες (1). Οι μεταβολές αυτές ενεργοποιούν την AMPK κι ένζυμα εξαρτώμενα από το Ca^{2+} , όπως η CaMK η cPKC και η καλσινευρίνη. Ενεργοποίηση της AMPK προκαλεί και η έκθεση (exposure) σε AICAR μέσω της σύνθεσης του μονοφωσφορικού AICAR (ZMP), ενός συνθετικού αναλόγου του AMP. Εν συνεχεία το ερέθισμα μεταφέρεται στον πυρήνα (nucleus) του κυττάρου (2) και προωθεί τη γονιδιακή έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων PGC-1 α , NRF-1, NRF-2 και PPAR α (3), που με τη σειρά τους αυξάνουν το μεταγραφικό παράγοντα των μιτοχονδρίων (mitochondria) mtTFA και μεταβολικές πρωτεΐνες (metabolic proteins) (4) Ο mtTFA παίζει καθοριστικό ρόλο στην μιτοχονδριακή βιογένεση (5) (Jorgensen et al., 2006, με την ευγενική άδεια του συγγραφέα και του εκδότη).

τέρω διερεύνηση και υποστήριξη (Wei & Lee, 2005). Τέλος, σε μια πρόσφατη μελέτη (Jahnke, Sabido, & Freyssenet, 2009), που υποστηρίζει το ρόλο των μιτοχονδρίων στο στάδιο της διαφοροποίησης των μυοβλαστών, η παράλληλη αύξηση των επιπέδων H_2O_2 και μιτοχονδριακών πρωτεϊνών θεωρήθηκε ότι συνδέεται αρκετά με τις παραπάνω διεργασίες. Συμπερασματικά, μπορούμε να πούμε ότι η δράση ROS ενδεχομένως προκαλεί αντισταθμιστική αύξηση του mtDNA για την προστασία του οργανιδίου και του κυττάρου, ειδικότερα σε περιπτώσεις μεταλλάξεων και ελαττωματικής λειτουργίας της αναπνευστικής αλυσίδας. Παρόλα αυτά, μάλλον υπάρχει ένα όριο πέρα απ' το οποίο οι ROS δρουν καταστροφικά για το κύτταρο και επιταχύνουν τις διεργασίες απόπτωσης του (Lee & Wei, 2005).

Ανασκόπηση σχετικών ερευνών

Η επίδραση της οξείας αερόβιας άσκησης στη μιτοχονδριακή βιογένεση

Οι άμεσες αποκρίσεις σε μια συνεδρία άσκησης μας δίνουν πολύτιμες πληροφορίες για το σηματοδοτικό μονοπάτι που πρόκειται να εδραιωθεί στην περίπτωση που η άσκηση συστηματοποιηθεί μέσω της προπόνησης. Υπό αυτή την έννοια, όσο περισσότερο η άσκηση επηρεάζει θετικά μεταγραφικούς παράγοντες που σχετίζονται με τη μυϊκή αναδιοργάνωση, τόσο περισσότερο αερόβια χαρακτηρίζεται. Επιπλέον, υπάρχει πιθανότητα, μυϊκή δραστηριότητα που θεωρείται αναερόβια (μεγάλης έντασης και μικρής διάρκειας) να προωθεί περισσότερο τη μυϊκή αναδιοργάνωση παρά τη μυϊκή υπερτροφία (Gibala et al., 2009). Η πλειονότητα των μελετών με οξεία άσκηση διερεύνησε τα επίπεδα mRNA των μεταγραφικών παραγόντων και όχι τα επίπεδα των πρωτεϊνών τους, καθώς οι προσαρμογές σε πρωτεϊνικό επίπεδο είναι πιο αργές και, κυρίως, αποτέλεσμα της προπόνησης.

Σε μελέτη των Baar και συνεργατών (2002) με επίμυες εξετάστηκε η επίδραση παρατεταμένης κολύμβησης (2 x 3 h με διάλειμμα 45 min) στα επίπεδα του mRNA και της πρωτεΐνης του PGC-1, καθώς και της πρωτεΐνης του NRF-1 κατά τη διάρκεια 18 ωρών αποκατάστασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν διπλασιασμό της ποσότητας του mRNA του PGC-1 6 ώρες μετά την άσκηση, ενώ για το ίδιο αποτέλεσμα σε επίπεδο πρωτεΐνης χρειάστηκαν 18 ώρες, γεγονός που επιβεβαιώνει ότι σε μεταφραστικό επίπεδο οι προσαρμογές καθυστερούν να συμβούν. Όσον αφορά τη πρωτεΐνη του NRF-1, παρατηρήθηκε αύξηση 50% από τις 12 ως τις 18 ώρες αποκατάστασης. Οι μελετητές τονίζουν τον έλεγχο που ασκεί ο PGC-1 στον NRF-1 για την προώθηση της μιτοχονδριακής βιογένεσης.

Σε παρόμοια μελέτη με επίμυες και πρωτόκολλο 6 h κολύμβησης χαμηλής έντασης (Terada et al., 2002) το mRNA του PGC-1 αυξήθηκε 8 φορές σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Θετική επίδραση είχε και η εφαρμογή ηλεκτρικής διέγερσης με 30 τετανικές συστολές των 10 s. Παράλληλα, στην περίπτωση που προστέθηκε ο ενεργοποιητής της AMPK AICAR σε καλλιέργειες κυττάρων για 18 h, το mRNA του PGC-1 τριπλασιάστηκε. Οι ερευνητές συσχετίζουν την επίδραση που ασκεί η άσκηση στην γονιδιακή έκφραση του PGC-1 με τη δράση της AMPK.

Η άνοδος του mRNA του PGC-1 μετά την αερόβια άσκηση φαίνεται να επηρεάζεται και από την ποσότητα οξυγόνου που παρέχεται στους μύες, με τη πιθανότητα να είναι πιο έντονη σε συνθήκες μερικής υποξίας. Συγκεκριμένα, εθελοντές που ασκήθηκαν με το ένα πόδι κάνοντας εκτάσεις γόνατος σε ισοκινητικό μηχάνημα για 45 min παρουσίασαν μεγαλύτερη αύξηση στο mRNA του PGC-1 6 ώρες μετά την άσκηση στην περίπτωση που στο πόδι είχε εφαρμοστεί πίεση 50 mm Hg υψηλότερη από την ατμοσφαιρική, με αποτέλεσμα να περιορίζεται η παροχή αίματος (Norrborn et al., 2004). Οι ερευνητές παρομοιάζουν την περιορισμένη αιματική ροή με τη διατάραξη του ενεργειακού ισοζυγίου που δημιουργείται σε συνθήκες έντονης άσκησης. Παράλληλα, εξετάστηκε η ανταπόκριση διαφορετικού τύπου μυϊκών ινών, χωρίς να βρεθούν διαφορές μεταξύ των ινών βραδείας και ταχείας συστολής. Η αυξημένη γονιδιακή έκφραση του PGC-1 στις ίνες βραδείας συστολής που σημειώθηκε αλλού (Lin et al., 2002) δεν είναι απόλυτα συγκρίσιμη, αν λάβουμε υπόψη ότι το δείγμα στην τελευταία μελέτη ήταν επίμυες και ότι υπάρχει ποικιλία αποτελεσμάτων στη μυϊκή ανταπόκριση ανάμεσα στα διάφορα είδη (Delp & Pette, 1994; Leeuw & Pette, 1993). Σε ό,τι αφορά άλλους μεταγραφικούς παράγοντες που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη μιτοχονδριακή βιογένεση (NRF-1, TFAM), δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές μεταβολές, ίσως γιατί το τελευταίο δείγμα αποκατάστασης λήφθηκε πολύ νωρίς για να είναι αυτές ανιχνεύσιμες (6 h μετά την άσκηση), σε αντίθεση με το πρωτόκολλο της προηγούμενης μελέτη των Baar και συνεργατών (2002) (18 h μετά την άσκηση).

Η επίδραση της οξείας άσκησης στη γονιδιακή έκφραση φαίνεται να είναι πιο έντονη σε ήδη προπονημένους μύες. Σε μελέτη που επίσης είχε ως κινητικό πρότυπο τις εκτάσεις γόνατος (Pilegaard, Saltin, & Nuefer, 2003) οι εθελοντές αρχικά προπονήθηκαν επί 4 εβδομάδες με το ένα πόδι και, με το τέλος του προπονητικού προγράμματος, εκτέλεσαν αερόβια άσκηση και με τα 2 πόδια για 3 h. Ακολούθησε λήψη μυϊκών βιοψιών αμέσως μετά, στις 2, στις 6 και στις 24 h της αποκατάστασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν κορύφωση του mRNA του PGC-1 στις 2 h και αύξηση κατά 7 φορές στο απροπόνητο και 10 φορές στο προπονημένο πόδι, σε σχέση με τα επίπεδα ηρεμίας. Παράλληλα, η αύξηση ήταν μεγαλύτερη στο προπονημένο πόδι. Σχετικά με τους άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, ο NRF-1 δεν παρουσίασε σημαντική μεταβολή, ενώ τα mRNA της εξοκινάσης II, του TFAM και του PPARα αυξήθηκαν σημαντικά από 2 ως 6 φορές.

Η ποικιλία των αποτελεσμάτων στη περίπτωση που χρησιμοποιείται δείγμα επιμύων φαίνεται στη μελέτη των Murakami, Shimomura, Yoshimura, Sokabe και Fujitsuka (1998). Συγκεκριμένα, 90 min τρεξίματος στο διάδρομο είχε ως αποτέλεσμα αύξηση του mRNA του NRF-1 κατά 35 % στις 6 h αποκατάστασης σε προπονημένους για 5 μέρες επίμυες και 50% σε απροπόνητους. Η διαφορά των ευρημάτων από την προηγούμενη μελέτη (Pilegaard et al., 2003) ίσως σχετίζεται με το διαφορετικό κινητικό πρότυπο άσκησης που χρησιμοποιήθηκε.

Όταν η λήψη δειγμάτων κατά την αποκατάσταση συνεχίζεται μέχρι και τις 48 h, μπορούμε να βγάλουμε πολύτιμα συμπεράσματα για την κινητική που παρουσιάζουν οι μεταγραφικοί παράγοντες και ελαχιστοποιούνται οι πιθανότητες λάθους ως προς την κορύφωση ή την επαναφορά της ανταπόκρισης. Οι Mahoney, Parise, Melon, Safdar και Tarnopolski (2005) εξέτασαν μια μεγάλη γκάμα μεταγραφικών παραγόντων, ανάμεσά τους και παράγοντες που καθορίζουν τις μιτοχονδριακές προσαρμογές, σε αγύμναστα άτομα μετά από 75 min εξαντλητικής άσκησης στο ποδήλατο. Ειδικότερα, τα mRNA των PGC-1 και των σχετιζόμενων με το μεταβολισμό του λίπους PPARα, γ και δ, κορυφώθηκαν στις 3 h και επανήλθαν στις 48 h, ενώ το mRNA του NRF-1 παρουσίασε σημαντική άνοδο στις 3 h και δεν είχε επιστρέψει στις τιμές ηρεμίας 48 h μετά.

Η γονιδιακή ανταπόκριση στην άσκηση φαίνεται να μην εξαρτάται από το είδος του προπονητικού ιστορικού. Σε μελέτη που διεξήχθη με υψηλού επιπέδου αθλητές αντοχής και αθλητές δύναμης που γυμνάζονταν με αντιστάσεις (Coffey et al., 2006), δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς την άνοδο του mRNA του PGC-1 3 h μετά από 60 min ποδηλάτησης. Το mRNA του PGC-1 αυξήθηκε 8,5 φορές στους πρώτους και 10 φορές στους δεύτερους.

Η επίδραση της διαλειμματικής άσκησης μεγάλης έντασης και μικρής διάρκειας στη γονιδιακή έκφραση παραγόντων που σχετίζονται και με την αύξηση της μυϊκής μάζας και με την αναδιοργάνωση του μυϊκού ιστού, καθώς και η διερεύνηση του σηματοδοτικού μονοπατιού που οδηγεί σε αυτές τις

ανταποκρίσεις, ήταν το αντικείμενο μιας πρόσφατης μελέτης των Gibala και συνεργατών (2009). Ουσιαστικά, οι ερευνητές θέλησαν να εξετάσουν πόσο αερόβιο ή αναερόβιο χαρακτήρα έχει μια τέτοιου είδους άσκηση. Οι εθελοντές εκτέλεσαν 4 υπερμεγίστες προσπάθειες των 30 s στο ποδήλατο με διάλειμμα 4 min και η λήψη των βιοψιών πραγματοποιήθηκε πριν την άσκηση, αμέσως μετά την 1^η προσπάθεια, αμέσως μετά την 4^η προσπάθεια και 3 h μετά την 4^η προσπάθεια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την 4^η προσπάθεια δεν ενεργοποιήθηκαν ένζυμα που σχετίζονται με μυϊκή υπερτροφία (όπως η πρωτεϊνική κινάση B/Akt), αλλά ένζυμα που σχετίζονται με τη μυϊκή αναδιοργάνωση και τη μιτοχονδριακή βιογένεση μέσω της AMPK και της ενεργοποιούμενης από μιτογόνα πρωτεϊνικής κινάσης p38. Παράλληλα, στις 3 h μετά την άσκηση το mRNA του PGC-1 είχε διπλασιαστεί, ενώ η πρωτεΐνη του δεν είχε μεταβληθεί σημαντικά, πιθανότατα λόγω της μικρής δόσης της άσκησης. Για τους παραπάνω λόγους οι ερευνητές συμπεραίνουν ότι η υπερμεγίστη διαλειμματική άσκηση αυτής της διάρκειας έχει περισσότερο αερόβιο παρά αναερόβιο χαρακτήρα και προωθεί τις οξειδωτικές προσαρμογές.

Η επίδραση της αερόβιας προπόνησης στη μιτοχονδριακή βιογένεση

Η επίδραση της αερόβιας προπόνησης στον αριθμό και τον όγκο των μιτοχονδρίων, καθώς και στη δράση των μιτοχονδριακών ενζύμων, έχει τεκμηριωθεί εδώ και πολλά χρόνια (Davies et al., 1981; Reichmann, Hoppeler, Mathieu-Costello, von Bergen, & Pette, 1985). Ωστόσο, λίγα είναι αυτά που γνωρίζουμε για τη μοριακή βάση αυτών των προσαρμογών και τα περισσότερα στοιχεία, όπως προείπαμε, προέρχονται από μελέτες με μοντέλα ζώων που εφάρμοσαν, αντί για άσκηση, χρόνια ηλεκτρική διέγερση (Hood, Simoneau, Kelly, & Pette, 1992; Ordway, Kang, Gregory, Hand, & Williams, 1993).

Παρόλο που είναι δύσκολο να διεξαχθεί παρεμβατική μελέτη με αθλητές υψηλού επιπέδου, υπάρχουν περιγραφικά και συγκριτικά στοιχεία στα οποία φαίνεται καθαρά η υπεροχή τους γονιδιακά απέναντι σε αγύμναστα άτομα. Οι Puntschart, Claassen, Jostardt, Hoppeler, & Billeter (1995) σύγκριναν τα mRNA αρκετών μιτοχονδριακών πρωτεϊνών (υπομονάδες I και IV της οξειδάσης του κυτοχρώματος c, αφυδρογονάση του ηλεκτρικού οξέος, φουμαράση, υπομονάδα 6 της αναγωγάσης του NADH) και το rRNA 16S μεταξύ αθλητών αντοχής ($VO_2\max 70 \pm 1,6$ ml/kg/min) και αγύμναστων ($VO_2\max 35 \pm 2,4$ ml/kg/min) και διαπίστωσαν ότι οι τιμές των πρώτων ήταν σχεδόν διπλάσιες από των δεύτερων. Τα παραπάνω χαρακτηριστικά ήταν ανάλογα της μιτοχονδριακής πυκνότητας του κάθε δείγματος, καθώς το mtDNA των αθλητών κυμαινόταν στα 62 mg/mm³, ενώ των αγύμναστων στα 40 mg/mm³.

Σε μια πειραματική μελέτη με αγύμναστα άτομα εξετάστηκε η επίδραση ενός προπονητικού προγράμματος 6 εβδομάδων που περιλάμβανε 2 φορές την εβδομάδα διαλειμματικό τρέξιμο (6-5 επαναλήψεις \times 1-3 min στο 70-80% $VO_2\max$ με διάλειμμα 1 min στο 50% $VO_2\max$) και 1 φορά συνεχόμενο στο 60% $VO_2\max$ για 45min, στα επίπεδα mRNA του PGC-1 και των PPAR (Russel et al., 2003). Οι μετρήσεις μετά τη προπόνηση έδειξαν αύξηση του mRNA του PGC-1 κατά 2,7 φορές και του PPARα κατά 2,2 φορές, ενώ τα mRNA των PPARγ και PPARβ/δ δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά. Οι πρωτεΐνες των παραπάνω παραγόντων αυξήθηκαν με παρόμοιο τρόπο, ενώ ενδιαφέρον είχε η κατανομή τους στα διάφορα είδη μυϊκών ινών. Συγκεκριμένα, ο PGC-1 είχε πιο έντονη παρουσία στις ίνες τύπου Ια, ενώ ο PPARα στις ίνες τύπου Ι. Ωστόσο, το βασικό μειονέκτημα της μελέτης είναι ότι δεν συμπεριέλαβε στο σχεδιασμό της ομάδα ελέγχου.

Οι Goto και συνεργάτες (2000) προσπάθησαν να συγκρίνουν τις προσαρμογές που επιφέρει στον epitrochlearis μυ επιμύων δίωρη κολύμβηση για 3 ή 7 μέρες σε σύγκριση με την απλή βύθιση σε νερό 35 °C για ίδιο χρόνο. Μετά από προπόνηση 3 ημερών το mRNA του PGC-1 αυξήθηκε κατά 154%, ενώ μετά από 7 ημέρες κατά 163%. Στην ομάδα που δεν ασκήθηκε και απλά παρέμενε στο νερό δεν παρατηρήθηκε καμιά μεταβολή.

Η επίδραση της διάρκειας και της έντασης ενός προπονητικού προγράμματος στα επίπεδα της πρωτεΐνης του PGC-1 ήταν το αντικείμενο μιας άλλης μελέτης με δείγμα επίμυες (Taylor et al., 2005). Το πρόγραμμα διήρκεσε αρχικά 25 μέρες, με ενδιάμεσες μετρήσεις την 4^η, 11^η και 25^η μέρα, και περιλάμβανε συνεχόμενο τρέξιμο 60 min, 2 φορές την ημέρα (ταχύτητα 27 m/min), 5 φορές την εβδομάδα. Την 25^η μέρα οι επίμυες χωρίστηκαν σε 2 ομάδες, από τις οποίες η μια συνέχισε το συνεχόμενο τρέξιμο για άλλες 28 μέρες, ενώ η άλλη άλλαξε την προπόνηση σε διαλειμματική (ταχύτητα 54 m/min, διάρκεια 30 s-2 min, διάλειμμα 2πλάσιας διάρκειας και ταχύτητας 13.5 m/min) και την ακολούθησε για το ίδιο διάστημα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η πρωτεΐνη του PGC-1 συνέχισε να αυξάνεται ως και την τελευταία μέρα του προγράμματος και η διαφορά ήταν στατιστικά σημαντική τόσο στην περίπτωση της συνεχόμενης όσο και στη περίπτωση της διαλειμματικής άσκησης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, στις ίνες βραδείας συστολής. Στις ίνες ταχείας συστολής του τετρακεφάλου, ωστόσο, μόνο η διαλειμματική προπόνηση κατάφερε να αυξήσει σημαντικά την πρωτεΐνη.

Σε μια άλλη μελέτη με επίμυες (Chow et al., 2007) εξετάστηκε κατά πόσο οι μιτοχονδριακές προσαρμογές, εκφραζόμενες ως ποσότητα mtDNA, συμβαδίζουν με προσαρμογές στους μεταγραφικούς παράγοντες που καθορίζουν τη μιτοχονδριακή βιογένεση. Το προπονητικό πρόγραμμα διήρκεσε 8 εβδομάδες και αποτελείτο από διαλειμματικό τρέξιμο σε δαπεδοεργόμετρο με ένταση 80% VO_{2peak} και συχνότητα 5 φορές την εβδομάδα. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το mtDNA αυξήθηκε ανάλογα με το mRNA του TFAM και την πρωτεΐνη του PGC-1. Το γεγονός ότι δεν ανιχνεύθηκαν σημαντικές διαφορές σε ό,τι αφορά το mRNA του PGC-1 πιθανότατα σχετίζεται με τη χρονική στιγμή της δειγματοληψίας (24 h μετά την τελευταία συνεδρία άσκησης) ή να φανερώνουν πραγματικά ότι η προπόνηση επηρέασε κυρίως τη φάση της μετάφρασης και όχι τη φάση της μεταγραφής.

Η επίδραση της αερόβιας προπόνησης στις συγκεντρώσεις πρωτεΐνης των PPAR α , γ και δ στο ήπαρ, στους μύες και στο λιπώδη ιστό επίμυων, καθώς και η ικανότητα του PPAR γ να δεσμεύει το DNA (σημαντική για την αντίσταση στην ινσουλίνη) διερευνήθηκε από τους Petridou και συνεργάτες (2007). Το προπονητικό πρόγραμμα διήρκεσε 8 εβδομάδες και περιλάμβανε εκούσιο τρέξιμο σε τροχό τουλάχιστον 2 km την ημέρα, ενώ η ομάδα ελέγχου απείχε από άσκηση. Στο γαστροκνήμιο μυ δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές για καμία από τις πρωτεΐνες, ενώ ο λιπώδης ιστός ήταν ο μόνος στον οποίο σημειώθηκε αυξημένη ικανότητα του PPAR γ να δεσμεύει το DNA.

Η πρόσφατη μελέτη των Norrbohm και συνεργατών (2010) προσθέτει στοιχεία για το ρόλο μεταγραφικών παραγόντων στη διαδικασία της μιτοχονδριακής βιογένεσης σε ανθρώπους μετά από αερόβια προπόνηση. Συγκεκριμένα, οι τιμές ηρεμίας της πρωτεΐνης του TFAM εμφανίστηκαν αυξημένες σε αθλητές αντοχής υψηλού επιπέδου (VO_{2max} 64-77 ml/kg/min) σε σύγκριση με μέτρια γυμνασμένα άτομα (VO_{2max} 36-56 ml/kg/min), κάτι που δεν συνοδεύτηκε ωστόσο από υψηλότερες τιμές mRNA. Παράλληλα, μετά από προπόνηση διάρκειας 10 ημερών (4 φορές την εβδομάδα) που περιλάμβανε 2 x 45 min εκτάσεις γόνατος δεν παρατηρήθηκε σημαντική μεταβολή στα επίπεδα mRNA του TFAM. Οι ερευνητές αποδίδουν το εύρημα αυτό στη μικρή διάρκεια της άσκησης (45 min) σε σύγκριση με άλλες μελέτες (Pilegaard et al., 2003). Αντίθετα, σε δυο άλλους μεταγραφικούς παράγοντες, τους TFB1M και TFB2M, οι οποίοι ενδέχεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στη μιτοχονδριακή προσαρμογή, παρατηρήθηκαν υψηλές τιμές mRNA στους αθλητές υψηλού επιπέδου και μετά από την προαναφερθείσα προπόνηση μόνο στη περίπτωση που το πόδι ασκήθηκε με περιορισμένη αιματική ροή μέσω της εφαρμογής πίεσης. Τέλος, η μελέτη αναφέρεται και στις ανταποκρίσεις ενός άλλου παράγοντα, του mTERF (mitochondrial transcription termination factor), ο οποίος πιθανότατα ελέγχει τον τερματισμό της μεταγραφής του mtDNA και του οποίου οι τιμές mRNA ήταν αυξημένες στους αθλητές υψηλού επιπέδου και δεν μεταβλήθηκαν σημαντικά μετά τη προπονητική παρέμβαση.

Μια αξιολογή προσπάθεια για τη σύγκριση της αποτελεσματικότητας δύο διαφορετικών τύπων αερόβιας προπόνησης σε ανθρώπους έγινε στη μελέτη των Burgomaster και συνεργατών (2008). Το κύριο χαρακτηριστικό των προπονητικών προγραμμάτων, που διεξήχθησαν στο ποδήλατο και διήρκεσαν 6 εβδομάδες, ήταν ότι διέφεραν σημαντικά ως προς τον όγκο και την ένταση. Συγκεκριμένα, το ένα ήταν διαλειμματική προπόνηση έντασης 500 W περίπου και περιλάμβανε 4-6 επαναλήψεις x 30 s με διάλειμμα 4,5 min, ενώ το δεύτερο ήταν η κλασική συνεχής μέθοδος υπομέγιστης έντασης (150 W περίπου, που αντιστοιχούσε στο 65% VO_{2peak}) και διάρκειας 40-60 min. Το πρώτο είχε συχνότητα 3 φορές την εβδομάδα με μέσο εβδομαδιαίο χρόνο άσκησης 1.5 h (μαζί με την αποκατάσταση) και όγκο 225 kJ, ενώ το δεύτερο 5 φορές την εβδομάδα, μέσο εβδομαδιαίο χρόνο άσκησης 4.5h και όγκο 2250 kJ.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η διαλειμματική προπόνηση επέφερε παρόμοιες προσαρμογές με την παραδοσιακή συνεχή μέθοδο σε δείκτες που αφορούσαν το μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπών. Στην προσπάθεια να διερευνηθεί η γονιδιακή βάση αυτών των προσαρμογών, εξετάστηκε η επίδραση των προγραμμάτων στην ποσότητα της πρωτεΐνης του PGC-1. Η εξίσου σημαντική αύξηση του συνενεργοποιητή και με τα δύο είδη προπόνησης οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πιθανότατα η αποτελεσματικότητα δύο τόσο διαφορετικών τύπων προπόνησης επιτυγχάνεται μέσω του ίδιου σηματοδοτικού μονοπατιού. Διεξοδική ανάλυση για την αποτελεσματικότητα της υπερμέγιστης διαλειμματικής προπόνησης, με αναφορές στα σηματοδοτικά μονοπάτια μέσω των οποίων επιδρά στη γονιδιακή έκφραση, μπορεί να βρει ο αναγνώστης στην ανασκόπηση των Gibala & McGee (2008).

Σχόλια και συζήτηση

Τα μηχανικά ερεθίσματα της αερόβιας άσκησης και προπόνησης προκαλούν διαταραχές στην ομοιοστασία του μυϊκού κυττάρου, οι οποίες μας δίνουν τη δυνατότητα να μελετήσουμε τους μηχανισμούς και τα σηματοδοτικά μονοπάτια μέσω των οποίων επηρεάζεται η έκφραση γονιδίων που ευθύ-

νονται για τη μιτοχονδριακή βιογένεση. Από αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια, σημαντικότερα είναι εκείνα που ξεκινούν από την αύξηση της συγκέντρωσης του Ca^{2+} και ενζύμων που εξαρτώνται από αυτό, από τη μείωση του ATP και την άνοδο των ADP και AMP (αλλαγές που ενεργοποιούν την AMPK), καθώς και από την παραγωγή ROS. Τα σηματοδοτικά αυτά μονοπάτια τροποποιούν μια σειρά από πρωτεΐνες (όπως οι PGC-1, PPAR, NRF-1 και TFAM) που ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών και παίζουν καθοριστικό ρόλο στη μιτοχονδριακή βιογένεση.

Οι περισσότερες μελέτες με οξεία αερόβια άσκηση έχουν δείξει αύξηση του mRNA και της πρωτεΐνης του PGC-1 κατά την αποκατάσταση, με διαφοροποιήσεις σχετικά με το μέγεθος και τη χρονική στιγμή της κορύφωσης. Γι' αυτό το λόγο, η λήψη δειγμάτων ως και 48 h μετά την άσκηση εξασφαλίζει μια πιο ολοκληρωμένη εικόνα αναφορικά με την κινητική του συνενεργοποιητή. Παρόμοια είναι τα αποτελέσματα και για τους NRF-1, PPAR γ και TFAM. Η επίδραση της άσκησης είναι πιο έντονη σε ήδη προπονημένους μύες και πιθανώς σε συνθήκες υποξίας, ενώ δε διαφέρει μεταξύ αθλητών αντοχής και δύναμης. Παράλληλα, υπάρχουν ενδείξεις ότι η έντονη διαλειμματική άσκηση διάρκειας 30 s στο ποδήλατο μπορεί να επηρεάσει τη γονιδιακή έκφραση του PGC-1 και να συμβάλει στη μιτοχονδριακή βιογένεση.

Όταν οι προσαρμογές στην αερόβια άσκηση εδραιώνονται μέσω της προπόνησης, η υπεροχή των αθλητών αντοχής στην ποσότητα mRNA μιτοχονδριακών μεταγραφικών παραγόντων είναι δεδομένη. Οι περισσότερες μελέτες εξέτασαν την επίδραση της προπόνησης στα επίπεδα είτε mRNA είτε πρωτεΐνης του PGC-1 και των PPAR και βρήκαν ότι επηρεάζονται θετικά, με διαφοροποιήσεις ως προς το μέγεθος και το χρόνο. Η διαλειμματική προπόνηση ίσως υπερέρχει της συνεχούς στην προώθηση της μιτοχονδριακής βιογένεσης. Τέλος, η υπερμέγιστη διαλειμματική προπόνηση μικρού όγκου στο ποδήλατο μπορεί να επηρεάσει τη γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών το ίδιο αποτελεσματικά με την παραδοσιακή προπόνηση αντοχής συνεχόμενου τύπου και μέτριας έντασης.

Πρακτικές εφαρμογές και προτάσεις

Το συνεχώς αυξανόμενο ενδιαφέρον των ερευνητών για την επίδραση της άσκησης στη γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών συμβάλλει στον εμπλουτισμό της βασικής γνώσης γύρω από τα μοριακά γεγονότα που οδηγούν στις μυϊκές προσαρμογές. Επιπλέον, οι πληροφορίες αυτές μπορούν να αξιοποιηθούν στο πλαίσιο της πρόληψης της γήρανσης και ασθενειών, καθώς τα μιτοχόνδρια αποτελούν οργανίδια στα οποία συντελούνται κρίσιμης σημασίας διεργασίες για τη ζωή του κυττάρου και του οργανισμού. Ειδικότερα, η πρόληψη ασθενειών μπορεί να περιλαμβάνει, εκτός από την άσκηση, τη φαρμακευτική παρέμβαση ή και την αλληλεπίδραση των δυο.

Προτάσεις για μελλοντικές έρευνες

Θέματα προς διερεύνηση αποτελούν:

α) Ο τρόπος που επδρούν στη γονιδιακή έκφραση μιτοχονδριακών πρωτεϊνών διάφορα είδη προπονητικών ερεθισμάτων με ποικιλία έντασης, διάρκειας και συχνότητας, καθώς και οι μακροχρόνιες επιδράσεις τους.

β) Η επίδραση των ROS στη μιτοχονδριακή βιογένεση και το επιθυμητό επίπεδο, πάνω από το οποίο ασκούν καταστροφική επίδραση στο κύτταρο.

γ) Η αλληλεπίδραση (συνέργεια, ανταγωνισμός;) των μεταγραφικών παραγόντων που ελέγχουν τη μιτοχονδριακή βιογένεση.

δ) Η επίδραση της άσκησης στην σταθερότητα του mRNA και τη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών.

Σημασία για την Ποιότητα Ζωής

Η παρούσα ανασκόπηση δίνει πολύτιμες πληροφορίες για τη φύση των προσαρμογών των μιτοχονδρίων, των οργανιδίων όπου συντελείται η αναπνοή των κυττάρων και γεγονότα που σχετίζονται με τη βιωσιμότητα του οργανισμού. Η αξιοποίησή τους από την αθλητική και ιατρική επιστήμη είτε για τη βελτίωση της φυσικής κατάστασης είτε για την πρόληψη της γήρανσης και ασθενειών μπορεί να συντελέσει σημαντικά στη βελτίωση της ποιότητας ζωής του σύγχρονου ανθρώπου.

Βιβλιογραφία

- Azarashvily, T.S., Tyynela, J., Baumann, M., Evtodienko, Y.V., & Saris, N.L. (2000). Ca²⁺-modulated phosphorylation of a low-molecular-mass polypeptide in rat liver mitochondria: evidence that it is identical with subunit c of F₀F₁-ATPase. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 270, 741-744.
- Baar, K., Wende, A.R., Jones, T.E., Marison, M., Nolte, L.A., Chen, M., et al. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB Journal*, 16, 1879 - 1886.
- Biswas, G., Adebajo, O.A., Freedman, B.D., Anandatheerthavarada, H.K., Vijayasathy, C., Zaidi, M., et al. (1999). Retrograde Ca²⁺ signaling in C2C12 skeletal myocytes in response to mitochondrial genetic and metabolic stress: a novel model of inter-organelle crosstalk. *EMBO Journal*, 18, 522-533.
- Burgomaster, K.A., Howarth, K.R., Phillips, S.M., Rakobowchuk, M., MacDonald, M.J., McGee, S.L., et al. (2008). Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *Journal of Physiology*, 586(1), 151-160.
- Chance, B., Sies, H., & Boveris, H. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, 59, 527-605.
- Chen, G., Carroll, S., Racay, P., Dick, J., Pette, D., Traub, I., et al. (2001). Deficiency in parvalbumin increases fatigue resistance in fast-twitch muscle and upregulates mitochondria. *American Journal of Physiology*, 281, 114-122.
- Chin, E.R. (2004). The role of calcium and calcium/calmodulin-dependent kinases in skeletal muscle plasticity and mitochondrial biogenesis. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63, 279-286.
- Chin, E.R. & Allen, D.G. (1996). The role of elevations in intracellular [Ca²⁺] in the development of low frequency fatigue in mouse single muscle fibres. *Journal of Physiology*, 491(3), 813-824.
- Chin, E.R., Grange, R.W., Viau, F., Simard, A.R., Humphries, C., Shelton, J., et al. (2003). Alterations in slow-twitch muscle phenotype in transgenic mice overexpressing the Ca²⁺ buffering protein parvalbumin. *Journal of Physiology*, 547(2), 649-663.
- Chow, L.S., Greenlund, L.J., Asmann, Y.W., Short, K.R., McCrady, S.K., Levine, J.A., et al. (2007). Impact of endurance training on murine spontaneous activity, muscle mitochondrial DNA abundance, gene transcripts, and function. *Journal of Applied Physiology*, 102, 1078-1089.
- Coffey, V.G., Shield, A., Canny, B.J., Carey, K.A., Smith, D.C., Hawley, J.A. (2006). Interaction of contractile activity and training history on mRNA abundance in skeletal muscle from trained athletes. *American Journal of Physiology. Endocrinology & Metabolism*, 290, 849-855.
- Davies, K.J., Packer, L., & Brooks, G.A. (1981). Biochemical adaptation of mitochondria, muscle, and whole-animal respiration to endurance training. *Arch Biochem Biophys*, 209, 539-554.
- Delp, M.D., & Pette, D. (1994). Morphological changes during fiber type transitions in low-frequency-stimulated rat fast-twitch muscle. *Cell & Tissue Research*, 277, 363-371.
- Evans, M.J., & Scarpulla, R.C. (1989). Interaction of nuclear factors with multiple sites in the somatic cytochrome c promoter. *Journal of Biological Chemistry*, 264, 14361-14368.
- Ferré, P. (2004). The biology of peroxisome proliferator-activated receptors. Relationship with lipid metabolism and insulin sensitivity. *Diabetes*, 53, 43-50.
- Fitts, R.H., Booth, F.W., Winder, W.W., & Holloszy, J.O. (1975). Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *American Journal of Physiology*, 228, 1029-1033.
- Freyssenet, D., Connor, M.K., Takahashi, M., & Hood, D.A. (1999). Cytochrome c transcriptional activation and mRNA stability during contractile activity in skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology & Metabolism*, 277, 26-32.
- Gibala, M.J., & McGee, S.L. (2008). Metabolic Adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain? *Exercise & Sport Science Reviews*, 36, 58-63.
- Gibala, M.J., McGee, S.L., Garnham, A.P., Howlett, K.F., Snow, R.J., & Hargreaves, M. (2009). Intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1α in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 106, 929-934.
- Goto, M., Terada, S., Kato, M., Katoh, M., Yokozeki, T., Tabata, I., et al. (2000). cDNA Cloning and mRNA analysis of PGC-1 in

- epitrochlearis muscle in swimming-exercised rats. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 274, 350-354.
- Gurnell, M. (2005). Peroxisome proliferator-activated receptor γ and the regulation of adipocyte function: lessons from human genetic studies. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 19, 501-23.
- Holloszy, J.O. (1967). Biochemical adaptations in muscle. *Journal of Biological Chemistry*, 242, 2278-2282.
- Holloszy, J.O. (2008). Regulation by exercise of skeletal muscle content of mitochondria and GLUT4. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 59, 5-18.
- Holmes, B.F., Sparling, D.P., Olson, A.L., Winder, W.W., & Dohm, G.L. (2008). Regulation of muscle GLUT4 enhancer factor and myocyte enhancer factor 2 by AMP-activated protein kinase. *American Journal of Physiology*, 289, 1071-1076.
- Hood, D.A. (2001). Contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 90, 1137-1157.
- Hood, D.A., Simoneau, J.A., Kelly, A.M., & Pette, D. (1992). Effect of thyroid status on the expression of metabolic enzymes during chronic stimulation. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 263, 788-793.
- Irrcher, I., Adhietty, P.J., Joseph, A.M., Ljubic, V., & David, A.H. (2003). Regulation of mitochondrial biogenesis in muscle by endurance exercise. *Sports Medicine*, 33, 783-793.
- Jahnke, V.E., Sabido, O., & Freyssenet, D. (2009). Control of mitochondrial biogenesis, ROS level, and cytosolic Ca^{2+} concentration during the cell cycle and the onset of differentiation in L6E9 myoblasts. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 296, 1185-1194.
- Jorgensen, S.B., Richter, E.A., & Wojtaszewski, J.F.P. (2006). Role of AMPK in skeletal muscle metabolic regulation and adaptation in relation to exercise. *Journal of Physiology*, 574, 17-31.
- Lee, H.C., & Wei, Y.H. (2005). Mitochondrial biogenesis and mitochondrial DNA maintenance of mammalian cells under oxidative stress. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37, 822-834.
- Leeuw, T., & Pette, D. (1993). Coordinate changes in the expression of troponin subunit and myosin heavy-chain isoforms during fast-to-slow transition of low-frequency-stimulated rabbit muscle. *European Journal of Biochemistry*, 213, 1039-1046.
- Lehman, J.J., Barger, P.M., Kovacs, A., Saffitz, J., Medeiros, D.M., & Kelly, D.P. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptor coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *Journal of Clinical Investigation*, 106, 847-856.
- Lin, J., Wu, H., Tarr, P.T., Zhang, C.Y., Wu, Z., Boss, O., et al. (2002). Transcriptional coactivator PGC-1 α drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, 418, 797-801.
- Luquet, S., Lopez-Soriano, J., Holst, D., Fredenrich, A., Melki, J., Rassoulzadegan, M., et al. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor δ controls muscle development and oxidative capability. *FASEB Journal*, 17, 2299-301.
- Mahoney, D.J., Parise, G., Melov, S., Safdar, A., & Tarnopolski, M.A. (2005). Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *FASEB Journal*, 19, 1498-500.
- McCormack, J.G., & Denton, R.M. (1994). Signal transduction by intramitochondrial Ca^{2+} in mammalian energy metabolism. *News in Physiological Sciences*, 9, 71-76.
- Murakami, T., Shimomura, Y., Yoshimura, A., Sokabe, M., Fujitsuka, N. (1998). Induction of nuclear respiratory factor-1 expression by an acute bout of exercise in rat muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1381, 113-122.
- Μουγιός, Β. (2008). *Βιοχημεία της άσκησης*. Θεσσαλονίκη: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη.
- Nisoli, E., Clementi, E., Paolucci, C., Cozzi, V., Tonello, C., Sciorati, C., et al. (2003). Mitochondrial biogenesis in mammals: the role of endogenous nitric oxide. *Science*, 299, 896-899.
- Norrbom, J., Sundberg, C.J., Ameln, H., Kraus, W.E., Jansson, E., & Gustafsson, T. (2004). PGC-1 α mRNA expression is influenced by metabolic perturbation in exercising human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 96, 189-194.
- Norrbom, J., Wallman, S.E., Gustafsson, T., Rundqvist, H., Jansson, E., & Sundberg, C.G. (2010). Training response of mitochondrial transcription factors in human skeletal muscle. *Acta Physiologica*, 198, 71-79.
- Ojuka, E.O., Jones, T.E., Han, D.H., Chen, M., & Holloszy, J.O. (2003). Raising Ca^{2+} in L6 myotubes mimics effects of exercise on mitochondrial biogenesis in muscle. *FASEB Journal*, 17, 675-681.

- Ojuka, E.O., Jones, T.E., Han, D.H., Chen, M., Wamhoff, B.R., Sturek, M., et al. (2002). Intermittent increases in cytosolic Ca²⁺ stimulate mitochondrial biogenesis in muscle cells. *American Journal of Physiology. Endocrinology & Metabolism*, 283, 1040-1045.
- Ordway, G.A., Kang, L., Gregory, K.L., Hand, G.A., & Williams, R.S. (1993). RNA subunit of mitochondrial RNA-processing enzyme is induced by contractile activity in striated muscle. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 265, 1511-1516.
- Petridou, A., Tsalouhidou, S., Tsalis, G., Schulz, T., Michna, H., & Mougios, V. (2007). Long-term exercise increases the DNA binding activity of peroxisome proliferator-activated receptor γ in rat adipose tissue. *Metabolism: Clinical & Experimental*, 56, 1029-1036.
- Pilegaard, H., Saltin, B., & Nuefer, P.D. (2003). Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 546(3), 851-858.
- Puigserver, P., Wu, Z., Park, C.W., Graves, R., Wright, M., & Spiegelman, B.M. (1998). A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell*, 92, 829-839.
- Puntschart, A., Claassen, H., Jostarndt, K., Hoppeler, H., & Billeter, R. (1995). mRNAs of enzymes involved in energy metabolism and mtDNA are increased in endurance trained athletes. *American Journal of Physiology*, 269, 619-625.
- Reichmann, H., Hoppeler, H., Mathieu-Costello, O., von Bergen, F., & Pette, D. (1985). Biochemical and ultrastructural changes of skeletal muscle mitochondria after chronic electrical stimulation in rabbits. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 404, 1-9.
- Russell, A.P., Feilchenfeldt, J., Schreiber, S., Praz, M., Crettenand, A., Gobelet, C., et al. (2003). Endurance training in humans leads to fiber type-specific increases in levels of peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 and peroxisome proliferator-activated receptor- α in skeletal muscle. *Diabetes*, 52, 2874-2881.
- Scarpulla, R.C. (1996). Nuclear respiratory factors and the pathways of nuclear-mitochondrial interaction. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 6, 39-45.
- Suliman, H.B., Carraway, M.S., Welty-Wolf, K.E., Whorton, A.R., & Piantadosi, C.A. (2003). Lipopolysaccharide stimulates mitochondrial biogenesis via activation of nuclear respiratory factor-1. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 41510-41518.
- Taylor, E.B., Lamb, J.D., Hurst, R.W., Chesser, D.G., Ellingson, W.J., Greenwood, L.J., et al. (2005). Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC-1 α protein abundance: effects of time and intensity. *American Journal of Physiology. Endocrinology & Metabolism*, 289, 960-968.
- Terada, S., Goto, M., Kato, M., Kawanaka, K., Shimokawa, T., & Tabata, I. (2002). Effects of low-intensity prolonged exercise on PGC-1 mRNA expression in rat epitrochlearis muscle. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 296, 350-354.
- Vega, R., Huss, J.M., & Kelly, D.P. (2000). The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor α in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Molecular & Cellular Biology*, 20, 1868-1876.
- Virbasius, J.V., & Scarpulla, R.C. (1994). Activation of the human mitochondrial transcription factor A gene by nuclear respiratory factors: a potential regulatory link between nuclear and mitochondrial gene expression in organelle biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91, 1309-1313.
- Wang, Y.X., Zhang, C.L., Yu, R.T., Cho, H.K., Nelson, M.C., Bayuga-Ocampo, C.R., et al. (2004). Regulation of muscle fiber type and running endurance by PPAR δ . *PLoS Biology*, 2, 294.
- Winder, W.W., Holmes, B.F., Rubink, D.S., Jensen, E.B., Chen, M., & Holloszy, J.O. (2000). Activation of AMP-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 88, 2219-2226.
- Wu, Z., Puigserver, P., Andersson, U., Zhang, C., Adelmant, G., Mootha, V., et al. (1999). Mechanisms controlling mitochondrial biogenesis and respiration through the thermogenic coactivator PGC-1. *Cell*, 98, 115-124.

