

# Testedzés hatása a bél simaizmaira

Doktori értekezés

**Bakonyi Péter**

Magyar Testnevelési és Sporttudományi Egyetem  
Sporttudományok Doktori Iskola



MAGYAR TESTNEVELÉSI  
ÉS SPORTTUDOMÁNYI  
EGYETEM  
BUDAPEST

Témavezető: Dr. Radák Zsolt, egyetemi tanár, DSc

Hivatalos bírálók: Dr. Pankotai Tibor, egyetemi adjunktus, PhD

Bartusné Dr. Szmodis Márta, egyetemi tanár, PhD

Budapest

2024

*„Azt mondják, minél többet tud az ember, annál inkább rájön, hogy mennyi mindent  
nem tud még.”*

*Arisztotelész*

## Tartalom

<b>Rövidítések jegyzéke .....</b>	<b>5</b>
<b>Ábrajegyzék .....</b>	<b>8</b>
<b>Táblázatok jegyzéke .....</b>	<b>10</b>
<b>1. Bevezetés.....</b>	<b>11</b>
<b>2. Irodalmi áttekintés .....</b>	<b>15</b>
2.1. A gasztrointesztinális rendszer élettanának rövid áttekintése.....	15
2.2. A sportmozgás és a bélrendszer kapcsolata .....	18
2.3. Bél-(mikrobiom-)agy tengely .....	20
2.4. Mikro ribonukleinsavak szerepe a bélrendszer működésében.....	21
2.5. Elektromiográfia (EMG) mérési módszerek.....	22
2.6. Reaktív oxigén szabadgyök (ROS).....	25
2.7. Caveolák .....	32
<b>3. Célkérdések .....</b>	<b>34</b>
<b>4. Anyag és módszer .....</b>	<b>36</b>
4.1. Vizsgálati módszer választásának szempontjai .....	36
4.2. Önkéntes testmozgás vizsgálata állat modellen.....	37
4.2.1. Vizsgálati állatok.....	37
4.2.2. Morris maze teszt .....	39
4.3. Fiziológiai tesztek állat modellen .....	39
4.3.1. Maximális oxigénfelvétel mérése (VO <sub>2</sub> max).....	39
4.3.2. Vita maxima teszt és tejsav mérés.....	41
4.3.3. Elektromiográf (EMG) mérés .....	41
4.4. Biokémiai változások detektálására használt módszerek állat modellen.....	44
4.4.1. Western blot molekuláris biológiai eljárás.....	44
4.4.2. Mitokondriális, citoszolikus és nukleáris frakciók preparálása .....	47

4.4.3. Reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelődés vizsgálata.....	48
4.4.4. 16sRNS génamplikon szekvenálás .....	48
4.5. Szöveti vizsgálatok állat modellen.....	49
4.5.1. Caveolák transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálata.....	49
4.5.2. Morfológiai mérések .....	50
4.6. Krónikus okklúziós módszer alkalmazása human modellen .....	51
4.6.1. Vizsgálati személyek.....	51
4.6.2. Maximális erő felmérése .....	52
4.6.3. Terhelési protokoll .....	53
4.6.4. Biopszia mintavétel.....	53
4.7. Biokémiai változások detektálására használt módszerek humán modellen.....	53
4.7.1. RNS kitermelés kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR) a mikroRNS átíratok vizsgálatához.....	53
4.8. Statisztikai analízis .....	54
<b>5. Eredmények .....</b>	<b>56</b>
5.1. Önkéntes testmozgást végző állat modell eredményei .....	56
5.1.1 Fiziológiai tesztek eredményei.....	56
5.1.2. Biokémiai mérések eredményei .....	63
5.1.3. Morfológiai mérések eredménye.....	68
5.2. Krónikus okklúziós módszert alkalmazó human modell eredményei .....	73
5.2.1. Biokémiai mérések eredményei .....	73
<b>6. Diskusszió .....</b>	<b>75</b>
6.1. Krónikus okklúziós módszert alkalmazó human modell eredményeinek megbeszélése .....	75
6.2. Önkéntes testmozgást végző állat modell eredményeinek megbeszélése .....	76
<b>7. Következtetések .....</b>	<b>84</b>

7.1. Az önkéntesen végzett testmozgás változást idézhet elő a bél motilitásában.....	84
7.2. Az önkéntes testmozgás befolyásolja a mikrobiomot, megváltoztatni képes annak összetételét .....	84
7.3. Kapcsolat, összefüggés a mikrobiom és a bélmotilitás, azok testmozgás által kiváltott alkalmazkodása, módosulása között.....	85
7.4. Kapcsolat az üres bél biokémiájával kapcsolatosan mért adatok és a mikrobiomnál előforduló baktériumok száma és eloszlása között .....	86
7.5. A krónikus testmozgás képes befolyásolni olyan miRNS-ek mennyiségi összetevőit, melyek a bélrendszerbe eljutva is képesek lehetnek kifejteni pozitív hatásukat .....	87
<b>8. Összefoglalás .....</b>	<b>88</b>
<b>9. Summary .....</b>	<b>90</b>
<b>10. Irodalomjegyzék .....</b>	<b>92</b>
<b>11. Saját publikációk jegyzéke .....</b>	<b>117</b>
<b>12. Köszönetnyilvánítás.....</b>	<b>119</b>

## Rövidítések jegyzéke

1RM	Egy ismétléses maximum
3RM	Három ismétléses maximum
AD	Alzheimer-kór
Akt	Threonin kináz 1
ATP	Adenozin-trifoszfát
BSA	Bovine Szérum Albumin
C	Kontrol
CML	Körkörös izomréteg
CPM	Percenkénti összehúzódás
CS	Citrát szintáz
EGG	Elektrogasztográfia
EMG	Elektromiográfia
eNAMPT	Extracelluláris nikotinamid foszforibosziltranszferáz
eNOS	Endoteliális nitogénmonoxid-szintetáz
FFT	Gyors Fourier-Transzformáció
GI	Gasztrointesztinális
GIT	Gasztrointesztinális traktus
HPLC	Nagy teljesítményű folyékony kromatográfia
IBS	Irritábilis bél szindróma
ICC	Intersticiális Cajal-sejt

IL-1	Interleukin-1
ISP	Szekvenáló gyöngyök
Ku70	Lupus Ku autoantigén fehérje p70
miRNS	Mikro ribonukleinsav
MPTP	1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin
NAD	Nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADH	Nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfát
NAMPT	Nikotinamid foszforiboziltranszferáz
NF- $\kappa$ B	Nukleáris faktor kappa könnyű lánc aktivizálója aktivált B-sejtekben
NO	Nitrogén-monoxid
NRF1	Nukleáris Légzési Faktor
PBS	Foszfát pufferelt sóoldat
PCR	Polimeráz-láncreakció
PGC1 $\alpha$	Peroxiszóma proliferátor aktivált receptor gamma koaktivátor 1 alfa
PsD	Teljesítményspektrum sűrűség
PVDF	Polivinilidén-fluorid
qRT-PCR	Kvantitatív valós idejű polimerációs láncreakciós módszer
ROS	Reaktív oxigén szabadgyök
Rot	Rotenon
SCFA	Rövid láncú zsírsav

SDS-PAGE	Nátrium-dodecil-szulfát-poliakrilamid gélelektroforézis
Sir2	Párhuzamos típusú információ szabályozás elcsendesítő 2
SIRT1	Párhuzamos típusú információ szabályozás elcsendesítő 2 homolog 1
SIRT3	NAD-dependens deacetyláz szirtuin-3
SRF	Szérum válasz faktor
SOD2	Szuperoxid diszmutáz 2
SMC	Legbelső simaizomréteg
TBST	Tris-pufferolt sóoldat-Tween 20
TEM	Transzmissziós elektronmikroszkóp
TENS	Transzkután elektromos idegstimuláció
TNF- $\alpha$	Tumor nekrozis faktor alfa
VE	Önkéntesen edző
VEGF	Vaszkuláris endotheliális növekedési faktor
VIP21	Vezikula integráns fehérje
VO <sub>2</sub> max	Maximális oxigénfelvétel



## Ábrajegyzék

1. ábra: A béltraktus falának szerkezeti felépítése .....	16
2. ábra: Szűcs Kálmán és munkatársai által használt bipoláris elektród pár (Szerző saját ábrája).....	24
3. ábra: Szűcs Kálmán és munkatársai által alkalmazott TENS felületi öntapadós elektródák .....	25
4. ábra: Egymás mellett elhelyezkedő caveolák elektronmikroszkópos nézetből.....	32
5. ábra: Az állatmodelles kutatás nagyságrendi időtervének szemléltetése (Szerző saját ábrája).....	38
6. ábra: VO <sub>2</sub> max mérésére szolgáló zárt rendszerű spiroergometriai eszköz (Szerző saját ábrája).....	40
7. ábra: Az általunk használt TENS elektródok és azok időbeli felhelyezésének sematikus ábrája (Szerző saját ábrája).....	42
8. ábra: EMG mérésére szolgáló tárolók (Szerző saját ábrája).....	43
9. ábra A humán modellen végzett kutatás nagyságrendi időtervének szemléltetése (35782677) .....	52
10. ábra: Munka-, és a referencia memória eredményei Kétirányú ANOVA, C: n=16; VE: n=20 .....	56
11. ábra: Az állatok által megtett távolság napokra lebontva.....	57
12. ábra: Az állatok által megtett távolság heti átlagokra lebontva.....	58
13. ábra: Állatok súlyának a változása .....	59
14. ábra: A VO <sub>2</sub> max szintben jelentkező változások ábrázolása,.....	60
15. ábra: Állatok laktát szint eredménye a Vita Maxima teszt után,.....	61
16. ábra: A kontroll (n=6) és az önkéntesen edzett (n=8) állatok reprezentatív jelei....	62
17. ábra: Állatok simaizmának rögzített EMG jelértékei traktusonként. ....	63
18. ábra: Az általunk mért, vastagbélben előforduló fehérjék változásai és az immunoblot vizsgálatok reprezentatív eredményei az eNOS, SIRT1, PGC1 $\alpha$ , NRF1, Akt1, Nfkb, NAMPT, CS, SIRT3 és Tubulin fehérjék esetében. Az eredményeket a tubulinra normalizáltuk. ....	64
19. ábra: A VE hatása a mitokondriális ROS-termelésre patkány vastagbélben.....	65
20. ábra: A mikrobiom Shannon diverzitási indexe a kontroll és az edző állatok esetében .....	66

21. ábra: A gasztrointesztinális mikrobiom baktérium közösségének relatív abundanciájában bekövetkező változások önkéntes testmozgás hatására Rend (A), Család (B), és Nemzetség (C) szinten .....	67
22. ábra: A VE által okozott mitokondriális és vezikuláris elváltozások reprezentatív elektronmikroszkópos felvételei a vastagbél simaizomzatában. ....	68
23. ábra: Reprezentatív vastagbél simaizomsejtek metszetei a kontroll és az önkéntes edző csoportból. ....	70
24. ábra – A krónikus terhelés hatására bekövetkező a miRNS-1 és miRNS-133a szintjében, valamint a kettejük között fennálló kapcsolat (35782677) .....	74
25. ábra: A legfontosabb eredmények és azok korrelációinak ábrázolása (Szerző saját ábrája).....	81

## Táblázatok jegyzéke

1. táblázat - A mérések során alkalmazott elsődleges antitestek.....	46
2. táblázat - Eredményeink összegzése.....	72
3. táblázat - Korrelációk összegzése.....	73

## 1. Bevezetés

Az egészséges táplálkozás és a rendszeres testmozgás elengedhetetlen része egy egészséges, kiegyensúlyozott életnek. A fizikai aktivitás komplexitását, valamint annak jótékony, szervezetünk minden működési területére kiterjedő pozitív hatásait ismertetni nem lehet elég részletesen. A mai kor emberének élete gyökeresen megváltozott az ugrásszerű tudományos, illetve technológiai fejlődésnek köszönhetően. Régen az egyszerű napi teendők elvégzése is fárasztó, hosszadalmas munkát jelentett, mára pedig mindent gépek végeznek el helyettünk, “megspórolva” szervezetünknek sok-sok kalóriányi energiát, melyeket így nem kell erre fordítanunk. Gondoljunk csak a közlekedésre, ahol régen nem kevés kilométernyi sétára volt szükségünk, hogy eljussunk úticélunkhoz, ma meg egyszerűen csak felszállunk, beülünk valamilyen járműbe és pillanatok alatt könnyedén ott is vagyunk.

Egy levél, vagy egy üzenet eljuttatása is hasonló módon került kézbesítésre régen. A mai generáció már nem is tudja milyen elküldeni valakinek egy képeslapot, mert mindent el tudnak intézni a telefonjukról egy szempillantás alatt. Átgondolva a mindennapi teendőinket hamar rájövünk, hogy nem igazán van olyan dolog, amit ma már nem lehet megoldani egy gombnyomással a fotelben hátra dőlve.

Az ezen fejlődések társadalmi szinten is kiváltott negatív hatásait csak tovább fokozza a mára nagyon könnyen beszerezhető élelmiszerek mennyisége és milyensége. A mindennapos betevő megszerzése már nem tekinthető túlélési rizikófaktornak, sokkal inkább egy fogyasztói társadalom pótcselekvésének, mellyel főként nem szükségleteink kielégítése a cél, hanem valamilyen fajta örömhormon megszerzése.

Ha összegezzük egy átlagember mindennapjaiban lecsökkent energia szükségletét az ehhez társított kalóriadús élelmiszerekkel, nem meglepő, hogy milyen sok olyan “népbetegség” van jelen, mint az ilyen egészségtelen életvitellel összefüggésbe hozható elhízás, a cukorbetegség vagy egyéb kardiovaszkuláris és idegrendszeri megbetegedések.

A nagymértékű és hirtelen fejlődést, mely a kényelmünket tette lehetővé, nem volt képes ilyen hatalmas léptekben lekövetni az ember genetikája. A szervezetünk ugyanis bár nagyon lassan, de hihetetlenül tökéletes módon adaptálódott annak idején és volt képes

túlélni már az ősember idejében is. Azokban az időkben, az edzettség, a mindennapos vándorlás és a tápanyag hatékony lebontása és/vagy raktározása a túlélés zálogát jelentette. Ehhez idomulva alkalmazkodott a gasztrointesztinális bélrendszer is, a traktusban jelen levő baktériumok összessége és milyensége, melyet ma mikrobiomnak nevezünk.

Kezdetben, mikor megszületünk, még nem rendelkezünk bélflórával, ennek kialakulása és milyensége sok tényezőtől fog függeni. Milyen életkorban vagyunk, hogyan táplálkozunk, milyen életvitelt folytatunk, milyen szokásaink vannak, továbbá különösen fontos tényező lesz a sportmozgás milyen szinten van jelen az életünkben (1). Egyes kutatások azt is kimutatták mennyire fontos, hogy a gyermek az édesanyja által kapott természetes anyatejet fogyassza, közvetlenül az anyja melléből, ne pedig valamilyen tápszert egy cumisüvegen keresztül. Ez ugyanis képes befolyásolni a belső baktériumok összetételének milyenségét, ezzel pedig alakítva immunrendszerünk ellenállóképességét (2). Egy 70 kilogrammos emberi szervezetben nagyjából 2,5 kg baktérium található, amely körülbelül tízszer annyi, mint ahány emberi sejtet tartalmaz önmagában (3). Egy egészséges, optimálisan működő szervezetben ezek a mikroorganizmusok a tőlük telhető legnagyobb alapossággal igyekeznek a szervezetbe juttatott tápanyagot felhasználni. Az ősidőkben mindennaposak voltak a küzdelmek és könnyen előfordulhatott, hogy egy vadászat során, hirtelen jutott sok élelemhez egy törzs, majd utána meglehetősen alig valamihez. Éppen ezért azt az élelmet, amit már nem tudott a szervezet elégetni és energiaként felhasználni, elraktározta a zsírraktárakba, az ínségesebb időkre, a túlélés érdekében.

Ezért fordulhat elő az az érdekes kettősség a mai világban, hogy pusztán a genetikai kódoltságot megfigyelve szervezetünk érdeke egyáltalán nem azt a célt szolgálja, mint amit mi szeretnénk elérni. Egy olyan egyén esetében, akinek mikrobiomja optimális összetétellel és/vagy működéssel bír, annak szervezete a tőle lehetséges leghatékonyabb módon igyekszik majd minden fel nem használt energiát elraktározni a későbbiekre. Ugyanezt egy másik kevésbé hatékony belső mikroorganizmus összetétellel és/vagy működéssel rendelkező egyén, vélhetően nem lesz képes ilyen mértékben. A túlélés az egyetlen feladata, amire be van kódolva. A mai korban azonban ez a visszajára sül el, mivel már nem a szavannán élünk, és nem esik nehezünkre az élelem beszerzése, nem

annyi az energiaigényünk, mint régen, köszönhetően a mozgásszegényebb életmódunknak.

Sok népszerű kutatás támasztja alá mind egészséges, mind betegségben szenvedő egyéneknél egyaránt a testedzés szisztematikus hatásait (4, 5). A rendszeres mozgás nem csak a szervezetünk teherbírását növeli, hanem nagymértékben hozzájárul immunrendszerünk ellenállókéességének növeléséhez (6). Ez pedig sok esetben nem mással kezdődik, mint a gyomor-béltraktus megfelelő működésével.

Gondoljunk csak a sok gyógyszeripari reklámra és marketingre, miszerint belső bélflóránk megőrzése érdekében olyan termékeket érdemes vásárolnunk, melyek speciálisan összeválogatott baktériumtörzsekkel rendelkeznek, mint a *bifidus essensis* vagy *bifidus actiregularis*.

Számos ismerettel rendelkezünk már viszonylag régóta a humán mikrobiomról, vagy a humán tápcsatornát benépesítő baktériumokról. Az alaposabb vizsgálata a témakörnek azonban csak az elmúlt évtizedben került előtérbe, a molekuláris technológiák térnyerésével egyetemben. 2007-ben indult el a Humán Mikrobiom Projekt a NIH (National Institute of Health) segítségével, hogy többet megtudjunk a humán mikrobiomról és választ kapjunk arra a kérdésre, hogy van-e lehetőség a mikrobiomon keresztül az egészség befolyásolására és a betegségek kialakulásának pontosabb megértésére (7).

A klinikumban egy igen fontos vizsgálatnak tekinthető a motilitás mérése, ez ugyanis egy nagyon hasznos eszközként szolgálhat az orvostudományon belül a gasztrointesztinális eredetű betegségek kiszűréséhez. Éppen ezért számos kísérlet történt már ennek alkalmazására, miután azonban ez többnyire egy invazív és kockázatosabb mérésnek számított humán alanyoknál, az első ilyen méréseket mind felületi elektródákkal végezték. (8).

Laborállatok GI motilitási felvételeit ideális esetben mindig egy szabadon mozgó, stresszmentes állaton kellene elvégezni. Kezdetben azonban itt is a fentebb említett módszert alkalmazták. Később már egy ennél sokkal pontosabb módszert eszközölve alvó állatokon, egy bipoláris elektródópár, illetve egy beültethető nyúlásmérő segítségével

pontosabb méréseket hajtottak végre, adott gasztrointesztinális szegmensekre lebontva külön-külön (9).

Később éber állatokon is elvégezték ezeket a pontosabb méréseket a bipoláris elektród párok felhasználásával, azonban az ilyesfajta vizsgálatoknál az állatok le voltak rögzítve, nem voltak képesek szabad mozgásra. Ebben a kutatásban ugyanis arra voltak kíváncsiak, hogy lerögzített éber állatok esetében, milyen változások figyelhetők meg az adott GI szakaszok mioelektromos aktivitásában külső stresszbehatások során.

A dolgozatom újszerűsége abban rejlik, miszerint bár számos alkalommal mértek különböző GI szegmensek aktivitásában bekövetkező változásokat stressznek, gyógyszernek, vagy valamilyen táplálkozási paraméternek a módosítása révén, azt, hogy a sportolás milyen hatással lehet a bélrendszer működésére, annak dinamikájára, egy kevésbé kutatott területnek számít. Ilyen komplex módon megvizsgálva a sportmozgás hatásait a motilitásra, a mikrobiomra, a kognitív funkciókra és egyéb fiziológiai paraméterekre, legjobb tudomásunk szerint eddig még kevésbé kutatott terület.

Disszertációm egyik fő feladata ezen bonyolult folyamatoknak és azok komplexitásának, egymásra esetlegesen oda-vissza ható kölcsönhatásaiknak a jobb megértése, áttanulmányozása.

## 2. Irodalmi áttekintés

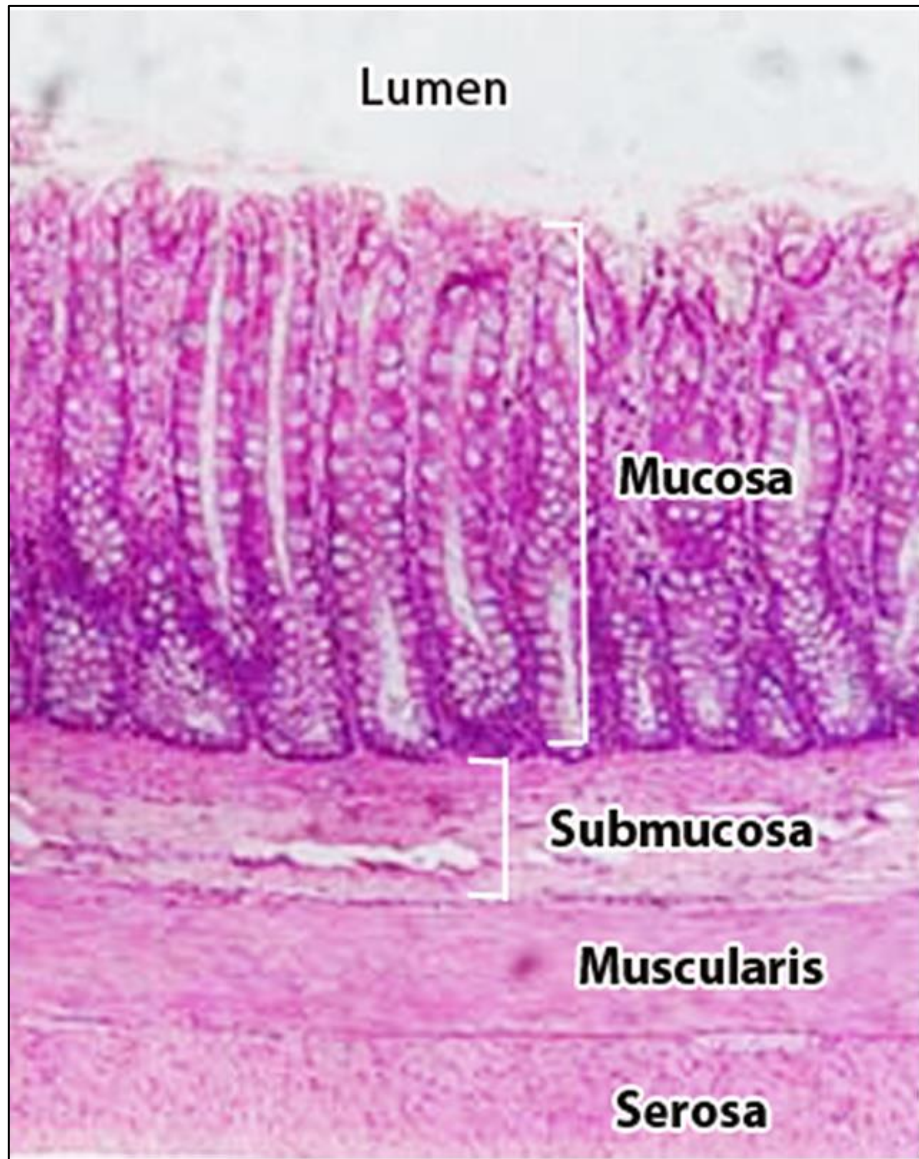
### **2.1. A gasztrointesztinális rendszer élettanának rövid áttekintése**

A gasztrointesztinális traktus (GIT) megfelelő működése elengedhetetlen egy egészséges szervezet fenntartása érdekében, kiváltképp egy sportoló esetében, akinek egy meghatározott határterhelés mellett kell elérni a kívánt teljesítményt.

A GIT főbb funkcióit tekintve felelős az emésztésért, a felszívódásért, a kiválasztásért és a védelemért. A gyomor és a vékonybél elsősorban az emésztési és felszívódási folyamatokat végzi el, amely mind a fizikai (pl. retropulzió a gyomorban), mind a kémiai (pl. epe és különböző enzimek a vékonybélben) mechanizmusokat egyaránt magába foglalja. A vastagbél főként a só- és vízviasszívással foglalkozik és a végbélben történő tárolással, mielőtt megtörténne a kiválasztás (10).

Morfológiai felépítését megvizsgálva a gyomor-béltraktus négy nagyobb rétegből épül fel (1. ábra). A legbelső réteg a nyálkahártya, másnéven *mucosa*. Ez a réteg veszi körül a bélrendszer felszínét, ezáltal pedig közvetlenül érintkezik az emésztésre váró étellel, ami a tápcsatornába kerül. A *mucosa* további három rétegre bontható. A hámrétegre (*epithelium*), ahol a legtöbb kiválasztási, emésztési, felszívódási folyamat zajlik. A *lamina propria*-ra, amely egy igen laza, kollagénnel teli kötőszöveti réteg és a mechanikai kontrakció létrejöttében van fontos funkcionális szerepe, továbbá helyet foglalnak még itt a miofibroblasztok, a vérerek, és egyéb más immunsejtek egyaránt. Harmadik rétege pedig a *muscularis mucosae*, azaz nem más, mint egy vékony simaizomréteg, mely a nyálkahártya felszínét és az alatta fekvő mirigyeket folyamatosan, enyhe mozgásban tartja a megfelelő működés érdekében (11, 12).





1. ábra: A béltraktus falának szerkezeti felépítése  
Rodrick J. és munkatársai ábrája alapján szerkesztve (13)

A következő réteg a *submucosa*, mely idegeket tartalmaz, beleértve a *plexus submucosust* (más néven Meissner-féle plexus), vérereket és kollagént tartalmazó rugalmas rostokat, amelyek nagyobb igénybevétel esetén, ha szükség van rá megnyúlásra képesek, de mindeközben kisegítő szereppel is bírnak a bél alakjának megtartásában (11).

A harmadik réteg egy izomréteg, amely körül veszi a *submucosa*-t. Ez a hosszanti, körkörös irányban elhelyezkedő simaizomréteg segíti az emésztett étel mozgását a

traktusban végig, elősegítve a folyamatos bél perisztaltikát (11). Itt található továbbá a enterális idegrendszer másik idegfonala a *plexus myentericus* (más néven Auerbach-i-féle plexus) is (14).

A negyedik réteg pedig a *serosa*, vagy más néven *adventitia*. Laza kötőszövetnek számít, mely védelmi szerepet tölt be a bél számára, a külsején található nyálkaréteggel (*mucus*), mely bevonja azt, megakadályozva vele annak más szövetekkel való súrlódási sérülését (11).

Egy egészségesen működő GIT működéséhez elengedhetetlen a megfelelő mikrobiom összetétel, mind a belső bél baktériumok előfordulási számát, mind a működési hatékonyságukat ideértve. A bélmikrobiom megannyi nagyon fontos és szervezetünk számára hasznos funkcióban részt vesz, például a tápanyagból történő energiatermelésben, az étel lebontásában (15, 16), a zsírok anyagcseréjének a lebonyolításában (17), a vitaminok metabolizmusában (18), a magnézium, a vas vagy a kalcium felszívódásában (15, 18, 19), kiemelt szerepe van a bélrendszer védelmi mechanizmusának a fenntartásában (20, 21), valamint az immunrendszerünk fenntartásában és fejlődésében a születésünk napjától kezdve (22-27). Ezek fontosságáról és összetett, szervezetünk több területére is kiható hatásmechanizmusairól bővebben a sportmozgás és a bélrendszer kapcsolatánál írok egy lentebbi fejezetnél.

A bélrendszer izommunkájáért felelős impulzusokat, elektromos jeleket nem maguk a simaizmok, hanem azoknak saját pacemaker sejtjei szolgáltatják. Ezek az úgy nevezett intersticiális Cajal-sejtek (28) felelősek a lassú hullámú elektromos jelek generálásáért, hogy a kontrakció érdekében akciós potenciál indukálódjon, majd a megfelelő izommunkát elindítva továbbítják ezen jeleket az egész traktusban (29). További feladatuk még ezen felül az elektromos jelek frekvenciájának determinálása is (30).

Funkciójukban jelentkező abnormalitások feltételezhetően felelősei lehetnek számos GI rendellenességnek (gyomorbénulás, a krónikus székrekedés, vagy az irritábilis bél szindróma) (31, 32).

## 2.2. A sportmozgás és a bélrendszer kapcsolata

Felgyorsult világunkban a sportolással eltöltött órák száma igencsak lecsökkent, amely akár képes lehet komoly egészségügyi problémákat is okozni, csak úgy, mint a cukorbetegség, a kardiovaszkuláris megbetegedés vagy a rák (33, 34).

Szokták mondani, hogy minden betegség forrása a tápcsatornából származik, ez pedig bizonyos aspektusból vizsgálva egy elég megalapozott mondásnak tekinthető. Összefüggésbe hozható ugyanis például a vastagbélrák kialakulása, a gasztrointesztinális rendszer perisztaltikájának csökkent működésével, valamint az ezzel együtt járó megnövekedett tranzitidővel. Azt is tudjuk, hogy a sport hatására növekszik a nyugalomban kialakuló paraszimpatikus tónus (35), ezzel javítva a bélnek a motilitását (36), ami pedig befolyásolni képes a bélflórákat.

A mikrobiomnak, azaz a gyomor-béltraktusban élő baktériumoknak a milyensége és mennyisége meghatározó szerepet játszik egy egészséges ember életében. Korábbi kutatások kimutatták, hogy normális esetben a mikrobiom képes stabil összetételű maradni, mindaddig, amíg egészséges szokásokat vezetünk be az életvitelünkbe, (kiegyensúlyozott táplálkozás és a rendszeres testmozgás) továbbá, ha mellőzzük a klinikai külső beavatkozásokat, mint amilyenek egy antibiotikum kúra is számítana (37). Egy a közelmúltban megjelent kutatásunk igen érdekes eredményeket mutatott számunkra, ahol a sportoló és inaktív személyek mikrobiom elemzését végeztük el a COVID-19 betegség ideje alatt és azután (38). A törzsek szintjén végzett mikrobiom elemzés kimutatta, hogy bár ugyanazon alanyok baktériumflórája a COVID-19 fertőzés alatt és után meglehetősen hasonló volt a korreláció alapján értékelve, itt még az antibiotikum kezelés sem mutatott jelentős változásokat. Számottevő szignifikáns különbség volt azonban, törzs, illetve faj szinten: a *Bacteroidetes* törzs és a *B. Vulgatus* faj esetében, ahol nagyobb abundanciájuk volt megfigyelhető a COVID-19 fertőzés alatt, összehasonlítva a két-három héttel későbbi negatív PCR tesztnél mért állapothoz képest. A *B. Vulgatus*-nak számos jótékony hatása van a bélrendszerre, összefüggésbe hozható például az ateroszklerózissal (39), egy másik vizsgálat során pedig a dextrán-nátrium-szulfát által kiváltott vastagbélgyulladást vizsgálták egérmodellen, ahol bebizonyították a *B. Vulgatus* a tüneteket jelentősen képes volt enyhíteni, csökkentette továbbá a

szöveti károsodást is a bélrendszerben (40). Ez alapján is arra engedünk következtetni, a szervezet vélhetően belső barrier funkciójának működtetésével, a *B. Vulgatus* szintjének emelése révén próbálhatja az őt ért fertőzést legyőzni.

Egy jól működő mikrobiom a bélrendszert körülvevő nyálkahártya immunrendszerét szabályozza. Amennyiben ez a védelmi vonal nem jól működik és bármilyen kórosnak tekinthető változás áll be a mikrobiomot tekintve, az különböző immunitási diszfunkciókat okozhat a szervezetben, amelyek pedig betegségek kialakulásához vezetnek majd. A belső bélnyálkahártya immunrendszerét alkotják a nyirokcsomók, a külső környezettel kapcsolatban álló vékony kötőszövetréteg a *Lamina propria* és a hámsejtek, melyek így egy védőgátat képeznek, annak érdekében, hogy megőrizzék a bélrendszer integritását (41).

A sportolás pozitív hatására szervezetünk tápcsatorna miliője folyamatosan változik, ezzel befolyásolva a bélflórát, mely pedig szervezetünkre visszahatva képes adaptációs folyamatokat indukálni szervezetünk számára (42). Ezzel pedig komplex folyamatokon keresztül kihathat olyan betegségek előfordulására, mint a vastagbélrák, az elhízás, vagy egyéb idegrendszeri eredetű megbetegedések (43, 44).

A gyomor-bélrendszer egészsége leginkább a simaizomzat mozgékonyágától függ, és a belek simaizomzatának bármilyen károsodása pusztító hatással lehet a szervezetre. A táplálkozás mellett a testmozgás egy olyan természetes módszer, amely nem csak a bél mikrobiomját változtathatja meg, hanem a gyomor-béltraktus aktivitását is (44-46). A testmozgás akár közvetlen hatással is bírhat a gyomor-bélrendszeri aktivitásra. Egy kutatásban azt figyelték meg, hogy az edző egereknél 0,5 méter/óra futási sebességgel 15 perc testmozgás után szignifikánsan gyorsabb volt a gyomorürülés, mint a nem edzett egerek esetében. Lassabb futási sebességnél azonban nem volt különbség az edző és a kontroll egerek között (47). Egy másik kutatás arról számolt be, miszerint a C57BL/6 egerek kimerítő testmozgása oxidatív stresszt eredményezett a vékonybélben, melynek változása a mitokondrium membránjának vizsgálatával igazolódott be ultra-mikrográfiai elemzés segítségével (48). A kimerítő testmozgás valóban károsította az ileum nyálkahártya rétegét és csökkentette a kontraktilitást (49). Másrészt a mérsékelt aerob edzés védőhatást mutatott a szöveti oxidatív stresszel szemben (50). Azt feltételezik, hogy

az enyhe testmozgás növeli a mikrobiom diverzitását (51) és megváltoztatja a "jó" baktériumflóra mennyiségét, ami közvetlenül előnyös lehet az agyműködésre (52). A testmozgás kiterjedt neuroprotektív hatásait már részletes kutatások igazolják (53, 54). Ebben a kutatásban létrehoztak egy Parkinson kóros modellt 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) segítségével, majd a testmozgás hatásait vizsgálva észrevették, hogy az mondhatni „megmentheti” a dopaminerg neuronokat az MPTP károsodásától, és elősegíti az ileális patológiából való felépülést (55).

### **2.3. Bél-(mikrobiom-)agy tengely**

A bél és az agy közötti kölcsönhatás nagy rejtély, mivel nagyon összetett mechanizmusok közvetítik. E kölcsönhatás egyik fontos tényezője a mikrobiom (56). Kezdi egyre inkább felismerni a GIT-ban élő baktériumok összessége, milyen komplex módon képes befolyásolni még akár az agynak is a fiziológiáját és annak viselkedését. Számos útvonal van melyen keresztül a mikrobiom valamiféle üzenetet küldhet az agynak, jelezhet neki, ideértve a mikrobális metabolitok és peptidek termelését, az immunrendszer aktivitását, a különböző neurotranszmitterek és neuromodulátorok termelését helyileg a bél rendszerben, vagy ideértve a vagus ideg aktivitását (57). Ez a nervus vagus képviseli a gyomor-béltraktus és az emlősök agytörzse között a fő összekötő idegpályát (58). Ez az idegpálya képes olyan szinaptikus afferens kapcsolatokat kialakítani a bél enteroendokrin sejtjeivel, amelynek segítségével megkönnyíti a táplálkozási jeleknek az agyba történő továbbítását glutamaterg neurotranszmisszió útján (59). Voltak olyan preklinikai bizonyítékok is, melyek szerint a nervus vagus képes fehérjéket szállítani a bélből az agyba (60).

A mikrobiom nagyon plasztikus, ugyanis táplálkozással könnyen módosítható (61, 62), de az is ismert, hogy a testmozgás és az öregedés is hatással lehet a bél baktériumközösségére (63). A bélmikrobiom fontos szerepet játszik az emésztésben, a bélrendszeri és a szisztémás immunrendszer szabályozásában, valamint a kismolekulák és rövid láncú zsírsavak (SCFA) termelésében, amelyek közvetlen kölcsönhatásba léphetnek más szervekkel (64). Emellett fontos szerepet játszik egyes vitaminok (K, B<sub>12</sub>) képződésében (65-67). Egyre több bizonyíték van arra, hogy a bélmikrobiom

összefüggésbe hozható a neurodegeneratív betegségekkel (68), beleértve a demenciát és az Alzheimer-kórt (AD) emberekben (68) és rágcsálókban egyaránt (69). A mikrobiom változásait a szinaptogenezis hibáival és a kognitív károsodással, (beleértve az Alzheimer-kórt is) hozzák összefüggésbe (70). Annak hiányában, antibiotikummal kezelt egerek esetében számos, a központi idegrendszer élettanában bekövetkező változást számoltak be, mint például a neurogenézis, a neurális gyulladások vagy akár az idegsejtek morfológiájában történő módosulások. Ezek hatására feltételezhetően megfigyelték, hogy egyes rágcsálók szociális viselkedésformái is jelentősen eltértek mikrobiommal rendelkező csoporttársaikétól (57).

Az egyértelmű tehát, hogy a bélmikrobiom közvetlen kölcsönhatásban van a bélrendszerrel, az azonban, hogy ez a kapcsolat miképpen változik valamilyen testmozgás hatására még kevésbé kutatott. Éppen ezért annak érdekében, hogy jobban megértsük az agy-testmozgás-bél-mikrobiom tengely közötti ok-okozati összefüggéseket, vizsgálatunkban megfigyeltük önkéntesen edző patkányok kognitív funkcióit, bélmotilitásukat, a bél biokémiájában bekövetkező változásokat, morfológiai vizsgálatokat is végzetünk vastagbél mintákból, valamint féceszük mikrobiom elemzését is eszközöltünk.

#### **2.4. Mikro ribonukleinsavak szerepe a bélrendszer működésében**

A bél-agy-mikrobiom kölcsönhatáshoz kapcsolhatóak az úgy nevezett mikro RNS-ek (miRNS-ek), melyek olyan kicsi, kódolni nem képes RNS-ek, amelyek posztranszkripcionális szinten szabályozzák a génexpressziót (71), így pedig számos élettani és kóros folyamatban részt tudnak venni a gyomor-bél rendszerben (72, 73). Szerepük így a bélmozgás szabályozásában egyre inkább elismerté kezd válni.

A miRNS-ek egyik legfontosabb kulcsmechanizmusa, mely a bélmozgást befolyásolni képes az enterális neuronokra és az immunsejtekre gyakorolt hatásuk által érvényesül. Voltak olyan diabéteszes egerek, akik esetében az enterális neuronok apoptózisát volt képes elősegíteni a miRNS-375, ez pedig egy késleltetett gyomor ürülést jelentett az állatok számára (74). Amennyiben ezt a miRNS-t gátolni voltak képesek, az megelőzte

az egerek idegsejt károsodását, azok elvesztését, valamint javítani volt képes a bélmozgást (75).

Mindezek mellett a bél immunrendszerének szabályozásában is fontos szerepük van a miRNS-ek, ezzel pedig akár a bélmotilitásra is hatással lehetnek. A miRNS-128 vagy a miRNS-490 nem megfelelő szabályozása például megváltozott immunválaszokat eredményez a bélben, melynek köszönhetően valószínűsíthetőbb az olyan állapotok kialakulása, mint a lassabb tranzitidővel járó székrekedés, vagy akár az irritábilis bél szindróma (76, 77). Ezen miRNS-ek jelenléte és megfelelő működése rendkívül fontos a normális bélműködés fenntartásához, melyet az egyes makrofágok és hízósejtek viselkedésének befolyásolása révén ér el (75).

Az extracelluláris vezikulák (EV) szintén segítik a miRNS-ek bélmozgásban kifejtett jótékony szerepükben azáltal, hogy hordozóként szolgálnak, és miRNS-eket szállítanak a sejtek között (78). Ezek a miRNS-ek, amelyek az EV-ből származnak képesek modulálni a bélmikrobiom összetételét és működését, ami befolyásolni képes a bélmozgást. Például a let-7 és a miRNS-21, melyek megtalálhatóak EV-kban, összefüggésbe hozhatóak a bélmikrobiom változásaival, amelyek gyulladásos válaszokat és a bélmozgást is képesek befolyásolni (79).

## **2.5. Elektromiográfia (EMG) mérési módszerek**

Sokan úgy vélik, az egyes megbetegedések hátterében olyan diagnosztizálatlan GI betegségek állhatnak, mint például a reflux, a gastroparesis, a bélelzáródás vagy a vastagbél obstrukció (80). A napi klinikai gyakorlat során a leggyakrabban előforduló ilyen betegségek az irritábilis bél szindróma (81), a gyomor aritmia, a reflux, a gyomorégés és a krónikus székrekedés (82). Diagnózisuk, kezelésük és prognózisuk sem tekinthető kielégítőnek. Ezeket a motilitási rendellenességeket jelenleg idiopátiás eredetűnek tartják (83).

Ezen indokok miatt számos kísérletet tettek már, hogy valahogyan detektálhatóvá váljon a GIT mioelektromos aktivitása. Emberben az első ilyen non-invazív módszerekkel történő motilitás/gyomor aktivitás mérésére szolgáló új technikájú tesztelések a GI

elektromos feltérképezéssel (multi-elektrod módszer) és elektroenterogrammal (kör elektrod módszer) történő mérések voltak (84, 85). Ezek bár kezdetben ígéretesnek bizonyultak, a későbbiekben azonban nem tudták garantálni, hogy az éppen ott rögzített jelek kizárólagosan a vélt GIT-ből származnak-e.

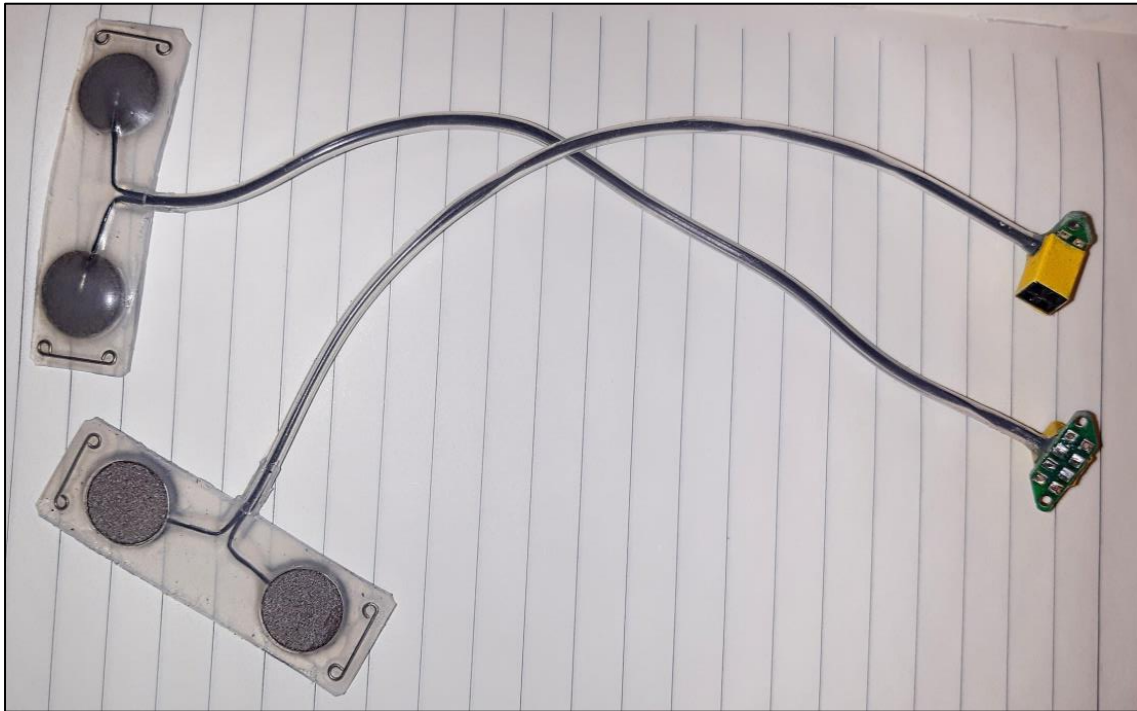
Az adott GI gyors-, illetve lassú hullámú jeleket csupán olyan zajok mentén voltak képesek előteremteni, mint a mozgásos-, vagy légzési artefaktumok (86).

Igen magas esélye van továbbá a lassú hullámú mioelektromos jelek interferenciájának, valamint annak, hogy az agyból, vázizomból vagy a szívből érkező gyors hullámú jelek elfedik őket.

Mindezeket amennyire lehetséges igyekeztek speciálisan megtervezett szenzorokkal leredukálni (87).

Nem invazív módszerként az elektrogasztrográfiát (EGG) is ide lehet sorolni, mely alkalmas a gyomor mioelektromos aktivitásának a rögzítésére (88). Szűcs és munkatársai alvó patkányokon kidolgozott fejlett EMG módszerével invazív módon, egy műtéti eljárással képesek voltak a különböző bélszakaszokra jellemző frekvenciák power spektrum analízisével mérni (2. ábra). Ezzel a módszerrel már nem csak a gyomor, hanem külön-külön a vékonybél és a vastagbél mioelektromos aktivitását is képesek voltak rögzíteni, nem úgy, mint az EGG esetében (9). Párhuzamosan mindemellett a mechanikus összehúzódásokat is monitorozták egy nyúlásmérő eszközzel. Az így kapott értékek alapján a különböző kontrakciók percenkénti (CPM = contraction per minute) előfordulásának számából állapították meg, mikor melyik GIT mioelektromos aktivitásáról van is szó. A vastagbél esetében 1-3 CPM érték a meghatározó, a gyomornál 3-5 CPM, a vékonybélnél pedig 20-25 CPM (9).

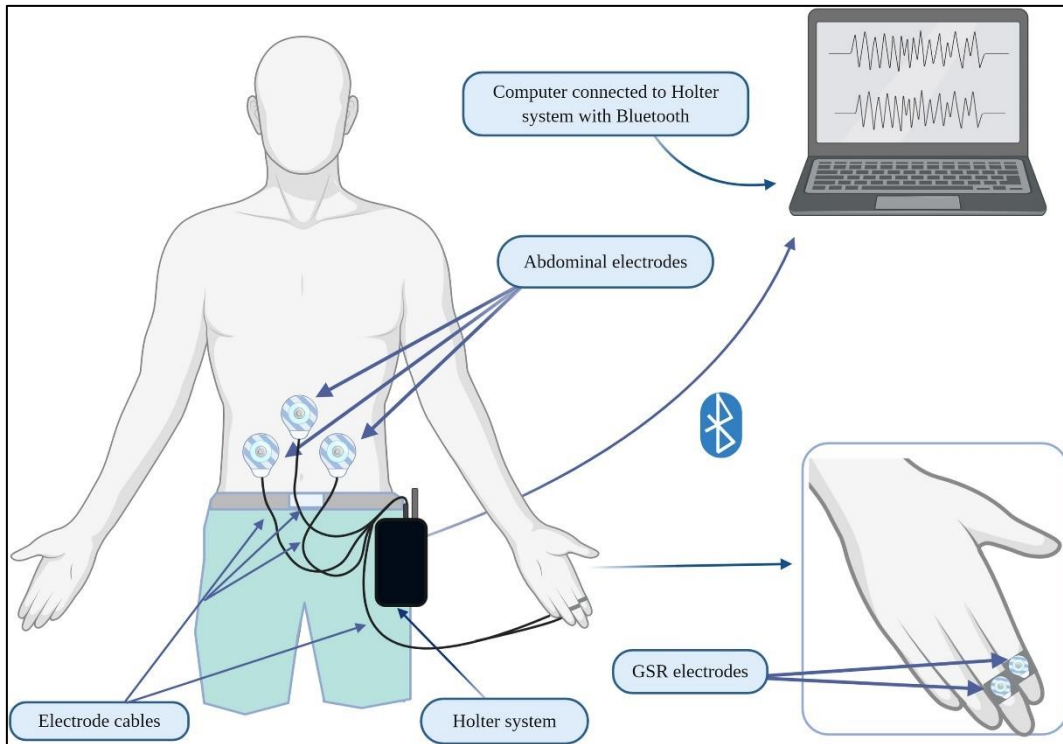




2. ábra: Szűcs Kálmán és munkatársai által használt bipoláris elektród pár (Szerző saját ábrája)

Egy későbbi cikkükben már éber patkányokon alkalmazták ezt a szubkután beműtött EMG mérési módszert, az állatok azonban ebben a kutatásban egy lerögzített helyzetben voltak, mely során a GIT-ra gyakorolt stressz hatásokra voltak kíváncsiak (89).

Az imént említett eszközt később felületi öntapadós TENS (Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation) elektródokkal helyettesítve már éber sertéseken (90), valamint éber humán önkénteseken is (91) alkalmazták (3. ábra). Ezt az eszközt, a transzkután elektromos idegstimulációt (92) világszerte használják a fájdalom tüneti enyhítésére, különböző terápiás céllal már számos alkalommal használták (93). Miután az ICC által kibocsátott mioelektromos aktivitást a hasi felszínről is lehetséges monitorozni (94, 95), így ez a módszer is egy kutatásban is alkalmazható, valid eljárásnak bizonyul.



3. ábra: Szűcs Kálmán és munkatársai által alkalmazott TENS felületi öntapadós elektródák  
(Forrás: (91))

Az általunk alkalmazott mérési eszköz esetében nekünk is a TENS elektródokra esett a választásunk, tekintvén, hogy éber állatokkal szerettünk volna méréseket végezni, amelyek szabadon mozoghatnak. Ezek részleteiről bővebben az Anyag és módszer fejezetben írok lentebb.

## 2.6. Reaktív oxigén szabadgyök (ROS)

Az edzésélettani kutatásoknak igen széles köre foglalkozik az oxidatív stresszel és az ezzel ellentétesen működő antioxidáns hatással. Miután ennek irodalmi háttere igen széles körű és disszertációm keretein túlmutat, így a következőkben csak az általunk legrelevánsabb, kutatásainkban szerepet foglaló eredményeket fogom bemutatni.

Az aerob anyagcsere, ideértve az állóképességi edzést és az oxidatív stresszt is, képes befolyásolni az emberi DNS komplexitását, valamint károsíthatja is azokat, az egyes

sejtalkotókat egyaránt. A szervezetünket érő sérülések kivédésében rendkívül fontos szerepe van az antioxidáns rendszernek. Bár a sejten belül több különböző helyen is keletkeznek szabadgyökök szervezetünkben, a legnagyobb mennyiségben mégis a mitokondriumokban termelődnek, amelyek száma testmozgás hatására növekszik (96). A szabadgyökökről fontos tudni, hogy igen fontos szabályozói az izomösszehúzódnak, az antioxidáns védelemnek és az oxidatív károsodások javításának is, melyek mérsékelt szinten szervezetünkben fiziológiai válaszokat vált ki (97). A környezetünkben felvett oxigénnek mintegy 2%-ából lesz szabadgyök normális körülmények között, ha azonban valamilyen edzéstípust alkalmazunk ez az érték akár 10%-ra is nőhet. Ezek a redox folyamatok nem csupán a már fentebb említett DNS-t, de a zsírokat és fehérjéket is támadják egyaránt. Kutatások alapján egy mérsékelt intenzitású testmozgás olyan szisztémás és komplex egészségfejlesztő hatásokkal rendelkezik, melyek a jelátviteli útvonalaknak és szervezetünk redox egyensúlyának szabályozásával együtt járó alkalmazkodási folyamatokat indítanak el (98).

A fittség fejlesztése már az evolúció során is döntő jelentőségű volt. Az állóképességet fejlesztő testmozgások a kapilláris hajsálér hálózat sűrűségét, az aerob enzimek mennyiségét, és természetesen a már említett mitokondriumok számát is növeli (99). Ezt a kardiovaszkuláris fitnessnek is nevezett edzettségi mutatót a  $VO_2max$  értékével szokás meghatározni. Ez nem csupán egy edzettségi állapotot predesztinál, hanem kiválóan alkalmazható markerként szolgál a szív- és keringési rendszer állapotának becslésére. Ez a  $VO_2$  érték azonban nem csak az ősember idejében volt fontos előre jelzője a túlélésnek, hanem napjainkban is igen kiemelt prediktív szerepet lehet tulajdonítani neki. Egyre több arra a bizonyíték ugyanis, hogy kapcsolatba hozható bizonyos életmóddal összefüggő betegségek előfordulásának a csökkent kockázatával, csak úgy, mint az emlő-, a vastagbél-, vagy a prosztaták, egyéb szív- és érrendszeri megbetegedések, a II. típusú cukorbetegség vagy az Alzheimer-kór (100-104).

Mindezek után egyértelműen azonban nem lehetne kijelenteni, hogy a szabadgyökök szerepe csupán kártékony lenne, bizonyos mértékben ugyanis hasznosak is szervezetünk számára. A szabadgyökök és melléktermékei ugyanis olyan molekuláris jelzőfolyamatokat indítanak meg, melyek több élettani folyamatban is szerepet játszanak, csak úgy, mint a mitokondriális biogenezis (97).

Szervezetünk a túlélés érdekében számos komplex jelátviteli útvonalat mozgósít, melyek segítségével alkalmazkodik az őt ért ingerekhez. A következő oldalakon ezekben a bonyolult jelátviteli útvonalakban szerepet foglaló fehérjéket fogom részletezni. Mivel azonban ezen fehérjék irodalmi háttere messze meghaladja disszertációm kereteit, a teljesség igénye nélkül csupán az általunk mért öregedéssel és a maximális vitál kapacitással is összefüggésbe hozható fehérjéinknek a fontosabb, kutatásunk szempontjából is relevánsabb tulajdonságait fogom feltüntetni.

A Peroxiszóma proliferátor aktivált receptor gamma koaktivátor 1 alfa (**PGC1 $\alpha$** ) az imént említett mitokondriális biogenezisnek mester regulátoraként van számontartva. Ez a fehérje többféle variációval, izoformmal rendelkezik, melynek aktivitása mindig izoform specifikus (105), és mindegyik különböző funkciót is lát el.

Igen nagy számú sejtmagi és mitokondriális fehérje expresszió koordinálását végzi aktivációjával számos egyéb transzkripciós faktorhoz kapcsolódva közben (106). Eredményezi továbbá aktivációja a csökkent oxidatív kihívást szervezetünk számára, amelyet vagy az antioxidáns enzimek felülszabályozása és/vagy a megnövekedett mitokondrium számok révén ér el, ezzel lehetővé téve, hogy ugyanazon mértékű ATP termelődés mellett egy alacsonyabb szintű légzési aktivitást követeljen meg a szervezettől (97). Az is ismeretes, hogy az életkor előrehaladtával a PGC1 $\alpha$  szintje csökken (107), és azt is jól ismerjük már rég Holloszy és munkatársai kutatása révén, hogy testmozgás hatására a PGC1 $\alpha$  aktiváció növekszik, ezzel egyidejűleg pedig az izomban lévő mitokondrium száma is (108). Az azonban, hogy ez milyen összefüggést mutathat a bélrendszer fiziológiás és biokémiai változásaival egyelőre kevésbé ismert terület.

A PGC1 $\alpha$  egyik jól ismert stimulátora a Sirtuin 1 (**SIRT1**) (109).

A SIRT1 a Sir2 (Silent mating-type information regulation 2) génnek egyik homológja a 7 közül. Ez a fehérje szoros összefüggésben áll a metabolizmussal, a DNS javító mechanizmusokkal és az energia termelésével (110, 111). Az általunk mért fehérjék között szerepel a SIRT1 és a Sirtuin 3 (**SIRT3**) is. Míg a SIRT1 a citoplazmában, addig a SIRT3 a mitokondriumban van jelen.

A SIRT1 deacetilációja révén képes a PGC1 $\alpha$  -t aktiválni (109), ezáltal pedig a SIRT1 - PGC1 $\alpha$  útvonalnak szerepe lehet az életkorral kialakuló mitokondriális diszfunkció

megelőzésében, fontos szabályozója lehet a testmozgás okozta alkalmazkodásnak. Képes lehet így az öregedési folyamatokat szabályozni, valamint az ezzel együtt járó sok betegséget, mint a diabetes, a különböző neurodegeneratív megbetegedések, a metabolikus zavarok a szervezetben, az Alzheimer-, a Parkinson betegség, a rák fajtáit vagy az oszteoporózist. További fontos feladata a SIRT1-nek a DNS-en keletkezett sérülések javítása (28, 112-119).

Korábbi mérések alapján azonban nem csak a SIRT1, de a SIRT3 is növelni képes a sejt túlélését a Lupus Ku autoantigen protein p70 (Ku70) deacetilációjával (116, 120). A SIRT3 deacetilálja továbbá a Szuperoxid diszmutáz 2-t (SOD2), amely így a mitokondriumban egy csökkent szintű ROS képződést fog okozni (121). A SIRT3 mitofágiában betöltött szerepét egy egészen friss kutatásban bizonyították be. A fehérje elcsendesítésre révén a glióma sejtekben (az emberi agydaganatos sejtek között,) csökkenést mértek a mitokondriumok degradációjában (122).

Az **Akt** családba tartozó kinázok az anabolikus jelátviteli útvonalak alapvető összetevői. Ez a fehérje a legtöbb sejtben jelen van, igen fontos szerepet játszva azok metabolizmusában és túlélésében (123).

Működését számos hatás fokozhatja, ilyenek például a növekedési faktorok, az inzulin, a nitroprusszid-nátrium, a  $H_2O_2$ , a TNF- $\alpha$ , a kadmium, a fizikai aktivitás, a magas hőmérsékleti hőhatás, a dohányfüst, az oxigéntenzióinak a változása, vagy a hipoxia.

A programozott sejthalál (apoptózis), és a túlzott mértékben történő sejtcsapaorodás központi szerepet játszik bizonyos (például daganatos-, illetve autoimmun eredetű) betegségek kialakulásában, progressziójában. Végeztek vastagbélráksejteken olyan kutatást, melyben megállapították az Akt aktiváció kromoszomális instabilitást képes okozni. Ezenfelül egy ilyen rosszindulatú daganatban megváltozik az Akt-izoformák aránya és expressziója is. Korábban rosszindulatú hematológiai betegségekben, rosszindulatú emlő-, prosztatá-, vastagbél-, és hasnyálmirigyrák esetében is igazolták túlműködését. Ezen folyamatoknak ugyanis egyik fontos regulátor fehérjéje az Akt, jelátviteli útvonalának számos eleme mutatott már kapcsolatot a tumorgenezissel (124). Aktivációja fokozza a tumor sejtciklusát, annak túlélését és invazivitását. Fokozza még a telomeráz aktivitást és hatással van az angiogenezisre is. A proapoptotikus molekulákat és folyamatokat gátolja (125), azon fehérjéket pedig működteti, melyek antiapoptotikus

fehérjégátló szereppel bírnak. Ezenfelül az apoptózis mitokondriális útvonalban szereplő kaspázok enzimikus hatását is csökkenti, és a sejtelhalás sebességére is befolyással bír az azt meghatározó transzkripciós faktorok által (például: NfκB).

Az Akt az inzulin hatásaként beinduló cukorfelvételnek-, és raktározásnak az egyik legfontosabb közvetítője (126), igen nagy hatást fejt ki a sejtanyagcsere intenzitására. Beszéljünk akár az 1-es, akár a 2-es típusú cukorbetegségről, felvetődik benne szerepe (127). A tumorgenezissel ellentétben, ha az inzulin-jelátvitelt vesszük figyelembe, a fokozott Akt aktivitás kifejezetten előnyösnek tekinthető. Egyfelől a béta-sejt pusztulás megelőzésében, másrészt az inzulinszenzitivitás beállításában van kiemelt szerepe.

A vérképződésben is fontos funkciót lát el. Az endotheliális sejtekben a Vaskuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) hatásait közvetíti. Ez az angiogenetikus vegyület fontos szerepet játszik az endothelsejtek proliferációjában, túlélésében és növekedésében, valamint az angiogenezisben egyaránt. Az Akt foszforilálja az endotheliális nitrogénmonoxid-szintáz-t (eNOS), ezáltal fokozva a NO termelődést, ez pedig vazodilatációhoz (értágító hatáshoz), vasculáris remodellinghez illetve érképződéshez vezet. A sejt túlélést elősegítő másik funkciója a hipoxia indukálta transzkripciós faktor-1 (HIF1) expressziójának befolyásolásával valósul meg.

A NOS egyik legfontosabb izoformja az **eNOS**, mely a NO által szabályozza a GI rendszer vazodilatációját. Éppen ezért az eNOS expressziója a GI rendszerben legfőképpen az ércsatornákat kibélelő endothel sejtekben található. Ez az egész bélrendszer területét érinti, a hasnyálmirigyet és a májat, ideértve az artériás, a vénás és a mikrocirkulációs ereket egyaránt (128). Szervezetünkben alap körülmények között is jelen van eNOS, mely NO termelődést idéz elő. Elképzelhető, hogy ennek a NO-nak különböző ingerekre adott válaszreakciójaként termelődhet némi eNOS a bélnek a simaizomsejtjeiben és az ICC-ben szintén (129, 130). A NO termelődést serkenti még számos hormonális, parakrin és mechanikai faktor, csak úgy, mint például az erek falára ható nyíróerő, az inzulintermelés, a bradikinin és egyéb hatások (131). Ezen folyamatnak szerves részét képezi a kalciumfüggő kalmodulin aktivitása, ami egyéb molekuláris folyamatokkal (, köztük a foszforilációval, a fehérje kölcsönhatások szabályozásával) együttesen képesek kihatni a NO termelésnek finomhangolására. A NO szerepe igen jelentős az érrendszeri reperfüzióban és annak szabályozásában. Ezt

vazodilatációval éri el, ezzel egyfajta jelzést is adva a simaizomsejteknek (132). A sportolás okozta ingerek, szintén fokozzák az eNOS, illetve egyéb agonsiták aktivitását (bradikinin, avetilkolin), növelve a véráramlást, ezzel értágulást okozva (133).

A nicotinamide phosphoribosyltransferase (**NAMPT** vagy más néven Vistafin) az emlősök minden szövetében fellelhető (134). Az emberi test szinte minden szervében, szövettípusában megtalálható, ideértve a citoplazmát, a vért, az agy-gerincvelői folyadékot, a zsír-, a máj-, vagy akár a hasnyálmirigyszövetet egyaránt (135). Ha a szérumban NAMPT szintje emelkedett állapotban van, az összefüggésbe hozható nem alkohol okozta zsíros májbetegséggel, az elhízással, a cukorbetegséggel, valamint ami a legjelentősegteljesebb, a malignitással (136, 137). Száma általában emelkedik a különféle rosszindulatú daganatok esetében, mint a prosztatata-, a vastagbél-, a petefészek-, az emlő-, a gyomorrák, vagy a melanóma (138-149).

Közelmúltban végzett kutatásokban is dokumentáltak rákmodellben megfigyelt jelátviteli útvonalakat, melyekben a NAMPT expressziója és aktivitása jelentős tényező volt. Az imént említett Akt fehérje pozitívan szabályozza a NAMPT expresszióját emlőrák esetében (150, 151). A melanóma sejtekből felszabaduló extracelluláris NAMPT (eNAMPT) és a NAMPT túlzott expressziója emlőráksejtekben pedig szintén Akt aktivitáshoz kapcsolódik (152, 153).

Az egyik jellemzője az agresszív ráknak, hogy képes a sejtek anyagcseréjének az átprogramozására (154, 155). Ezekre a szabályozási folyamatokra, illetve az energiát szolgáltató adenoizid-trifoszfát (ATP) szintézisére a normál és a daganatos sejtekben egyaránt szükség van. Ez részben a nikotinamid-adenin-dinukleotidtól (NAD) és a nikotinamid-adenin-dinukleotid-foszfáttól (NADPH) fog függeni. A NAMPT az az enzim, melynek aktivitási szintje és/vagy annak mennyisége a NAD szintézisét eredményezi, ezzel megnövelve a vaszkuláris simaizomsejtek replikatív élettartamát (156). Ezzel is egyfajta képet lehet kapni a szervezet redox állapotáról, milyen arányban van jelen a szervezetben a  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ .

Az aerob módon működő szervezetek központi anyagcseréjének folyamatát citromsavciklusnak (vagy citrát körnek) hívjuk, melyben kulcsfontosságú szerepe van, a szinte minden élő sejt alkotórészeként megemlíthető citrát-szintáznak (**CS**). A citrát kör

egyfajta intermedier forrásként működik a ketogenezis, a lipogenezis és a glükoneogenezis számára szükséges aminosavak szintézise révén, valamint az elektrontranszportlánc fontos részeként szintén jelen van (157). Az ebben a folyamatban lévő körforgást a szénhidrátok, zsírsavak és aminosavak lebontásából származó acetyl-coenzim A formájában keletkező ecetsav tartja fenn (158, 159). A ciklus egyik legfontosabb lépését a CS katalizálja, amikor az acetyl-coenzim A oxálacetáttal Claisen kondenzációt hajt végre, hogy citrát képződhessen. Ez az egyetlen enzim a ciklusban, amely képes katalizálni egy szén-szén kötés kialakulását. Mindemellett nem csak egy, a mitokondriumban lévő szubsztrátként van jelen, hanem az acetyl-coenzim A szintéziséhez fontos acetyl donorként is szerepel.

A nukleáris respiratorikus faktor 1 (**NRF1**) a mitokondriális biogenezis szempontjából fontos géneknek az expresszióját koordinálja, így egy jelentős feladatot ellátva a sejt és a mitokondrium közötti kapcsolatban (160). Ezek mellett specifikusan szabályozza a zsírok-, és aminosavak metabolizmusát, a proteaszómális degradációt, a citromsavciklust, valamint a mitokondriális légzési láncot (161).

A nukleáris faktor-kappa B (**NFκB**) szinte majd minden sejtben megtalálható és megannyi sejt-folyamatot, sejtjelátviteli útvonalat szabályoz. Ide tartoznak különböző anyagcsere folyamatok, immunológiai válaszok (162-164), de részt vesznek még például a sejtproliferációban, az apoptózisban, a neurális fejlődésben és a fertőzésekre adott válaszreakciókban, a gyulladásban egyaránt (165).

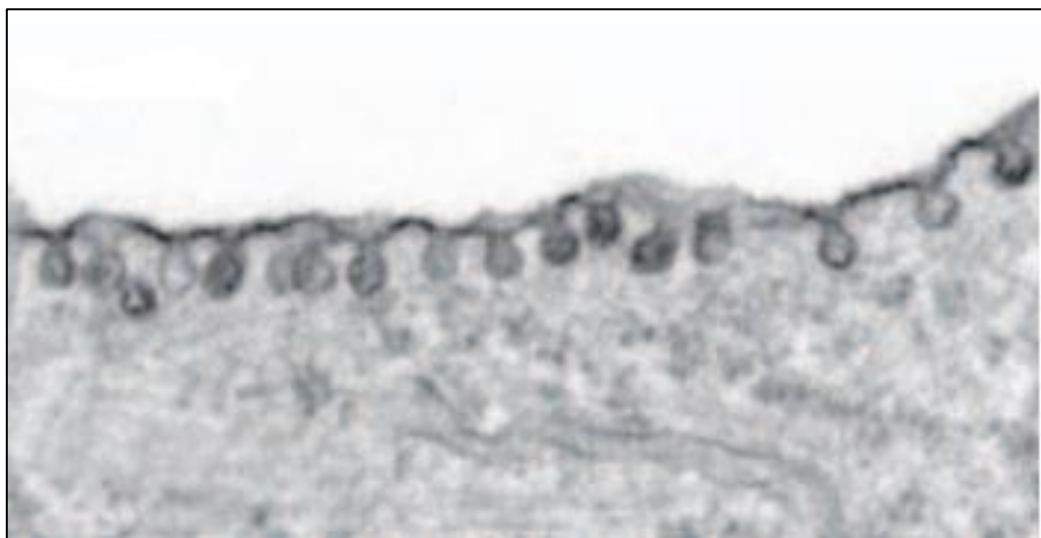
Szervezetünk egyik védelmi mechanizmusa a gyulladás, ám ha ez a folyamat elhúzódik és krónikussá válik, számos betegség kialakulásához vezethet, mint például a rák, vagy a neurodegeneráció. Az NFκB jelátviteli útvonal több szakaszon is módosítható, szabályozható, annak érdekében, hogy elkerülje a szervezet a krónikus gyulladást (165). Egyik ilyen kapcsolata az NFκB-nek a TNFα és az Interleukin-1 (IL-1) jelátviteli útvonalon keresztül valósul meg, ahol a proinflammatorikus, azaz a gyulladás beindításáért felelős folyamatokat szabályozza. Ha azonban az NFκB nem megfelelően működik, az a már fentebb is említett rákos, vagy neurodegeneratív rendellenességek kialakulásához vezethet (166).



A PI3/Akt jelátviteli útvonalban is kölcsönhatásba lép az NFkB, ahol a limfóma sejteinek antiapoptózist szabályozza. A reaktív oxigénfajok szintén képesek aktiválni, vagy éppen deaktiválni az NFkB útvonalait, annak különböző pontjain közbeavatkozva (167).

## 2.7. Caveolák

A caveolák, vagy más néven „barlangocskák”, elektronmikroszkóp alatt látható 50-100 nm átmérőjű apró palack, valamint omega alakú plazmamembrán befűződés, melyek jelenlétét már egészen régen, 1953-ban Palade és munkatársai lejegyezték (168). Feltételezhetően a morfológiai felépítésük alapján a caveolák dinamikus struktúráknak számítanak. Elhelyezkedhetnek egyesével, de akár csoportosan, szőlőfürtszerű alakban is egyaránt belelógva az intracelluláris térbe (4. ábra). Sokféle sejtben előfordulnak, valamennyi immunsejt felszínén egyaránt. Az azonban, hogy milyen eloszlásban és megjelenési formában, főként a sejtek aktivitásától függ.



4. ábra: Egymás mellett elhelyezkedő caveolák elektronmikroszkópos nézetből Robert és munkatársai ábrája alapján módosítva (169)

A caveolák burkának legjellegzetesebb komponense egy integráns membránfehérje, amelyet caveolinnak, valamint vesicula integráns fehérjének (VIP21) is szoktak nevezni (170). A caveolin többféle változatban is előfordul (caveolin-1, caveolin-2, és caveolin-

3), melyek közül a caveolin-1 izoforma jelenléte elengedhetetlenül szükséges a caveolák kialakulásához, ennek expressziója eredményezi ugyanis majd a jellegzetes buroknak a kialakulását. Mindehhez a caveolin-2-nek is jelen kell lennie, azonban ez az izoforma csak, mint amolyan „járulékos” fehérje van jelen.

Ezek a barlangocskák (171) vélhetően heterogén módon, sejtenként különböző funkciókkal is rendelkezhetnek. Összegezvén két fő funkciót láthatnak el a sejtek életfolyamataiban:

a) jelátviteli központként képesek szabályozni a sejtek osztódását/differenciálódását az időszakosan hozzájuk kapcsolódó molekulák aktivitásának a befolyásolásával (172), ilyen folyamat lehet például a tumor szupresszió is (173);

b) a különböző transzportfolyamatok lebonyolításában segédkeznek a clathrin-burkos vezikulákkal való interakciók során. Ez utóbbihoz sorolható az endocitózis (174), ahol magával a caveolával és az anyagot körülvevő vezikulum kialakításával a sejten belül vesznek részt a sejtek a transzportfolyamatban, valamint a transzcitózis (168), amely egy olyan sejtméchanizmus, amely különféle makromolekulákat szállít a sejt belsejében.

Egy korábbi kutatásban kiütötték a caveolin-1 fehérjét egerekből, aminek hiányában nem tudott caveola képződni a szervezetükben. Ennek hatásaként figyelték meg először a Cav-1 negatív szabályozásban betöltött szerepét, amely ily módon csökkentette a nitrogén-oxid (NO) termelődést és a kalcium jelátvitelt is egyaránt a kardiovaszkuláris rendszerben. Ez rendellenességek kialakulásához vezetett az endothelfüggő relaxációban, a kontraktilitásban és az izomtónus fenntartásában (175, 176). A caveolák továbbá igen nagy mennyiségben akkumulálnak például endoteliális nitogénmonoxid-szintetáz (eNOS-t). Egy korábbi kísérletben mérték izolált aorta gyűrűkön a vazokonstriktív és vazodilatációs válaszreakcióit a szövetnek, ahol kimutatták, hogy a caveolin-1 elengedhetetlen az értágulat szabályozásához, melyet az eNOS aktivitás modulációján keresztül hajt végre (177).

### 3. Célkitűzések

A doktori disszertációmban megfogalmazott vizsgálatok legfőbb célja, hogy feltárja a fontosabb összefüggéseket az agy-testmozgás-bél-mikrobiom tengely kapcsán. Feltételezésünk szerint a sportmozgás által kiváltott adaptív válasz nem csupán a tengely egyes részeire hathat ki külön (, amelyről már számos egyéb kutatás elkészült), hanem ezek együttesen, egymásra kihatva egy kölcsönösen oda-vissza ható kapcsolatban állnak. Legjobb tudomásunk szerint azonban mindezen összefüggéseket és azok komplexitását ennyire részletesen még nem vizsgálták. Éppen ezért az általunk alkalmazott kutatásban mind biokémiai, mind morfológiai, mind pedig fiziológias vizsgálatokat is elvégeztünk az állatokon, hogy egy átfogóbb képet kaphassunk és egy kicsivel jobban megérthessük ezeket a rendkívül bonyolult folyamatokat és azok kihatásait a szervezetre, egymásra egyaránt.

Disszertációm vizsgálatait két alapvető részre lehet osztani. Kutatásunk első vizsgálati szakasza humán vizsgálati személyeken történt, akik egy krónikus ér elszorításos (okklúziós) edzésmódszert alkalmaztak, majd az ennek hatására bekövetkező vázizomban is fellelhető miRNS-ek mennyiségi változását vizsgáltuk meg.

Ezen kutatási eredmények hatására pedig megfogalmazódott disszertációm másik, már markánsabb részének tekinthető területe, illetve annak célkitűzései. Itt már állat modellen vizsgáltuk a hosszútávú testmozgás hatását, illetve annak komplex összetételét, kiemelten a bélrendszerben.

Hipotéziseinket ezek alapján a következőképpen fogalmaztuk meg:

#### **1. Az állatmodelles vizsgálatnál feltételeztük, hogy:**

- 1.1 Az önkéntesen végzett testmozgás változást idézhet elő a bél motilitásában (178).
- 1.2 Mindemellett az önkéntes testmozgás befolyásolja a mikrobiomot, megváltoztatni képes annak összetételét (178).

1.3 Feltételezünk egyfajta kapcsolatot, összefüggést a mikrobiom és a bélmotilitás, azok testmozgás által kiváltott alkalmazkodása, módosulása között (178).

1.4 Valamint kapcsolatot feltételezünk az üres bél biokémiájával kapcsolatosan mért adatok és a mikrobiomnál előforduló baktériumok száma és eloszlása között (178).

## **2. A humán vizsgálatnál feltételeztük, hogy:**

2.1 Feltételeztük, hogy a krónikus testmozgás képes befolyásolni olyan miRNS-ek mennyiségi összetevőit, melyek a bélrendszerbe eljutva is képesek lehetnek kifejteni pozitív hatásukat (179).

## 4. Anyag és módszer

### **4.1. Vizsgálati módszer választásának szempontjai**

Kutatásunk első szakaszában az okklúziós edzésmodszert határoztuk meg humán vizsgálati személyeink terheléses módszereként. Ez az érelszorításos módszer már régóta kutatott terület mind a sport, illetve egyéb tudományterületek számára, és bár sok esetben feljegyezték már az itt jelenlevő hatásmechanizmusokat, számos kérdéses témakör még mindig megválaszolásra vár. Az érelszorítást újféle módon alkalmaztuk, itt ugyanis csupán a pihenőidők közben kaptak efféle speciális ingert, szemben a klasszikus módszerrel, ahol mérsékelt terhelés közben történik meg ugyanez. Edzésmodszertani szempontból azért volt erre szükség, mivel ennek a kutatásnak az is fontos kérdésköre volt, vajon az okklúziós edzésmodszert átültethető-e az élsport területére, megadva egy plusz speciális ingert a szervezetnek, miközben a magas intenzitású edzőmunka is fenntartható.

Előnye a módszernek, hogy humán vizsgálatról van szó, ami ennél fogva az emberi testedzés hatására bekövetkező élettani változásokat sokkal pontosabban képes tükrözni, mint egy állatkísérleti modell.

Hátránya pedig abban mutatkozik meg, hogy sokkalta korlátozottabb a mintavételezési lehetőség, mint egy állatkísérlet során. Részben emiatt a limitáció miatt is választottuk az állatkísérleti módszert a továbbiakban, részben pedig az érdekes biokémiai változások miatt, melyekről a későbbiekben az eredmények részénél bővebben beszélünk.

Az állat modellben általunk választott edzésmodszert az Önkéntes testmozgás módszere volt, magyarul a kisállatok szabadon, kötöttségek nélkül mozoghattak bármikor, amikor kedvük volt hozzá.

A módszer hátránya abban nyilvánult meg, hogy nem tudtuk szabályozni az edzések mennyiségét, intenzitását, illetve melyik napszakban mozogjanak az állatok. Ettől eltérő módon, ha egy általunk vezérelt futópádot használtunk volna, akár a különböző karakterisztikájú edzésprogramok bélrendszerre gyakorolt hatásait is meg lehetett volna vizsgálni.

A kutatásunk egyik fő mérése az GIT EMG mérése azonban egy igen szenzitív vizsgálatnak számít, rendkívül sok artefaktum képződési lehetőséggel. Mindezek miatt, amennyire csak lehetséges próbáltuk az állatok számára a legstresszmentesebb és legkényelmesebb, otthonos környezetet és mozgási rutint kialakítani. Ez a mérések szempontjából kulcsfontosságú.

Az Önkéntes testmozgás nem csak kevesebb stresszel jár az állatok számára, összehasonlítva egy szabályozottan edző csoporttal, hanem még környezetgazdagításnak is minősül, amitől még kiegyensúlyozottabb légkört teremtünk az állatoknak.

Pozitívuma továbbá a módszerünknek, hogy bár a futások időpontját szabályozni nem vagyunk képesek, az állatoknak napi 24 óra áll rendelkezésükre a mozgásra. Számos kutatás kimutatta már, hogy az ilyen testmozgásnak köszönhetően a lefutott táv mennyisége nőni fog, összehasonlítva a kontrollált edzésprogramot végző állatokhoz képest (170-172).

Miután kutatásunk egyik fontos részét képezi a sportmozgás agy-bél tengelyre gyakorolt pozitív hatása, az sem volt elhanyagolható tényező, hogy egyes kutatások kimutatták, az ilyen jellegű testmozgás növeli a sejtproliferációt és a neurogenézist a hippocampusban, valamint javítja a térbeli tanulási képességet (170, 173).

Egerekén végzett kutatáson kimutatták továbbá, hogy az antioxidáns enzimek mennyisége nőtt, a bélrendszeri limfociták esetében a TNF- $\alpha$  mennyisége pedig csökkent. Ez a fehérje rendkívül fontos szerepet játszik a gyulladási folyamatokban, támogatva ezzel a kutatási eredmények alapján a bélnyálkahártya védelmét is (174).

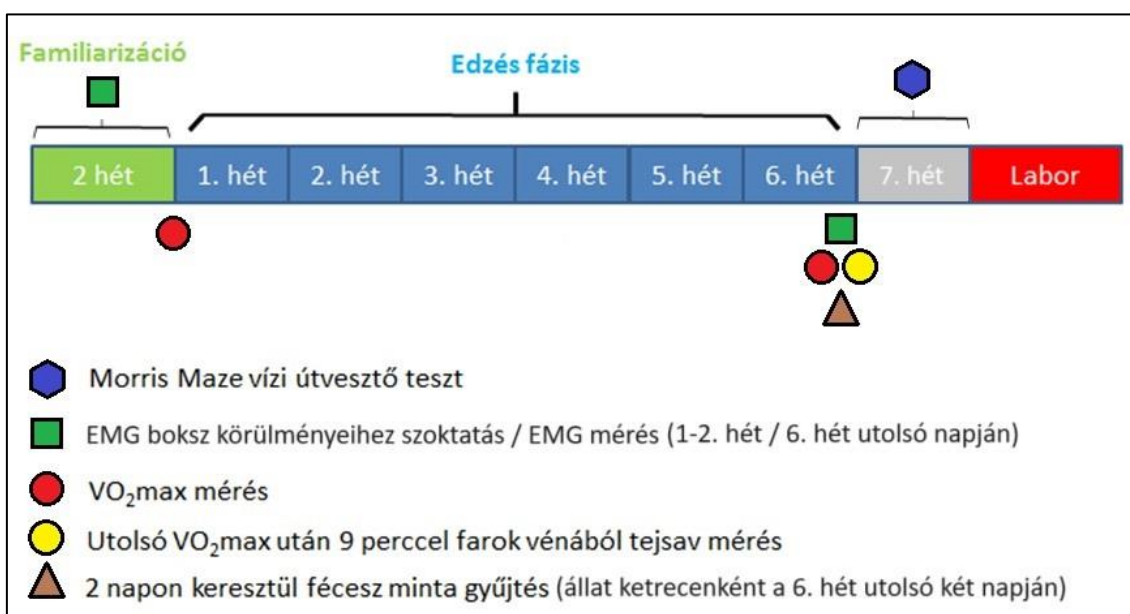
## **4.2. Önkéntes testmozgás vizsgálata állat modellen**

### **4.2.1. Vizsgálati állatok**

Kutatásunk az Országos Állatkutató Etikai Bizottság jóváhagyásával valósult meg (PE/EA/62-2/2021). Tizennégy középkorú (11 hónap, súly: (591.58  $\pm$ 60.9g) hím Sprague-Dawley (Charles-River Laboratórium, Budapest, Hungary) patkány két

csoportra lett bontva, egy kontroll (Control=C. n=6), valamint egy önkéntesen edző csoportra (Voluntary Exercise=VE, n=8).

Az önkéntesen edző csoportnak állandó jelleggel futókereket biztosítottunk, a futási távolságokat pedig egy vezetékes kerékpár computer segítségével (MARWI 5 funkciós UNION-5N) minden nap ugyanabban az időpontban reggel feljegyeztük. Mielőtt az önkéntesen edző csoportot behelyeztük volna a futóketrecekbe felmértük a maximális oxigénfelvételt minden állatnak ( $VO_2\max$ ). A 6 hétnyi futás után mértünk az állatoknak Morris Maze vízi útvesztő tesztet, valamint ismét elvégeztük a  $VO_2\max$  mérést, mely már egy Vita maxima terhelésnek minősült, közvetlenül utána pedig tejsavmérést hajtottunk végre fark vénából (5. ábra).



5. ábra: Az állatmodelles kutatás nagyságrendi időtervének szemléltetése (Szerző saját ábrája)

A vizsgálat során az állatokat kettesével helyeztük el külön-külön ketrecekben és a lakóhelységükben 12 óránkénti fény és sötétség váltakozást alkalmaztunk. Az állatok táplálék és folyadék ellátottsága ad libitum volt.

#### **4.2.2. Morris maze teszt**

A kognitív funkció, a térbeli tanulás mérésére a széles körben ismert Morris Maze vízi útvesztő tesztet alkalmaztam (180). A felmérést 5 egymás utáni napon végeztem el, közvetlenül az edzésprogram vége után. Egy 100 cm átmérőjű és 60 cm magas fekete, kör alakú medencében elhelyeztem egy 6 cm átmérőjű platformot, az észak-keleti negyed közepén. A medence vizének hőfoka 22-23 °C volt, a feltöltésének magassága pedig a platform fölé emelkedett 1 cm-rel, amíg el nem lepte azt. Először az állatokat a pihenésül szolgáló platformra raktam 30 másodpercre, hogy megismerjék annak pontos helyét a medencében, majd behelyeztem őket a lehetséges négy kezdőpont (észak, dél, nyugat, kelet) egyikébe. Innentől összesen 90 másodperc állt rendelkezésükre, hogy újból megtalálják a platformot. Abban az esetben, ha ez a másfél perc nem volt elegendő, hogy rátaláljanak a pihenő állomásra, manuálisan helyeztem őket oda további 30 másodpercre. Azt ezt követő, majd a harmadik és a negyedik kísérletek kezdőpontja az előzőekben nem alkalmazott 3 irány valamelyike volt. Minden állat esetében azonosan, pszeudorandom módon változtattam meg a kezdőpontok sorrendjét minden nap. A platform megtalálásához szükséges időt feljegyeztem, a napi négy ismétlés idejét átlagoltam, majd az öt nap során tapasztalt változásokat statisztikai módszerekkel elemeztem. A referencia memória azon képesség, mely a hosszú távú memórián alapszik. Ennek kiszámítására a teszt napok első társításait hasonlítjuk össze, míg a munka memória kiszámításához az összes kísérlet heti átlagait vettem számításba (180).

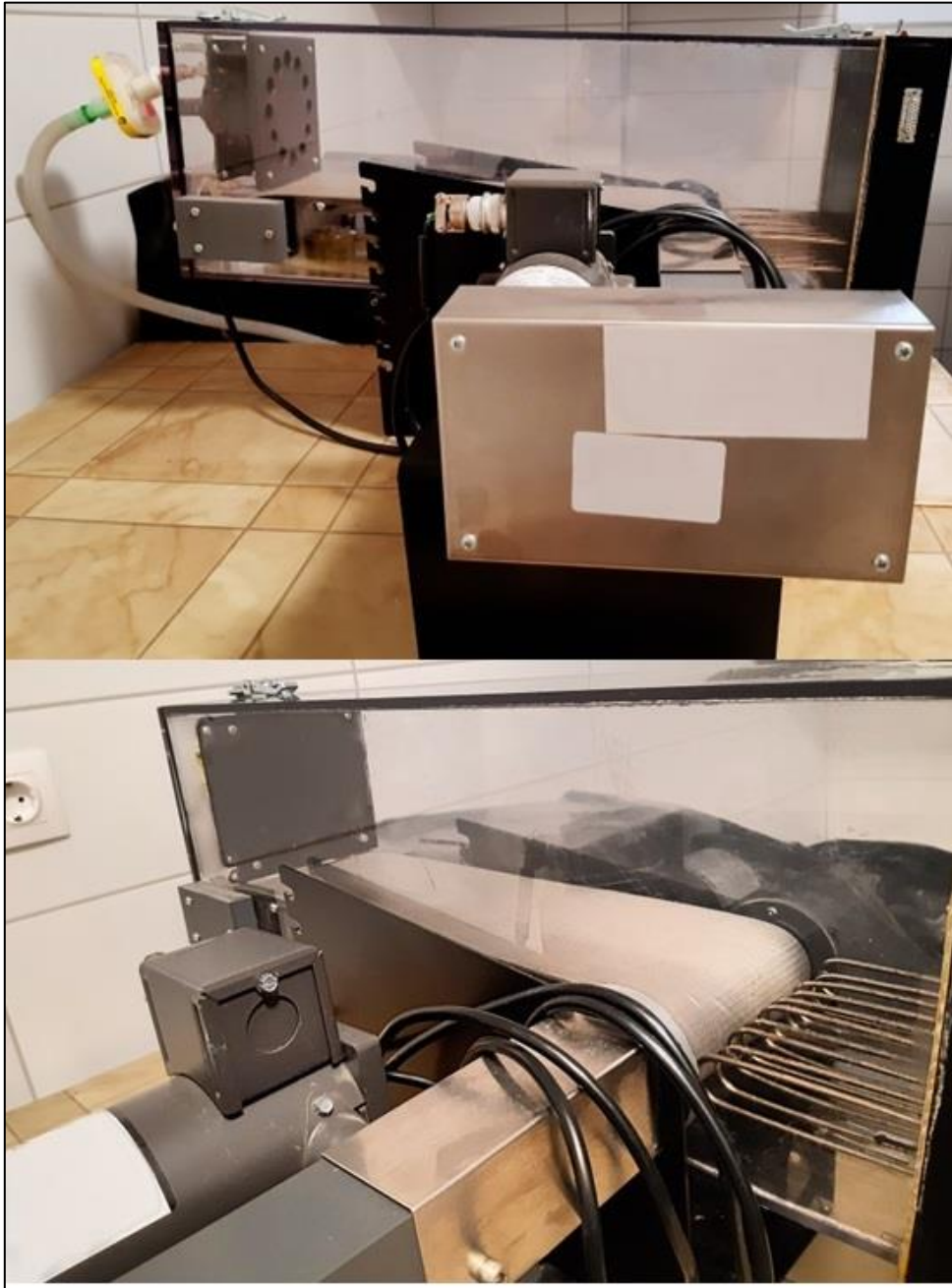
#### **4.3. Fiziológiai tesztek állat modellen**

##### **4.3.1. Maximális oxigénfelvétel mérése (VO<sub>2</sub>max)**

A familiarizációt minden állat esetében egy öt napos, napi tíz perces szoktató periódussal kezdtünk a motor hajtású futópadunkon (Columbus Inst. Columbus, Ohio) (6. ábra). A pontos protokoll melyet alkalmaztunk megegyezik a régebbi kutatásainknál is alkalmazottal (181). Minden esetben 5%-os emelkedés volt beállítva a futópadon, a sebességet azonban fokozatosan növeltük 8 m/percről egészen 23 m/percig. A VO<sub>2</sub>max felmérését minden állat esetében három kritérium alapján mértük fel: (i) a VO<sub>2</sub> nem



változott a sebesség növelésekor, (182) a patkányok már nem tartották meg a pozíciójukat a futópadon, és (iii) a légzési hányados ( $RQ = VCO_2/VO_2$ )  $> 1$  volt.



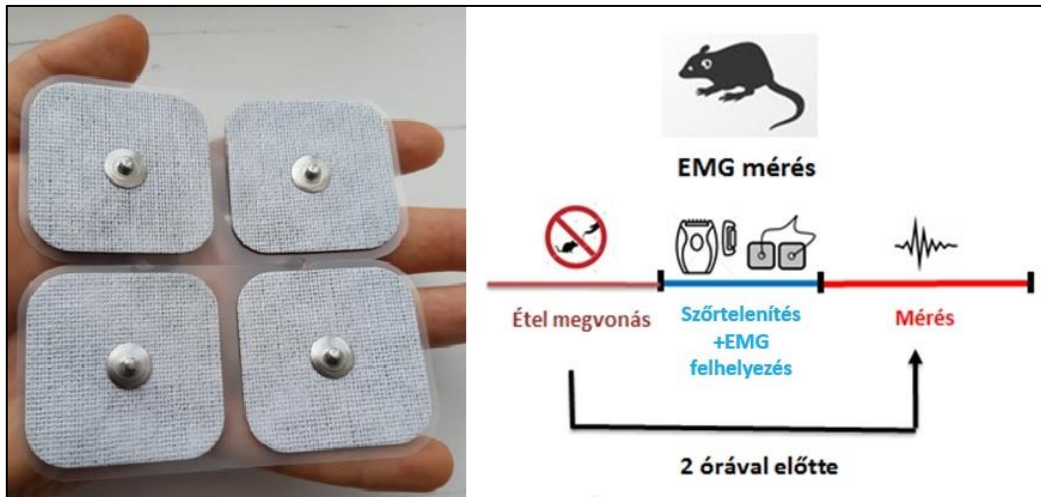
6. ábra:  $VO_2$ max mérésére szolgáló zárt rendszerű spiroergometriai eszköz (Szerző saját ábrája)

### **4.3.2. Vita maxima teszt és tejsav mérés**

Az edzésprogram végén a VO<sub>2</sub>max felmérésénél a protokoll annyiban tért el az első alkalomtól, hogy az állatok a fokozatosan emelkedő terhelés mellett a végső fáradási pontig futottak, ameddig még képesek voltak normálisan megőrizni a helyzetüket a futópadon. Ezt követően a teszt után azonnal (183) az állatok farkok vénájából vérvételt végeztünk, majd a Nova Biomedical Lactate Plus tejsav mérő műszerrel tejsavmérést eszközöltünk.

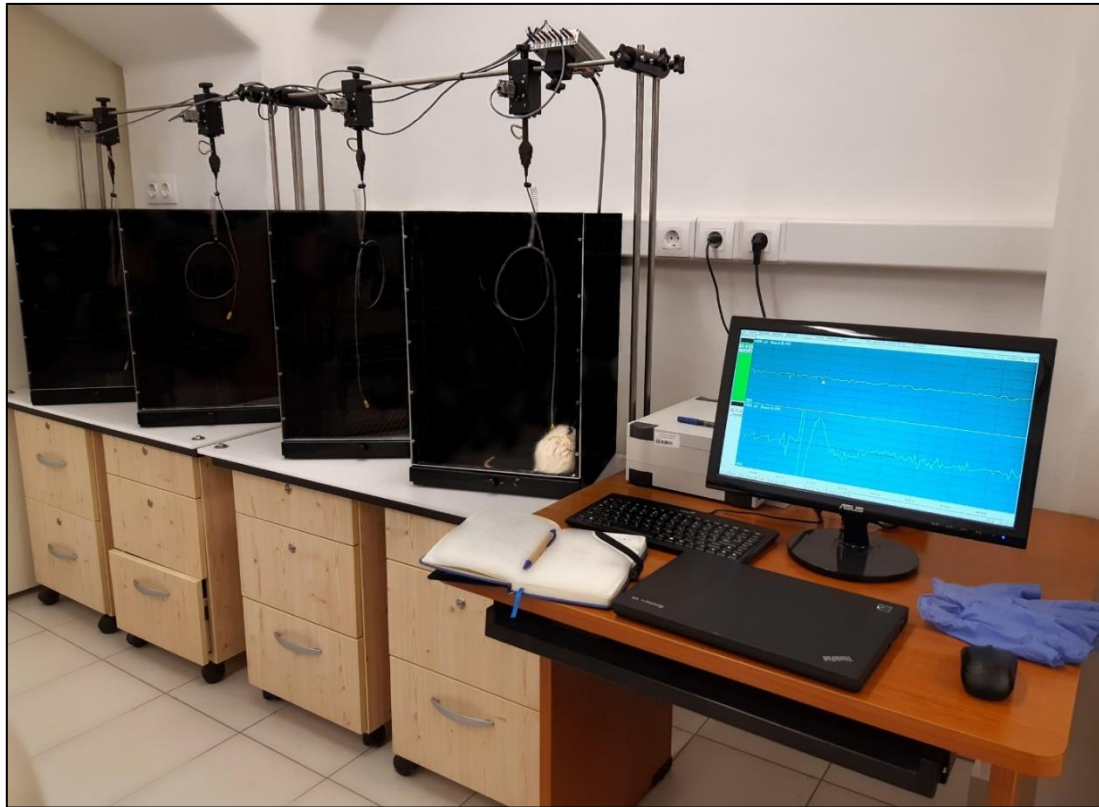
### **4.3.3. Elektromiográf (EMG) mérés**

A kutatásunkhoz legalkalmasabb mérési módszernek a Szűcs és munkatársaik által is használt TENS elektróddal történő EMG mérési módszer bizonyult (91). Választásunk legfőbb oka az volt, hogy így nincs szükség egy szubkután felhelyezhető bipoláris elektródpár beműtésére. Ez ugyanis egy transzcután elektromos idegfelvételi felületi elektródák, mellyel egy teljesen fájdalommentes, non-invazív módszerrel mérhetjük a gyomor, a vékonybél és a vastagbél mioelektromos aktivitását egy időben, egyszerre. Továbbá többszöri újra felhasználhatóságot is kínál számunkra. A TENS elektródokat (Electrode PE Foam Solidgel, Bio Lead-Lok B Sp. Zo.o, Józefów, Lengyelország) műtét nélkül, egy egyszerű szőrtelenítés után ragtapasszal (Leukoplaszt 5 cm, BSN medical GmbH, Hamburg, Németország) rögzítettük a bőrfelületre (7. ábra).



7. ábra: Az általunk használt TENS elektródok és azok időbeli felhelyezésének sematikus ábrája (Szerző saját ábrája)

Az elektródák megfelelő vezetőképességének biztosítása érdekében Ten20 EEG vezető gélt (Bio-Medical Instruments, USA) használtunk a bőrfelületen. A standard elektródapárokat (2 elektróda) a hasfal jobb és bal oldalán rögzítettük. Az GIT EMG méréseit 6 hét önkéntes testmozgás után végeztük el az önkéntesen edző csoporttal és a kontroll állatokkal egyidejűleg, stresszmentes körülmények között, 9:00 és 11:00 óra között szobahőmérsékleten (24 °C). Ezt megelőzőleg 2 hetes familiarizációt alkalmaztunk minden állat esetében, hogy az EMG dobozok ne új környezetként kerüljenek bevezetésre, és a lehető legnyugodtabb méréseket tudjuk majd rögzíteni (8. ábra). Minden mérés előtt egyfajta „metabolikus ketrecként” ételmegvonásban is részesültek az állatok, hogy kizárjuk az emésztésből fakadó EMG jeleknek a rögzítését.



8. ábra: EMG mérésre szolgáló tárolók (Szerző saját ábrája)

A vizsgált elektrofiziológiai paramétereket minimum 30 (de lehetőleg 90) percen keresztül rögzítettük, és egy online számítógépes jel felerősítő rendszerrel elemeztük, melynek 10 S.P.E.L. Advanced ISOSYS adatgyűjtő rendszer a pontos megnevezése (MDE GmbH, Walldorf, Németország). A minél hosszabb rögzítésre a lehető leghosszabb nyugalmi jelek detektálása miatt volt szükség, melyhez a későbbiekben egy digitálisan beépített vágó programot is használtunk. Az elektromiográfiás (EMG) jeleket először az MDE Kft. (Budapest, Magyarország) által tervezett egyedi erősítővel erősítettük. Az artefaktumok csökkentése érdekében kettős szűrőrendszert használtunk. Minden analóg jelet előszűrtünk egy elsőrendű Bessel-típusú aluláteresztő szűrővel, majd 2 Hz-es mintavételi frekvenciával, 80 dB/dekád meredekséggel digitális jelekké alakítottuk. Az előszűrt mioelektromos jeleket ezután Bessel-típusú sávszűrőkkel tovább szűrtük 0-30 ciklus per perc (cpm = contraction per minute) frekvenciával, 140dB/dekád meredekséggel. Mindegyik szűrő digitális IIR-szűrő volt. A rögzített jeleket Fast Fourier-transzformációval (FFT) elemeztük. Az elektromos aktivitás frekvenciáját cpm-ben jellemeztük, az aktivitás nagyságát pedig teljesítményspektrum-sűrűségként (PsD =

power spectrum density) írtuk le. A fiziológiai paraméterek értelmezését illetően, ha az értékek egy standard eltérésnél nagyobbak voltak, akkor azokat kiugrónak tekintettük, ezért a korábban leírtak szerint kizártuk az elemzésből (91).

#### **4.4. Biokémiai változások detektálására használt módszerek állat modellen**

Miután az edzésprogram és az azt követő egyéb fiziológias tesztek is befejeződtek az állatok intraperitoneális ketamin (Richter, koncentráció: 100 mg/ml) /xylazine (Produlab Pharma, koncentráció: 20 mg/ml) altató injekcióval el lettek altatva, melyből 0.1 ml/10g testtömeg arányban megfelelő dózisban részesültek, továbbá heparinizált, jéghideg sóoldattal transzkardiálisan perfundáltuk őket. A has felnyitása után ~5 mm nagyságú vastagbél gyűrűket gyorsan eltávolítottuk a vastagbél leszálló szakaszából, valamint ~20 mm nagyságúakat az ileocecalis csomópont alatt, a proximális régióban pedig a transzmissziós elektronmikroszkópos mintákhoz (TEM, n=5 csoportonként). Az érintetlen mitokondriumok és a teljes fehérje kivonathoz ~30 mm nagyságú vastagbél metszetet gyűjtöttünk.

##### **4.4.1. Western blot molekuláris biológiai eljárás**

A Western blot eljárás, egy olyan szemi-kvantitatív módszer, mely a különféle szövetmintákban fellelhető speciális fehérjék immunreakcióval való kimutatására alkalmas. Jelen kutatásomban a vastagbélben fellelhető különböző fehérjék mennyiségét vizsgáltam.

A vastagbél középső részéből kinyert mintákat először Turrax homogenizátorral homogenizáltuk (IKA T10 basic ULTRA-TURRAX DISPERSER 50/60Hz, Staufen im Breisgau, Németország) lízispuffer hozzáadásával (137mM NaCl, 1% NP 40, 10% glicerol, 20mM Tris 8.0 pH) jégen és hozzáadtunk még proteáz/foszfatáz inhibitorokat [Aprotinin (2µg/ml), Leupeptin (5µg/ml), PMSF (1mM), Na orthovanadát (1mM)]. Ezután 40 percig jégen rázattuk, majd 15000g-n centrifugáltuk a felülúszót pedig lepipettáztuk.

A következő lépés a fehérje mérés volt, melyet a Bradford (BioRad Protein Assay, Dye Reagent Concentrate) és Lowry protokollal végeztünk el. A mintákat triplikátumokban vittük fel, majd 595 nm hullámhosszon vizsgáltuk Multi Scan EX (Thermo Labsystem) géppel, ezután egységes koncentrációra hígítottuk őket. A minták hígítását 2X-es Laemmli pufferrel végeztük, majd 5 percig 90 °C fokon melegítettük azokat. Az így keletkezett már vizsgálatra kész mintákat -80 °C fokon tároltuk.

A feldolgozás során a mintákat mindig 10%-os Sodium Dodecil Sulfate-poliakrilamide gélelektroforézis (SDS-PAGE) gélekben vizsgáltuk, ahol az időtartam átlagosan 1-1,5 óra hosszáig tartott, konstans 150 V feszültség értéket alkalmazva. Az elektroforézis során Biorad markert (Biorad 1610374) alkalmaztunk. A zsebek feltöltése során a markernél 5 µl-t, a minták esetében pedig mindig egységesen 10 µl-t vittünk fel.

A gélelektroforézis befejeztével egy előre méretre vágott PVDF membránt 1 percig metanolban aktiváltunk, majd 5 percre 20%-os metanolos transzfer pufferbe áztattuk a blot papírral együtt, billengető eszközzel egybekötve. Ezután elvégeztük a fehérjék transzferálását a gélről a membránra, amely során egy a membránból, a gélből és a blot papírból álló úgy nevezett „szendvicset” helyeztünk a transzfer egységbe. Ennek a szendvicznek az elkészítése során minden összetevőjét 20% metanolos transzfer pufferrel nedvesítettünk, hogy elkerüljük az egyes komponensek kiszáradását. A transzfert 1,5 órán keresztül végeztük konstans 30 V feszültségen.

Ezt követően a membránt 1 percre Tris-pufferolt sóoldat-Tween 20 (TBST) oldatba helyeztük, a gélt pedig 2 órára a billegtetőre gélfestő oldatba (50% metanol, 39,75% H<sub>2</sub>O, 10% ecetsav, 0,25% Coomassie Brilliant Blue). A membránt az 1 perc lejárta után áthelyeztük 2 órára vagy 0,5-5%-os tejjel vagy 5%-os BSA-val kombinált TBST-ben. Ezt a blokkolást 4 °C fokon végeztük el szintén a billegtetőn.

Ezután a blokkolás során alkalmazott fehérjének megfelelő beoldott elsődleges antitesttel kezeltük a membránt egy éjszakán keresztül 4 °C fokon billegtetve (1. táblázat). A hígítását az elsődleges antitesteknek, mindig a célfehérjének megfelelő, antitestet gyártó cég utasításai alapján végeztük el. Másnap reggel háromszor 20 percen keresztül TBST-vel ráztatva mostuk a membránt szobahőmérsékleten, hogy kiküszöböljük a nem specifikus kötődéseket.

A következő feladat a másodlagos antitesttel való kezelés volt a membránon, melyet 4 °C fokon 2 órán keresztül végeztünk el egy billegetőn. Az inkubálás során tormaperoxidáz-konjugált egér, kecske és nyúl másodlagos antitesteket alkalmaztunk (Jackson 1:10000). Ezek után ismét a membrán mosása következett háromszor 20 perc TBST-vel szobahőmérsékleten ráztatással egybekötve. Miután a mosásokkal végeztünk a membránt tormaperoxidázzal inkubáltuk 1 percig fénytől védve, szintén szobahőmérsékleten.

Az inkubált membránt ezután az AZURE 400 látható fluoreszcencia képalkotó műszer (1.7.6.1202-es verzió) segítségével előhívtuk, majd a megfelelő molekulásúlyoknál megjelenő csíkokat, melyek reprezentálják célfehérjéinket kiértékeljük. Ehhez a kiértékeléshez az ImageJ szoftvert használtuk, melynél a relatív denzitást mindig a „house keeping” fehérjére kalkuláltuk.

Az utolsó lépésként a membránfestő oldattal (0,2% Coomassie Brilliant Blue, 45% metanol, 10% ecetsav, 44,8% H<sub>2</sub>O) megfestettük a membránt, amit az előbb előhívott képekkel együtt szintén az ImageJ program segítségével kiértékelünk. A house keeping fehérje minden mérésünk esetében a tubulin volt. A vizsgálatom alatt alkalmazott elsődleges antitestek listája az 1. táblázatban láthatóak.

1. táblázat - A mérések során alkalmazott elsődleges antitestek

Antitest/antigén	Molekula tömeg	Hígítási arány	Gyártó	Katalógus szám
eNOS	140 kDa	1:5000	Abcam	ab76198
SIRT1	120 kDa	1:3000	Abcam	ab110304
PGC1 $\alpha$	91 kDa	1:3000	Novus Biologicals	NBP104676
NRF1	68 kDa	1:1000	Cell Signaling	D9K6P, 46743
AKT1	62 kDa	1:1000	Santa Cruz	SC5298
Nfkb	60 kDa	1:3000	Abcam	ab16502, p65
NAMPT/Visfatin	56 kDa	1:3000	Abcam	ab45890
CS	52 kDa	1:10000	Abcam	96600
TUBULIN	50 kDa	1:10000	Sigma	T6199
SIRT3	28 kDa	1:1000	Proteintech	10099-1-AP

#### 4.4.2. Mitokondriális, citoszolikus és nukleáris frakciók preparálása

Scorrano és munkatársai (184) által használt protokollt használtuk a frakcionálás során, kisebb módosításokat eszközölve. Az eljárás minden lépését 4 °C fokon végeztük el. A friss kötőszövet-, illetve zsírmentes vastagbéliszövetet 10 mM EDTA-val kiegészített jéghideg PBS-be merítettük, majd a lehető legkisebb darabokra daráltuk. Ezután a mintákat a Turrax homogenizátorral homogenizáltuk (IKA T10 basic ULTRA-TURRAX DISPERSER 50/60Hz, Staufen im Breisgau, Németország). A minták feltárását 0,05%-os tripszinnel végeztük 30 percnyi enyhe rázogatóással (200 rpm), majd 1000 g-n 5 percig centrifugáltuk. A pelletet 10-szeres mennyiségű IBm1 pufferben (50 mM Tris-HCl, 50 mM KCl, 10 mM EDTA, 0,2 % BSA és 0,067 M szukróz pH 7,4) újra szuszpendáltuk, és pár enyhe ütéssel homogenizáltuk annak tartalmát.

Ezt a homogenátumot 10 percig 600 g-n 4 °C fokon centrifugáltuk. A sejtmag egy részét, beleértve a pelletet és a citoszolikus felülúszót is, egyéb Western blot elemzéshez tartogattuk. Az mintát ezután óvatosan kivettük a centrifugálóból, majd a felülúszót leszívtuk és külön egy új eppendorfba helyeztük át, mely a mitokondriális és citoszolikus részeket tartalmazta. Az alján maradt csapadékból egy csapott hegyű pipettával 100 µl-t új eppendorfba helyeztünk 20 µl NP40 lizáló pufferrel és 66 µl 4XSDS<sup>DDT</sup> hozzáadásával a csomók elkerülése miatt. Ezt mind felsuszpendáltuk, finom ütésekkel összeráztuk, majd szonikátor segítségével 2 percig 3-4-es fokozaton még apróbb részalkotókra homogenizáltuk, amíg fehéres világoskékes színt nem kaptunk. Ezt követően 5 percig forraltuk 100 °C fokon, majd 14000 rpm sebességgel ismét lecentrifugáltuk. A felülúszót leszedve megkaptuk a Nukleáris frakciót, melyet -70 °C fokon későbbi felhasználásig tároltunk.

A félretett mitokondriális, citoszolikus részeket tartalmazó eppendorffal a centrifugálási lépést megismételtük az IB m1 puffer homogenizálása után, hogy jó minőségű intakt mitokondriumokat nyerjünk. Mindezt 8000 g-n (14000 rpm) 10 percig 4 °C fokon hajtottuk végre. A felülúszó citoszolikus részből 100 µl-t óvatosan áthelyeztük egy tiszta eppendorfba 20 µl NP40 lizáló pufferrel és 66 µl 4XSDS<sup>DDT</sup> hozzáadásával. Ezután a már ismert módon felsuszpendáltuk, összeráztuk, szonikátorral 2 percig 3-4-es fokozaton homogenizáltuk, majd 5 percig forraltuk 100 °C fokon. Mindezek után pedig -70 °C fokon tároltuk későbbi felhasználásig.



A mitokondriális pelletet a lehető legkevesebb mennyiségű IBm2 pufferben (10 mM Tris-HCl, 3 mM Tris-EGTA és 0,25 M szukróz pH 7,4) szuszpendáltuk.

A fehérjekoncentrációt a már fentebb említett módon a Bradford-méréssel (185) mértük.

#### **4.4.3. Reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelődés vizsgálata**

A mitokondriumokat (0,3 mg/ml) a kísérleti pufferoldatunkban (10 mM Tris/HCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 20 mM EGTA/Tris, 250 mM szukróz pH 7. 4) 1 μM Amplex Reddel (gerjesztés: 560 nm; emisszió: 584 nm) és torna-peroxidázzal (10 NE) kiegészítve inkubáltuk a ROS termelés értékeléséhez, a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> által kiváltott fluoreszcencia monitorozásával. Mindezt Votyakova és munkatársainak egy korábbi kutatása alapján végeztük el, kisebb módosításokkal végrehajtva (186). Miután felmértük az alap ROS képződést, 10 mM szukcinát (Suc) és/vagy 1 μM rotenon (81) került hozzáadásra. Szukcinát szubsztrát esetén a ROS-termelés az 1-es komplex szintjén a fordított elektronáramlással összefüggő ROS-termeléssel együtt fog növekedni. Ennek bevlésére a rotenonnal való gátlást használtuk. Ez utóbbi esetében a rotenon hozzáadásának kettő lehetséges hatása van az I. komplex szintjén: A ROS termelődés növekedése az előrefele irányuló elektronáramláshoz köthető, míg annak csökkenése pedig a visszafele áramló elektronokkal (187). A hidrogén peroxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) termelés kalibrálását általunk ismert mennyiségű H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hozzáadásával értük el. A fluorimetriás vizsgálatokhoz a Fluorskan Ascent FL fluorimétert használtunk 30 °C fokon a 96 lyukból álló lemezekben. Minden pontot triplikátumokban mértünk.

#### **4.4.4. 16sRNS génamplikon szekvenálás**

A mikrobiomra jellemző sajátosságokat az állatok fécesz mintájának elemzésével vizsgáltuk meg, amely a SeqOmics Kft.-vel való kollaboráció során valósult meg.

Ez az eljárás módszertanában megegyező egy korábbi humán kutatásunkéval, ahol sportoló és inaktív személyek mikrobiom elemzését hajtottuk végre COVID-19 fertőzés ideje alatt, illetve az után (38).

Mind a bélmintákat, mind a frissen begyűjtött fécesz mintákat az eltávolítás után azonnal folyékony nitrogénnel lefagyasztottuk, majd a hosszútávú tárolás érdekében -80°C fokon tároltuk. Minden minta esetében a DNeasy PowerSoil kit segítségével izoláltuk a teljes DNS-t a gyártó által meghatározott protokoll szerint (kat. sz. 12888-100; Qiagen GmbH, Hilden, Németország). A 16S rRNS gén V3-V4 régióit Polimerációs láncreakciós módszerrel (PCR) amplifikáltuk a következő primerek segítségével: 16S Amplicon PCR Forward Primer = 5'-TCGTCGGCAGCGTCAGTCAGATGTGTGTATAAGAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG, és 16S Amplicon PCR Reverse Primer = 5'-GTCTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTGTGTATAAGAGAGACAGGACTACHVGGTATCTAATCC

Az Illumina MiSeq szekvenáláshoz szükséges DNS könyvtárat a Nextera XT DNS-könyvtárkészítő készlet (Illumina Inc., CA, USA) segítségével állítottuk elő szintén a gyártó protokollja alapján. A DNS könyvtár szekvenálását az Illumina MiSeq 2 × 300 bp platformon végeztük a MiSeq v3 Reagent Kit (Illumina Inc., CA, USA) használatával, a gyártó utasításainak megfelelően. A szekvenciaolvasásokat a további elemzések előtt mintánként 10 000 olvasásra korlátoztuk.

## 4.5. Szöveti vizsgálatok állat modellen

### 4.5.1. Caveolák transzmissziós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálata

A metszetek elkészítésében az Eötvös Lóránd Tudományegyetem Biológiai Intézetének az Anatómiai, Sejt- és Fejlődésbiológiai Tanszék munkatársai voltak segítségünkre.

A TEM vizsgálathoz a mintákat módosított Carnovsky-fixálóba (3,2% PFA, 0,2% glutaraldehyd, 1% szacharóz, 40 mM CaCl<sub>2</sub> 0.1M kakodilát puffer) helyezve 24 órán át 4°C-on fixáltuk. Ezután mielőtt az utófixálásként szolgáló 5%-os glutaraldehydben / 0,1 M kakodilát pufferbe kerültek volna 12 órára 4°C-on, minden mintát két egyenlő részre vágunk a midsagittális síkban. A dehidratálást propilén-oxiddal telített, fokozatosan adagolt etanol hozzáadásával értük el. Mielőtt Spurr alacsony viszkozitású epoxigyantába ágyasztuk volna a szöveteket, azok integritását és orientációját a 0,8-1 µm-es félvékony

metszeteken leellenőriztük. Minden szegmensből 2 miniblokk (1 mm<sup>2</sup>) került kivágásra. Az „E” miniblokk a teljes nyálkahártyát (epithelium, lamina propria, muscularis mucosa), míg az „M” miniblokk a submucosa, muscularis propria és serosa rétegeket tartalmazta. Az "E" miniblokkokat (2/állat, 10/állat csoportonként) a hámsejtek morfológiai vizsgálatára, míg az "M" miniblokkokat a caveola mennyiségének számszerűsítésére használtuk fel a körkörös izomréteg (CML) legbelső simaizomsejtjeiben (SMC). Miniblokkonként 6 db 50-60 nm ultravékony metszet vágunk ki a Reichert OMU3 ultramikrorotomban, majd Formwar (Agar Sci., Essex, UK) bevonatú réz résrácsra gyűjtöttük. Az egyes részek megfestéséhez uránil-acetátot és Reynolds ólom-citrátot használtunk. A morfológiához Morada 11 megapixel kamerával (Olympus) felszerelt JEOL JEM 1011 transzmissziós elektronmikroszkópot alkalmaztunk. A caveolák számának elemzéséhez a legbelső rétegből származó SMC sejtek közül választottunk 2-2 egymással szomszédosat, mindig különböző szelvényekből (4 SMC/állat 2 különböző helyen). A mikrofelvelelek azonos nagyítással (x 30 000) készültek és a kiválasztott teljes SMC hosszt lefedték. A plazmalemma hosszát (C – 386467,82±160708,19 nm, VE – 414775,53±226673,91 nm) és a caveolák számát (C – 16,24±1,24 µm, VE – 24,14±2,67 µm) az iTEM szoftver mérési funkciójával határoztuk meg.

#### **4.5.2. Morfológiai mérések**

A mitokondriumok és vezikulák morfológiai mérését az APEER Online Machine Learning Platform segítségével vizsgáltuk, a Zeiss (<https://www.apeer.com>) és a Fiji (92) programok által. A megkülönböztethető mitokondriumokat és vezikulákat korábbi felmérés alapján egy definiált „mélytanulási” módszerrel (deep learning) követtük nyomon a felnőtt patkányok vastagbélmintáin (5 állat/csoport, 3-4 független kép 20 000×-es nagyításban), egy már előre meghatározott morfológiai beállítással kezelve. Az Apeer program által vezérelt mélytanulás három különböző csoportot hozott létre a mitokondriumok egyes osztályai között, azok morfológiai megjelenése alapján: Az „A csoportban” helyezkedtek el a normális, sűrű mátrixsal benne párhuzamos, keskeny cristákkal rendelkező mitokondriumok; a „B csoport” esetében a rendezetlen mitokondriumokról beszélhetünk, ahol a mátrix még ugyan mindig sűrű, de már rendezetlen cristák, és egyes lipidcseppek is találhatóak; a „C csoportban” pedig a duzzadt

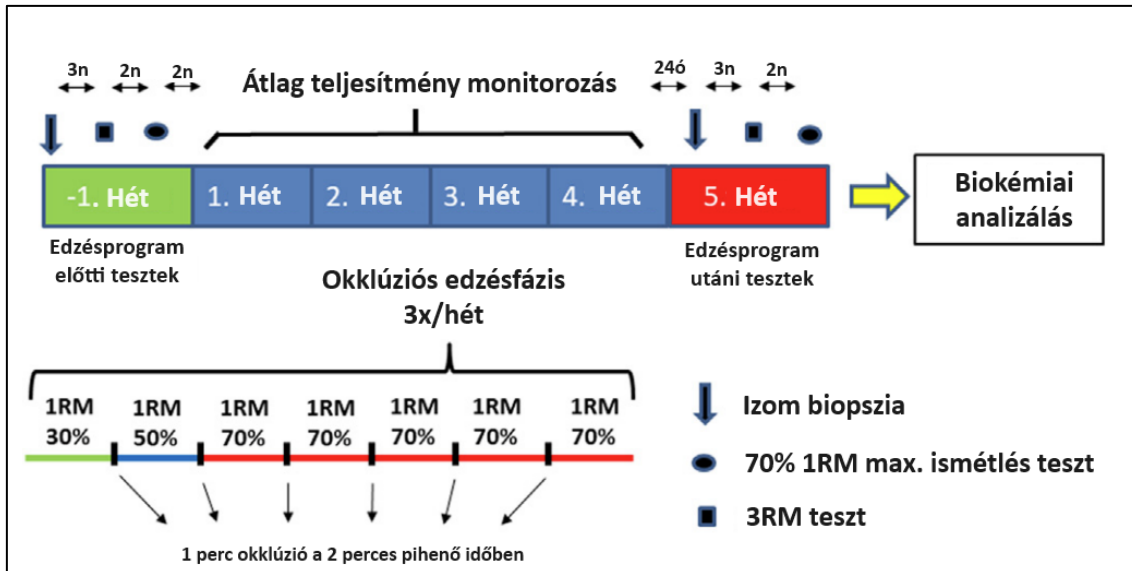
mitokondriumok vannak, ahol a cristáknak és a mátrix sűrűségének széles kiterjedésében vagy teljes egészében a hiányáról, a belső szerkezet jelentős elvesztéséről számolhatunk be. A kérdéses mitokondriumokat és/vagy vezikulákat újraértékeltek. Az így kapott eredményeinket először a Fiji programba átexportáltuk, majd annak segítségével megkaptuk a következő paramétereket: relatív mitokondriális és vezikuláris terület, mitokondriális méret; kerület; aspect ratio (AR, hossz-szélesség arány) mint [(nagytenyely)/(kistenyely)]; formafaktor (FF, a mitokondriumok komplexitási aspektusát tükrözi) mint [(kerület<sup>2</sup>)/(4π \* felület)]. A további adatelemzéshez a kiszámított értékeket a Prism 6 (GraphPad Software) programba importáltuk. A statisztikai szignifikanciát az átlag 95%-os konfidenciaintervalluma (C.I.) alapján értékeltük.

#### **4.6. Krónikus okklúziós módszer alkalmazása human modellen**

##### **4.6.1. Vizsgálati személyek**

A vizsgálatunkra 22 egészséges fiatal férfi jelentkezett önként. Ezután véletlenszerűen két egyenlő csoportba osztottuk a vizsgálati személyeket, egy okklúziós (O – életkor:  $23.9 \pm 1.7$  év, testsúly:  $77 \pm 8.9$  kg, magasság:  $182.3 \pm 7.8$  cm, terhelési egység:  $82.2 \pm 18.6$  kg) és egy kontroll (C – életkor:  $24.1 \pm 6.1$  év, testsúly:  $81.3 \pm 6$  kg, magasság:  $184.5 \pm 7.2$  cm, terhelési egység:  $86.7 \pm 12.9$  kg) csoportra. Minden résztvevő részletes tájékoztatást kapott a vizsgálat céljáról és annak eljárásairól. A kutatás megkezdése előtt mindenki átesett egy orvosi vizsgálaton, valamint kitöltöttek egy orvosi kérdőívet is, mellyel így kizártunk minden kardiológiai, metabolikus, neurológiai vagy mozgásszervi rendellenességet. Minden eljárást jóváhagyott a Testnevelési Egyetem Etikai Bizottsága (ET-KEB/No8/2017), és a kutatás a Helsinki Nyilatkozat előírásai szerint zajlott.

Minden résztvevőnek felmértük az edzésprogram előtt, illetve után a maximális erejét és az erő állóképességét. Történt ezeken kívül szintén kétszer mikro izombiopszia mintavétel is, melyeket a későbbiekben laborunkban analizáltuk. Ezen mérések részleteiről lentebb írok bővebben, a könnyebb szemléltetés érdekében pedig egy összefoglaló ábrán bemutatom a kutatás nagyságrendi időtervét (9. ábra).



9. ábra: A humán modellen végzett kutatás nagyságrendi időtervének szemléltetése (179)

#### 4.6.2. Maximális erő felmérése

Az okklúziós edzésprogram megkezdése előtt egy héttel minden vizsgálati személy maximális erőfelmérésen vett részt, melyet egy guggoló keretben, rögzített pályán hajtottak végre a sérülések megelőzése érdekében. Minden vizsgálati személy számára már ismert mozgás volt a guggolás, valamint végeztek már korábban hasonló erőedzéseket. A maximális erő felmérése a három ismétléses maximum (3RM) teszttel történt, a National Strength and Conditioning Association irányelvei szerint vizsgálták. A tesztet egy 10 perces kerékpár ergométeren végzett bemelegítés előzte meg. A vizsgálati fázisban a résztvevők tíz ismétlést végeztek a testsúlyuk felének megfelelő ellenállással. Ezt egy 4-6 ismétlésből álló sorozat követte teljes testsúllyal. Az utolsó szakasznál az önkénteseknek négy alkalmuk volt a 3RM elérésére. Az így elért érték az egy ismétléses maximum (1RM) 90-93%-aként definiálható. A terhelést fokozatosan növeltük, és a próbák között legalább két, de maximum 5 perces pihenőidőt alkalmaztunk. Sikeresnek akkor volt tekinthető egy ismétlés, amennyiben nem volt szükség külső segítségre a súly megmozgatásához, továbbá, ha a comb a talajjal párhuzamos helyzetet ért el.

### **4.6.3. Terhelési protokoll**

Három nappal az utolsó mikro izombiopszia mintavétel után és négy nappal az első edzés előtt megmértük a maximális erőt a 3RM teszttel. Két pihenőnap után erő állóképességi tesztet eszközöltünk, ahol a terhelést az 1RM 70%-ának megfelelő ellenállásban határoztunk meg, teljes guggolósos erőfelméréssel. Mindezt a négyhetes edzések előtt, illetve után végeztük el.

### **4.6.4. Biopszia mintavétel**

Az edzésprogram megkezdése előtt 3 nappal vettük az első mikro izombiopszia mintákat a vizsgálati személyektől, a másodikat pedig az edzésprogram lejárta után 24 órával. A biopszia kinyerése egy félautomata tűvel (EASY-RAM 14Gauge 100 mm (hossz) helyi fájdalomcsillapítás (20 mg/ml lidokain-hidroklorid; EGIS, Budapest, Magyarország) alkalmazásával történt, szakképzett személy által a jobb oldali vastus lateralis izomból. Ezután egyből az izommintákat PBS pH 7,4-es oldattal lemostuk, majd folyékony nitrogén segítségével lefagyasztottuk. A későbbi miRNS mérések idejéig pedig -80 C°-on tároltuk.

## **4.7. Biokémiai változások detektálására használt módszerek humán modellen**

### **4.7.1. RNS kitermelés kvantitatív valós idejű polimeráz láncreakció (qRT-PCR) a mikroRNS átíratok vizsgálatához**

A minták miRNS méréséhez Kvantitatív valós idejű polimerációs láncreakciós módszert (qRT-PCR) alkalmaztunk. Az 5-10 mg nagyságú izomdarabokból az RNS kinyerése Trizol reagensek (TRI Reagents®: TR 118, MRC Inc., Cincinnati, OH, USA) segítségével történt. 260 nm-en és 280 nm-en hullámhosszon megmért abszorbancia alapján vizsgáltuk az RNS tisztaságát. A kinyert RNS, melynek aránya 1,8-nál nagyobb volt, későbbi elemzéshez is felhasználtuk. A teljes RNS (10ng) visszaállítása a MicroRNA Reverse Transcription Kit (TaqMan™ Advanced miRNA cDNA Synthesis Kit: A28007, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) segítségével történt. A gyártó protokollja

alapján, kisebb módosításokkal határoztuk meg az egyes cél miRNS-ek mennyiségét. A következő TaqMan MikroRNS Analíziseket használtuk: miR-486, miR-499, miR-206, miR-1, miR-133a és miR-233b. Minden anyagot az Applied Biosystems szállította (TaqMan™ Advanced miRNA Assay: A25576, Applied Biosystems). A qRT-PCR-t a TaqMan Fast Universal PCR Master Mix (Kat#: 4366072, Applied Biosystems) alkalmazásával végeztük egy 7500 Fast Real-Time PCR rendszerben, a gyártó protokollja szerint. Minden mintát triplikátumokban futtattunk, és a korábban leírtak szerint történt a normalizálásuk. Normalizálóként a miR-191-et használtuk minden mintában, továbbá minden reakciót külön futtattunk és a kvantifikációhoz Ct ( $\Delta\Delta Ct$ ) módszert alkalmaztunk.

#### **4.8. Statisztikai analízis**

Az állatmodellen elvégzett Morris maze teszt esetében a csoportkülönbségeket kétirányú ANOVA eljárással vizsgáltuk, a csoportos átlagokat pedig a Tukey teszttel hasonlítottuk össze. Az állatok súlyában és maximális oxigénfelvételében bekövetkező változásokat 1 mintás T próba segítségével mértük. A kontroll és edző csoport közötti különbségek kimutatására (a vita maxima tesztet követő laktát szint, a bélperisztaltika mérésére szolgáló EMG mérések, a bélszakaszok mitokondrium és szabadgyök mérései, az általunk itt mért fehérjék Western blot vizsgálata, valamint a bélszakaszok morfológiai mérései során) 2 mintás T próbát alkalmaztunk. A normális eloszlás kimutatására a Shapiro-Wilk tesztet használtuk. Abban az esetben, ahol nem találtunk normál eloszlást a Kruskal-Wallis-tesztet lett alkalmazva Tukey teszt helyett.

Minden mikrobiommal kapcsolatos bioinformatikai analízist a Snaq nevű programmal (188), a 16S mikrobiom adatok elemzését pedig a QIIME2 (81) program segítségével végeztük el. Ebben a szakaszban a DADA2 algoritmust (189) használtuk az amplikonszekvencia-változatok levezetésére, amelyeket a SILVA 128 referencia adatbázis (190) segítségével taxonómiaiilag osztályoztunk a törzstől a nemzetség szintjéig. A mintákon belüli faji diverzitás mérésére számolásunkat az amplikonszekvencia változatok alapján létrehozott Shannon-diverzitási indexel végeztük el.

A humán modellben Shapiro-Wilk teszttel vizsgáltuk a normalitást. Itt minden bemutatott változó normál eloszlást követett. A testmozgás előtti és utáni statisztikai különbségek meghatározásához 1 mintás T próbát, a csoportok közötti különbségeket kimutatására pedig 2 mintás T próbát alkalmaztunk.

Az összefüggések vizsgálatánál Pearson korrelációt alkalmaztunk. A szignifikancia szintet  $p < 0,05$  értékben határoztuk meg.



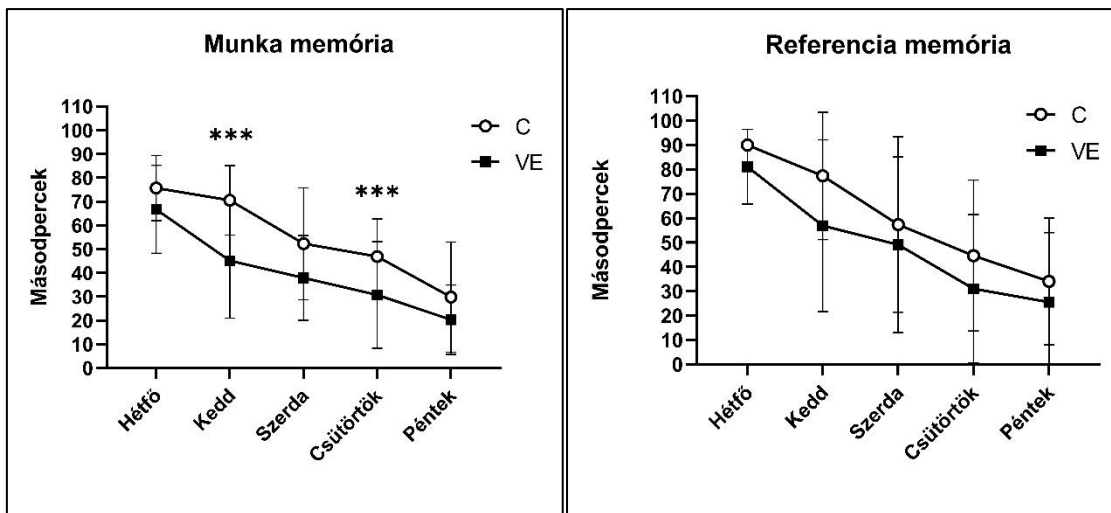
## 5. Eredmények

### 5.1. Önkéntes testmozgást végző állat modell eredményei

#### 5.1.1 Fiziológiai tesztek eredményei

##### 5.1.1.1. Morris Maze teszt értékei

A kognitív tesztként szolgáló Morris Maze vízi útvesztő esetében, habár mind a referencia-, mind a munka memória esetében megfigyelhető volt a tendencia, miszerint a VE csoport állatai a kontroll állatokhoz viszonyítva rövidebb idő alatt találták meg az elrejtett platformot a medencében; szignifikáns különbséget csupán a munkamemória második (C –  $70,55 \pm 27,68$  sec, VE –  $45,13 \pm 36,85$  sec,  $p < 0,001$ ) és a negyedik napján (C –  $46,86 \pm 28,49$  sec, VE –  $30,75 \pm 30,64$  sec,  $p < 0,001$ ) figyelhattunk meg (9. ábra). A munkamemóriát az egyes napokon a vízben töltött 4 próba átlagaként, míg a referenciamemóriát az egyes napok első próbáinak átlagaként számoltuk ki. Az eredmények a kontroll (C, n=6) és az önkéntes testmozgáson részt vevő (VE, n=8) patkányok átlaga  $\pm$  SE. A statisztikai szignifikanciát kétirányú ANOVA segítségével értékeltük.



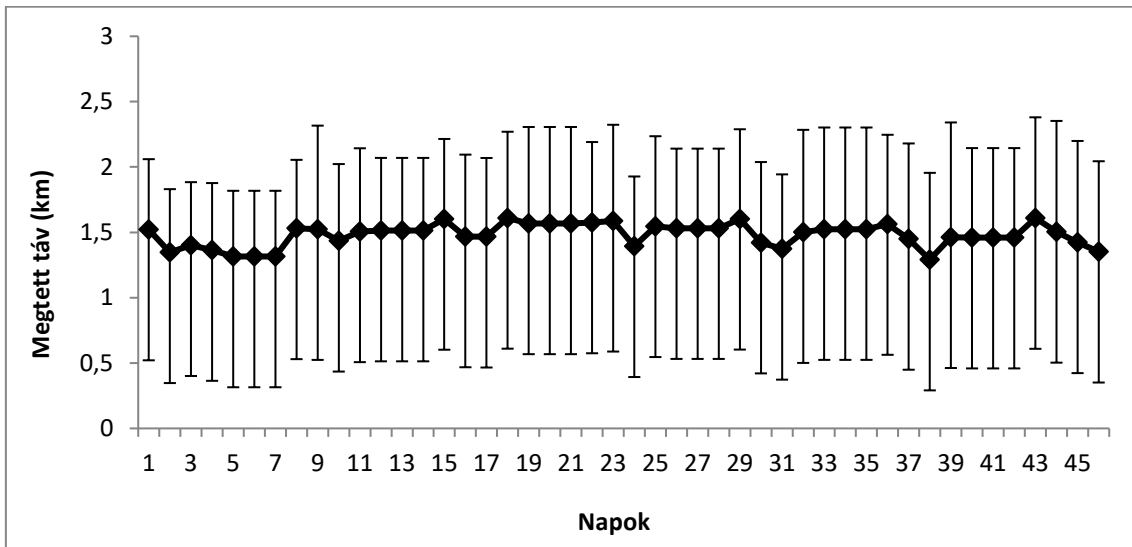
10. ábra: Munka-, és a referencia memória eredményei

Kétirányú ANOVA, C: n=16; VE: n=20

Jelölt értékek: átlag $\pm$ SE, \*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001

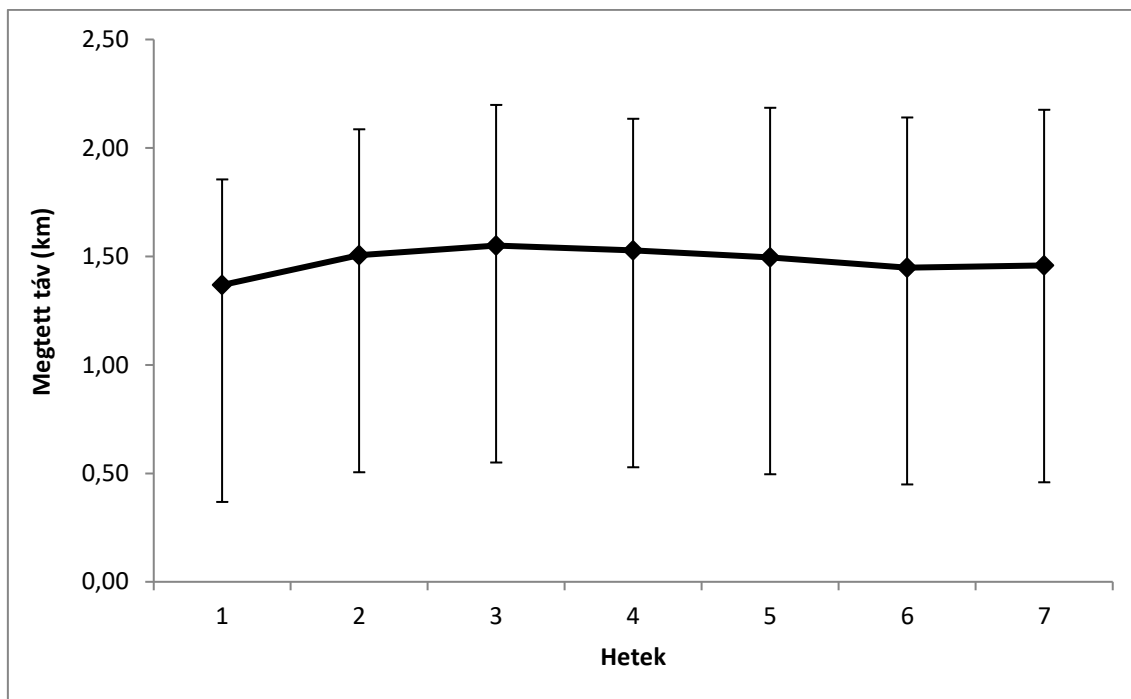
### 5.1.1.2. Lefutott távolságok mennyisége, az állatok súlyának változása

Az állatok által lefutott távolságot egy diagrammon szeretném napi, illetve heti átlag lebontásban bemutatni a jobb szemléltetés érdekében (10-11. ábra). Egy állat az egész kutatást figyelembe véve összesen átlagosan  $73,795 \pm 23,591$  km-t tett meg. A minimum lefutott táv mennyisége a leggyengébb futási teljesítményű állatoknál 56,68 km volt, míg a maximum lefutott összes mennyiség a legjobb futók esetében 99,34 km.



11. ábra: Az állatok által megtett távolság napokra lebontva

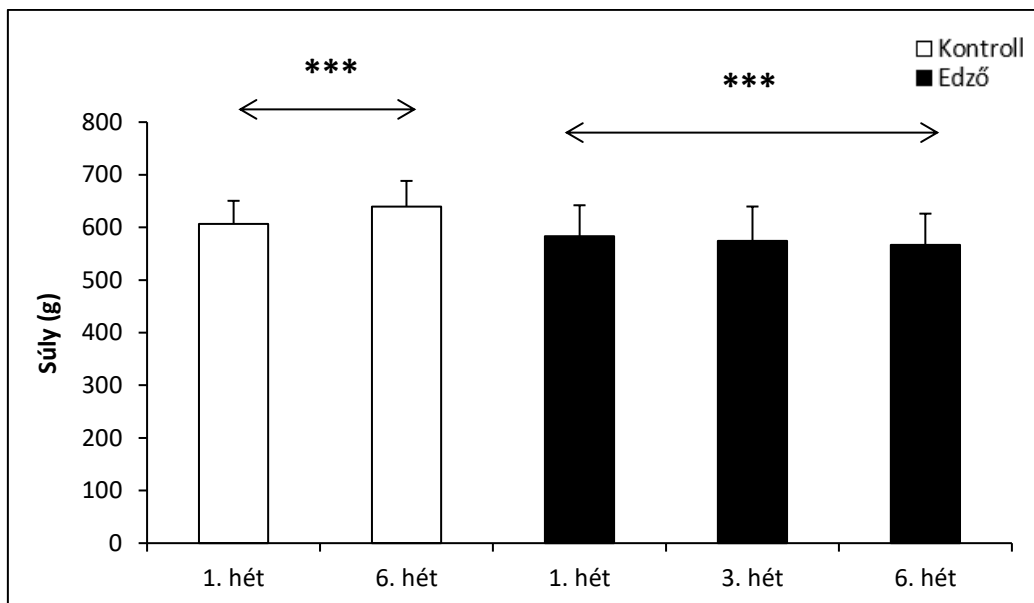
VE: n=20.



12. ábra: Az állatok által megtett távolság heti átlagokra lebontva

VE: n=20.

Az kontroll állatok súlyát a kiindulási, valamint az edzésprogram lejárta után is megmértem. Az edző állatokkal szintén így tettem, valamint nekik a program közepén is beiktattam még egy plusz súlymérést is. Az edző állatok súlya szignifikánsan csökkent ( $583,25 \pm 58,8\text{g} \rightarrow 566,75 \pm 59,4\text{g}$ ,  $p < 0,001$ ), míg a kontroll állatoké szignifikánsan nőtt ( $606,63 \pm 43,9\text{g} \rightarrow 639,50 \pm 48,8\text{g}$ ,  $p < 0,001$ ) a kutatás ideje alatt (12. ábra).



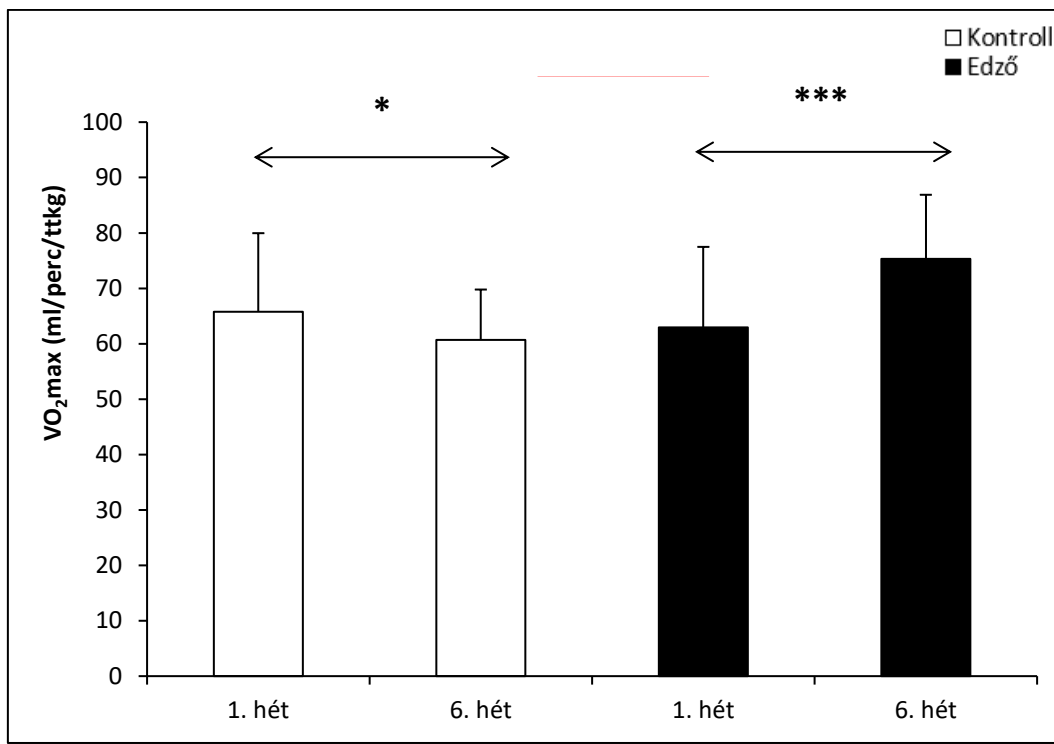
13. ábra: Állatok súlyának a változása

Egymintás T-próba, fehér oszlop = C csoport, n=16; fekete oszlopok = VE csoport, n=20

Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001

### 5.1.1.3. Maximális oxigénfelvétel (VO<sub>2</sub>max) eredmények

A VO<sub>2</sub>max szintjében szignifikáns emelkedést mértünk a VE csoport esetében (62,95±14,53 ml/kg/perc → 75,32±11,56 ml/kg/perc, p<0,001), míg a kontroll csoportnál szignifikáns csökkenést (65,77±14,18 ml/kg/perc → 60,69±9,09 ml/kg/perc, p<0,05) figyeltünk meg (13. ábra).



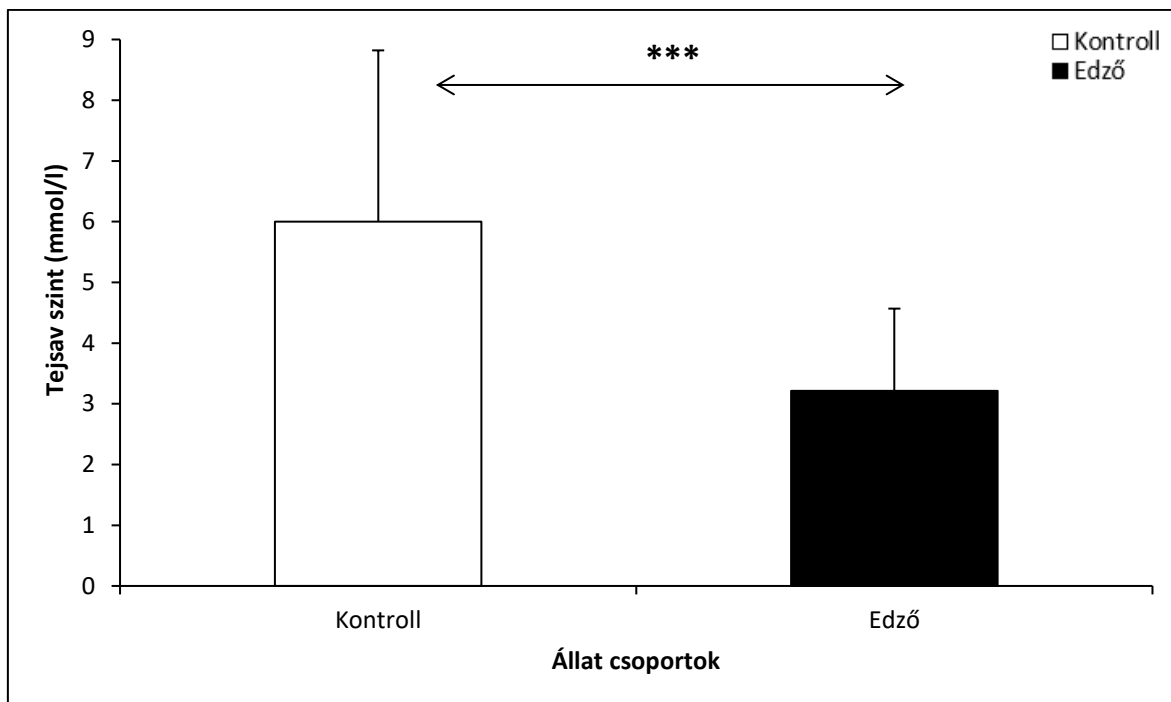
14. ábra: A  $VO_2\max$  szintben jelentkező változások ábrázolása,

Egymintás T-próba, C: n=16, VE: n=20

Jelölt értékek: átlag $\pm$ SE, \*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001

#### 5.1.1.4. Vita maxima eljárás és tejsav mérési eredmények

A Vita maxima teszt elvégzése után a levett vérvétel laktát szint értékei a VE csoportban mutattak ki szignifikánsan értéket, összehasonlítva a C csoporttal (C -  $6\pm 2,8$  mmol/l, VE -  $3,2\pm 1,4$  mmol/l, p<0,001 – 14. ábra).



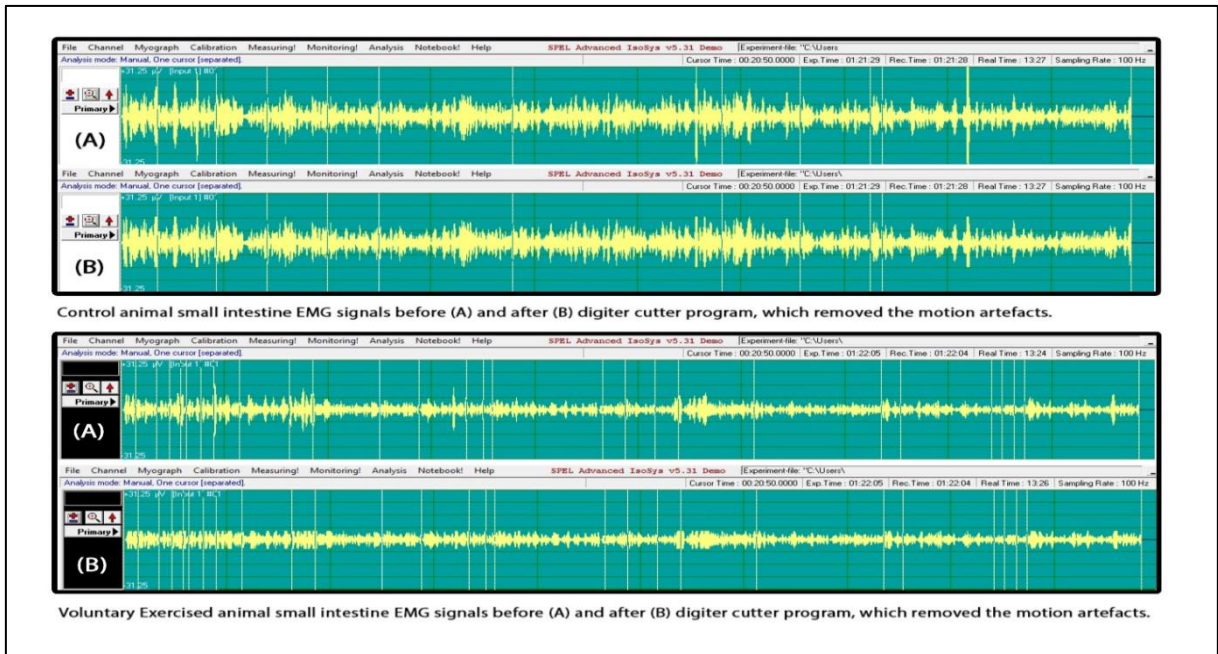
15. ábra: Állatok laktát szint eredménye a Vita Maxima teszt után,

Kétmintás T-próba, C: n=11, VE: n=19

Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05; \*\*:p<0,01; \*\*\*:p<0,001

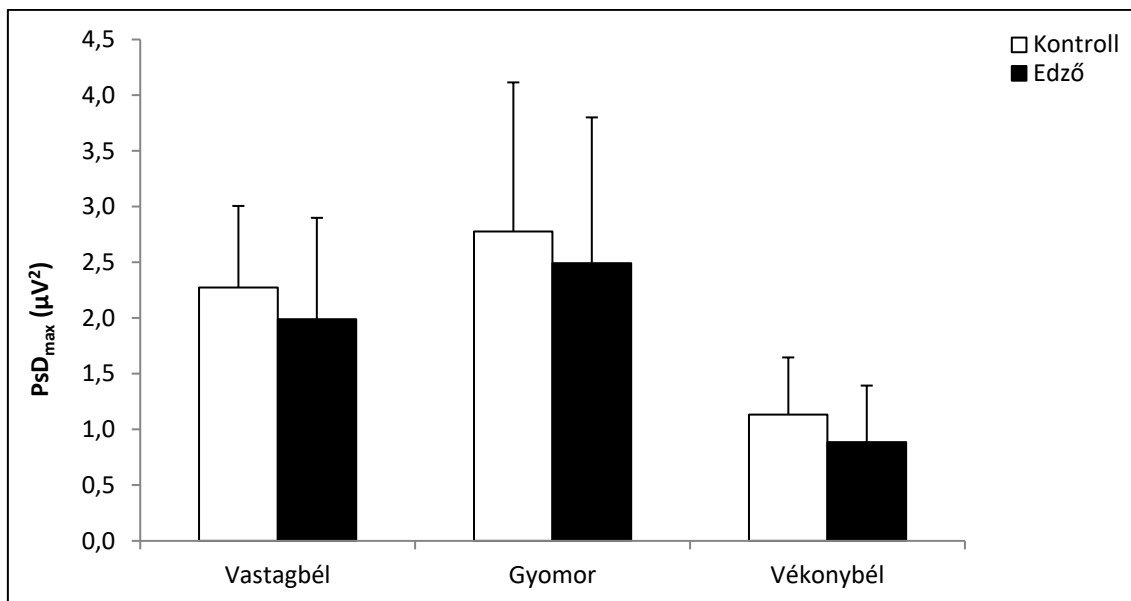
#### 5.1.1.5. Elektromiográfia (EMG) mérések eredményei

A simaizmok EMG méréseinek eredményei hasonlóak voltak a VE és a C csoportokban. Minden VE csoportnál mért traktus esetében azonban (vékonybél, vastagbél és gyomor) a simaizmok mioelektromos jelei kisebbek voltak. Szignifikáns összefüggést azonban ezen méréseinknél nem találtunk, csak némi tendencia figyelhető meg (15. ábra).



16. ábra: A kontroll (n=6) és az önkéntesen edzett (n=8) állatok reprezentatív jelei. (Felső rész [A] – kontroll állat vékonybél EMG jelei a digitális vágóprogram használata előtt, Felső [B]– a vágóprogram használata után, Alsó [A] – VE állat vékonybél EMG jelei digitális vágóprogram előtt, Alsó [B] – vágó program alkalmazás után) (Szerző saját ábrája)

A kontroll és az edzett patkányok esetében sem a vékonybélnek (C –  $1,133 \pm 0,51 \mu V^2$ , VE –  $0,887 \pm 0,51 \mu V^2$ ), sem a vastagbélnek (C –  $2,273 \pm 0,73 \mu V^2$ , VE –  $1,99 \pm 0,91 \mu V^2$ ), sem pedig a gyomornak (C –  $2,777 \pm 1,34 \mu V^2$ , VE –  $2,493 \pm 1,31 \mu V^2$ ) az elektromos jelaktivitásában nem találtunk szignifikáns különbséget (16. ábra). A jelek kiértékelését a Szűcs és munkatársai (91) által kidolgozott módszer alapján történt.



17. ábra: Állatok simaizmának rögzített EMG jelértékei traktusonként.

Kétmintás T-próba, C: n=6, VE: n=8

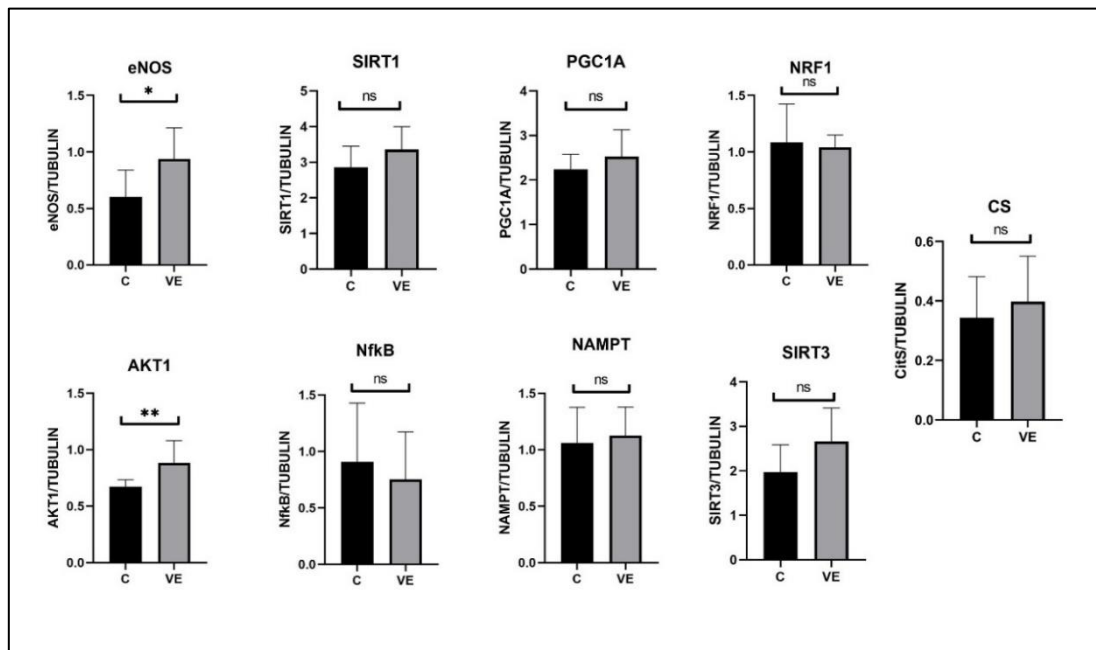
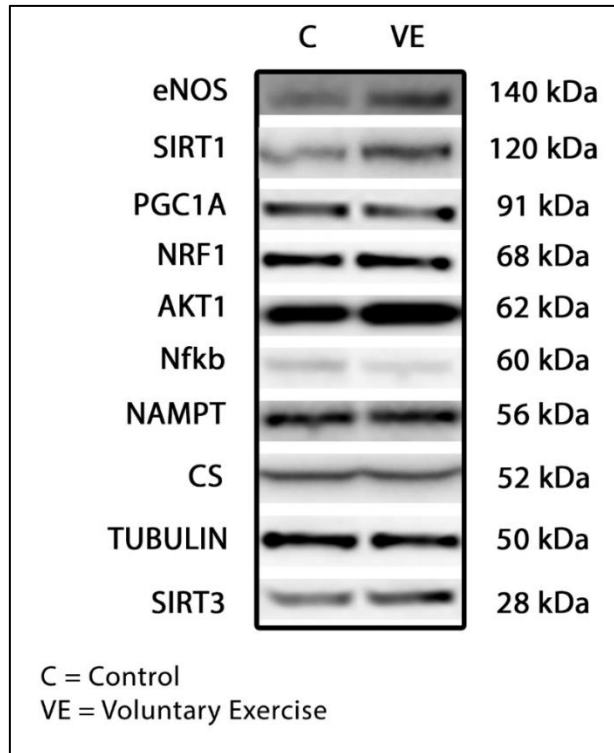
Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05.

## 5.1.2. Biokémiai mérések eredményei

### 5.1.2.1. Western blot molekuláris biológiai eljárás eredményei

A vastagbél minták Western blot analízise során az eNOS ( $p<0.05$ ) és az Akt1 ( $p<0.01$ ) szignifikánsan megnövekedett szintjét mutatta ki a VE csoportban, míg a SIRT1, SIRT3, NRF1, PGC-1 $\alpha$ , NFkB, CS és NAMPT fehérjeszintjén nem észleltünk jelentős változásokat (17. ábra).





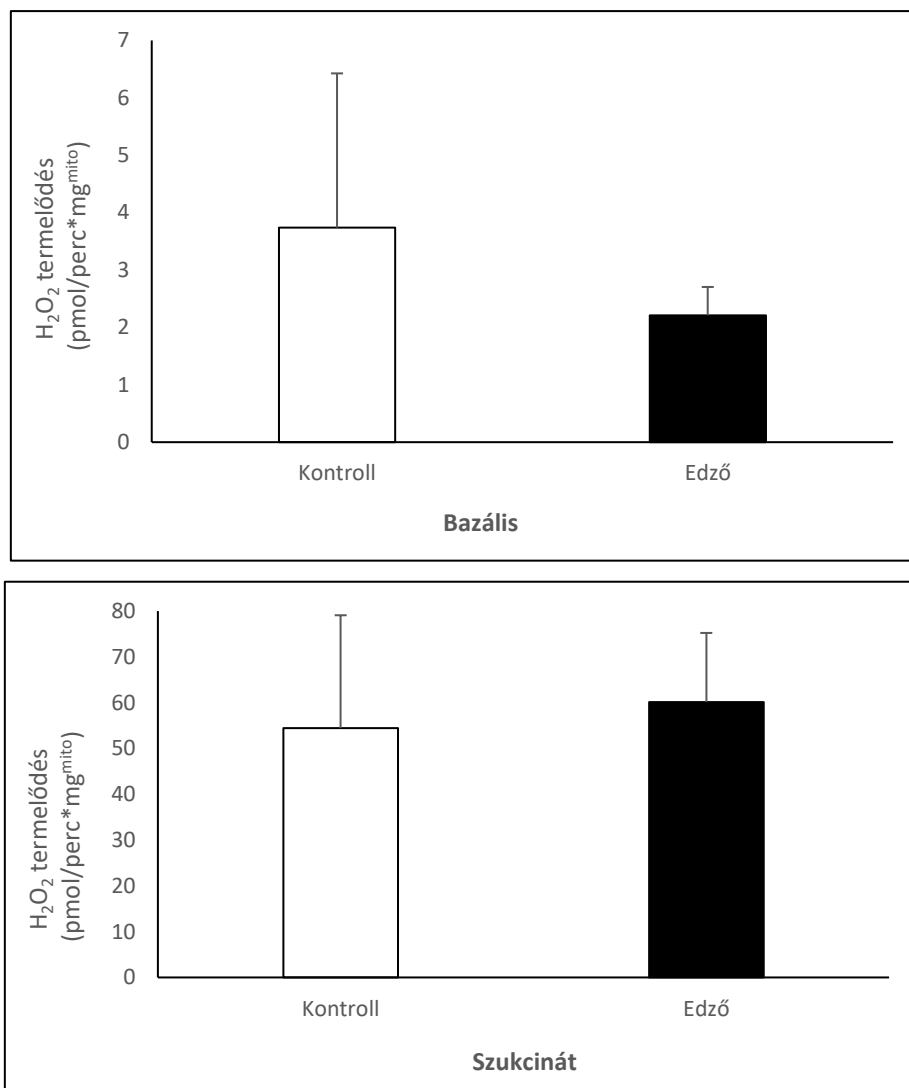
18. ábra: Az általunk mért, vastagbélben előforduló fehérjék változásai és az immunoblot vizsgálatok reprezentatív eredményei az eNOS, SIRT1, PGC1 $\alpha$ , NRF1, Akt1, Nfkb, NAMPT, CS, SIRT3 és Tubulin fehérjék esetében. Az eredményeket a tubulinra normalizáltuk.

Kétmintás T-próba, C: n=6, VE: n=8

Jelölt értékek: átlag $\pm$ SE, \*:p<0,05; \*\*:p<0,01.

### 5.1.2.2. Reaktív oxigén szabadgyök (ROS) termelődés vizsgálatának eredménye

A bélből frissen izolált mitokondriumok ROS termelődését vizsgálva nem találtunk szignifikánsnak tekinthető különbséget a C és VE csoportok között (18. ábra). Az önkéntes testmozgás módszere tehát nem eredményezett jelentős változást a ROS termelésben sem a szukcinát beadása előtt, sem pedig azután. A szukcinát beadását követő rotononkezelés pedig minden esetben a ROS termelés teljes gátlását eredményezte.



19. ábra: A VE hatása a mitokondriális ROS-termelésre patkány vastagbélben.

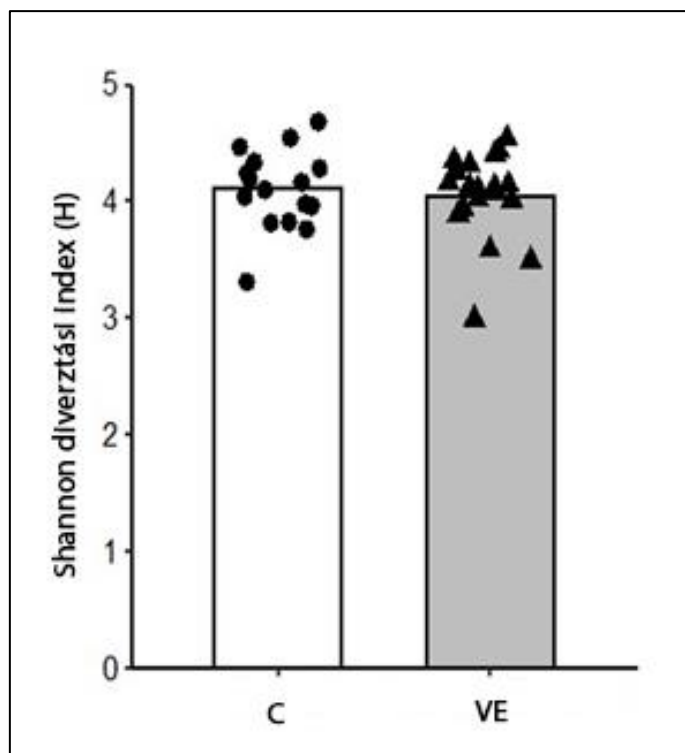
A feltüntetett eredmények az átlagokat mutatják  $\pm$  SEM.

Kétmintás T-próba, C: n=5, VE: n=5

Jelölt értékek:  $\text{átlag} \pm \text{SE}$ , \*:  $p < 0,05$ .

### 5.1.2.3. 16sRNS génapmlikon szekvenálás eredménye

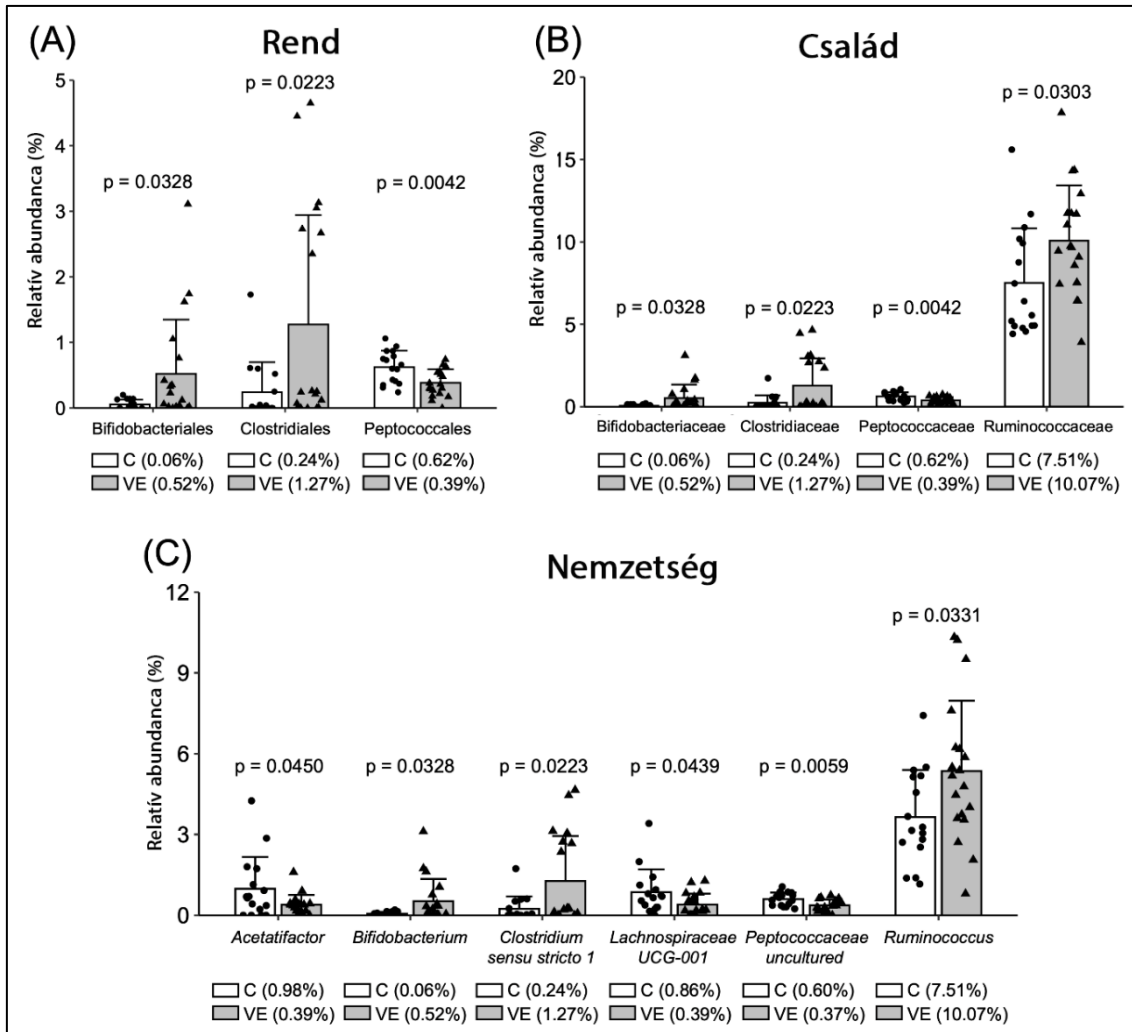
A mikrobiom analízis során nagyon hasonló adatokat figyelhattunk meg a baktérium kultúra Shannon diverzitási indexénél (19. ábra).



20. ábra: A mikrobiom Shannon diverzitási indexe a kontroll és az edzõ állatok esetében  
Kétmintás T-próba, C: n=15, VE: n=19

Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05.

Az önkéntes testmozgás növelte a bélmikrobióta négy fő fajának egyikeként ismert fajnak, az *Actinobacteria*-nak a relatív abundanciáját. A Család szintjén létrejövő változásoknál a *Bifidobacteria* és a *Ruminococcaceae* relatív abundanciája nőtt (20. ábra), feltételezhetően az SCFA fokozott termelésének következményeként. Bár az NF-kB nem változott, az *Acetatifactor* abundanciája csökkent a VE csoportban a C állatokhoz képest.



21. ábra: A gasztrointesztinális mikrobiom baktérium közösségének relatív abundanciájában bekövetkező változások önkéntes testmozgás hatására Rend (A),

Család (B), és Nemzetség (C) szinten

Kétmintás T-próba, C: n=15, VE: n=19

Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05.

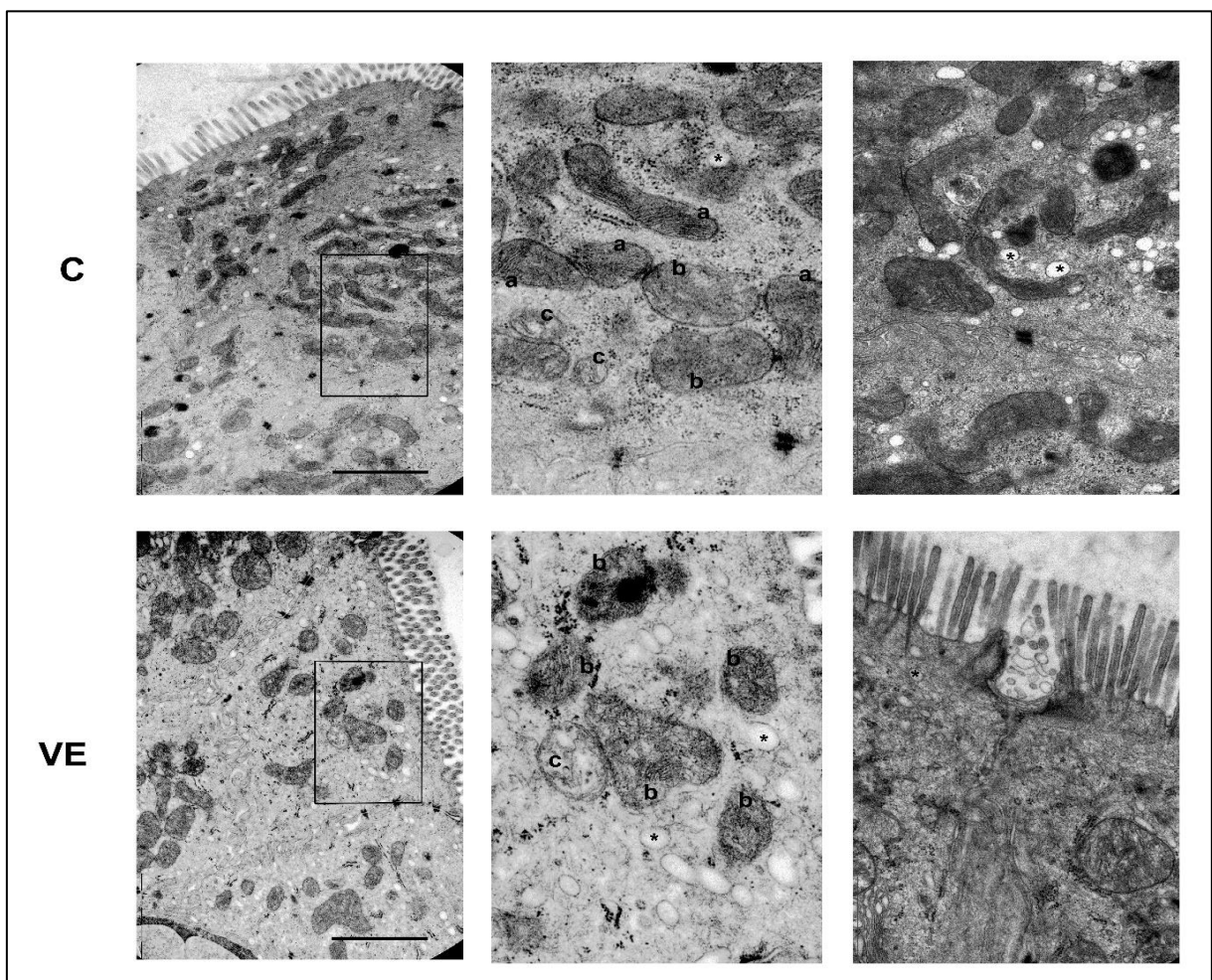
#### 5.1.2.4. Összefüggések vizsgálata

A mért adatok összefüggéseit vizsgálva azt lehetett megállapítani, hogy a laktát szint negatívan korrelált az Akt és eNOS szintekkel ( $r=-0,646$  és  $r=-0,511$ ), valamint pozitívan korrelált az NRF1 szintjével ( $r=0.742$ ). A térbeli memória negatívan korrelált a  $VO_2max$

szintjével ( $r=-0,457$ ). A *Bifidobacteriales* és *Bifidobacteriaceae* mennyiségi előfordulása a mikrobiomban pedig összefüggést mutatott a  $VO_2\max$  szintjével ( $r=0,436$ ).

### 5.1.3. Morfológiai mérések eredménye

Az elektronmikroszkópos adatok alapján azt lehetett kijelenteni a mitokondriumok morfológiai vizsgálatából, hogy bár a VE növelte a mitokondriumok mennyiségét, ezzel együtt a normál mitokondriumok megnyúlását is okozta (21. ábra).

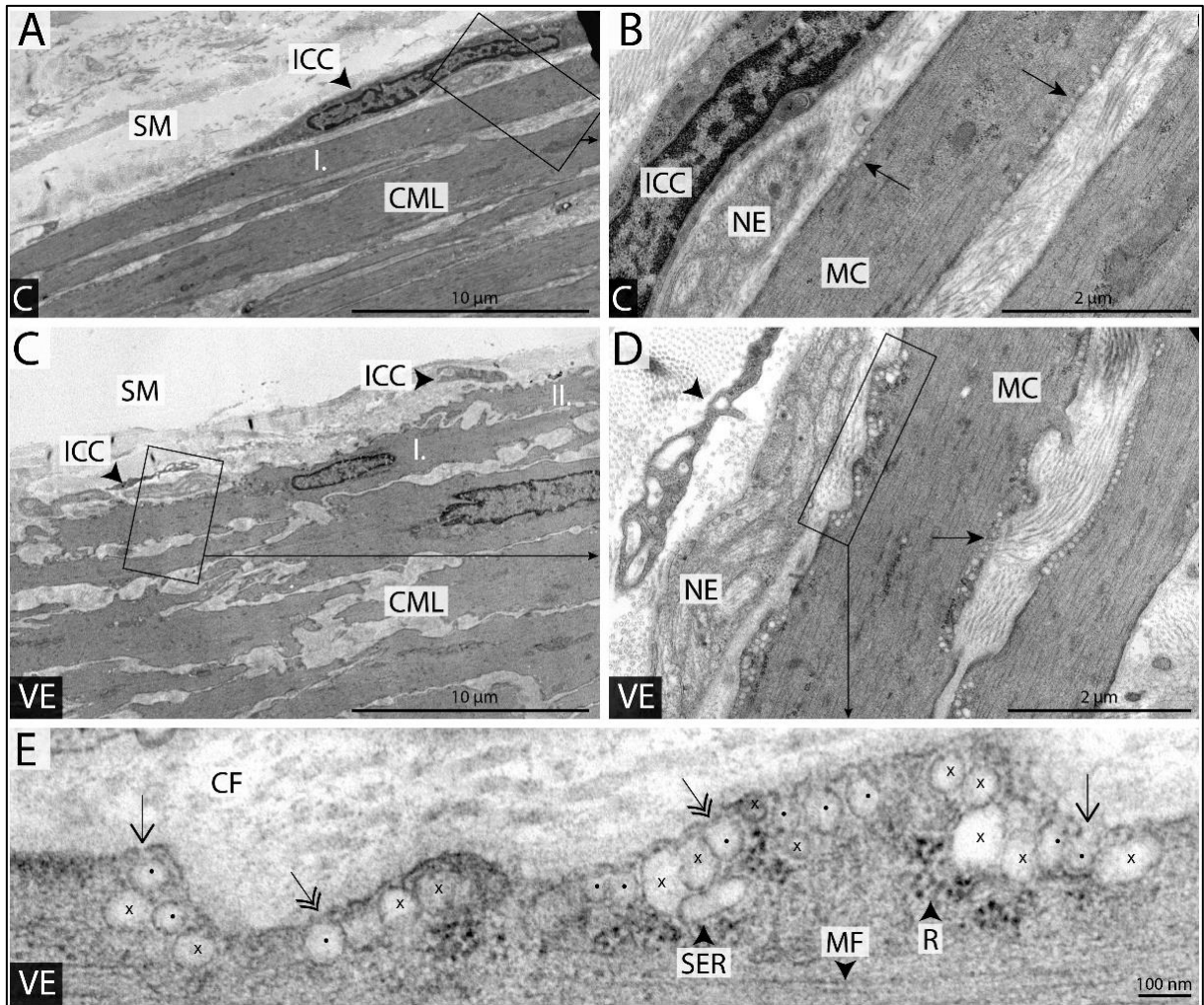


22. ábra: A VE által okozott mitokondriális és vezikuláris elváltozások reprezentatív elektronmikroszkópos felvételei a vastagbél simaizomzatában.

C: n=5, VE: n=5

Az Apeer program által vezérelt mélytanulás három különböző csoportot hozott létre a mitokondriumok egyes osztályai között, azok morfológiai megjelenése alapján: Az (a) csoportban helyezkedtek el a normális, sűrű mátrixsal benne párhuzamos, keskeny cristákkal rendelkező mitokondriumok; a (b) csoport esetében a rendezetlen mitokondriumok voltak, a mátrix még ugyan mindig sűrű, de már rendezetlen cristákkal található, és egyes lipidcseppek is megjelennek; a (c) csoportba pedig a duzzadt mitokondriumok tartoznak, ahol a cristák és a mátrix sűrűségének széles kiterjedésében vagy teljes egészében a hiányáról, a belső szerkezet jelentős elvesztéséről számolhatunk be. Az Apeer program továbbá a vezikulákat (\*) is szintén azonosította.

A caveolák mennyiségét mikroszkóp segítségével mértük fel (C –  $16,24 \pm 1,24 \mu\text{m}$ , VE –  $24,14 \pm 2,67 \mu\text{m}$ ), amelyek száma úgy tűnik a VE hatására növekszik a GIT falában (22. ábra).



23. ábra: Reprezentatív vastagbél simaizomsejtek metszetei a kontroll és az önkéntes edző csoportból.

Kétmintás T-próba, C: n=5, VE: n=5

Rövidítések: C – kontroll csoport; VE – önkéntes testmozgást végző csoport; SM – szubmucosa; ICC – Cajal féle intersticiális sejtek; CML – körkörös simaizomréteg; NE – idegvégződések; MC – izomsejtek; CF – kollagén rostok; SER – simafelületű endoplazmatikus retikulum; MF – miofibrillum; R - riboszóma

Az (A) kép a kontroll csoportnak, a (C) kép az önkéntesen edző csoportnak ábrázolja a vastagbél simaizomsejtek metszeteit. Az (A) kép 10  $\mu\text{m}$  nagyításban látható, amelynek egy részlete látható a (B) képen 2  $\mu\text{m}$ -es nagyításban. A (C) kép szintén 10  $\mu\text{m}$

nagyításban látható, aminek egy része 2  $\mu\text{m}$  nagyításban látható a (D) képen, ennek a képnek egy részlete pedig egy még közelebbi, 100 nm nagyításban az (E) képen.

Ezeknek a hosszanti metszetű legbelső simaizomsejteknek (I. jelölés az (A) képen, I. és II. jelölés a (C) képen) a körkörös izomréteg (CML) szubmukózus felszínén látható az elhelyezkedésük és alakjuk. Habár a legbelső sejtek alkotják a szubmukózus felületet, az egyik végük mindig a szomszédos simaizomsejt alá hajlik, ahogy a (C) képen látható az I.-es és II.-es jelölésű átfedő sejteknél. A Cajal féle intersticiális sejtek (28) egy hálózatot alkotnak a szubmukózus réteg alján (81). A caveolák csoportosulásai tisztán kivehetően a legbelső simaizomsejtekben (SMC) közvetlenül a plazmalemma alatt, nemcsak az idegvégződések (NE) közelében, hanem az ellenkező oldalon szintén (lásd a (B) és (D) képen a nyilakat). A caveolák denzitásának számszerűsítéséhez alkalmazott módszer során a következőket lehetett megállapítani (lásd az (E) képet); caveolák egész sorait (pontokkal és X-ekkel jelölve), sima felületű endoplazmatikus retikulum ciszternákat (SER), riboszómákat (R) és miofibrillumokat (MF) az izomsejt perifériás szarkoplazmájában.

A számszerűsítés során csupán azok az üvegcese alakú membrán befűződéseket vettük figyelembe (lásd a ponttal jelölt caveolákat), amelyeken látható nyílások helyezkednek el a sejt felszínén (lásd a nyilakat), vagy amelyeken a membrán fedésben van a nyílással (lásd a kéttős fejű nyilakat). A megnyúlt vagy a metszet síkjában a plazmalemmával kapcsolatot nem mutató membránképződményeket nem vettük figyelembe (lásd az X-el jelölt caveolákat).

Az eddig felsorolt eredményeimet a jobb átláthatóság kedvéért egy összesítő táblázatban is szemléltetem (2. táblázat).

A felsorolt eredmények közül a  $\text{VO}_2\text{max}$  felmérése mindkét csoport esetében kétszer történt meg. Volt egy kiindulási és egy edzésprogram vége után elvégzett teszt. Így ez az első két eredményünkben bekövetkező változásokat ennek megfelelően a kiindulási állapothoz viszonyítottuk, nem a másik csoporttal került összehasonlításra.



Jelölések: ↑: növekedés C csoporthoz viszonyítva, ↓: csökkenés a C csoporthoz viszonyítva, X: nem történt változás a C csoporthoz viszonyítva. p<0,05: ↑,↓ ; p<0,01: ↑↑, ↓↓.

2. táblázat - Eredményeink összegzése

VE csoport VO <sub>2</sub> max eredménye	↑↑
C csoport VO <sub>2</sub> max eredménye	↓↓
Morris Maze teszt (kedd, csütörtök)	↓↓
Gyomor EMG értékei	X
Vékonybél EMG értékei	X
Vastagbél EMG értékei	X
Laktát értékek	↓↓
Akt1	↑↑
eNOS	↑
SIRT1	X
SIRT3	X
PGC1 $\alpha$	X
NRF1	X
NFkB	X
NAMPT	X
CS	X
ROS termelődés	X
Actinobacteria	↑
Bifidobacteria	↑
Ruminococcaceae	↑
Acetitafactor	↓
Caveolák, mitokondriumok mennyisége	↑

Egy másik táblázatban pedig összefoglalva szeretném szemléltetni az eredményeink között fennálló korrelációkat (3. táblázat).

Jelölések: ↑: növekedés C csoporthoz viszonyítva, ↓: csökkenés a C csoporthoz viszonyítva, X: nem történt változás a C csoporthoz viszonyítva.  $p < 0,05$ : ↑, ↓ ;  $p < 0,01$ : ↑↑, ↓↓.

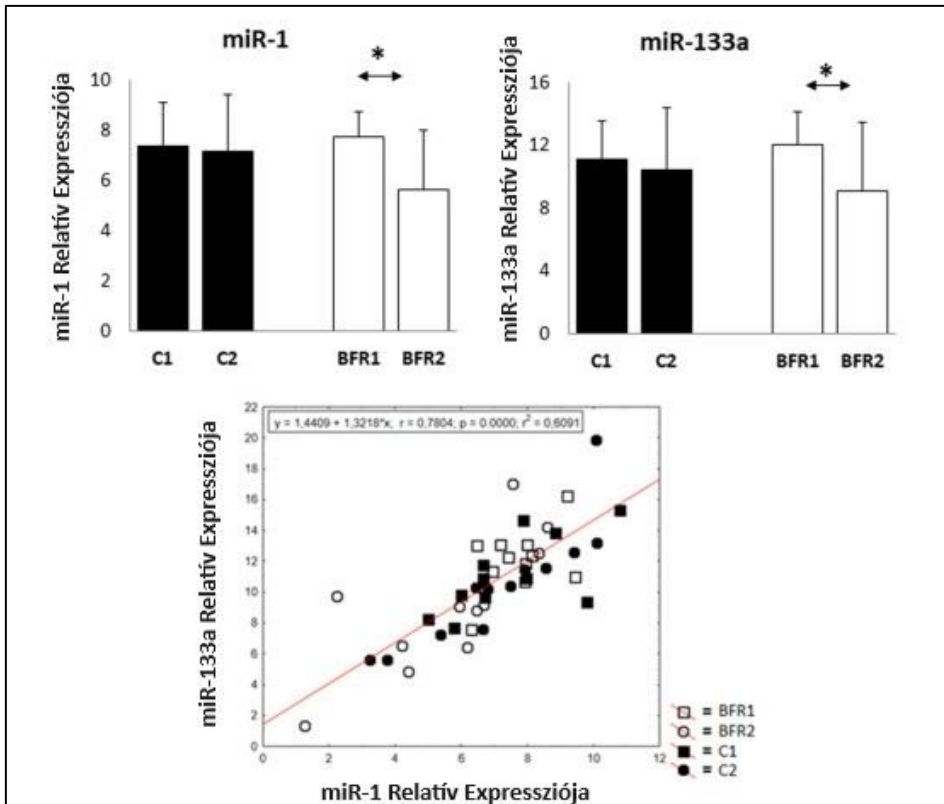
3. táblázat - Korrelációk összegzése

Laktát értékek (↓↓)	Negatív korreláció	Akt1 (↑↑)
Laktát értékek (↓↓)	Negatív korreláció	eNOS (↑)
Laktát értékek (↓↓)	Pozitív korreláció	NRF1 (X)
Bifidobacteria (↑)	Pozitív korreláció	Akt1 (↑↑)
Bifidobacteriales (↑)	Pozitív korreláció	VO <sub>2</sub> max értékek (↑↑ v. ↓)
Bifidobacteriaceae (↑)	Pozitív korreláció	VO <sub>2</sub> max értékek (↑↑ v. ↓)
Morris Maze teszt (↓↓)	Negatív korreláció	VO <sub>2</sub> max értékek (↑↑ v. ↓)

## 5.2. Krónikus okklúziós módszert alkalmazó human modell eredményei

### 5.2.1. Biokémiai mérések eredményei

A humán vizsgálat során mind a miRNS-1 (C –  $7,45 \pm 1,78 \rightarrow 7,31 \pm 2,29$ , O –  $7,71 \pm 1,00 \rightarrow 5,62 \pm 2,37$ ,  $p < 0,05$ ), mind a miRNS-133a (C –  $11,11 \pm 2,56 \rightarrow 10,76 \pm 3,97$ , O –  $12,06 \pm 2,1 \rightarrow 9,07 \pm 4,40$ ,  $p < 0,05$ ) szintje csökkent szignifikánsan az okklúzió átesett edző emberek izommintáiban, összehasonlítva a kontroll csoporttal. Figyelemre méltó módon továbbá szignifikáns pozitív korrelációt tudunk kimutatni e között a két miRNS relatív expressziós szintje között, amely feltételezhetően utalhat egyfajta közös fiziológiai szabályozásra (24. ábra).



24. ábra: A krónikus terhelés hatására bekövetkező a miRNS-1 és miRNS-133a szintjében, valamint a kettejük között fennálló kapcsolat (179)

Kétmintás T-próba, C: n=11, O: n=11

Jelölt értékek: átlag±SE, \*:p<0,05

## 6. Diszkusszió

### **6.1. Krónikus okklúziós módszert alkalmazó human modell eredményeinek megbeszélése**

A krónikus testmozgás szisztémás hatásait már számos korábbi esetben leírták, erről sok tanulmány szól. Az is általánosságban ismert, hogy a mikroRNS-ek a citoplazmában kölcsönhatásba lépnek az mRNS-ekkel, és legtöbbször meggátolják azok információ elszállítását és a riboszómán történő fehérjeszintézis létrejöttét. Újabb információk szerint a mikroRNS-ek szabályozhatják a transzkripciót és akár átjuthatnak a mitokondriumokba is (191).

Kutatásunk során a miRNS-1 és miRNS-133a esetében figyeltünk meg szignifikáns csökkenést az okklúziót végző csoport izommintáiban, a kontroll csoportéhoz viszonyítva. Ezen miRNS-ek fontos feladatot látnak el, ugyanis számos biológiai folyamatot szabályoznak, beleértve az izomhomeosztázist és a gyulladáshoz való választást.

A miRNS-1 szerepe kiemelt az izomdifferenciálódásban, melyet az ezt a folyamatot gátló HDAC4 által végez el. Leveszíti a HDAC4 szintjét, ezáltal pedig elősegíti az izomspecifikus gének kifejeződését, amely így az izomnövekedést fogja támogatni (192, 193). Szerepe van továbbá a mitokondriális gének szabályozásában, amelyek létfontosságúak az izomsejtek energiatermeléséhez. Ez az interakció a miRNS-1 izom anyagcseréjében és állóképességében való szerepére utal (194, 195).

A miRNS-133a és a miRNS-1 is fontos szerepet játszik az izomsejt proliferációban az SRF (Serum response factor) gén által, amely egy alapvető transzkripció faktor az izomsejt proliferációhoz. Ez tehát egy izom regenerációját támogató folyamatot fog jelenteni a szervezet számára (196).

Érdekes megfigyelésnek tekintettük, hogy kutatásunkban ezen miRNS-ek szintje egy ilyen mértékű krónikus edzés módszer hatására csökkenést mutatnak, tekintve, hogy hasznos faktorai az állóképességi alkalmazkodásnak. Elgondolkodtató, meglehetősen hatástalan nem a vázizomban fejtik ki, hanem máshol, a szervezet más alkalmazkodási folyamataiban vesznek részt dominánsan. Ehhez jelenleg számos adat nem áll

rendelkezésünkre, valamint humán modell révén számos limitációval is számolnunk kellett ezen a területen.

Az bizonyos azonban, hogy mind a miRNS-1, mind a miRNS-133a szintje testmozgás hatására képes változni az izomban, ez pedig akár a szervezet más részeinek működését is képes lehet befolyásolni, mivel a véráram útján eljutva más szövetekben is kifejthetik hatásukat (197).

A véráramban való szállításuk, habár közvetlen módon jelenlegi tudásunk szerint nem tud megvalósulni, az extracelluláris vezikulák kettős lipid rétegének köszönhetően védve vannak a különböző sérülésektől, degradációktól, így pedig már feltételezhetően képesek lehetnek eljutni akár a bélrendszerbe is, kifejtve ott pozitív hatásukat (198).

Vannak kutatások melyek a miRNS-ek igen fontos szerepéről szólnak, melyet az egyes idegsejtek és immunsejtek szabályozása által érnek el, ami így hozzájárul a bélmozgás pozitív adaptációjához, továbbá kölcsönhatásban vannak a belső mikrobiommal egyaránt (75).

Érdeemesnek találtuk ezen eredmények alapján egy komplexebb, átfogóbb kutatás keretein belül megvizsgálni a testmozgás bélrendszerre kifejtett hatásait, azok összefüggéseit. Ehhez a kutatáshoz azonban a már fentebb is említett módon állat modellt választottunk a kevesebb limitáló tényező miatt, több mérési paramétert, illetve mintavételezést megengedve így számunkra.

## **6.2. Önkéntes testmozgást végző állat modell eredményeinek megbeszélése**

A mindennapos, rendszeres testmozgás olyan erőteljes szisztémás alkalmazkodást vált ki szervezetünkben, melybe beletartozik az agy-bél (bél)-mikrobiom tengely is. Kölcsönhatásainak összetettségét legjobb tudásunk szerint a mi kutatásunkhoz hasonlóan eddig sehol máshol nem vizsgálták.

A kognitív képességek felméréséhez alkalmazott Morris Maze vízi útvesztő teszt eredményei fejlődést mutattak az önkéntesen edző csoportnál, kontroll társaikhoz viszonyítva. Ez a tendencia végig megfigyelhető volt az összes napi társítást vizsgálva,

szignifikáns különbséget azonban csak a munkamemória második és negyedik napján lehetett megállapítani. Ez, ahogy már fentebb is említettem összhangban áll korábbi kutatások eredményeivel (199, 200).

A sportmozgás szignifikáns növekedést váltott ki a maximális oxigénfelvételben az önkéntesen edző állatok esetében, szignifikáns csökkenést pedig a kontroll csoportnál. Ez nem okozott nagy meglepetést számunkra. Szervezetünk egészségének megőrzése érdekében a sportolás az egyik, ha nem a legfontosabb és legkiemelkedőbb pillér. Több kutatásban is szó volt már arról, hogy a rendszeres fizikai aktivitás növeli a  $VO_2\text{max}$  szintjét (201). Ez pedig egy rendkívül jó indikátora lehet az életminőségünk becslésének, miután fordított összefüggésben áll az idős korú egyének mortalitásával az olyan betegségek esetében, mint a szív- és érrendszeri megbetegedések vagy a rák (202-205).

A testmozgás gyakran eredményezhet neurogenézist (206, 207), továbbá pozitív hatása van az agyi funkciókra (200). Ezeket figyelembe véve nem is annyira meglepő, hogy mi is korrelációt véltünk felfedezni a Morris vízi útvesztő teszt szignifikáns különbségeit összehasonlítva a  $VO_2\text{max}$  mérések értékeivel.

Ezen eredmények is megerősítik a korábbi irodalmak állításait, miszerint a sportmozgás kedvező hatással bírhat a memóriára, az agyi funkciókra egyaránt.

Azt, hogy a testmozgás javítja az agyműködést, már régóta tudjuk (208, 209), továbbá a mikrobiom ebbe a folyamatba való kapcsolódását is leírták már számos kutatásban (44, 210). Az már azonban nem teljesen ismert, a bélrendszer mechanikai és biokémiai folyamatai miképpen kapcsolódnak be és vesznek részt ezekben a folyamatokban.

A gyomor ürülését és a tápanyag áthaladási sebességét a tápcsatormán már számos esetben vizsgálták. Megnéztek továbbá a különböző betegségek prognosztizálásában, miként alkalmazható a bélmozgások mioelektromos aktivitásának mérése. Az azonban, hogy a sportmozgás milyen hatással lehet a különböző GIT simaizomzatának működésére tudomásunk szerint egy eddig még nem igazán kutatott terület. A szakirodalmi áttekintés így főképp érintőlegesen lehetséges csak.

Feltételeztük, hogy egy optimális terhelés esetében a salakanyag vastagbélben eltöltött idejét egészséges kereteken belül felgyorsítani lehet képes. Ezzel is csökkentve a

vastagbélrák kialakulásának kockázatát, melyet korábbi kutatásban már összefüggésbe hoztak a megnövekedett tranzitidővel (35). A vékonybél perisztaltikáját pedig úgy hittük, némiképp lelassítani lehet képes egy ideálisan megválasztott testmozgás, ezzel is megnövelve azt az értékes időt, amely alatt szervezetünk a neki szükséges táplálékot felveszi.

Jelen kutatásunkban bár a kontroll patkányok gyomor-béltraktusának mioelektromos aktivitása magasabb volt, mint az önkéntesen edzett csoportnak, az adatok különbsége nem tekinthető szignifikánsnak. Ez némiképp összhangban van azzal a kutatással, melyben azt figyelték meg, hogy bár az edző egereknél 0,5 méter/óra futási sebességgel 15 perc edzés után szignifikánsan gyorsabb volt a gyomorürülés, mint a nem edzett egerek esetében, azonban a lassabb futási sebességnél, (melyet a mi állataink is alkalmaztak vélhetőleg,) nem volt különbség az edző és a kontroll egerek között (47). Azt is tudjuk, hogy enyhe terhelés hatására felgyorsul, míg egy intenzívebb testmozgás hatására lelassul, késlelteti a mozgás a gyomor-bélrendszer kiürülését (211).

Volt olyan humán kutatás is, melyben arról számoltak be, a testmozgás szignifikánsan gyorsította a gyomor ürülési idejét, azonban nem volt ugyanilyen szignifikáns hatása a vékonybél tranzit idejére (212). Patkány modellen az egyszeri, akut edzés gyomorra gyakorolt hatását is megfigyelték, ahol a sav-bázis egyensúly befolyásolása révén szintén képesek voltak késleltetni a folyékony tesztélelmiszer ürülését (213). Megfigyelték, hogy amikor patkányokon vagotomizációt hajtottak végre, magyarul a *nervus vagus*-t (bolygó ideg) átvágták, az a gyomor tartalmának visszatartását eredményezte. Ez arra engedett következtetni, hogy a vagus idegnek fontos szerepe lehet a táplálék gyomorban való mozgásának és emésztésének megkönnyítésében (214), ami egy a gasztrointesztinális motilitás mögött álló már bonyolultabb, összetettebb szabályozási mechanizmusra utal.

Ezen eredményeink alapján kevésbé tűnik valószínűnek, hogy a szervezet a sportmozgás által kiváltott alkalmazkodási folyamatot elsősorban a bélmozgások perisztaltikájának módosításán keresztül éri el. Sokkal valószínűbb a bélrendszer biokémiai és/vagy morfológiai úton bekövetkező változása, mellyel adaptálódik az őt ért ingereknek köszönhetően.

A szabadgyökök, mint korábban említettem fontos résztvevői az antioxidáns védelemnek. Károsítja a DNS-t, a zsírokat, a fehérjéket, ezzel szövetkárosodást okozva. A mérsékelt intenzitású edzés bizonyítottan kihat az antioxidáns védelemre és szabályozza ezáltal a mitokondriumban keletkező ROS túl magas szintre történő gyarapodását (215). Egy intenzív sportmozgás azonban képes felborítani az antioxidáns egyensúlyt ezzel megnövelve az oxidatív stresszt a szervezetünkben (216). Idősebb embereknél az oxidatív stressz összefüggésbe hozható a gyomor-bélrendszeri simaizomzat tónusának csökkenésével és számos krónikus degeneratív betegséggel, beleértve az ateroszklerózist, a tüdőfibrózist és a rákot (217).

Az edzésszakaszok ideje alatt a bél véráramlása lecsökkent állapotban van a szimpatikus tónusnak köszönhetően, majd később ez nyugalomban normalizálódik.

Jelen kutatásunkban ez a fajta változása a véráramlás szabályozásának nem eredményezett megnövekedett számú mitokondriális ROS termelődést.

A másik oldalról megfigyeltük az eNOS megemelkedett fehérjeszintjét. Erre azért voltunk kíváncsiak, vajon az edzés által kiváltott váz- és szívizomzatba érrendszerében is megfigyelhető endotheliális adaptáció (218) a bélben is hasonlóképpen megfigyelhető-e. A sportmozgások a pH szint csökkenéséhez vezetnek, amely ezután a bélben jelen lévő kontraktilis funkciót fogja csökkenteni (219). Ez a fajta acidózis képes fokozni az eNOS-ból származó NO jelátviteli útvonalat az érfalban (220). Ez a fokozott eNOS jelátvitel pedig potenciálisan stimulálni képes a Vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) aktivációját, elősegíti a bélben zajló mikrocirkuláció növekedését is (221), továbbá összefüggésbe hozható a mitokondriális biogenezissel (222). A mitokondriális funkció pedig ismeretes, hogy szorosan befolyásolja a már említett  $VO_{2max}$ -ot (223), amely pedig a fentebb leírtak szerint negatív korrelációt mutat az idősök között előforduló mortalitással (100, 202). Az eNOS vastagbélben megnövekedett szintje több tényezővel is összefüggésben áll még, ezekről lentebb írok bővebben.

A gyomor-béltraktus egy rendkívül összetett ökoszisztémát képvisel, az emésztőrendszer számos kölcsönhatásaival az immunsejtekkel, az endokrin sejtekkel, vagy akár az idegsejtekkel. Miután a bélrendszer közel helyezkedik ez a gasztrointesztinális mikrobiomhoz, így a közöttük fennállható lehetséges kapcsolatokat is megvizsgáltuk. Méréseink alapján az Akt1 fehérjetartalom jelentősen növekedett a bélben, valamint

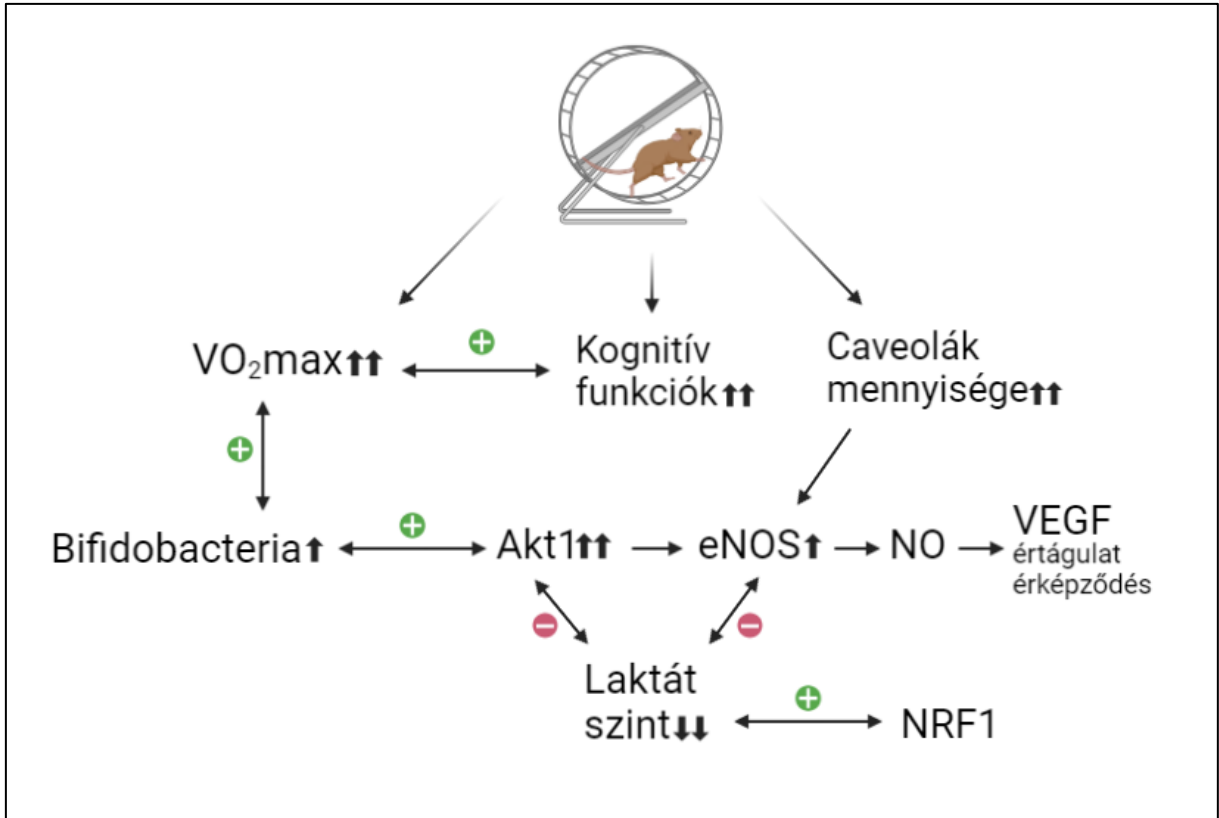


korrelációt mutatott a székletben található *Bifidobaktériumok* mennyiségével. Az Akt fehérjéről tudni lehet, hogy szerepe van mind a perifériás glükózfelvételben és az inzulinérzékenységben, továbbá annak jelátvitelére összefüggésbe hozható az agyban létrejövő depresszióval is (224). Egyes feltételezések szerint az anaerob baktériumok nemzetségébe sorolható *Bifidobaktérium* és néhány egyéb probiotikumként használt törzsek erős gyulladáscsökkentő szereppel rendelkeznek (225), megakadályozva a helyi bélgyulladást azáltal, hogy csökkenti a lipopoliszacharid szintjét, amely könnyedén felelős lehet egy helyi gyomor szivárgásnak is (226). Az inzulinérzékenységre gyakorolt pozitív hatása a testmozgásnak már közismert, éppen ezért meglehet ezen folyamatok egy részében az Akt-Bifidobaktérium tengely is szerepet játszhat, akár mondhatni egyfajta antidepresszáns szereppel rendelkezve (224).

Jelen kutatásunk másik érdekes eredménye a testmozgás hatására bekövetkező fokozott caveola képződés a simaizomok adaptációjaként. Ezek a caveolák általában bőségesen előfordulnak a simaizomzatban, külsejüket tekintve ezek üvegcsé alakú betüremkedéseként jellemezhetők, melyek nyak szerű struktúrájukkal kapcsolódnak a sejt külső rétegéhez, a plazmalemmához, az extracelluláris tértől pedig a bazális membrán, (más néven az alaphártya - *lamina basalis*) választja el, amely részt vesz az erőátviteli, jelátviteli útvonalakban, a membrán rendeződésében, és a fehérjeforgalomban egyaránt (227, 228).

Az általunk elvégzett kutatás legjobb tudomásunk szerint az első, ahol arról számoltak be, miszerint a testmozgás megnövelte a caveolák számát a bél simaizomsejtjeiben, amely utalhat egyfajta fokozott energia termelési, anyagcsere forgalmat igénylő jelátviteli aktivitásra, ezzel pedig az önkéntes testmozgás módszerének a pozitív, jótékony hatását mutatja számunkra a gasztrointesztinális rendszer egészségére (178).

Létrehoztunk egy korrelációs mátrixot, hogy kimutathassuk a testmozgással összefüggő adaptáció szisztémás hatásai és a szervek közötti lehetséges összefüggéseket. A jobb szemléltetés érdekében készítettem ehhez egy összegző ábrát (23. ábra).



25. ábra: A legfontosabb eredmények és azok korrelációinak ábrázolása (Szerző saját ábrája)

Jelölések: A felsorolt elemek mellett látható lefele/felfele mutató nyíl/nyilak a szignifikáns csökkenést/növekedést mutatják az önkéntesen edző csoportban a kontroll csoporthoz viszonyítva.  $p < 0.05$ :  $\uparrow, \downarrow$ ;  $p < 0.01$ :  $\uparrow\uparrow, \downarrow\downarrow$ . (+) a pozitív korrelációt jelölik, (-) a negatív korrelációt jelölik.

Egyik érdekes összefüggés, melyre figyelmesek lettünk, az a  $VO_2\max$  (Vita maxima) felmérés utáni tejsavsztint és a bél falban lévő NRF1 fehérje szintje között áll fenn. Egyes feljegyzésekben arról számoltak be, hogy a maratoni verseny futási ideje korrelált a *Veillonella atypica* baktérium mennyiségével, melyet a futók székletmintájából mértek (229). A szerzők ebben a kutatásban azt feltételezték, hogy azért nőhetett a sportolók futóteljesítménye, mivel a bélben lévő egyes baktériumok felveszik a laktátot és úgy nevezett propionátként (egyik előfordulási típusa a karbonsavnak) ártalmatlanítja azt. Egészen érdekes módon George Brooks ezzel teljesen ellentétben vázolt fel egy laktát átviteli elméletet, mely szerint ezt a fermentációs terméket a gyomor szolgáltatja, és

egyfajta „üzemanyagként” a nátrium által közvetített monokarboxilát transzportereken keresztül kerül elszállításra a perifériára, ezzel támogatva a sportolóknak a teljesítményét (230). Akármelyik legyen is a helyes elképzelés, a tejsav és az NRF1 fehérjeszint közötti kölcsönös kapcsolat azt jelentheti számunkra, hogy a laktát/piruvát aránynak a változásai, amely közvetlen befolyással van a NAD/NADH arányra és a redox állapotra, felülszabályozzák az NRF1 működését.

A laktát szintje negatív korrelációt mutatott az Akt1 és az eNOS fehérjék szintjével. A sportmozgás hatására lecsökkent laktát szint tehát fokozott Akt1 és eNOS termeléssel jár. Az eNOS képződése fokozott NO szintézissel, ami az értágító, érképzési folyamatokat fogja előtérbe helyezni. Ezt a hatást csak tovább erősíti a megnövekedett caveola szám és az Akt1 is az eNOS foszforilációja révén.

A *Bifidobacteriales* és a *bifidobacteriaceae* mennyisége a mikrobiomban összefüggést mutatott a VO<sub>2</sub>max szintjével, új baktériumtörzsekkel kibővítve így, a teljesítményhez köthető baktériumközösséget (231, 232). Fontos ugyanakkor megemlíteni, hogy a három leggyakrabban használt állatmodellben (egerek, patkányok, főemlősök), valamint humán mintáknál a fűcész mikrobiomjának összetételét összehasonlítva az SCFA-val illetve a laktát szintjével szignifikáns különbségek és hasonlóságok voltak megfigyelhetőek (233). Ezért kifejezetten fontos, hogy amikor állati eredetű eredményeket emberekre akarunk extrapolálni, rendkívül nagy körültekintéssel kell eljárunk.

Összegezvén tehát, habár a simaizmok EMG jeleinél nem találtunk szignifikáns eltérést a csoportok között egyik GIT-t figyelembe véve sem, ezen méréseknél, mint már korábban említettem a sok artefaktum miatt jelentős adatvesztéssel kellett számolnunk, kevesebb mintát használhattunk. Egy nagyobb elemszám és/vagy egy még jelentősebb familiarizáció alkalmazásával meglehetősen ígéretesebb eredményeket kapnánk, melyek összevetése a mikrobiom diverzitásával és annak sport hatására bekövetkező változásaival talán más eredményeket adna számunkra.

Eredményeinkkel azonban mindenképpen egy lépéssel közelebb kerültünk a sokak által kutatott agy-bél (bél)-mikrobiom tengely (234) komplexitásának pontosabb feltérképezéséhez, megértéséhez.

Adataink alapján úgy tűnik, a bélrendszer sportmozgás által kiváltott pozitív alkalmazkodási folyamatainak meghatározóbb elemei nem annyira a GIT motilitásának a szabályozásában keresendők, sokkal inkább a bél biokémiai összetevőinek, illetve a bélfalnak a strukturális és morfológiai adaptációjában.

## 7. Következtetések

### **7.1. Az önkéntesen végzett testmozgás változást idézhet elő a bél motilitásában**

A patkányok simaizomzatának EMG mérése során hasonló eredmények születtek a VE és a C csoport között, mind a vékonybél, a gyomor, vagy akár a vastagbél mioelektromos aktivitását megfigyelve. Habár egyfajta tendencia megfigyelhető, miszerint a kontroll állatok EMG jelei magasabbak a VE csoportéhoz viszonyítva, szignifikáns különbséget nem tudunk megállapítani a két csoport között, így ezt az állításunkat NEM FOGADJUK EL.

Ezen adatokra támaszkodva arra következtetünk, hogy egy ilyen enyhébb intenzitású, döntően inkább aerob jellegű sportmozgás hatására a szervezet nem kifejezetten a motilitás módosításával próbál meg alkalmazkodni az őt ért ingerek ellen. Elképzelhetőnek tartjuk, hogy a szervezet számára sokkal inkább biokémiai és/vagy strukturális változásokat megcélzó folyamatok bizonyulnak hatásosabb stratégiának, esetleg a mikrobiom összetételének módosításával éri el a szervezet az adaptációt.

Azt fontosnak tartom azonban megjegyezni, hogy az önkéntes testmozgást végző patkányok EMG jeleinek rögzítésében a mozgásos artefaktumok jelentették a legnagyobb limitáló faktort. Éppen ezen okokból kifolyólag sok adatot kénytelenek voltunk kizárni a méréseinkből. Egy későbbi kutatás esetében még több elemszám és/vagy még több familiarizáció alkalmazásával talán mérsékelni lehetne az artefaktumok előfordulását, ezzel több adatot megőrizve a későbbi analizáláshoz. Így meglehet a jelenleg látható tendencia a későbbiekben már egy szignifikáns különbséget jelenthetne számunkra.

### **7.2. Az önkéntes testmozgás befolyásolja a mikrobiomot, megváltoztatni képes annak összetételét**

A 16sRNS génamplikon szekvenálás során a baktérium kultúra Shannon diverzitási indexét figyelembe véve nagyon hasonló adatokat figyelhattünk meg a C és a VE csoport esetében. Mindazonáltal az állítást ELFOGADJUK, mivel az önkéntes testmozgás növelte a bélmikrobióta négy fő fajának egyikeként ismert *Actinobacteria*-nak a relatív

abundanciáját, Család szintjén a *Bifidobacteria* és a *Ruminococcaceae* relatív abundanciája nőtt a C csoporthoz képest, (véltetően a rövid szénláncú zsírsavak fokozott termelésének köszönhetően), Nemzetség szinten pedig az *Acetatifactor* abundanciája csökkenést mutatott a C csoporthoz képest.

Ezen baktériumtörzsek közül az *Actinobacteria* habár csak igen kis százalékát teszik ki a mikrobiomnak, szerepe kulcsfontosságú a GIT homeosztázisának fenntartásában. Az elmúlt időszakban több kutatás témája fókuszált az *Actinobacteriumok*-ra. Ennek a törzsnek az osztályait (, kiváltképp a nálunk szintén különbséget mutató *Bifidobacterium*-t) széles körben alkalmazzák probiotikumként védelmi funkciójuk miatt, jótékony hatásukat már számos patológias betegségben bebizonyították (235).

A *Ruminococcaceae* és a *Lachnospiraceae* tagjai kiegészítik egymást a butirát termelésében és ezáltal a gyulladás szabályozásában foglalnak szerepet (236). Ugyanezen baktériumcsaládok nagy mennyiségű rostbevitel után nagy mennyiségű butirát baktérium-metabolitot termelnek, amelyeknek preventív szerepet tulajdonítottak a vastagbélrák esetében (237).

Ezek az eredmények mind igazolják a sportmozgás mikrobiomra kifejtett pozitív hatásait, melynek igen fontos prediktív szerepe van a betegségekkel szemben, valamint kihatással van az általános állóképességre egyaránt (238).

### **7.3. Kapcsolat, összefüggés a mikrobiom és a bélmotilitás, azok testmozgás által kiváltott alkalmazkodása, módosulása között**

A bél mikrobiom és a GIT mioelektromos aktivitásának adatai között semmilyen közvetlen összefüggést, korrelációt nem tudtunk megállapítani, így ezt az állítást NEM FOGADJUK EL.

Miután viszont az agy-bél-edzés-mikrobiom tengely egy nagyon komplex, igen összetett rendszert alkot, amelynek minden komponense megannyi útvonalon keresztül képes szabályozni a másikat, meglehet, hogy közvetett módon képesek kihatni egymásra. Ebből kifolyólag nem vetném el teljesen annak lehetőségét, hogy egy későbbi kutatás keretein belül ezen hipotézist újra teszteljük, más mérési stratégiát alkalmazva, esetleg egy nagyobb elemszám használatával.

#### **7.4. Kapcsolat az üres bél biokémiájával kapcsolatosan mért adatok és a mikrobiomnál előforduló baktériumok száma és eloszlása között**

A vastagbél minták Western blot analízise során az eNOS, illetve az Akt1 fehérjék esetében figyeltünk meg szignifikánsan magasabb szintet, míg a SIRT1, SIRT3, NRF1, PGC-1 $\alpha$ , NF $\kappa$ B, CS és NAMPT fehérjeszintjén nem észleltünk jelentős változásokat az önkéntesen edző csoportban a kontrollhoz viszonyítva.

A bélből frissen izolált mitokondriumok ROS termelődését vizsgálva szintén nem találtunk szignifikánsnak tekinthető különbséget a C és VE csoportok között. Az önkéntes testmozgás módszere tehát nem eredményezett jelentős változást a ROS termelésben sem a szukcinát beadása előtt, sem pedig azután. A szukcinát beadását követő rotononkezelés pedig minden esetben a ROS termelés teljes gátlását eredményezte.

A mért adatok összefüggéseit vizsgálva azt lehet megállapítani, hogy a laktát szint negatívan korrelált az Akt és eNOS szintekkel, valamint pozitívan korrelált az NRF1 szintjével. A térbeli memória szintén negatívan korrelált a VO<sub>2</sub>max szintjével. A *Bifidobacteriales* és *Bifidobacteriaceae* mennyiségi előfordulása a mikrobiomban összefüggést mutatott a VO<sub>2</sub>max szintjével.

Ezen hipotézis aspektusából figyelembe véve az egyetlen igen fontos és kiemelkedő kapcsolat, melyet találtunk az Akt1 fehérjetartalmának és a székletben található *Bifidobaktériumok* mennyiségének korrelációja.

Az Akt fehérjének számos élettanilag fontos szerepe van, közöttük ismeretes a perifériás glükózfelvétel, az inzulinérzékenységre gyakorolt hatása. egyes kutatások annak jelátviteli szerepét összefüggésbe hozták az agyban keletkező depresszióval egyaránt (224).

Ezek alapján állításunkat miszerint van kapcsolat a bél biokémiájával kapcsolatosan mért adatok és a mikrobiomnál előforduló baktériumok száma és eloszlása között: ELFOGADJUK.

### **7.5. A krónikus testmozgás képes befolyásolni olyan miRNS-ek mennyiségi összetevőit, melyek a bélrendszerbe eljutva is képesek lehetnek kifejteni pozitív hatásukat**

A krónikus testmozgás hatására szignifikáns csökkenést mértünk az okklúziós edzőcsoport izommintáival a miRNS-1 és miRNS\_133a szintjében, összehasonlítva a kontroll csoporttal, így ezt az állítást ELFOGADJUK.

Fontos kihangsúlyozni, hogy ezek a kódolni nem képes RNS-ek, igen komplex folyamatokon keresztül számos szabályozásban részt tudnak venni, mind az izomban, mind a véráram által eljutva a szervezet más egyéb területein. Igen sokrétű, egymásra oda-vissza ható hatásmechanizmusainak pontosabb feltérképezése érdekében, mindenképpen fontos lenne az eredmények más aspektusból történő újbóli vizsgálata.



## 8. Összefoglalás

Jelen kutatásunk az agy-testedzés-bél-mikrobiom tengelyt, azok összefüggéseit vizsgálta. Humán kísérletünkben egy kontroll és egy okklúziós edzés módszert végző csoport négy hét utáni változásait vizsgáltuk meg, lábizmukból kivett minták segítségével. Megfigyelhető volt ezen izommintákban a miRNS-1 és miRNS-133a szignifikánsan csökkent szintje az edzésprogram végére az okklúziós csoportban, valamint a két miRNS között pozitív korreláció is fenn állt.

Állatkísérletünket patkány modellen vizsgáltuk egy kontroll és egy önkéntes testmozgás végző csoporttal hat heti testmozgással. Ezelőtt és után VO<sub>2</sub>max tesztet végeztünk rajtuk. A második ilyen teszt egyben Vita maxima teszt is volt, ami után farokvénából tejsavmérés történt. Az edzésprogram után néztünk még Morris Maze vízi útvesztő tesztel kognitív képességeket, bélmotilitás mérést végeztünk EMG módszerrel, fécesz mintát gyűjtöttünk az állatoktól, majd azok segítségével elemeztük a mikrobiom összetételét is. Az állatokból műtéti eljárás során eltávolítottuk a vastagbél egy részét. Ezen minták egyik feléből elektronmikroszkóp segítségével metszeteket készítettünk, majd egy bioanalitikai szoftver segítségével kielemeztük a caveolák és vezikulák mennyiségét a képeken. A másik vastagbélminta részeket Western blot eljáráshoz használtuk, a bennük jelenlévő fehérjék becslésére.

A VE csoportnál szignifikánsan magasabb, míg a C csoportnál szignifikánsan alacsonyabb VO<sub>2</sub>max szint volt megfigyelhető a hathetes edzésprogram után. A Morris maze vízi tesztnél látható volt tendencia, mely szerint az edző csoport jobb eredményeket ért el a platform megtalálása során, szignifikáns különbséget azonban, csak a munkamemória kiszámításánál lehetett kimutatni az második és a negyedik napon a csoportok között. A VO<sub>2</sub>max és a Morris maze eredmények között negatív korreláció volt megfigyelhető. A bélből frissen izolált mitokondriumok ROS termelődését vizsgálva nem találtunk szignifikánsnak tekinthető különbséget a C és VE csoportok között. A testmozgás hatására, habár nem volt megfigyelhető változás a motilitásban, képes volt növelni az eNOS, illetve az Akt1 fehérje szintjét a bélben, amely utóbbi összefüggésbe hozható a *bifidobaktériumok* nagyobb mennyiségével a fécesz mintákból mért mikrobiomban.

Nem zárható ki, miszerint ez az adaptív válasz lehet a felelős az önkéntes testmozgást végző állatok fokozott inzulinérzékenységéért, bár ennek beigazolása további kutatásokat igényelne. Eredményeink azonban mindenképpen hangsúlyozzák a testmozgás által kiváltott szisztémás alkalmazkodásban a bélfal és a gasztrointesztinális mikrobiom kölcsönhatásának fontos szerepét.

## **9. Summary**

Our present research investigated the brain-exercise-gut-microbiome axis and their interrelationships.

In our human experiment, we investigated the changes after four weeks in a control and an occlusion training group, using samples taken from their leg muscles. We observed significantly reduced levels of miRNA-1 and miRNA-133a in these muscle samples at the end of the training programme in the occlusion group, and a positive correlation between the two miRNAs.

Our animal study was conducted in a rat model with a control and a volunteer exercise group with six weekly exercise sessions. Before and after VO<sub>2</sub>max tests were performed on them. The second of these tests was a Vita maxima test, after which lactic acid was measured from the tail vein. After the training programme we also looked at cognitive abilities with Morris Maze water test, gut motility measurement with EMG method, collected fecal samples from the animals and then used them to analyse the composition of the microbiome. A part of the colon was surgically removed from the animals. Sections were taken from half of the samples using an electron microscope, and the amount of caveolae and vesicles in the images was analysed using a bioanalytical software. The other colon samples were used for Western blot measurements to estimate the proteins present in them.

Significantly higher VO<sub>2</sub>max was observed in the VE group and significantly lower VO<sub>2</sub>max in the control group after the six-week training programme. In the Morris maze water test, a trend was seen whereby the training group performed better in finding the platform, however, a significant difference was only found in the calculation of working memory between the groups on the second and fourth day. A negative correlation was observed between VO<sub>2</sub>max and Morris maze scores.

No significant difference was found between groups C and VE when examining ROS production by mitochondria freshly isolated from the gut. Although no change in motility was observed, exercise training was able to increase the levels of eNOS and Akt1 proteins in the gut, the latter being associated with a higher abundance of bifidobacteria in the microbiome measured from the semi-precipitated samples.

It cannot be ruled out that this adaptive response may be responsible for the increased insulin sensitivity of animals performing voluntary exercise, although further research would be needed to confirm this. However, our results certainly underline the important role of the interaction between the gut surface and the gastrointestinal microbiome in exercise-induced systemic adaptation.

## **10. Irodalomjegyzék**

1. Chan, C. W., Wong, R. S., Law, P. T., Wong, C. L., Tsui, S. K., Tang, W. P., and Sit, J. W. (2016) Environmental Factors Associated with Altered Gut Microbiota in Children with Eczema: A Systematic Review. *Int J Mol Sci* **17**
2. Pannaraj, P. S., Li, F., Cerini, C., Bender, J. M., Yang, S., Rollie, A., Adisetiyo, H., Zabih, S., Lincez, P. J., Bittinger, K., Bailey, A., Bushman, F. D., Sleasman, J. W., and Aldrovandi, G. M. (2017) Association Between Breast Milk Bacterial Communities and Establishment and Development of the Infant Gut Microbiome. *JAMA Pediatr* **171**, 647-654
3. Zhu, B., Wang, X., and Li, L. (2010) Human gut microbiome: the second genome of human body. *Protein Cell* **1**, 718-725
4. Ludyga, S., Gerber, M., Puhse, U., Looser, V. N., and Kamijo, K. (2020) Systematic review and meta-analysis investigating moderators of long-term effects of exercise on cognition in healthy individuals. *Nat Hum Behav* **4**, 603-612
5. Radak, Z., Suzuki, K., Posa, A., Petrovszky, Z., Koltai, E., and Boldogh, I. (2020) The systemic role of SIRT1 in exercise mediated adaptation. *Redox Biol* **35**, 101467
6. Pedersen, B. K., and Hoffman-Goetz, L. (2000) Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* **80**, 1055-1081
7. Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., and Gordon, J. I. (2007) The human microbiome project. *Nature* **449**, 804-810
8. Naz, J., Sharif, M., Yasmin, M., Raza, M., and Khan, M. A. (2021) Detection and Classification of Gastrointestinal Diseases using Machine Learning. *Curr Med Imaging* **17**, 479-490
9. Szucs, K. F., Nagy, A., Grosz, G., Tiszai, Z., and Gaspar, R. (2016) Correlation between slow-wave myoelectric signals and mechanical contractions in the gastrointestinal tract: Advanced electromyographic method in rats. *J Pharmacol Toxicol Methods* **82**, 37-44
10. Cheng, L. K., O'Grady, G., Du, P., Egbuji, J. U., Windsor, J. A., and Pullan, A. J. (2010) Gastrointestinal system. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med* **2**, 65-79

11. Reed, K. K., and Wickham, R. (2009) Review of the gastrointestinal tract: from macro to micro. *Semin Oncol Nurs* **25**, 3-14
12. Shen, L. (2009) Functional morphology of the gastrointestinal tract. *Curr Top Microbiol Immunol* **337**, 1-35
13. Chiodini, R. J., Dowd, S. E., Chamberlin, W. M., Galandiuk, S., Davis, B., and Glassing, A. (2015) Microbial Population Differentials between Mucosal and Submucosal Intestinal Tissues in Advanced Crohn's Disease of the Ileum. *PLoS One* **10**, e0134382
14. Hecking, I., Stegemann, L. N., Stahlke, S., Theis, V., Vorgerd, M., Matschke, V., and Theiss, C. (2023) Methods to Study the Myenteric Plexus of Rat Small Intestine. *Cell Mol Neurobiol* **43**, 315-325
15. Sekirov, I., Russell, S. L., Antunes, L. C., and Finlay, B. B. (2010) Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev* **90**, 859-904
16. Round, J. L., O'Connell, R. M., and Mazmanian, S. K. (2010) Coordination of tolerogenic immune responses by the commensal microbiota. *J Autoimmun* **34**, J220-225
17. Backhed, F., and Crawford, P. A. (2010) Coordinated regulation of the metabolome and lipidome at the host-microbial interface. *Biochim Biophys Acta* **1801**, 240-245
18. Conly, J. M., Stein, K., Worobetz, L., and Rutledge-Harding, S. (1994) The contribution of vitamin K2 (menaquinones) produced by the intestinal microflora to human nutritional requirements for vitamin K. *Am J Gastroenterol* **89**, 915-923
19. Younes, H., Coudray, C., Bellanger, J., Demigne, C., Rayssiguier, Y., and Remesy, C. (2001) Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and magnesium balance in rats. *Br J Nutr* **86**, 479-485
20. Purchiaroni, F., Tortora, A., Gabrielli, M., Bertucci, F., Gigante, G., Ianiro, G., Ojetti, V., Scarpellini, E., and Gasbarrini, A. (2013) The role of intestinal microbiota and the immune system. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* **17**, 323-333
21. Scaldaferri, F., Pizzoferrato, M., Gerardi, V., Lopetuso, L., and Gasbarrini, A. (2012) The gut barrier: new acquisitions and therapeutic approaches. *J Clin Gastroenterol* **46 Suppl**, S12-17

22. McCarville, J. L., Caminero, A., and Verdu, E. F. (2016) Novel perspectives on therapeutic modulation of the gut microbiota. *Therap Adv Gastroenterol* **9**, 580-593
23. Sun, M., He, C., Cong, Y., and Liu, Z. (2015) Regulatory immune cells in regulation of intestinal inflammatory response to microbiota. *Mucosal Immunol* **8**, 969-978
24. Galdeano, C. M., and Perdigon, G. (2006) The probiotic bacterium *Lactobacillus casei* induces activation of the gut mucosal immune system through innate immunity. *Clin Vaccine Immunol* **13**, 219-226
25. Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S., Fritz, J. V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M., and Honda, K. (2013) Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* **500**, 232-236
26. Maynard, C. L., Elson, C. O., Hatton, R. D., and Weaver, C. T. (2012) Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* **489**, 231-241
27. Allen, C. A., and Torres, A. G. (2008) Host-microbe communication within the GI tract. *Adv Exp Med Biol* **635**, 93-101
28. Yamamori, T., DeRicco, J., Naqvi, A., Hoffman, T. A., Mattagajasingh, I., Kasuno, K., Jung, S. B., Kim, C. S., and Irani, K. (2010) SIRT1 deacetylates APE1 and regulates cellular base excision repair. *Nucleic Acids Res* **38**, 832-845
29. Sanders, K. M., Koh, S. D., and Ward, S. M. (2006) Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annu Rev Physiol* **68**, 307-343
30. Lammers, W. J. (2015) Normal and abnormal electrical propagation in the small intestine. *Acta Physiol (Oxf)* **213**, 349-359
31. O'Grady, G., Wang, T. H., Du, P., Angeli, T., Lammers, W. J., and Cheng, L. K. (2014) Recent progress in gastric arrhythmia: pathophysiology, clinical significance and future horizons. *Clin Exp Pharmacol Physiol* **41**, 854-862
32. Huizinga, J. D., and Chen, J. H. (2014) Interstitial cells of Cajal: update on basic and clinical science. *Curr Gastroenterol Rep* **16**, 363

33. Sanchis-Gomar, F., Lucia, A., Yvert, T., Ruiz-Casado, A., Pareja-Galeano, H., Santos-Lozano, A., Fiuza-Luces, C., Garatachea, N., Lippi, G., Bouchard, C., and Berger, N. A. (2015) Physical inactivity and low fitness deserve more attention to alter cancer risk and prognosis. *Cancer Prev Res (Phila)* **8**, 105-110
34. Blair, S. N. (2009) Physical inactivity: the biggest public health problem of the 21st century. *Br J Sports Med* **43**, 1-2
35. Stang, J., Couto, M., Carlsen, K. H., and Stensrud, T. (2014) Increased bronchial parasympathetic tone in elite cross-country and biathlon skiers: a randomised crossover study. *Br J Sports Med*
36. Bonaz, B., Sinniger, V., and Pellissier, S. (2016) Vagal tone: effects on sensitivity, motility, and inflammation. *Neurogastroenterol Motil* **28**, 455-462
37. Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., and Mele, M. C. (2019) What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms* **7**
38. Babszky, G., Torma, F., Aczel, D., Bakonyi, P., Gombos, Z., Feher, J., Szabo, D., Ligeti, B., Pongor, S., Balogh, L., Posa, A., and Radak, Z. (2021) COVID-19 Infection Alters the Microbiome: Elite Athletes and Sedentary Patients Have Similar Bacterial Flora. *Genes (Basel)* **12**
39. Yoshida, N., Emoto, T., Yamashita, T., Watanabe, H., Hayashi, T., Tabata, T., Hoshi, N., Hatano, N., Ozawa, G., Sasaki, N., Mizoguchi, T., Amin, H. Z., Hirota, Y., Ogawa, W., Yamada, T., and Hirata, K. I. (2018) *Bacteroides vulgatus* and *Bacteroides dorei* Reduce Gut Microbial Lipopolysaccharide Production and Inhibit Atherosclerosis. *Circulation* **138**, 2486-2498
40. Liu, L., Xu, M., Lan, R., Hu, D., Li, X., Qiao, L., Zhang, S., Lin, X., Yang, J., Ren, Z., and Xu, J. (2022) *Bacteroides vulgatus* attenuates experimental mice colitis through modulating gut microbiota and immune responses. *Front Immunol* **13**, 1036196
41. Shi, N., Li, N., Duan, X., and Niu, H. (2017) Interaction between the gut microbiome and mucosal immune system. *Mil Med Res* **4**, 14
42. Clark, A., and Mach, N. (2017) The Crosstalk between the Gut Microbiota and Mitochondria during Exercise. *Front Physiol* **8**, 319



43. Wolin, K. Y., Yan, Y., Colditz, G. A., and Lee, I. M. (2009) Physical activity and colon cancer prevention: a meta-analysis. *Br J Cancer* **100**, 611-616
44. Abraham, D., Feher, J., Scuderi, G. L., Szabo, D., Dobolyi, A., Cservenak, M., Juhasz, J., Ligeti, B., Pongor, S., Gomez-Cabrera, M. C., Vina, J., Higuchi, M., Suzuki, K., Boldogh, I., and Radak, Z. (2019) Exercise and probiotics attenuate the development of Alzheimer's disease in transgenic mice: Role of microbiome. *Exp Gerontol* **115**, 122-131
45. Mahizir, D., Briffa, J. F., Wood, J. L., Anevskaa, K., Hill-Yardin, E. L., Jefferies, A. J., Gravina, S., Mazzarino, G., Franks, A. E., Moritz, K. M., Wadley, G. D., and Wlodek, M. E. (2020) Exercise improves metabolic function and alters the microbiome in rats with gestational diabetes. *FASEB J* **34**, 1728-1744
46. Gubert, C., Kong, G., Renoir, T., and Hannan, A. J. (2020) Exercise, diet and stress as modulators of gut microbiota: Implications for neurodegenerative diseases. *Neurobiol Dis* **134**, 104621
47. Grunewald, K. K., and Tucker, T. J. (1985) Gastric emptying in exercised mice. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol* **80**, 173-175
48. Rosa, E. F., Ribeiro, R. F., Pereira, F. M., Freymuller, E., Aboulafia, J., and Nouailhetas, V. L. (2009) Vitamin C and E supplementation prevents mitochondrial damage of ileum myocytes caused by intense and exhaustive exercise training. *J Appl Physiol (1985)* **107**, 1532-1538
49. Rosa, E. F., Freymuller, E., Ihara, S. S., Aboulafia, J., and Nouailhetas, V. L. (2008) Damaging effects of intense repetitive treadmill running on murine intestinal musculature. *J Appl Physiol (1985)* **104**, 1410-1417
50. de Lira, C. A., Vancini, R. L., Ihara, S. S., da Silva, A. C., Aboulafia, J., and Nouailhetas, V. L. (2008) Aerobic exercise affects C57BL/6 murine intestinal contractile function. *Eur J Appl Physiol* **103**, 215-223
51. Dziewiecka, H., Buttar, H. S., Kasperska, A., Ostapiuk-Karolczuk, J., Domagalska, M., Cichon, J., and Skarpanska-Stejnborn, A. (2022) Physical activity induced alterations of gut microbiota in humans: a systematic review. *BMC Sports Sci Med Rehabil* **14**, 122

52. Yin, Y., Guo, Q., Zhou, X., Duan, Y., Yang, Y., Gong, S., Han, M., Liu, Y., Yang, Z., Chen, Q., and Li, F. (2022) Role of brain-gut-muscle axis in human health and energy homeostasis. *Front Nutr* **9**, 947033
53. Quan, H., Koltai, E., Suzuki, K., Aguiar, A. S., Jr., Pinho, R., Boldogh, I., Berkes, I., and Radak, Z. (2020) Exercise, redox system and neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* **1866**, 165778
54. Radak, Z., Suzuki, K., Higuchi, M., Balogh, L., Boldogh, I., and Koltai, E. (2016) Physical exercise, reactive oxygen species and neuroprotection. *Free Radic Biol Med* **98**, 187-196
55. Wang, Y., Pu, Z., Zhang, Y., Du, Z., Guo, Z., and Bai, Q. (2023) Exercise training has a protective effect in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mice model with improved neural and intestinal pathology and modified intestinal flora. *Behav Brain Res* **439**, 114240
56. Gareau, M. G., Wine, E., Rodrigues, D. M., Cho, J. H., Whary, M. T., Philpott, D. J., Macqueen, G., and Sherman, P. M. (2011) Bacterial infection causes stress-induced memory dysfunction in mice. *Gut* **60**, 307-317
57. Sherwin, E., Bordenstein, S. R., Quinn, J. L., Dinan, T. G., and Cryan, J. F. (2019) Microbiota and the social brain. *Science* **366**
58. Han, W., Tellez, L. A., Perkins, M. H., Perez, I. O., Qu, T., Ferreira, J., Ferreira, T. L., Quinn, D., Liu, Z. W., Gao, X. B., Kaelberer, M. M., Bohorquez, D. V., Shammah-Lagnado, S. J., de Lartigue, G., and de Araujo, I. E. (2018) A Neural Circuit for Gut-Induced Reward. *Cell* **175**, 665-678 e623
59. Kaelberer, M. M., Buchanan, K. L., Klein, M. E., Barth, B. B., Montoya, M. M., Shen, X., and Bohorquez, D. V. (2018) A gut-brain neural circuit for nutrient sensory transduction. *Science* **361**
60. Holmqvist, S., Chutna, O., Bousset, L., Aldrin-Kirk, P., Li, W., Bjorklund, T., Wang, Z. Y., Roybon, L., Melki, R., and Li, J. Y. (2014) Direct evidence of Parkinson pathology spread from the gastrointestinal tract to the brain in rats. *Acta Neuropathol* **128**, 805-820
61. Hernandez-Calderon, P., Wiedemann, L., and Benitez-Paez, A. (2022) The microbiota composition drives personalized nutrition: Gut microbes as predictive biomarkers for the success of weight loss diets. *Front Nutr* **9**, 1006747

62. Tarr, A. J., Galley, J. D., Fisher, S. E., Chichlowski, M., Berg, B. M., and Bailey, M. T. (2015) The prebiotics 3'Sialyllactose and 6'Sialyllactose diminish stressor-induced anxiety-like behavior and colonic microbiota alterations: Evidence for effects on the gut-brain axis. *Brain Behav Immun* **50**, 166-177
63. Alesch, F., Moringlane, J. R., and Ostertag, C. B. (1988) [Stereotaxic brain biopsy as basis of therapy planning]. *Bull Soc Sci Med Grand Duché Luxemb* **125**, 5-13
64. Clark, J. S., Simpson, B. S., and Murphy, K. J. (2022) The role of a Mediterranean diet and physical activity in decreasing age-related inflammation through modulation of the gut microbiota composition. *Br J Nutr* **128**, 1299-1314
65. Kau, A. L., Ahern, P. P., Griffin, N. W., Goodman, A. L., and Gordon, J. I. (2011) Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* **474**, 327-336
66. Barko, P. C., McMichael, M. A., Swanson, K. S., and Williams, D. A. (2018) The Gastrointestinal Microbiome: A Review. *J Vet Intern Med* **32**, 9-25
67. Nicholson, J. K., Holmes, E., Kinross, J., Burcelin, R., Gibson, G., Jia, W., and Pettersson, S. (2012) Host-gut microbiota metabolic interactions. *Science* **336**, 1262-1267
68. Bell, J. S., Spencer, J. I., Yates, R. L., Yee, S. A., Jacobs, B. M., and DeLuca, G. C. (2019) Invited Review: From nose to gut - the role of the microbiome in neurological disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* **45**, 195-215
69. Zhang, L., Wang, Y., Xiayu, X., Shi, C., Chen, W., Song, N., Fu, X., Zhou, R., Xu, Y. F., Huang, L., Zhu, H., Han, Y., and Qin, C. (2017) Altered Gut Microbiota in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Alzheimers Dis* **60**, 1241-1257
70. Mitew, S., Kirkcaldie, M. T., Dickson, T. C., and Vickers, J. C. (2013) Altered synapses and gliotransmission in Alzheimer's disease and AD model mice. *Neurobiol Aging* **34**, 2341-2351
71. Michaels, Y. S., Barnkob, M. B., Barbosa, H., Baeumler, T. A., Thompson, M. K., Andre, V., Colin-York, H., Fritzsche, M., Gileadi, U., Sheppard, H. M., Knapp, D., Milne, T. A., Cerundolo, V., and Fulga, T. A. (2019) Precise tuning of gene expression levels in mammalian cells. *Nat Commun* **10**, 818
72. Wouters, M. M. (2017) Novel insight in diarrhoea-predominant IBS: miRNAs modulate barrier function. *Gut* **66**, 1537-1538

73. Catalanotto, C., Cogoni, C., and Zardo, G. (2016) MicroRNA in Control of Gene Expression: An Overview of Nuclear Functions. *Int J Mol Sci* **17**
74. Nezami, B. G., Mwangi, S. M., Lee, J. E., Jeppsson, S., Anitha, M., Yarandi, S. S., Farris, A. B., 3rd, and Srinivasan, S. (2014) MicroRNA 375 mediates palmitate-induced enteric neuronal damage and high-fat diet-induced delayed intestinal transit in mice. *Gastroenterology* **146**, 473-483 e473
75. Singh, R., Zogg, H., and Ro, S. (2021) Role of microRNAs in Disorders of Gut-Brain Interactions: Clinical Insights and Therapeutic Alternatives. *J Pers Med* **11**
76. Ren, H. X., Zhang, F. C., Luo, H. S., Zhang, G., and Liang, L. X. (2017) Role of mast cell-miR-490-5p in irritable bowel syndrome. *World J Gastroenterol* **23**, 93-102
77. Liu, W., Zhang, Q., Li, S., Li, L., Ding, Z., Qian, Q., Fan, L., and Jiang, C. (2015) The Relationship Between Colonic Macrophages and MicroRNA-128 in the Pathogenesis of Slow Transit Constipation. *Dig Dis Sci* **60**, 2304-2315
78. Liu, S., da Cunha, A. P., Rezende, R. M., Cialic, R., Wei, Z., Bry, L., Comstock, L. E., Gandhi, R., and Weiner, H. L. (2016) The Host Shapes the Gut Microbiota via Fecal MicroRNA. *Cell Host Microbe* **19**, 32-43
79. Zhao, L., Ye, Y., Gu, L., Jian, Z., Stary, C. M., and Xiong, X. (2021) Extracellular vesicle-derived miRNA as a novel regulatory system for bi-directional communication in gut-brain-microbiota axis. *J Transl Med* **19**, 202
80. Adike, A., and Quigley, E. M. (2014) Gastrointestinal motility problems in critical care: a clinical perspective. *J Dig Dis* **15**, 335-344
81. Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., Alexander, H., Alm, E. J., Arumugam, M., Asnicar, F., Bai, Y., Bisanz, J. E., Bittinger, K., Brejnrod, A., Brislawn, C. J., Brown, C. T., Callahan, B. J., Caraballo-Rodriguez, A. M., Chase, J., Cope, E. K., Da Silva, R., Diener, C., Dorrestein, P. C., Douglas, G. M., Durall, D. M., Duvallet, C., Edwardson, C. F., Ernst, M., Estaki, M., Fouquier, J., Gauglitz, J. M., Gibbons, S. M., Gibson, D. L., Gonzalez, A., Gorlick, K., Guo, J., Hillmann, B., Holmes, S., Holste, H., Huttenhower, C., Huttley, G. A., Janssen, S., Jarmusch, A. K., Jiang, L., Kaehler, B. D., Kang, K. B., Keefe, C. R., Keim, P., Kelley, S. T., Knights, D., Koester, I., Kosciolk, T., Kreps, J., Langille, M. G. I., Lee, J., Ley, R., Liu, Y. X., Lofthfield,

- E., Lozupone, C., Maher, M., Marotz, C., Martin, B. D., McDonald, D., McIver, L. J., Melnik, A. V., Metcalf, J. L., Morgan, S. C., Morton, J. T., Naimey, A. T., Navas-Molina, J. A., Nothias, L. F., Orchanian, S. B., Pearson, T., Peoples, S. L., Petras, D., Preuss, M. L., Pruesse, E., Rasmussen, L. B., Rivers, A., Robeson, M. S., 2nd, Rosenthal, P., Segata, N., Shaffer, M., Shiffer, A., Sinha, R., Song, S. J., Spear, J. R., Swafford, A. D., Thompson, L. R., Torres, P. J., Trinh, P., Tripathi, A., Turnbaugh, P. J., Ul-Hasan, S., van der Hooft, J. J. J., Vargas, F., Vazquez-Baeza, Y., Vogtmann, E., von Hippel, M., Walters, W., Wan, Y., Wang, M., Warren, J., Weber, K. C., Williamson, C. H. D., Willis, A. D., Xu, Z. Z., Zaneveld, J. R., Zhang, Y., Zhu, Q., Knight, R., and Caporaso, J. G. (2019) Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat Biotechnol* **37**, 852-857
82. Varni, J. W., Bendo, C. B., Denham, J., Shulman, R. J., Self, M. M., Neigut, D. A., Nurko, S., Patel, A. S., Franciosi, J. P., Saps, M., Verga, B., Smith, A., Yeckes, A., Heinz, N., Langseder, A., Saeed, S., Zacur, G. M., and Pohl, J. F. (2014) PedsQL gastrointestinal symptoms module: feasibility, reliability, and validity. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **59**, 347-355
83. Paine, P., McLaughlin, J., and Lal, S. (2013) Review article: the assessment and management of chronic severe gastrointestinal dysmotility in adults. *Aliment Pharmacol Ther* **38**, 1209-1229
84. Yassi, R., O'Grady, G., Paskaranandavadivel, N., Du, P., Angeli, T. R., Pullan, A. J., Cheng, L. K., and Erickson, J. C. (2012) The gastrointestinal electrical mapping suite (GEMS): software for analyzing and visualizing high-resolution (multi-electrode) recordings in spatiotemporal detail. *BMC Gastroenterol* **12**, 60
85. Garcia-Casado, J., Zena-Gimenez, V., Prats-Boluda, G., and Ye-Lin, Y. (2014) Enhancement of non-invasive recording of electroenterogram by means of a flexible array of concentric ring electrodes. *Ann Biomed Eng* **42**, 651-660
86. Qin, S., Ding, W., Miao, L., Xi, N., Li, H., and Yang, C. (2015) Signal reconstruction of the slow wave and spike potential from electrogastrogram. *Biomed Mater Eng* **26 Suppl 1**, S1515-1521

87. Prats-Boluda, G., Garcia-Casado, J., Martinez-de-Juan, J. L., and Ye-Lin, Y. (2011) Active concentric ring electrode for non-invasive detection of intestinal myoelectric signals. *Med Eng Phys* **33**, 446-455
88. Yin, J., and Chen, J. D. (2013) Electrogastrography: methodology, validation and applications. *J Neurogastroenterol Motil* **19**, 5-17
89. Szucs, K. F., Grosz, G., Sule, M., Sztojkov-Ivanov, A., Ducza, E., Marki, A., Kothencz, A., Balogh, L., and Gaspar, R. (2018) Detection of stress and the effects of central nervous system depressants by gastrointestinal smooth muscle electromyography in wakeful rats. *Life Sci* **205**, 1-8
90. Nagy, K., Febel, H., Bazar, G., Grosz, G., Gaspar, R., Ferenc Szucs, K., and Toth, T. (2021) Non-invasive smooth muscle electromyography (SMEMG) as a novel monitoring technology of the gastrointestinal tract of awake, free-moving pigs-A pilot study. *PLoS One* **16**, e0257311
91. Pribek, I. K., Szucs, K. F., Sule, M., Grosz, G., Ducza, E., Vigh, D., Toth, E., Janka, Z., Kalman, J., Datki, Z. L., Gaspar, R., and Ando, B. (2021) Detection of acute stress by smooth muscle electromyography: A translational study on rat and human. *Life Sci* **277**, 119492
92. Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., and Cardona, A. (2012) Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat Methods* **9**, 676-682
93. Johnson, M. I., Paley, C. A., Jones, G., Mulvey, M. R., and Wittkopf, P. G. (2022) Efficacy and safety of transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for acute and chronic pain in adults: a systematic review and meta-analysis of 381 studies (the meta-TENS study). *BMJ Open* **12**, e051073
94. Mazloom, R. (2019) A new approach for digestive disease diagnosis: Dynamics of gastrointestinal electrical activity. *Med Hypotheses* **128**, 64-68
95. Sanders, K. M., Ward, S. M., and Hennig, G. W. (2016) Problems with extracellular recording of electrical activity in gastrointestinal muscle. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **13**, 731-741

96. Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., and Packer, L. (1982) Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* **107**, 1198-1205
97. Radak, Z., Zhao, Z., Koltai, E., Ohno, H., and Atalay, M. (2013) Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxid Redox Signal* **18**, 1208-1246
98. Radak, Z., Chung, H. Y., and Goto, S. (2008) Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radic Biol Med* **44**, 153-159
99. Holloszy, J. O. (1967) Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. *J Biol Chem* **242**, 2278-2282
100. Radak, Z., Hart, N., Sarga, L., Koltai, E., Atalay, M., Ohno, H., and Boldogh, I. (2010) Exercise plays a preventive role against Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* **20**, 777-783
101. Myers, J., Prakash, M., Froelicher, V., Do, D., Partington, S., and Atwood, J. E. (2002) Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *N Engl J Med* **346**, 793-801
102. Katzmarzyk, P. T., and Janssen, I. (2004) The economic costs associated with physical inactivity and obesity in Canada: an update. *Can J Appl Physiol* **29**, 90-115
103. Gulati, M., Pandey, D. K., Arnsdorf, M. F., Lauderdale, D. S., Thisted, R. A., Wicklund, R. H., Al-Hani, A. J., and Black, H. R. (2003) Exercise capacity and the risk of death in women: the St James Women Take Heart Project. *Circulation* **108**, 1554-1559
104. Blair, S. N., Kampert, J. B., Kohl, H. W., 3rd, Barlow, C. E., Macera, C. A., Paffenbarger, R. S., Jr., and Gibbons, L. W. (1996) Influences of cardiorespiratory fitness and other precursors on cardiovascular disease and all-cause mortality in men and women. *JAMA* **276**, 205-210
105. Yoshioka, T., Inagaki, K., Noguchi, T., Sakai, M., Ogawa, W., Hosooka, T., Iguchi, H., Watanabe, E., Matsuki, Y., Hiramatsu, R., and Kasuga, M. (2009)

- Identification and characterization of an alternative promoter of the human PGC-1alpha gene. *Biochem Biophys Res Commun* **381**, 537-543
106. Ojuka, E. O. (2004) Role of calcium and AMP kinase in the regulation of mitochondrial biogenesis and GLUT4 levels in muscle. *Proc Nutr Soc* **63**, 275-278
  107. Bratic, I., and Trifunovic, A. (2010) Mitochondrial energy metabolism and ageing. *Biochim Biophys Acta* **1797**, 961-967
  108. Holloszy, J. O. (2008) Regulation by exercise of skeletal muscle content of mitochondria and GLUT4. *J Physiol Pharmacol* **59 Suppl 7**, 5-18
  109. Rodgers, J. T., Lerin, C., Gerhart-Hines, Z., and Puigserver, P. (2008) Metabolic adaptations through the PGC-1 alpha and SIRT1 pathways. *FEBS Lett* **582**, 46-53
  110. Lombard, D. B., Schwer, B., Alt, F. W., and Mostoslavsky, R. (2008) SIRT6 in DNA repair, metabolism and ageing. *J Intern Med* **263**, 128-141
  111. Imai, S., Armstrong, C. M., Kaerberlein, M., and Guarente, L. (2000) Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* **403**, 795-800
  112. Yamagata, K., and Kitabayashi, I. (2009) Sirt1 physically interacts with Tip60 and negatively regulates Tip60-mediated acetylation of H2AX. *Biochem Biophys Res Commun* **390**, 1355-1360
  113. Rodgers, J. T., and Puigserver, P. (2006) Certainly can't live without this: SIRT6. *Cell Metab* **3**, 77-78
  114. Fang, Q. J., Chi, B. H., Lin, Q. C., Huang, C. M., Jin, S. W., Cai, J. J., Nan, K., Han, Y., Tao, Y. X., Cao, H., and Li, J. (2020) Surgery-induced downregulation of hippocampal sirtuin-1 contributes to cognitive dysfunction by inhibiting autophagy and activating apoptosis in aged mice. *Am J Transl Res* **12**, 8111-8122
  115. McCord, R. A., Michishita, E., Hong, T., Berber, E., Boxer, L. D., Kusumoto, R., Guan, S., Shi, X., Gozani, O., Burlingame, A. L., Bohr, V. A., and Chua, K. F. (2009) SIRT6 stabilizes DNA-dependent protein kinase at chromatin for DNA double-strand break repair. *Aging (Albany NY)* **1**, 109-121
  116. Jeong, J., Juhn, K., Lee, H., Kim, S. H., Min, B. H., Lee, K. M., Cho, M. H., Park, G. H., and Lee, K. H. (2007) SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med* **39**, 8-13



117. Wang, R. H., Sengupta, K., Li, C., Kim, H. S., Cao, L., Xiao, C., Kim, S., Xu, X., Zheng, Y., Chilton, B., Jia, R., Zheng, Z. M., Appella, E., Wang, X. W., Ried, T., and Deng, C. X. (2008) Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell* **14**, 312-323
118. Oberdoerffer, P., Michan, S., McVay, M., Mostoslavsky, R., Vann, J., Park, S. K., Hartlerode, A., Stegmuller, J., Hafner, A., Loerch, P., Wright, S. M., Mills, K. D., Bonni, A., Yankner, B. A., Scully, R., Prolla, T. A., Alt, F. W., and Sinclair, D. A. (2008) SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell* **135**, 907-918
119. Mostoslavsky, R., Chua, K. F., Lombard, D. B., Pang, W. W., Fischer, M. R., Gellon, L., Liu, P., Mostoslavsky, G., Franco, S., Murphy, M. M., Mills, K. D., Patel, P., Hsu, J. T., Hong, A. L., Ford, E., Cheng, H. L., Kennedy, C., Nunez, N., Bronson, R., Frendewey, D., Auerbach, W., Valenzuela, D., Karow, M., Hottiger, M. O., Hursting, S., Barrett, J. C., Guarente, L., Mulligan, R., Demple, B., Yancopoulos, G. D., and Alt, F. W. (2006) Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell* **124**, 315-329
120. Sundaesan, N. R., Samant, S. A., Pillai, V. B., Rajamohan, S. B., and Gupta, M. P. (2008) SIRT3 is a stress-responsive deacetylase in cardiomyocytes that protects cells from stress-mediated cell death by deacetylation of Ku70. *Mol Cell Biol* **28**, 6384-6401
121. Koltai, E., Bori, Z., Osvath, P., Ihasz, F., Peter, S., Toth, G., Degens, H., Rittweger, J., Boldogh, I., and Radak, Z. (2018) Master athletes have higher miR-7, SIRT3 and SOD2 expression in skeletal muscle than age-matched sedentary controls. *Redox Biol* **19**, 46-51
122. Qiao, A., Wang, K., Yuan, Y., Guan, Y., Ren, X., Li, L., Chen, X., Li, F., Chen, A. F., Zhou, J., Yang, J. M., and Cheng, Y. (2018) Correction: Sirt3-mediated mitophagy protects tumor cells against apoptosis under hypoxia. *Oncotarget* **9**, 27318
123. Manning, B. D., and Cantley, L. C. (2007) AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* **129**, 1261-1274
124. Nicholson, K. M., and Anderson, N. G. (2002) The protein kinase B/Akt signalling pathway in human malignancy. *Cell Signal* **14**, 381-395

125. Datta, S. R., Brunet, A., and Greenberg, M. E. (1999) Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev* **13**, 2905-2927
126. Zdychova, J., and Komers, R. (2005) Emerging role of Akt kinase/protein kinase B signaling in pathophysiology of diabetes and its complications. *Physiol Res* **54**, 1-16
127. Elghazi, L., Balcazar, N., and Bernal-Mizrachi, E. (2006) Emerging role of protein kinase B/Akt signaling in pancreatic beta-cell mass and function. *Int J Biochem Cell Biol* **38**, 157-163
128. Fischer, H., Becker, J. C., Boknik, P., Huber, V., Luss, H., Neumann, J., Schmitz, W., Domschke, W., Stachura, J., and Konturek, J. W. (1999) Expression of constitutive nitric oxide synthase in rat and human gastrointestinal tract. *Biochim Biophys Acta* **1450**, 414-422
129. Teng, B., Murthy, K. S., Kuemmerle, J. F., Grider, J. R., Sase, K., Michel, T., and Makhlof, G. M. (1998) Expression of endothelial nitric oxide synthase in human and rabbit gastrointestinal smooth muscle cells. *Am J Physiol* **275**, G342-351
130. Vannucchi, M. G., Corsani, L., Bani, D., and Faussone-Pellegrini, M. S. (2002) Myenteric neurons and interstitial cells of Cajal of mouse colon express several nitric oxide synthase isoforms. *Neurosci Lett* **326**, 191-195
131. Shah, V., Haddad, F. G., Garcia-Cardena, G., Frangos, J. A., Mennone, A., Groszmann, R. J., and Sessa, W. C. (1997) Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids. *J Clin Invest* **100**, 2923-2930
132. Denninger, J. W., and Marletta, M. A. (1999) Guanylate cyclase and the .NO/cGMP signaling pathway. *Biochim Biophys Acta* **1411**, 334-350
133. Traverse, J. H., Wang, Y. L., Du, R., Nelson, D., Lindstrom, P., Archer, S. L., Gong, G., and Bache, R. J. (2000) Coronary nitric oxide production in response to exercise and endothelium-dependent agonists. *Circulation* **101**, 2526-2531
134. McGlothlin, J. R., Gao, L., Lavoie, T., Simon, B. A., Easley, R. B., Ma, S. F., Rumala, B. B., Garcia, J. G., and Ye, S. Q. (2005) Molecular cloning and characterization of canine pre-B-cell colony-enhancing factor. *Biochem Genet* **43**, 127-141

135. Sun, Y., Zhu, S., Wu, Z., Huang, Y., Liu, C., Tang, S., and Wei, L. (2017) Elevated serum visfatin levels are associated with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* **8**, 23427-23435
136. Pramono, A. A., Rather, G. M., Herman, H., Lestari, K., and Bertino, J. R. (2020) NAD- and NADPH-Contributing Enzymes as Therapeutic Targets in Cancer: An Overview. *Biomolecules* **10**
137. Park, S. M., Li, T., Wu, S., Li, W. Q., Weinstock, M., Qureshi, A. A., and Cho, E. (2017) Niacin intake and risk of skin cancer in US women and men. *Int J Cancer* **140**, 2023-2031
138. Vaupel, P., Schmidberger, H., and Mayer, A. (2019) The Warburg effect: essential part of metabolic reprogramming and central contributor to cancer progression. *Int J Radiat Biol* **95**, 912-919
139. Lucena-Cacace, A., Otero-Albiol, D., Jimenez-Garcia, M. P., Munoz-Galvan, S., and Carnero, A. (2018) NAMPT Is a Potent Oncogene in Colon Cancer Progression that Modulates Cancer Stem Cell Properties and Resistance to Therapy through Sirt1 and PARP. *Clin Cancer Res* **24**, 1202-1215
140. Lee, J., Kim, H., Lee, J. E., Shin, S. J., Oh, S., Kwon, G., Kim, H., Choi, Y. Y., White, M. A., Paik, S., Cheong, J. H., and Kim, H. S. (2018) Selective Cytotoxicity of the NAMPT Inhibitor FK866 Toward Gastric Cancer Cells With Markers of the Epithelial-Mesenchymal Transition, Due to Loss of NAPRT. *Gastroenterology* **155**, 799-814 e713
141. Hesari, Z., Nourbakhsh, M., Hosseinkhani, S., Abdolvahabi, Z., Alipour, M., Tavakoli-Yaraki, M., Ghorbanhosseini, S. S., Yousefi, Z., Jafarzadeh, M., and Yarahmadi, S. (2018) Down-regulation of NAMPT expression by mir-206 reduces cell survival of breast cancer cells. *Gene* **673**, 149-158
142. Lucena-Cacace, A., Otero-Albiol, D., Jimenez-Garcia, M. P., Peinado-Serrano, J., and Carnero, A. (2017) NAMPT overexpression induces cancer stemness and defines a novel tumor signature for glioma prognosis. *Oncotarget* **8**, 99514-99530
143. Ju, H. Q., Zhuang, Z. N., Li, H., Tian, T., Lu, Y. X., Fan, X. Q., Zhou, H. J., Mo, H. Y., Sheng, H., Chiao, P. J., and Xu, R. H. (2016) Regulation of the Nampt-mediated NAD salvage pathway and its therapeutic implications in pancreatic cancer. *Cancer Lett* **379**, 1-11

144. Zhang, C., Tong, J., and Huang, G. (2013) Nicotinamide phosphoribosyl transferase (Nampt) is a target of microRNA-26b in colorectal cancer cells. *PLoS One* **8**, e69963
145. Shackelford, R. E., Mayhall, K., Maxwell, N. M., Kandil, E., and Coppola, D. (2013) Nicotinamide phosphoribosyltransferase in malignancy: a review. *Genes Cancer* **4**, 447-456
146. Maldi, E., Travelli, C., Caldarelli, A., Agazzone, N., Cintura, S., Galli, U., Scatolini, M., Ostano, P., Miglino, B., Chiorino, G., Boldorini, R., and Genazzani, A. A. (2013) Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) is over-expressed in melanoma lesions. *Pigment Cell Melanoma Res* **26**, 144-146
147. Olesen, U. H., Hastrup, N., and Sehested, M. (2011) Expression patterns of nicotinamide phosphoribosyltransferase and nicotinic acid phosphoribosyltransferase in human malignant lymphomas. *APMIS* **119**, 296-303
148. Bi, T. Q., Che, X. M., Liao, X. H., Zhang, D. J., Long, H. L., Li, H. J., and Zhao, W. (2011) Overexpression of Nampt in gastric cancer and chemopotentiating effects of the Nampt inhibitor FK866 in combination with fluorouracil. *Oncol Rep* **26**, 1251-1257
149. Reddy, P. S., Umesh, S., Thota, B., Tandon, A., Pandey, P., Hegde, A. S., Balasubramaniam, A., Chandramouli, B. A., Santosh, V., Rao, M. R., Kondaiah, P., and Somasundaram, K. (2008) PBEF1/NAmPRTase/Visfatin: a potential malignant astrocytoma/glioblastoma serum marker with prognostic value. *Cancer Biol Ther* **7**, 663-668
150. Jeong, B., Park, J. W., Kim, J. G., and Lee, B. J. (2019) FOXO1 functions in the regulation of nicotinamide phosphoribosyltransferase (Nampt) expression. *Biochem Biophys Res Commun* **511**, 398-403
151. Mutz, C. N., Schwentner, R., Aryee, D. N. T., Bouchard, E. D. J., Mejia, E. M., Hatch, G. M., Kauer, M. O., Katschnig, A. M., Ban, J., Garten, A., Alonso, J., Banerji, V., and Kovar, H. (2017) EWS-FLI1 confers exquisite sensitivity to NAMPT inhibition in Ewing sarcoma cells. *Oncotarget* **8**, 24679-24693
152. Ge, X., Zhao, Y., Dong, L., Seng, J., Zhang, X., and Dou, D. (2019) NAMPT regulates PKM2 nuclear location through 14-3-3zeta: Conferring resistance to tamoxifen in breast cancer. *J Cell Physiol* **234**, 23409-23420

153. Grolla, A. A., Torretta, S., Gnemmi, I., Amoruso, A., Orsomando, G., Gatti, M., Caldarelli, A., Lim, D., Penengo, L., Brunelleschi, S., Genazzani, A. A., and Travelli, C. (2015) Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT/PBEF/visfatin) is a tumoural cytokine released from melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* **28**, 718-729
154. Loree, J. M., and Kopetz, S. (2017) Recent developments in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Ther Adv Med Oncol* **9**, 551-564
155. Tennant, D. A., Duran, R. V., and Gottlieb, E. (2010) Targeting metabolic transformation for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* **10**, 267-277
156. van der Veer, E., Ho, C., O'Neil, C., Barbosa, N., Scott, R., Cregan, S. P., and Pickering, J. G. (2007) Extension of human cell lifespan by nicotinamide phosphoribosyltransferase. *J Biol Chem* **282**, 10841-10845
157. Wiegand, G., and Remington, S. J. (1986) Citrate synthase: structure, control, and mechanism. *Annu Rev Biophys Biophys Chem* **15**, 97-117
158. Stern, J. R., and Ochoa, S. (1951) Enzymatic synthesis of citric acid. I. Synthesis with soluble enzymes. *J Biol Chem* **191**, 161-172
159. Lipmann, F. (1953) On chemistry and function of coenzyme A. *Bacteriol Rev* **17**, 1-16
160. Spiegelman, B. M., and Heinrich, R. (2004) Biological control through regulated transcriptional coactivators. *Cell* **119**, 157-167
161. Bugno, M., Daniel, M., Chepelev, N. L., and Willmore, W. G. (2015) Changing gears in Nrf1 research, from mechanisms of regulation to its role in disease and prevention. *Biochim Biophys Acta* **1849**, 1260-1276
162. Maqbool, A., Lattke, M., Wirth, T., and Baumann, B. (2013) Sustained, neuron-specific IKK/NF-kappaB activation generates a selective neuroinflammatory response promoting local neurodegeneration with aging. *Mol Neurodegener* **8**, 40
163. Madonna, G., Ullman, C. D., Gentilcore, G., Palmieri, G., and Ascierto, P. A. (2012) NF-kappaB as potential target in the treatment of melanoma. *J Transl Med* **10**, 53
164. Karlsen, A., Retterstol, L., Laake, P., Paur, I., Bohn, S. K., Sandvik, L., and Blomhoff, R. (2007) Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in

- monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *J Nutr* **137**, 1951-1954
165. Ria Biswas, A. B. (2016) NFkB pathway and inhibition: an overview. *Computational Molecular Biology* **Vol.6** 1-20
  166. Lawrence, T. (2009) The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **1**, a001651
  167. Morgan, M. J., and Liu, Z. G. (2011) Crosstalk of reactive oxygen species and NF-kappaB signaling. *Cell Res* **21**, 103-115
  168. GE., P. (1953) Fine structure of blood capillaries. *Journal of Applied Physiology*
  169. Parton, R. G., and Simons, K. (2007) The multiple faces of caveolae. *Nat Rev Mol Cell Biol* **8**, 185-194
  170. Rothberg, K. G., Heuser, J. E., Donzell, W. C., Ying, Y. S., Glenney, J. R., and Anderson, R. G. (1992) Caveolin, a protein component of caveolae membrane coats. *Cell* **68**, 673-682
  171. Simons, K., and Toomre, D. (2000) Lipid rafts and signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol* **1**, 31-39
  172. Cohen, A. W., Hnasko, R., Schubert, W., and Lisanti, M. P. (2004) Role of caveolae and caveolins in health and disease. *Physiol Rev* **84**, 1341-1379
  173. Galbiati, F., Volonte, D., Engelman, J. A., Watanabe, G., Burk, R., Pestell, R. G., and Lisanti, M. P. (1998) Targeted downregulation of caveolin-1 is sufficient to drive cell transformation and hyperactivate the p42/44 MAP kinase cascade. *EMBO J* **17**, 6633-6648
  174. Pelkmans, L., Kartenbeck, J., and Helenius, A. (2001) Caveolar endocytosis of simian virus 40 reveals a new two-step vesicular-transport pathway to the ER. *Nat Cell Biol* **3**, 473-483
  175. Manshor, N. M., Razali, N., Jusoh, R. R., Asmawi, M. Z., Mohamed, N., Zainol, S., Altaf, R., and Dewa, A. (2020) Vasorelaxant effect of water fraction of *Labisia Pumila* and its mechanisms in spontaneously hypertensive rats aortic ring preparation. *Int J Cardiol Hypertens* **4**, 100024
  176. Bucci, M., Gratton, J. P., Rudic, R. D., Acevedo, L., Roviezzo, F., Cirino, G., and Sessa, W. C. (2000) In vivo delivery of the caveolin-1 scaffolding domain inhibits nitric oxide synthesis and reduces inflammation. *Nat Med* **6**, 1362-1367

177. Drab, M., Verkade, P., Elger, M., Kasper, M., Lohn, M., Lauterbach, B., Menne, J., Lindschau, C., Mende, F., Luft, F. C., Schedl, A., Haller, H., and Kurzchalia, T. V. (2001) Loss of caveolae, vascular dysfunction, and pulmonary defects in caveolin-1 gene-disrupted mice. *Science* **293**, 2449-2452
178. Bakonyi, P., Kolonics, A., Aczel, D., Zhou, L., Mozaffaritarab, S., Molnar, K., Laszlo, L., Kutasi, B., Tanisawa, K., Park, J., Gu, Y., Pinho, R. A., and Radak, Z. (2023) Voluntary exercise does not increase gastrointestinal motility but increases spatial memory, intestinal eNOS, Akt levels, and Bifidobacteria abundance in the microbiome. *Front Physiol* **14**, 1173636
179. Torma, F., Bakonyi, P., Regdon, Z., Gombos, Z., Jokai, M., Babszki, G., Fridvalszki, M., Virag, L., Naito, H., Iftikhar Bukhari, S. R., and Radak, Z. (2021) Blood flow restriction during the resting periods of high-intensity resistance training does not alter performance but decreases MIR-1 and MIR-133A levels in human skeletal muscle. *Sports Med Health Sci* **3**, 40-45
180. D'Hooge, R., and De Deyn, P. P. (2001) Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. *Brain Res Brain Res Rev* **36**, 60-90
181. Marton, O., Koltai, E., Takeda, M., Koch, L. G., Britton, S. L., Davies, K. J., Boldogh, I., and Radak, Z. (2015) Mitochondrial biogenesis-associated factors underlie the magnitude of response to aerobic endurance training in rats. *Pflugers Arch* **467**, 779-788
182. Brandt, N., Kotowska, D., Kristensen, C. M., Olesen, J., Lutzhoft, D. O., Halling, J. F., Hansen, M., Al-Soud, W. A., Hansen, L., Kiilerich, P., and Pilegaard, H. (2018) The impact of exercise training and resveratrol supplementation on gut microbiota composition in high-fat diet fed mice. *Physiol Rep* **6**, e13881
183. Wisloff, U., Helgerud, J., Kemi, O. J., and Ellingsen, O. (2001) Intensity-controlled treadmill running in rats: VO<sub>2</sub> max and cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **280**, H1301-1310
184. Frezza, C., Cipolat, S., and Scorrano, L. (2007) Organelle isolation: functional mitochondria from mouse liver, muscle and cultured fibroblasts. *Nat Protoc* **2**, 287-295
185. Kruger, N. J. (1994) The Bradford method for protein quantitation. *Methods Mol Biol* **32**, 9-15

186. Votyakova, T. V., and Reynolds, I. J. (2001) DeltaPsi(m)-Dependent and -independent production of reactive oxygen species by rat brain mitochondria. *J Neurochem* **79**, 266-277
187. Batandier, C., Guigas, B., Detaille, D., El-Mir, M. Y., Fontaine, E., Rigoulet, M., and Leverve, X. M. (2006) The ROS production induced by a reverse-electron flux at respiratory-chain complex 1 is hampered by metformin. *J Bioenerg Biomembr* **38**, 33-42
188. Mohsen, A., Chen, Y. A., Allendes Osorio, R. S., Higuchi, C., and Mizuguchi, K. (2022) Snaq: A Dynamic Snakemake Pipeline for Microbiome Data Analysis With QIIME2. *Front Bioinform* **2**, 893933
189. Callahan, B. J., McMurdie, P. J., Rosen, M. J., Han, A. W., Johnson, A. J., and Holmes, S. P. (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* **13**, 581-583
190. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., and Glockner, F. O. (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* **41**, D590-596
191. Cernilogar, F. M., Onorati, M. C., Kothe, G. O., Burroughs, A. M., Parsi, K. M., Breiling, A., Lo Sardo, F., Saxena, A., Miyoshi, K., Siomi, H., Siomi, M. C., Carninci, P., Gilmour, D. S., Corona, D. F., and Orlando, V. (2011) Chromatin-associated RNA interference components contribute to transcriptional regulation in *Drosophila*. *Nature* **480**, 391-395
192. Winbanks, C. E., Wang, B., Beyer, C., Koh, P., White, L., Kantharidis, P., and Gregorevic, P. (2011) TGF-beta regulates miR-206 and miR-29 to control myogenic differentiation through regulation of HDAC4. *J Biol Chem* **286**, 13805-13814
193. Gagan, J., Dey, B. K., Layer, R., Yan, Z., and Dutta, A. (2012) Notch3 and Mef2c proteins are mutually antagonistic via Mkp1 protein and miR-1/206 microRNAs in differentiating myoblasts. *J Biol Chem* **287**, 40360-40370
194. Safdar, A., Abadi, A., Akhtar, M., Hettinga, B. P., and Tarnopolsky, M. A. (2009) miRNA in the regulation of skeletal muscle adaptation to acute endurance exercise in C57Bl/6J male mice. *PLoS One* **4**, e5610



195. Zacharewicz, E., Lamon, S., and Russell, A. P. (2013) MicroRNAs in skeletal muscle and their regulation with exercise, ageing, and disease. *Front Physiol* **4**, 266
196. Chen, J. F., Mandel, E. M., Thomson, J. M., Wu, Q., Callis, T. E., Hammond, S. M., Conlon, F. L., and Wang, D. Z. (2006) The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nat Genet* **38**, 228-233
197. Giagnorio, E., Malacarne, C., Mantegazza, R., Bonanno, S., and Marcuzzo, S. (2021) MyomiRs and their multifaceted regulatory roles in muscle homeostasis and amyotrophic lateral sclerosis. *J Cell Sci* **134**
198. Guescini, M., Canonico, B., Lucertini, F., Maggio, S., Annibalini, G., Barbieri, E., Luchetti, F., Papa, S., and Stocchi, V. (2015) Muscle Releases Alpha-Sarcoglycan Positive Extracellular Vesicles Carrying miRNAs in the Bloodstream. *PLoS One* **10**, e0125094
199. Liu, Y., Zhu, L., Cai, K., Dong, X., Xiong, X., Liu, Z., and Chen, A. (2022) Relationship between Cardiorespiratory Fitness and Executive Function in Young Adults: Mediating Effects of Gray Matter Volume. *Brain Sci* **12**
200. Marton, O., Koltai, E., Takeda, M., Mimura, T., Pajk, M., Abraham, D., Koch, L. G., Britton, S. L., Higuchi, M., Boldogh, I., and Radak, Z. (2016) The rate of training response to aerobic exercise affects brain function of rats. *Neurochem Int* **99**, 16-23
201. Bori, Z., Zhao, Z., Koltai, E., Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Douroudos, II, Terzis, G., Chatzinikolaou, A., Sovatzidis, A., Draganidis, D., Boldogh, I., and Radak, Z. (2012) The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Exp Gerontol* **47**, 417-424
202. Timmons, J. A., Knudsen, S., Rankinen, T., Koch, L. G., Sarzynski, M., Jensen, T., Keller, P., Scheele, C., Vollaard, N. B., Nielsen, S., Akerstrom, T., MacDougald, O. A., Jansson, E., Greenhaff, P. L., Tarnopolsky, M. A., van Loon, L. J., Pedersen, B. K., Sundberg, C. J., Wahlestedt, C., Britton, S. L., and Bouchard, C. (2010) Using molecular classification to predict gains in maximal

- aerobic capacity following endurance exercise training in humans. *J Appl Physiol* (1985) **108**, 1487-1496
203. Sawada, S. S., Muto, T., Tanaka, H., Lee, I. M., Paffenbarger, R. S., Jr., Shindo, M., and Blair, S. N. (2003) Cardiorespiratory fitness and cancer mortality in Japanese men: a prospective study. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1546-1550
  204. Morss, G. M., Jordan, A. N., Skinner, J. S., Dunn, A. L., Church, T. S., Earnest, C. P., Kampert, J. B., Jurca, R., and Blair, S. N. (2004) Dose Response to Exercise in Women aged 45-75 yr (DREW): design and rationale. *Med Sci Sports Exerc* **36**, 336-344
  205. Ferreira, I., Twisk, J. W., Stehouwer, C. D., van Mechelen, W., and Kemper, H. C. (2003) Longitudinal changes in  $\dot{V}O_2\text{max}$ : associations with carotid IMT and arterial stiffness. *Med Sci Sports Exerc* **35**, 1670-1678
  206. van Praag, H., Fleshner, M., Schwartz, M. W., and Mattson, M. P. (2014) Exercise, energy intake, glucose homeostasis, and the brain. *J Neurosci* **34**, 15139-15149
  207. Hart, N., Sarga, L., Csende, Z., Koltai, E., Koch, L. G., Britton, S. L., Davies, K. J., Kouretas, D., Wessner, B., and Radak, Z. (2013) Resveratrol enhances exercise training responses in rats selectively bred for high running performance. *Food Chem Toxicol* **61**, 53-59
  208. Sarga, L., Hart, N., Koch, L. G., Britton, S. L., Hajas, G., Boldogh, I., Ba, X., and Radak, Z. (2013) Aerobic endurance capacity affects spatial memory and SIRT1 is a potent modulator of 8-oxoguanine repair. *Neuroscience* **252**, 326-336
  209. Radak, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Pucsok, J., Sasvari, M., Nyakas, C., and Goto, S. (2001) Regular exercise improves cognitive function and decreases oxidative damage in rat brain. *Neurochem Int* **38**, 17-23
  210. Mohle, L., Mattei, D., Heimesaat, M. M., Bereswill, S., Fischer, A., Alutis, M., French, T., Hambardzumyan, D., Matzinger, P., Dunay, I. R., and Wolf, S. A. (2016) Ly6C(hi) Monocytes Provide a Link between Antibiotic-Induced Changes in Gut Microbiota and Adult Hippocampal Neurogenesis. *Cell Rep* **15**, 1945-1956
  211. Read, N. W., and Houghton, L. A. (1989) Physiology of gastric emptying and pathophysiology of gastroparesis. *Gastroenterol Clin North Am* **18**, 359-373

212. Cammack, J., Read, N. W., Cann, P. A., Greenwood, B., and Holgate, A. M. (1982) Effect of prolonged exercise on the passage of a solid meal through the stomach and small intestine. *Gut* **23**, 957-961
213. Silva, M. T., Palheta-Junior, R. C., Sousa, D. F., Fonseca-Magalhaes, P. A., Okoba, W., Campos, C. P., Oliveira, R. B., Magalhaes, P. J., and Santos, A. A. (2014) Sodium bicarbonate treatment prevents gastric emptying delay caused by acute exercise in awake rats. *J Appl Physiol (1985)* **116**, 1133-1141
214. Wang, Y., Kondo, T., Suzukamo, Y., Oouchida, Y., and Izumi, S. (2010) Vagal nerve regulation is essential for the increase in gastric motility in response to mild exercise. *Tohoku J Exp Med* **222**, 155-163
215. Arazi, H., Eghbali, E., and Suzuki, K. (2021) Creatine Supplementation, Physical Exercise and Oxidative Stress Markers: A Review of the Mechanisms and Effectiveness. *Nutrients* **13**
216. Przewlocka, K., Folwarski, M., Kazmierczak-Siedlecka, K., Skonieczna-Zydecka, K., and Kaczor, J. J. (2020) Gut-Muscle Axis Exists and May Affect Skeletal Muscle Adaptation to Training. *Nutrients* **12**
217. Man, A. L., Bertelli, E., Rentini, S., Regoli, M., Briars, G., Marini, M., Watson, A. J., and Nicoletti, C. (2015) Age-associated modifications of intestinal permeability and innate immunity in human small intestine. *Clin Sci (Lond)* **129**, 515-527
218. Bowles, D. K., and Wamhoff, B. R. (2003) Coronary smooth muscle adaptation to exercise: does it play a role in cardioprotection? *Acta Physiol Scand* **178**, 117-121
219. Yartsev, V. N., Karachentseva, O. V., and Dvoretzky, D. P. (2002) Effect of pH changes on reactivity of rat mesenteric artery segments at different magnitude of stretch. *Acta Physiol Scand* **174**, 1-7
220. Mohanty, I., Parija, S. C., Suklabaidya, S., and Rattan, S. (2018) Acidosis potentiates endothelium-dependent vasorelaxation and gap junction communication in the superior mesenteric artery. *Eur J Pharmacol* **827**, 22-31
221. Abraldes, J. G., Iwakiri, Y., Loureiro-Silva, M., Haq, O., Sessa, W. C., and Groszmann, R. J. (2006) Mild increases in portal pressure upregulate vascular endothelial growth factor and endothelial nitric oxide synthase in the intestinal

- microcirculatory bed, leading to a hyperdynamic state. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **290**, G980-987
222. Vettor, R., Valerio, A., Ragni, M., Trevellin, E., Granzotto, M., Olivieri, M., Tedesco, L., Ruocco, C., Fossati, A., Fabris, R., Serra, R., Carruba, M. O., and Nisoli, E. (2014) Exercise training boosts eNOS-dependent mitochondrial biogenesis in mouse heart: role in adaptation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **306**, E519-528
223. di Prampero, P. E. (2003) Factors limiting maximal performance in humans. *Eur J Appl Physiol* **90**, 420-429
224. Pomytkin, I. A., Cline, B. H., Anthony, D. C., Steinbusch, H. W., Lesch, K. P., and Strekalova, T. (2015) Endotoxaemia resulting from decreased serotonin transporter (5-HTT) function: a reciprocal risk factor for depression and insulin resistance? *Behav Brain Res* **276**, 111-117
225. Delzenne, N. M., and Cani, P. D. (2008) [Gut microflora is a key player in host energy homeostasis]. *Med Sci (Paris)* **24**, 505-510
226. Bhatia, R., Sharma, S., Bhadada, S. K., Bishnoi, M., and Kondepudi, K. K. (2022) Lactic Acid Bacterial Supplementation Ameliorated the Lipopolysaccharide-Induced Gut Inflammation and Dysbiosis in Mice. *Front Microbiol* **13**, 930928
227. Hnasko, R., and Lisanti, M. P. (2003) The biology of caveolae: lessons from caveolin knockout mice and implications for human disease. *Mol Interv* **3**, 445-464
228. Gabella, G. (1984) Structural apparatus for force transmission in smooth muscles. *Physiol Rev* **64**, 455-477
229. Scheiman, J., Lubber, J. M., Chavkin, T. A., MacDonald, T., Tung, A., Pham, L. D., Wibowo, M. C., Wurth, R. C., Punthambaker, S., Tierney, B. T., Yang, Z., Hattab, M. W., Avila-Pacheco, J., Clish, C. B., Lessard, S., Church, G. M., and Kostic, A. D. (2019) Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat Med* **25**, 1104-1109
230. Brooks, G. A. (2020) Lactate as a fulcrum of metabolism. *Redox Biol* **35**, 101454

231. Huang, W. C., Pan, C. H., Wei, C. C., and Huang, H. Y. (2020) Lactobacillus plantarum PS128 Improves Physiological Adaptation and Performance in Triathletes through Gut Microbiota Modulation. *Nutrients* **12**
232. Soares, A. D. N., Wanner, S. P., Morais, E. S. S., Hudson, A. S. R., Martins, F. S., and Cardoso, V. N. (2019) Supplementation with Saccharomyces boulardii Increases the Maximal Oxygen Consumption and Maximal Aerobic Speed Attained by Rats Subjected to an Incremental-Speed Exercise. *Nutrients* **11**
233. Nagpal, R., Wang, S., Solberg Woods, L. C., Seshie, O., Chung, S. T., Shively, C. A., Register, T. C., Craft, S., McClain, D. A., and Yadav, H. (2018) Comparative Microbiome Signatures and Short-Chain Fatty Acids in Mouse, Rat, Non-human Primate, and Human Feces. *Front Microbiol* **9**, 2897
234. Mayer, E. A., Nance, K., and Chen, S. (2022) The Gut-Brain Axis. *Annu Rev Med* **73**, 439-453
235. Binda, C., Lopetuso, L. R., Rizzatti, G., Gibiino, G., Cennamo, V., and Gasbarrini, A. (2018) Actinobacteria: A relevant minority for the maintenance of gut homeostasis. *Dig Liver Dis* **50**, 421-428
236. Nie, K., Ma, K., Luo, W., Shen, Z., Yang, Z., Xiao, M., Tong, T., Yang, Y., and Wang, X. (2021) Roseburia intestinalis: A Beneficial Gut Organism From the Discoveries in Genus and Species. *Front Cell Infect Microbiol* **11**, 757718
237. Hester, C. M., Jala, V. R., Langille, M. G., Umar, S., Greiner, K. A., and Haribabu, B. (2015) Fecal microbes, short chain fatty acids, and colorectal cancer across racial/ethnic groups. *World J Gastroenterol* **21**, 2759-2769
238. Okamoto, T., Morino, K., Ugi, S., Nakagawa, F., Lemecha, M., Ida, S., Ohashi, N., Sato, D., Fujita, Y., and Maegawa, H. (2019) Microbiome potentiates endurance exercise through intestinal acetate production. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **316**, E956-E966

## 11. Saját publikációk jegyzéke

### ***Disszertációhoz kapcsolódó közlemények***

Bakonyi P., Kolonics A., Aczel D., Zhou L., Mozaffaritarab S., Molnar K., Laszlo L., Kutasi B., Tanisawa K., Park J., Gu Y., Pinho RA., Radak Z. (2023) Voluntary exercise does not increase gastrointestinal motility but increases spatial memory, intestinal eNOS, Akt levels, and Bifidobacteria abundance in the microbiome. *Frontiers in Physiology* **14**

Torma F., Bakonyi P., Regdon Z., Gombos Z., Jokai M., Babszky G., Fridvalszi M., Virag L., Naito H., Bukhari SRI., Radak Z. (2021) Blood Flow Restriction during the Resting Periods of High-Intensity Resistance Training Does Not Alter Performance but Decreases MIR-1 and MIR-133A Levels in Human Skeletal Muscle. *Sports Medicine and Health Science* **3** (1): 40–45

### ***Disszertációhoz nem kapcsolódó közlemények***

Torma F., Gombos Z., Bakonyi P., Radák Z. (2018) Az edzés pihenő idejében alkalmazott okklúzió hatása négyhetes guggoló edzést végző egyének átlagsebesség mutatóira. *Testnevelés, sport, tudomány – Physical, Education, Sport, Science - Original Research Paper* (104): 3-4

Babszky G., Torma F., Aczel D., Bakonyi P., Gombos Z., Feher J., Szabo D., Ligeti B., Pongor S., Balogh L., Pósa A., Radak Z. (2021) COVID-19 Infection Alters the Microbiome: Elite Athletes and Sedentary Patients Have Similar Bacterial Flora. *Genes*, **12**(10), 1577

Gombos Z., Koltai E., Torma F., Bakonyi P., Kolonics A., Aczel D., Ditroi T., Nagy P., Kawamura T., Radak Z. (2021) Hypertrophy of Rat Skeletal Muscle Is Associated with Increased SIRT1/Akt/MTOR/S6 and Suppressed Sestrin2/SIRT3/FOXO1 Levels. *International Journal of Molecular Sciences* **22** (14): 7588

Aczel D., Gyorgy B., Bakonyi P., Pinho RBR., Boldogh I., Yaodong G., Radak Z. (2022) The Systemic Effects of Exercise on the Systemic Effects of Alzheimer's Disease. *Antioxidants*, **11**(5), 1028

Jokai M., Torma F., McGreevy KM., Koltai E., Bori Z., Babszky G., Bakonyi P., Gombos Z., Gyorgy B., Aczel D., Toth L., Osvath P., Fridvalszky M., Teglas T., Ligeti B., Kalcsevszki R., Posa A., Kujach S., Olek R., Kawamura T., Seki Y., Suzuki K., Tanisawa K., Goto S., Boldogh I., Ba X., Szabo D., Davies KJA., Horvath S., Radak Z. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience* 11357-023-00826-1

## **12. Köszönetnyilvánítás**

Végezetül szeretnék köszönetet mondani Prof. Dr. Radák Zsoltnak, a témavezetőmnek és legfőbb támogatómnak, aki tudásával és segítségével lehetővé tette számomra az évek alatt elkészült PhD munkám létrejöttét.

Gyakorlati munkáim során a sok segítségért szeretnék köszönetet mondani minden rendkívüli tudással rendelkező dolgozónak és PhD hallgatónak a Molekuláris Edzésélettani Kutató Központban, akik segítettek a kutatómunkámat.