

## TREENINGU KOORMUSE VAHETU MÕJU HINDAMINE LIHASRAKU MEMBRAANI PERMEAABLUSELE LÄBI MADALAMOLEKULAARSETE VALGUKOMPONENTIDE DETEKTEERIMISE VERES

### Problemaatika

Lihasspetsiifiliste valgukomponentide uurimisspetsiifika vereproovides on seotud nende madala kontsentratsiooni, vereringesse vabanemise kiiruse ja stabiilsuse dünaamikaga veres. Levinud praktika lihasraku(rakkude) koormuspuhuse kahjustuse hindamiseks on läbi kreatiini kinaasi (CK) taseme veres. Tsütosooli valkude (CK, müoglobiin) kasutamisel lihasraku kahjustuse markeritena on olulised limiteerivad faktorid, mis ei luba nii kontsentratsiooniliste kui vereringesse vabanemise ajalise dünaamika näitajaid otseselt siduda lihaskoe kahjustuse ulatuse ning rakutüübi spetsiifikaga. Hindamaks koormuse ja koormusjärgse taastumisperioodi mõju on oluline hinnata kontraktiilse aparadi seisundit läbi lihasraku struktuursete ja reguleerivate valkude komponentide vabanemise vereringesse. Nimetatud valkude ilmumine veres annab otsest informatsiooni lihasraku kokkutõmbeaparadi molekulaarse destruktsiooni kohta, mida CK diagnostika ei võimalda. Samuti on oluline meetodiline aspekt, et kontraktiilsete valkude isovormiline kompositsioon võimaldab hinnata võimalikku lihasdestruktsiooni liharakkude tüübi spetsiifiliselt. CK diagnostika annab vastuse CK vabanemise kohta lihakoest vereringesse üldiselt, kuid mitte lihasraku tüübipõhise selektiivse kahjustuse kohta.

### Metoodika

#### *Koormustestid*

Projekti perioodi jooksul viidi läbi koormustestid 12 vaatlusalusel. Vaatlusalusteks olid jalgratturid ja triatleedid, keda testiti veloergomeetril. Kogu protsess koosnes kahest testist. Esimesel, kasvavate koormustega testil, määrati vaatlusalustel individuaalne reaktsioon erinevatel koormusintensiivustel ning koguti veenivereproovid, millest eraldati vereplasma ning töödeldi, säilitamiseks proove edasisteks testimisteks ja hoiustati -80 kraadi juures.

48 - 72 tunni möödudes sooritasid vaatlusalused stresstesti, milleks oli 40 km *time-trial* veloergomeetril ehk vaatlusalune läbis 40 km nii kiiresti kui võimalik. Antud test sooritati kuumas keskkonnas, mille puhul temperatuur oli 34 kraadi. Peale testi lõppu koguti ka selles testis vereproovid ning töödeldi sarnaselt kasvavate koormustega testijärgse veretötlusega.

Kokku koguti verd edasiseks metoodika arendamiseks 12 vaatlusaluselt, mis esmaseks metoodika arendamiseks oli piisav. Kõik verematerjal töödeldi ja säilitati edasisteks analüüsideks.

### *Vereanalüüsid*

Analüüsiti 12 vaatlusaluse vereproove, mis seisnes valgufraktsiooni eraldamises ja puhastamises, kontsentreerimises, valgusalduse määramises ning elektroforeetilises lahutamises ja valgubandide detekteerimises.

Antud rakendusuuringu puhul oli vaatluse all müosiini raskete ja kergete ahelate ning reguloorse valgu troponiin I isovormide koormusjärgne ilmumine vereringes. Ei ole täpselt teada, milline on erinevate markerite ja potentsiaalsete markerite vereringesse vabanemise dünaamika ning kontsentratsiooni taseme seosed. Saame öelda, et lihasraku peene filamendi valkude isovormid (TnI) vabanevad lihasraku kahjustuse puhul vereringesse kiiresti, tõenäoliselt juba pika-ajalise (ca 1 tund ja kauem) koormuse käigus. Seniste andmete alusel saame ka eeldada, et lihasvalkude komponendid on veres võrreldes tsütosooli valkudega stabiilsema iseloomuga (detekteeritavad pikema perioodi jooksul), mis võib koormuse monitooringu seisukohalt olla informatiivne näitaja, kuna reaalses spordipraktikas ei ole alati võimalik välitingimustes vereproove võtta ja nõuetekohaselt säilitada. Täpsem struktuur- ja reguloorsete valkude vereringesse vabanemise ja utiliseerimise dünaamika selgitamine ning seoste leidmine koormuse määra, eelkõige on spordipraktika seisukohalt võtmetähtsusega akumulatsioonide koormuste mõju, ning iseloomuga nõuab jätkuvaid uuringuid ja uurimismaterjali mõningast laiendamist.

Analüüsiti 12 vaatlusaluse vereproove, mis seisnes valgufraktsiooni eraldamises ja puhastamises, kontsentreerimises, valgusalduse määramises ning elektroforeetilises lahutamises ja valgubandide detekteerimises. Selgitamiseks uuringuks vajalikku vereplasma/seerumi kogust analüüsiti vaatlusaluste vereproove kolmel korral erinevatest valgukontsentratsioonidest lähtuvalt. Uuritavate vereproovide analüüsides eelselt toimus marker- ja lihaskoest eraldatud valkude kaudu geelisüsteemi ja elektroforeesi tingimuste optimeerimine optimaalse valkude eraldamise ja kasutatavate valgukontsentratsioonide selgitamiseks.

### **Tulemused**

Meie uuringutulemused lubavad väita, et skeletilihasraku peene filamendi valgud, eriti TnI ja selle raku-spetsiifilised isovormid on oma vereringesse vabanemise dünaamika ja stabiilsuse poolest võrdlemisi heaks lihasraku kahjustuse hindamise markeriks. Uurimis- ja määramismetoodiliselt on raskendavaks asjaoluks markeri madal kontsentratsioon veres, mis nõuab täiendavat määramismetoodika optimeerimist. Lihas-spetsiifiliste komponentide kontsentratsioon veres sõltub omakorda lihasrakkude kahjustuse ulatusest ja etioloogiast. Samas on lihasraku peene filamendi valkude ja nende rakuspetsiifiliste isovormide kui potentsiaalsete ülekoormuspuhuste rakukahjustuse markerite eelis tsütosoolivalkude ees asjaolu, et nende kaudu on võimalik hinnata

Spordimeditsiini SA  
(Liikumistervise innovatsiooni klaster EU493O4)

koormuse ülemäärast mõju otseselt lihasrakkude kontraktilisele aparaadile, mitte lihaskoele abstraktselt ning läbi valkude isovormide hinnata lihasraku-spetsiifiliste komponentide ilmnamist vereringes rakutüübi spetsiifiliselt. Sarnaselt tsütosooli valkude kasutamisega lihasraku kahjustuse markeritena on ka kontraktilise aparaadi struktuuride detekteerimine vereringes kvalitatiivse iseloomuga ning uurimisalused (sportlased) ei tohi olla mõjutatud kaasuvatest mõjuritest (traumad, lihashaigused), mille puhul ei saa eristada koormuse ja näiteks traumade poolt esilekutsutud lihasraku kahjustust.

### **Olulisus**

Rakendusuuringu kasu on eelkõige seotud meetodikas täpsema koormuse seismise külje hindamisega, mille väljundiks on efektiivsem monitooringu vahend ületreenimise vältimiseks nii sportlastel kui ka populatsioonis üldiselt, mis omakorda vähendab aktiivsest spordist võimalikku väljakukkumist ning passiivse elustiili osakaalu suurenemist. Seega on klastrile siin eelkõige kasu kitsamas võtmes neile, klasteri liikmetele, kelle teenuse tarbija on aktiivne sportlane. Laiemas mõttes on kasu aga seotud klasteri üldise eesmärgiga, milleks on elukeskkonna rikkuse kasvatamine läbi liikumistervise ja sellega seotud valdkondadega.

### **Kokkuvõte:**

**Hindamiseks koormuse ja koormusjärgse taastumisperioodi mõju on oluline hinnata kontraktilise aparaadi seisundit läbi lihasraku struktuursete ja reguleerivate valkude komponentide vabanemise vereringesse. Nimetatud valkude ilmnamine veres annab otsest informatsiooni lihasraku kokkutõmbeparaadi molekulaarse destruktsiooni kohta, mida CK diagnostika ei võimalda. Meie uuringutulemused lubavad väita, et skeletilihasku peene filamenti valgud, eriti TnI ja selle raku-spetsiifilised isovormid on oma vereringesse vabanemise dünaamika ja stabiilsuse poolest võrdlemisi heaks lihasraku kahjustuse hindamise markeriks.**

**Töö koordineerija ja kokkuvõtte koostaja:** Jarek Mäestu (Tartu Ülikool)