

dr Hanna Drzymała-Celichowska

Zakład Biochemii
Wydział Wychowania Fizycznego, Sportu i Rehabilitacji,
Akademia Wychowania Fizycznego w Poznaniu

AUTOREFERAT

1. Imię i nazwisko: Hanna Drzymała-Celichowska

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/ artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

2008 – doktor nauk biologicznych (27.06.2008, Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie) „Sumowanie sił skurczów jednostek ruchowych mięśnia brzuchatego przyśrodkowego łydki szczura”. Promotor: prof. dr hab. Piotr Krutki

2004 – magister biologii (17.06.2004, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego w Poznaniu) „Wpływ ochratoksyny A na lipolizę i lipogenezę izolowanych adipocytów szczura”. Promotor: prof. dr hab. Leszek Nogowski

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Akademia Wychowania Fizycznego im. Eugeniusza Piaseckiego w Poznaniu:

2004 - 2009 - pracownik naukowo-techniczny w Zakładzie Neurobiologii

2009 – 2012 - adiunkt w Zakładzie Neurobiologii

od 2012 – adiunkt w Zakładzie Biochemii

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.)

a) tytuł osiągnięcia naukowego:

„Mechanizmy regulacji siły skurczu i różnice międzypłciowe jednostek ruchowych
mięśnia płaszczkowatego szczura”

b) publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego (autorzy, tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa); impact factor (IF) roku wydania wg bazy Journal Citation Reports, punkty wg MNiSW

1. Drzymała-Celichowska H, Karolczak J, Rędownicz MJ, Bukowska D. The content of myosin heavy chains in hindlimb muscles of female and male rats. Journal of Physiology and Pharmacology 2012, 63, 187-193

IF - 2.476

IF 5-letni - 2.150

Punkty MNiSW - 25

2. Drzymała-Celichowska H, Krutki P. Slow motor units in female rat soleus are slower and weaker than their male counterparts. Journal of Muscle Research and Cell Motility 2015, 36, 287-295

IF - 2.071

IF 5-letni - 1.987

Punkty MNiSW - 15

3. Drzymała-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. Decomposition of motor unit tetanic contractions of rat soleus muscle: Differences between males and females. Journal of Biomechanics 2015, 48, 3097-3102

IF - 2.431

IF 5-letni - 2.951

Punkty MNiSW - 30

4. Drzymała-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. Prolonged activity evokes potentiation and the "sag" phenomenon in slow motor units of rat soleus. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 2016, 76, 152–157

IF - 1.708

IF 5-letni - 1.879

Punkty MNiSW - 15

5. Drzymała-Celichowska H, Kaczmarek P, Krutki P, Celichowski J. Summation of slow motor unit forces at constant and variable interpulse intervals in rat soleus muscle. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2016, 30, 1-8

IF – 1.530

IF 5-letni - 1.952

Punkty MNiSW - 25

Łącznie:

IF: 10.216

Punkty MNiSW: 100

c) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Wstęp

Dymorfizm mięśni szkieletowych, a szczególnie cech jednostek ruchowych jest słabo poznany, chociaż wiedza dotycząca różnic w zakresie morfologii i funkcji tkanek u obu płci jest niewątpliwie znacząca dla badań stosowanych jak i podstawowych. Pierwsze, a zarazem jedyne obserwacje poprzedzające badania w naszym laboratorium - odnoszące się do różnic mięśni szkieletowych samców i samic - pochodziły z badań mięśnia żwacza królików i myszy. Wykazano, że u samców mięsień ten zawiera grubsze włókna

mięśniowe, a jednocześnie stwierdzono wyższą zawartość miozyn szybkich (English i wsp. 1999, English i Widmer 2003, Eason i wsp. 2003). Badania, w których brałam udział już jako doktorantka, prowadzone od 2004 roku na modelu zwierzęcym i dotyczące różnic płciowych jednostek ruchowych mięśnia szybko kurczącego się - brzuchatego przyśrodkowego łydki - były pierwszymi, które zwróciły uwagę na różnice płciowe dotyczące cech skurczu jednostek ruchowych i całego mięśnia. Zaowocowały one trzema publikacjami. W pierwszej z nich (Celichowski i Drzymała 2006) wykazano, że u samców szczura siła skurczu jednostek ruchowych wszystkich typów była wyższa, a czasy skurczu i relaksacji dłuższe, co z kolei sugeruje wyższe częstotliwości wyładowań neuronów motorycznych u samiec. Ponadto zaobserwowano, że mięśnie samców zawierają więcej jednostek ruchowych typu FF, a mniej typu S, co można odnieść do znanej niższej odporności na zmęczenie u mężczyzn (Hicks i wsp. 2001). W drugiej publikacji (Celichowski i Drzymała-Celichowska 2007), także odnoszącej się do mięśnia brzuchatego łydki szczurów, na podstawie porównania siły skurczu mięśnia ze średnią siłą skurczu jego jednostek ruchowych wykazano, że u samców jest on zbudowany z większej - o około 10% - liczby jednostek ruchowych. W trzeciej publikacji (Mierzejewska-Krzyżowska i wsp. 2011a), na podstawie mikroskopowej analizy przekrojów poprzecznych mięśnia poznano liczbę jego włókien mięśniowych (która u samców jest o około 47% wyższa niż u samic) i na tej podstawie, przy znajomości liczby jednostek ruchowych w mięśniu oszacowano, że motoneurony samców mają wyższe wskaźniki unerwienia, tj. unerwiają średnio około 35% więcej tych włókien, co w połączeniu z około 10% większą średnicą włókien mięśniowych pozwala wyjaśniać zaobserwowane już wcześniej w przybliżeniu wyższe o 43% siły skurczu jednostek ruchowych samców.

Cel badań

Obserwacja tak znaczących międzypłciowych różnic dokonana w wyniku badań mięśnia szybkiego postawiła pytanie o takie różnice w odniesieniu do mięśnia wolnego. Typowym mięśniem wolno kurczącym się, homogenicznym i zbudowanym w przeważającej mierze z jednostek ruchowych wolnych, jest mięsień płaszczkowaty (Kugeberg 1973; Burke i wsp. 1974; Chamberlain i Lewis 1989). Wcześniejsze dane z eksperymentów przeprowadzonych w naszym laboratorium, dotyczące mięśnia płaszczkowatego samców i samic szczurów, wskazały istotne różnice masy mięśnia, oraz różnice liczby i średnicy włókien mięśniowych, a wszystkie te cechy osiągały wyższe wartości dla samców (Mierzejewska-Krzyżowska i wsp. 2011b). Natomiast u człowieka zaobserwowano, że w mięśni płaszczkowatym u mężczyzn włókna mięśniowe są krótsze, ale mają większy kąt pierzastości w porównaniu do kobiet (Chow i wsp. 2000). Dane sugerują znaczące funkcjonalne konsekwencje, a zatem wynikła z nich potrzeba poszerzania wiedzy w zakresie zróżnicowania płciowego mięśni szkieletowych, w tym przypadku cech skurczu jednostek ruchowych oraz zawartości miozyn w wolnym mięśni płaszczkowatym.

Badania związane z różnicami płciowymi cech mięśnia płaszczkowatego stały się celem serii doświadczeń, której efektem jest cykl pięciu publikacji z lat 2012-2016, stanowiących rozprawę habilitacyjną. Głównym celem cyklu jest potwierdzenie i ocena stopnia oczekiwanych różnic płciowych cech skurczu jednostek ruchowych, ich potencjałów czynnościowych oraz zawartości miozyn w wybranym do badań mięśni płaszczkowatym.

Główne wyniki

W pierwszej publikacji z cyklu (*Drzymała-Celichowska H, Karolczak J, Rędownicz MJ, Bukowska D. The content of myosin heavy chains in hindlimb muscles of female and male rats. Journal of Physiology and Pharmacology 2012, 63, 187-193*) przedstawiono wyniki analizy biochemicznej czterech wybranych mięśni kończyny tylnej szczura, w tym mięśnia płaszczkowatego. Badania, które podjęłam w roku 2010 w ramach współpracy z zespołem pani prof. Jolanty Rędownicz z Instytutu Biologii Doświadczalnej PAN w Warszawie pozwoliły wykazać, że zawartość miozyny w trzech analizowanych mięśniach szybkich: zginaczu krótkim palców, piszczelowym przednim oraz brzuchatym przyśrodkowym, oznaczana za pomocą elektroforezy na żelu poliakrylamidowym, uzupełniona analizą densytometryczną, nie różni się. Natomiast zaskakujące na tym tle okazały się wyniki, które wykazały znaczącą różnicę zawartości miozyny szybkich w wolnym mięśniu płaszczkowatym, a mianowicie wykryto, że mięśnie samców zawierają około 13% miozyny szybkich (MHC IIa), podczas gdy u samic występowało ich średnio zaledwie około 2%. Zarazem zastosowane dodatkowo dwie metody barwienia: na aktywność ATPazy, jak i zastosowanie przeciwciał dla miozyny wolnych i szybkich potwierdziły również większą zawartość procentową włókien mięśniowych szybkich w mięśniu płaszczkowatym samców. Podsumowując, główną obserwacją był wykazany przy zastosowaniu trzech różnych metod, znacząco wyższy udział szybkich miozyny i włókien mięśniowych w mięśniu płaszczkowatym samców. Te obserwacje sugerowały więc znaczące międzypłciowe różnice czynnościowe włókien mięśniowych i skłaniały do dalszych eksperymentów elektrofizjologicznych, mających na celu poznanie zróżnicowania cech skurczu jednostek ruchowych tego mięśnia.

W świetle powyższego, celem kolejnej serii doświadczeń (druga publikacja w cyklu, *Drzymała-Celichowska H, Krutki P. Slow motor units in female rat soleus are*

slower and weaker than their male counterparts. Journal of Muscle Research and Cell Motility 2015, 36, 287-295) było określenie zróżnicowania płciowego szeregu cech jednostek ruchowych mięśnia płaszczkowatego, takich jak: parametry czasowe skurczu pojedynczego, siła skurczu pojedynczego oraz tężcowego, zależność siły od częstotliwości pobudzeń, proporcje jednostek ruchowych różnych typów oraz cechy ich potencjałów czynnościowych. Stwierdzono, że u samców jednostki wolno kurczące się (typu S) mięśnia płaszczkowatego mają około dwukrotnie wyższą siłę skurczu tężcowego zupełnego, ale zarazem podobną siłę skurczu pojedynczego jak samice. Ponieważ masa badanego mięśnia jest o około 80% wyższa u samców, chociaż stosunek masy mięśnia do masy ciała był zbliżony u zwierząt obu płci, wyniki te korespondują z obserwacjami dotyczącymi siły skurczu jednostek ruchowych. Nieoczekiwanie natomiast zaobserwowano, że czas skurczu i relaksacji jest u samców krótszy, co wyraźnie kontrastuje z wcześniejszymi wynikami otrzymanymi dla mięśnia brzuchatego przyśrodkowego łydki, gdzie jednostki ruchowe wszystkich typów u samic mają krótsze parametry czasowe skurczu (Drzymała i Celichowski 2006). Ta obserwacja umożliwiła konkluzję, że nie ma wspólnego wzorca różnic międzypłciowych czasu skurczu.

Procesy regulacji siły skurczu jednostek ruchowych u zwierząt obu płci, ilustrowane przez przebieg zależności siły od częstotliwości pobudzeń, jak i stosunek siły skurczu pojedynczego do tężcowego w badanym mięśniu, także okazały się znacząco zróżnicowane płciowo. Mianowicie u samców stosunek sił skurczu pojedynczego do tężcowego jest niższy, a stroma część wykresu zależności siły od częstotliwości odpowiada wyższym częstotliwościom pobudzeń. Te ostatnie obserwacje sugerują niższe wartości częstotliwości wyładowań motoneuronów badanego mięśnia u samic, gdyż stroma część omawianej krzywej odpowiada wyładowaniom motoneuronów w czasie realizacji skurczów dowolnych (Kernell 1979, Hennig i Lomo 1987). Natomiast wyższa wartość

stosunku sił skurczu pojedynczego (najniższa możliwa siła skurczu włókien mięśniowych) do skurczu tężcowego zupełnego (najwyższa możliwa siła) sugerują mniejszą rolę zmian w częstotliwości wyładowań neuronów motorycznych w procesach regulacji siły skurczu u samic. Dodatkowo wykryto, że mięśnie płaszczkowate samców zawierają proporcjonalnie więcej jednostek ruchowych typu FR, a wynik ten konweniuje z wcześniej wykrytym wyższym udziałem miozyn szybkich w tym mięśniu u samców (Drzymała-Celichowska i wsp. 2012). Wreszcie, rejestracje potencjałów czynnościowych jednostek ruchowych wykazały, że u samców cechują się one aż czterokrotnie wyższą amplitudą przy zbliżonych parametrach czasowych, a wynik ten sugeruje różnice struktury jednostek ruchowych - większą gęstość włókien mięśniowych w mięśniach samców. Zatem głównym *novum* tej publikacji była obserwacja znacznych różnic cech skurczu i potencjałów czynnościowych jednostek ruchowych wolnego mięśnia, większych, a zarazem o odmiennym charakterze niż w przypadku wolnych jednostek ruchowych mięśnia szybkiego.

Powyższe wyniki dotyczące różnic procesów regulacji siły skurczu jednostek ruchowych u zwierząt obu płci wskazują na istotne różnice strategii pracy motoneuronów w regulacji pracy mięśni – mianowicie na większą rolę procesów regulacji siły mięśni przez zmiany częstotliwości wyładowań motoneuronów u samców (mają one niższe wartości stosunku siły skurczu pojedynczego do tężcowego).

Skurcze tężcowe są efektem sumowania się skurczowych odpowiedzi na ciąg pobudzeń (potencjałów czynnościowych motoneuronu, lub - w warunkach doświadczeń - ciąg impulsów elektrycznych stymulujących akson tego neuronu). W celu głębszego poznania roli poszczególnych impulsów pobudzających włókna mięśniowe do skurczu, we współpracy z prof. Rositsą Raikową z Bułgarskiej Akademii Nauk przeprowadzono badania, polegające na matematycznej dekompozycji skurczów tężcowych niezupełnych na odpowiedzi na poszczególne pobudzenia. Takie zdekomponowane odpowiedzi (o

kształcie zbliżonym do skurczu pojedynczego) uzyskano metodą stosowaną uprzednio przez nasz zespół do badań jednostek ruchowych mięśnia brzuchatego łydki (Celichowski i wsp. 2008). W mięśniu brzuchatym przyśrodkowym łydki amplituda jak i czasowe parametry takich kolejnych odpowiedzi różnią się w znacznie większym zakresie dla jednostek wolnych niż dla szybkich (Celichowski i wsp. 2014). W ramach moich badań analizowano skurcze tężcowe niezupełne wolnych jednostek ruchowych mięśnia płaszczkowatego, wywołane ciągami bodźców w zmiennych odstępach czasu. Zastosowanie takiej zmienności upodabnia stosowane w doświadczeniu układy pobudzeń do ciągów potencjałów czynnościowych, jakie generują motoneurony podczas ruchów dowolnych (Hennig i Lomo 1987).

Przeprowadzono analizę zmienności parametrów skurczu zdekomponowanych odpowiedzi dla wolnych jednostek ruchowych samców i samic (trzecia publikacja z cyklu, Drzymala-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. *Decomposition of motor unit tetanic contractions of rat soleus muscle: Differences between males and females. Journal of Biomechanics* 2015, 48, 3097-3102). Badania te miały na celu po pierwsze wykazanie, czy znaczna zmienność odpowiedzi na poszczególne pobudzenia jest ogólną cechą wolnych jednostek ruchowych, niezależną od różnic w budowie i fizjologii mięśni (tj. czy jest zbliżona dla jednostek wolnych mięśnia brzuchatego przyśrodkowego i płaszczkowatego) i po drugie, poznanie oczekiwanych różnic płciowych w odniesieniu do zróżnicowania parametrów odpowiedzi na poszczególne pobudzenia. Dla 10 jednostek ruchowych wolnych samców i 10 samic zarejestrowano niezupełne skurcze tężcowe wywołane ciągami pobudzeń o zmiennych odstępach czasowych. Rozkład tych odstępów był zbliżony do rozkładu otrzymanego w badaniach ciągów wyładowań jednostek ruchowych mięśnia płaszczkowatego podczas ruchów dowolnych (Hennig i Lomo 1987). W moich badaniach stwierdzono, że amplitudy i czasowe odpowiedzi na poszczególne pobudzenia

zmieniały się znacząco, w stopniu zbliżonym do obserwowanego w wolnych jednostkach ruchowych mięśnia brzuchatego łydki. Porównanie jednostek ruchowych zwierząt obu płci wykazało znacząco większą zmienność amplitud odpowiedzi w przypadku samców. Mianowicie, średnia wartość stosunku sił najsilniejszego zdekomponowanego skurczu do najslabszego (pierwszego) wynosiła 3,8 dla samców i 2,8 dla samic. Wartość stosunku czasu skurczu dla najdłuższego skurczu do pierwszego była mniej zróżnicowana i wynosiła dla samców i samic odpowiednio 2,6 i 2,9. W konsekwencji wartość pola siła-czas dla najsilniejszego ze zdekomponowanych skurczów do pola pierwszego (pojedynczego) skurczu była znacząco większa dla samców niż dla samic i odpowiednio średnio wynosiła 7,35 wobec 5,07. Podsumowując, badania wykazały po pierwsze, że wysoki stopień zmienności odpowiedzi na kolejne pobudzenia dochodzące do włókien mięśniowych jednostek ruchowych wolnych jest ich cechą ogólną, gdyż występuje w zbliżonym stopniu w różnych mięśniach, oraz po drugie, że mechanizmy sumowania się poszczególnych odpowiedzi w skurcze tężcowe różnią się u zwierząt obu płci.

Charakterystyczną cechą szybkich jednostek ruchowych, stosowaną przez wielu autorów do fizjologicznej klasyfikacji jednostek jako szybkie lub wolne, jest obecność tzw. objawu ugięcia - przejściowego spadku siły w trakcie skurczu tężcowego niezupełnego (Burke i wsp. 1973, Gordon i wsp. 1990, Kanda i Hashizume 1992). Dlatego uznano za istotną, nieoczekiwaną obserwację, dokonaną w trakcie badań nad wolnymi jednostkami ruchowymi mięśnia płaszczkowatego: po długotrwałej aktywności jednostek (jaką stanowi 4-minutowy test zmęczenia) w skurczach tężcowych niezupełnych jednostek wolnych tego mięśnia pojawiał się objaw ugięcia (czwarta publikacja w ramach cyklu –*Drzymala-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. Prolonged activity evokes potentiation and the “sag” phenomenon in slow motor units of rat soleus. Acta Neurobiologiae Experimentalis* 2016, 76, 116–121). W pracy tej opisano po pierwsze sam fakt i warunki pojawienia się w

jednostkach wolnych zapisu uznawanego za charakterystyczny dla jednostek szybkich (Burke i wsp. 1973), a ponadto wykazano, że wprawdzie obserwacje takie dotyczą zarówno samców jak i samic, ale zaobserwowano je aż w 85% jednostek samców i tylko w 13% jednostek ruchowych samic. Zjawisko ugięcia pojawiało się w skurczach tężcowych wywołanych przy zastosowaniu względnie niskich częstotliwości drażnienia (10 i 15 Hz), w jednostkach ruchowych, których siła skurczu była wzmocniona o około 43% u samców i 31% u samic, co wykazano przez porównanie skurczów pojedynczych rejestrowanych na początku doświadczenia i po teście zmęczenia. Zarazem wzmocnienie modyfikowało zależność siły skurczu od częstotliwości pobudzeń w podobnym stopniu u zwierząt obu płci.

W celu pogłębienia analizy mechanizmu obserwowanego zjawiska ugięcia, przeprowadzona została dodatkowo, także we współpracy z prof. Rositsą Raiková, matematyczna dekompozycja skurczów tężcowych niezupełnych zarejestrowanych przed testem zmęczenia - bez objawu ugięcia i po teście zmęczenia - z widocznym ugięciem. Analiza ta wykazała, że mechanizmem związanym z pojawieniem się zjawiska ugięcia jest przejściowy wzrost wartości parametrów odpowiedzi na kolejne bodźce. Mianowicie, początkowe odpowiedzi jednostki ruchowej były silniejsze i miały dłuższy czas trwania, a następnie te parametry malały, co powodowało spadek siły skurczu tężcowego - ugięcie. Podsumowując, w ramach tej publikacji po raz pierwszy wykazano możliwość wystąpienia cechy charakterystycznej dla jednostek szybkich w jednostkach wolnych i określono warunki takiej obserwacji oraz dokonano dekompozycji skurczu tężcowego z objawem ugięcia na odpowiedzi na poszczególne bodźce, co wyjaśnia czynnościowo mechanizm zjawiska, które stale pozostaje niewyjaśnione na poziomie molekularnym.

Wcześniejsze publikacje w ramach omawianego cyklu dotyczyły mechanizmów związanych z regulacją siły skurczu poszczególnych jednostek ruchowych przez ciąg

dochodzących do nich pobudzeń. Badania opisane w piątej publikacji z cyklu (Drzymała-Celichowska H, Kaczmarek P, Krutki P, Celichowski J. *Summation of slow motor unit forces at constant and variable interpulse intervals in rat soleus muscle. Journal of Electromyography and Kinesiology* 2016, 30, 1-8) miały na celu poznanie mechanizmów regulacji siły skurczu mięśnia płaszczkowatego poprzez zmianę liczby czynnych jednostek ruchowych, czyli konsekwencji podstawowego mechanizmu kontroli siły skurczu - rekrutacji jednostek ruchowych do skurczu (Zajac i Faden 1985, Feiereisen i wsp. 1997).

W celu poznania konsekwencji zmiany liczby rekrutowanych jednostek ruchowych dla rozwoju siły mięśnia badano procesy sumowania sił skurczów pojedynczych, tężcowych zupełnych, a także tężcowych niezupełnych tych jednostek wywołanych ciągami bodźców o zmiennych odstępach czasu. W ramach badań prowadzono rejestracje sił skurczów pobudzanych jednocześnie dwóch, trzech lub czterech jednostek ruchowych, a następnie porównywano zarejestrowaną siłę do algebraicznej sumy sił poszczególnych jednostek, stymulowanych pojedynczo. Badania te wykazały, po pierwsze, że sumowanie sił skurczów w mięśniu płaszczkowatym jest średnio zbliżone do liniowego (choć zarazem wykazuje wyraźne zróżnicowanie efektów), a rejestrowana siła skurczów pojedynczych i tężcowych zupełnych była nieco niższa od oczekiwanej. Wynik ten różni się do uprzednich obserwacji dotyczących mięśnia brzuchatego łydki szczura (Drzymała-Celichowska i wsp. 2010), jak i mięśnia płaszczkowatego kota (Sandercock 2000, Perreault i wsp. 2003). W badaniach tych obserwowano, że sumowanie sił jednostek ruchowych średnio jest procesem nieliniowym, a efekty sumowania są mniejsze (m. brzuchaty szczura), lub większe (m. płaszczkowaty kota) od oczekiwanych na podstawie matematycznego dodawania pojedynczo rejestrowanych sił. Po drugie, omawiane badania procesów sumowania sił skurczów potwierdziły także wnioski wynikające z wcześniejszych doświadczeń, że efekty sumowania zarazem zależą od liczby czynnych jednostek i maleją

w miarę postępu procesu rekrutacji. Po trzecie, w badaniach tych po raz pierwszy wykazano, że podczas wspólnej aktywacji kilku jednostek ruchowych relaksacja siły w zarejestrowanych skurczach tężcowych zupełnych i niezupełnych była szybsza niż przewidywana przy założeniu liniowego sumowania sił. Jednocześnie w przypadku skurczów pojedynczych i tężcowych zaobserwowano dodatkowo tendencję do skracania relaksacji wraz ze wzrostem liczby czynnych jednostek ruchowych. W dyskusji zwrócono uwagę, że prawdopodobnym powodem zróżnicowania efektywności sumowania sił skurczów obserwowanym w omawianych badaniach w relacji do danych literaturowych jest zarówno zróżnicowanie budowy różnych mięśni zwierząt jednego gatunku, jak i strukturalne różnice międzygatunkowe.

Podsumowując, prezentowany cykl publikacji zwiększa wiedzę o czynności wolno kurczącego się mięśnia płaszczkowatego. Po raz pierwszy wykazano płciowe różnice zawartości miozyny oraz cech skurczu jednostek ruchowych, procesów rozwoju skurczów tężcowych niezupełnych i potencjałów czynnościowych jednostek ruchowych. Dokonano również oryginalnej obserwacji pojawiania się objawu ugięcia w wolnych jednostkach po wzmocnieniu ich siły skurczu, a także opisano procesy sumowania się sił skurczów jednostek ruchowych badanego mięśnia i wykryto nowe zjawisko skracania się relaksacji podczas koaktywacji kilku jednostek ruchowych. Uzyskane wyniki badań wyjaśniają podstawy międzypłciowych różnic pracy mięśni szkieletowych, co ma znaczenie dla rozwoju fizjologii, nauk o sporcie i postępu w dziedzinie rehabilitacji, kinezyjologii, biomechaniki, a także są wskazówką dla badaczy planujących prace doświadczalne na zwierzętach obu płci. Można oczekiwać, że poszerzona wiedza podstawowa skłoni do badań elektromiograficznych i czynnościowych mięśni szkieletowych prowadzonych na ludziach.

Piśmiennictwo

Burke RE, Levine DN, Salzman M, Zajac FE. Motor units in cat soleus muscle: physiological, histochemical and morphological characteristics. *Journal of Physiology* 1974; 238: 503-514.

Burke RE, Levine DN, Tsairis P, Zajac FE. Physiological types and histochemical profiles in motor units of the cat gastrocnemius. *Journal of Physiology* 1973; 234: 723-748.

Celichowski J, Drzymała H. Differences between properties of male and female motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2006; 57, 1: 83-93.

Celichowski J, Drzymała-Celichowska H. The number of motor units in the medial gastrocnemius muscle of male and female rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2007; 58, 4: 821-828.

Celichowski J, Raikova R, Drzymała-Celichowska H, Ciechanowicz-Kowalczyk I, Krutki P, Rusev R. Model-generated decomposition of unfused tetani of motor units evoked by random stimulation. *Journal of Biomechanics* 2008; 41: 3448-3454.

Celichowski J, Raikova R, Aladjov H, Krutki P. Dynamic changes of twitchlike responses to successive stimuli studied by decomposition of motor unit tetanic contractions in rat medial gastrocnemius. *Journal of Neurophysiology* 2014, 112, 12: 3116-3124.

Chamberlain S, Lewis D. Contractile characteristics and innervation ratio of rat soleus motor units. *Journal of Physiology* 1989; 412: 1-21.

Chow RS, Medri MK, Martin DC, Leekam RN, Agur AM, McKee NH. Sonographic studies of human soleus and gastrocnemius muscle architecture: gender variability. *European Journal of Applied Physiology* 2000; 82: 236-244.

Drzymała-Celichowska H, Kaczmarek P, Krutki P, Celichowski J. Summation of slow motor unit forces at constant and variable interpulse intervals in rat soleus muscle. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2016; 30: 1-8.

Drzymała-Celichowska H, Karolczak J, Rędownicz MJ, Bukowska D. The content of myosin heavy chain in hindlimb muscles of female and male rats. *Journal of Physiology and Pharmacology* 2012; 63: 187-193.

Drzymała-Celichowska H, Krutki P, Celichowski J. Summation of motor unit forces in the rat medial gastrocnemius muscle. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2010; 20: 599-607.

Drzymała-Celichowska H, Krutki P. Slow motor units in female rat soleus are slower and weaker than their male counterparts. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 2015; 36: 287-295.

Drzymała-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. Decomposition of motor unit tetanic contractions of rat soleus muscle: Differences between males and females. *Journal of Biomechanics* 2015; 48: 3097-3102.

Drzymała-Celichowska H, Raikova R, Krutki P. Prolonged activity evokes potentiation and the "sag" phenomenon in slow motor units of rat soleus. *Acta Neurobiologiae Experimentalis* 2016; 76: 116-121.

English AW, Eason J, Schwartz G, Shirley A, Carrasco DI. Sexual dimorphism in the rabbit masseter muscle: myosin heavy chain composition of neuromuscular compartments. *Cells Tissues Organs* 1999; 164: 179-191.

English A.W., Widmer Ch.G. Sex differences in rabbit masseter muscle function. *Cells Tissues Organs* 2003; 174: 87-96.

Eason J.M., Schwartz G.A., Pavlath G.K., English A.W. Sexually dimorphic expression of myosin heavy chains in the adult mouse masseter. *Journal of Applied Physiology* 2000; 89: 251-258.

Feiereisen P, Duchateau J, Hainaut K. Motor unit recruitment order during voluntary and electrically induced contractions in the tibialis anterior. *Experimental Brain Research* 1997; 114: 117-123.

Gordon DA, Enoka RM, Stuart DG. Motor-unit force potentiation in adult cats in a standard fatigue test. *Journal of Physiology (London)* 1990; 421: 569-582.

Kanda K, Hashizume K. Factors causing difference in force output among motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. *Journal of Physiology* 1992; 448: 677-695.

Hicks AL, Kent-Braun J, Ditor DS. Sex differences in human skeletal muscle fatigue. *Exercise and Sport Science Reviews* 2001; 29: 109-112.

Hennig R, Lømo T. Gradation of force output in normal fast and slow muscles of the rat. *Acta Physiologica Scandinavica* 1987; 130: 133-142.

Kernell D. Rhythmic properties of motoneurons innervating muscle fibres of different speed in m. gastrocnemius medialis of the cat. *Brain Research* 1979; 160: 159-162.

Kugelberg E. Histochemical composition, contraction speed and fatigability of rat soleus motor units. *Journal of Neurological Sciences* 1973; 20: 177-198.

Mierzejewska-Krzyżowska B, Drzymała-Celichowska H, Celichowski J. Gender differences in the morphometric properties of muscle fibers and the innervation ratio of motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. *Anatomia Histologia Embryologia* 2011a; 40: 249-255.

Mierzejewska-Krzyżowska B, Drzymała-Celichowska H, Celichowski J. Gender differences in morphometric properties of muscle fibres measured on cross-sections of rat hindlimb muscle. *Anatomia Histologia Embryologia* 2012b; 41: 122-129.

Perreault EJ, Day SJ, Hulliger M, Heckman CJ, Sandercock TG. Summation of forces from multiple motor units in the cat soleus muscle. *Journal of Neurophysiology* 2003; 89: 738-744.

Raikova R, Pogrzebna M, Drzymała H, Celichowski J, Aladjov H. Variability of successive contractions subtracted from unfused tetanus of fast and slow motor units. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 2008; 18: 741-751.

Sandercock TG. Nonlinear summation of force in cat soleus muscle results primarily from stretch of the common-elastic elements. *Journal of Applied Physiology* 2000; 89: 2206-2214.

Zajac FE, Faden JS. Relationship among recruitment order, axonal conduction velocity, and muscle-unit properties of type-identified motor units in cat plantaris muscle. *Journal of Neurophysiology* 1985; 53: 1303-1322.

5. Pozostałe osiągnięcia naukowo – badawcze

Publikacje (wszystkie): 19

Sumaryczny Impact Factor wg bazy Web of Science (Journal Citation Reports):
45.228

Liczba cytowań publikacji bez autocytowań wg bazy Web of Science (Core Collection): **93**

Indeks Hirscha wg bazy Web of Science: **7**

Pozostałe prace naukowe:

Prace oryginalne przed doktoratem

1. Szkudelska K, Drzymała H, Szkudelski T, Bukowska K, Nogowski L. Lack of the effect of mycotoxins-aflatoxin B1 and ochratoxin A on some function of rat adipocytes. Toxicology in Vitro 2005, 19, 771-777 – IF-1.754 20 pkt. MNiSW
2. Celichowski J, Drzymała H. Differences between properties of male and female motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. Journal of Physiology and Pharmacology 2006, 57, 1, 83-93 – IF-2.974 20 pkt. MNiSW
3. Raikova R, Pogrzebna M, Drzymała H, Celichowski J, Aladjov H. Variability of successive contractions subtracted from unfused tetanus of fast and slow motor units. Journal of Electromyography and Kinesiology 2008, 18, 5: 741-751 – IF-1.884 24 pkt. MNiSW
4. Celichowski J, Drzymała-Celichowska H. The number of motor units in the medial gastrocnemius muscle of male and female rats. Journal of Physiology and Pharmacology 2007, 58, 4: 821-828 – IF-4.466; 20 pkt. MNiSW

5. Krutki P, Pogrzebna M, Drzymała H, Raikova R, Celichowski J. Force generated by fast motor units of the rat medial gastrocnemius muscle during stimulation with pulses at variable intervals. Journal of Physiology and Pharmacology 2008, 59, 1: 85-100 – IF-2.631; 20 pkt. MNiSW

Prace oryginalne po doktoracie

1. Celichowski J, Raikova R, Drzymała-Celichowska H, Ciechanowicz I, Krutki P, Rusev R. Model-generated decomposition of unfused tetani of motor units evoked by random stimulation. Journal of Biomechanics 2008, 41, 3448-3454 – IF- 2.784; 24 pkt. MNiSW
2. Kaczmarek P, Celichowski J, Drzymała-Celichowska H, Kasiński A. The image of motor units architecture in the mechanomyographic signal during the single motor unit contraction. In vivo and stimulation study. Journal of Electromyography and Kinesiology 2009, 19, 553-563 – IF- 1.995; 32 pkt. MNiSW
3. Raikova R, Rusev R, Drzymała-Celichowska H, Krutki P, Aladjov H, Celichowski J. Experimentally verified mathematical approach for prediction of force developed by motor units at variable frequency stimulation patterns. Journal of Biomechanics 2010, 43, 1546–1552 – IF- 2.463; 32 pkt. MNiSW
4. Drzymała-Celichowska H, Krutki P, Celichowski J. Summation of motor unit forces in the rat medial gastrocnemius muscle. J. Electromyography and Kinesiology 2010, 20, 599–607 – IF- 2.372; 32 pkt. MNiSW
5. Mierzejewska-Krzyżowska B, Drzymała-Celichowska H, Celichowski J. Gender differences in the morphometric properties of muscle fibres and the innervation ratio of motor units in rat medial gastrocnemius muscle. Anatomia Histologia Embryologia 2011, 40, 4: 249-255 – IF - 0.899; 20 pkt. MNiSW

6. Hammar I, Krutki P, Drzymała-Celichowska H, Nilsson E, Jankowska E. A trans-spinal loop between neurones in the reticular formation and in the cerebellum. *Journal of Physiology* 2011, 589, 3: 653-665 – IF - 4.881; 40 pkt. MNiSW
7. Mierzejewska-Krzyżowska B, Drzymała-Celichowska H, Bukowska D. Celichowski J. Gender differences in the morphometric properties of muscle fibres measured on cross-sections of rat hindlimb muscles. *Anatomia Histologia Embryologia* 2012, 41, 2: 122-129 – IF - 0.882; 20 pkt. MNiSW
8. Gobbo M, Celichowski J, Krutki P, Drzymała-Celichowska H, Solomonow M, Orizio C. A novel method to attain sinusoidal mechanical responses from single motor units
Muscle & Nerve 2015, 51, 134-136 – IF - 2.314; 25 pkt. MNiSW
9. Kryściak K, Celichowski J, Drzymała-Celichowska H, Gardiner PF, Krutki P. Force regulation and electrical properties of motor units in overloaded muscle. *Muscle & Nerve* 2016, 53, 1: 96-106 - IF - 2.713; 25 pkt. MNiSW

5.1 Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Pracę naukową rozpocząłam w trakcie studiów magisterskich na Akademii Rolniczej w Poznaniu w Katedrze Fizjologii i Biochemii Zwierząt, gdzie brałam udział w badaniach dotyczących wpływu mykotoksyn na metabolizm komórek tłuszczowych szczura, na których oparta była moja praca magisterska pt. „Wpływ ochratoksyny A na lipolizę i lipogenezę izolowanych adipocytów szczura”. Wyniki te zostały opublikowane w 2005 roku (*Szkudelska K. Drzymala H. Szkudelski T. Bukowska K. Lack of the effect of mycotoxins-aflatoxin B₁ and ochratoxin A on some functions of rat adipocytes. Toxicology in Vitro 2005, 19, 771-777*).

Po obronie pracy magisterskiej, zostałam zatrudniona w Zakładzie Neurobiologii Akademii Wychowania Fizycznego w Poznaniu. Od tego momentu zaangażowałam się w badania nad jednostkami ruchowych w modelu zwierzęcym. Pierwszym moim tematem badawczym było zróżnicowanie cech skurczu oraz oszacowanie liczby jednostek ruchowych samców i samic szczura w mięśni brzuchatym przysródkowym. Efektem tych badań są dwie oryginalne prace, opublikowane w czasopiśmie *Journal of Physiology and Pharmacology* (*Celichowski J, Drzymala H. Differences between properties of male and female motor units in the rat medial gastrocnemius muscle. Journal of Physiology and Pharmacology 2006, 57, 1: 83-93; Celichowski J, Drzymala H. The number of motor units in the medial gastrocnemius muscle of male and female rats. 2007 58, 4: 821-828*). Badania te wykazały, że mięśnie samców mają więcej jednostek ruchowych szybko kurczących, szybko męczących się, ale mniej wolno kurczących niż samice, a zarazem jednostki te są silniejsze i mają dłuższy czas skurczu. Ponadto wykazano, że mięśnie samców unerwiane są przez około 10% liczniejszą grupę motoneuronów.

Od 2005 roku biorę także udział w projektach badawczych realizowanych w ramach współpracy z Center of Biomedical Engineering Bułgarskiej Akademii Nauk,

dotyczących analizy skurczu tężcowego niezupełnego jednostek ruchowych podczas stymulacji ciągami bodźców o zmiennych odstępach czasowych oraz analizy wpływu zmienności pomiędzy kolejnymi impulsami na przebieg siły skurczu tężcowego. Zaobserwowano, że pole pod zapisem siły skurczu wzrasta gdy kolejne pobudzenia dostarczane są w nieregularnych odstępach czasu w porównaniu do stymulacji o tej samej średniej, ale stałej częstotliwości. Dokonano także dekompozycji skurczów tężcowych niezupełnych wywoływanych przy stałych i nieregularnych odstępach między pobudzeniami na odpowiedzi na poszczególne bodźce, które mają kształt zbliżony do skurczu pojedynczego. Wykazano, że odpowiedzi na poszczególne bodźce w obu sytuacjach mają znacząco zmienną wartość, zarówno w odniesieniu do amplitudy siły jak i parametrów czasowych. Ponieważ wykryto, że parametry zdekomponowanych odpowiedzi są zależne od poziomu siły skurczu przy jakim jednostka ruchowa jest pobudzana, wyniki analiz wykorzystano do matematycznego modelowania siły skurczu tężcowego. W ramach współpracy nad powyższymi zagadnieniami odbyłam siedem krótkich staży w laboratorium prof. Rositsy Raikovej w Sofii (w latach 2005-2016) których efektem są 4 oryginalne prace, których jestem współautorem: w *Journal of Electromyography and Kinesiology* (Raikova R, Pogrzebna M, Drzymala H, Celichowski J, Aladjov H. *Variability of successive contractions subtracted from unfused tetanus of fast and slow motor units. Journal of Electromyography and Kinesiology* 2008, 18, 5: 741-751); *Journal of Physiology and Pharmacology* (Krutki P, Pogrzebna M, Drzymala H, Raikova R, Celichowski J. *Force generated by fast motor units of the rat medial gastrocnemius muscle during stimulation with pulses at variable intervals. Journal of Physiology and Pharmacology.* 2008, 59, 85-100), oraz *Journal of Biomechanics* (Celichowski J, Raikova R, Drzymala-Celichowska H, Ciechanowicz I, Krutki P, Rusev R. *Model-generated decomposition of unfused tetani of motor units evoked by random stimulation. Journal of*

Biomechanics 2008, 41, 3448-3454) oraz Raikova R, Rusev R, Drzymala-Celichowska H, Krutki P, Aladjov H, Celichowski J. *Experimentally verified mathematical approach for prediction of force developed by motor units at variable frequency stimulation patterns. Journal of Biomechanics* 2010, 43, 1546–1552). Tematyka mojej aktywności badawczej dotyczy także regulacji siły skurczu poprzez zmianę liczby czynnych jednostek ruchowych. 24 listopada 2006 roku został otwarty mój przewód doktorski w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, zatytułowany „Sumowanie sił skurczów jednostek ruchowych w mięśniu brzuchatym przyśrodkowym szczura” i zakończony publiczną obroną 2 czerwca 2008 roku. Wyniki tych badań były prezentowane na kilku zebraniach naukowych i konferencjach międzynarodowych. Badania te pozwoliły na obserwacje i analizę szeregu zjawisk. Po pierwsze wykazały, że sumowanie sił skurczu 2 jednostek ruchowych jest procesem nieliniowym, a siła rejestrowana może nawet o około 30% różnić się od sumy algebraicznej sił ich oddzielnych skurczów. Ponadto efekty sumowania sił skurczów jednostek ruchowych zależą od liczby czynnych jednostek, a wraz ze wzrostem liczby czynnych jednostek ruchowych maleje efektywność sumowania. Stwierdzono, że siły skurczów tężcowych niezupełnych sumują się efektywniej, niż skurczów pojedynczych i tężcowych zupełnych, a wartość siły skurczu podczas wspólnej aktywacji jednostek ruchowych zależy od typu jednostek ruchowych biorących udział w skurczu. Badania te pozwalają wnioskować, że podczas skurczów dowolnych nawet niewielka liczba jednostek ruchowych może być wystarczająca do generowania wysokich wartości siły, a uzyskanie maksymalnej siły skurczu mięśnia nie wymaga rekrutacji wszystkich jednostek ruchowych. Tekst rozprawy doktorskiej w wersji angielskiej został opublikowany w *Journal of Electromyography and Kinesiology* (H. Drzymala-Celichowska, P. Krutki, J.

Celichowski. Summation of motor unit forces in the rat medial gastrocnemius muscle. J. Electromyogr. Kinesiol. 2010, 20, 599–607).

We współpracy z Politechniką Poznańską przeprowadziłam badania nad rejestrowanymi w naszym laboratorium sygnałami MMG (mechanomiogram) z badanego przez nas mięśnia w trakcie aktywności jego jednostek ruchowych. Wyniki tych badań wykazały 3 podstawowe typy sygnałów i pozwoliły na opisanie mechanizmu zmienności zapisów MMG w czasie skurczu różnych jednostek ruchowych i zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Electromyography and Kinesiology* (*Kaczmarek P., Celichowski J., Drzymala-Celichowska H., Kasiński A. The image of motor units architecture in the mechanomyographic signal during the single motor unit contraction. In vivo and stimulation study. J. Electromyogr. Kinesiol. 2009, 19, 553-563).*

W 2009 roku uzyskałam stypendium na dwumiesięczny pobyt w ramach stażu po doktoracie w Zakładzie Fizjologii (Institute of Neuroscience and Physiology, Göteborg University, Sweden), w zespole kierowanym przez panią prof. Elżbietę Jankowską. Pobyt w jednym z wiodących laboratoriów elektrofizjologii rdzenia kręgowego na świecie pozwolił mi na poszerzenie umiejętności w zakresie wykonywania eksperymentów fizjologicznych oraz umożliwił zdobycie pogłębionej wiedzy z zakresu funkcjonowania sieci neuronalnej ośrodkowego układu nerwowego. Wyniki badań, w których brałam udział, zostały opublikowane w czasopiśmie *Journal of Neurophysiology* (*Hammar I, Krutki P, Drzymala-Celichowska H, Nilsson E, Jankowska E. A trans-spinal loop between neurones in the reticular formation and in the cerebellum. Journal of Physiology 2011, 589, 3: 653-665).* Praca ta dotyczyła pętli zwrotnej pomiędzy neuronami w tworze siatkowatym i w mózdzku i miała na celu zbadanie, czy interneurony rdzenia kręgowego, które przekazują na motoneurony sygnały z aferencji Ib z receptorów ścięgniętych Golgiego i z aferencji grupy II z wrzecion mięśniowych przesyłają równolegle te

informacje do mózdzku poprzez wstępujące drogi rdzeniowo-mózdkowe przednie (VSCT). Badania przeprowadzono na neuronach rdzenia kręgowego kota. Wyniki wskazują, że neurony VSCT monitorują stopień hamowania motoneuronów zginaczy i prostowników przez interneurony, przekazując do mózdzku zwrotną informację dotyczącą tych wpływów hamujących z receptorów ścięgniastych i wrzecion mięśniowych.

Kolejny staż naukowy odbyłam w Department of Physiology (Spinal Cord Research Centre), University of Manitoba, Winnipeg, Canada w 2013 w zespole prof. Phillipa Gardinera, w ramach wspólnego grantu: NCN HARMONIA 2012/04/M/NZ4/0019 „Wpływ przewlekłego przeciążenia mięśni na właściwości motoneuronów i jednostek ruchowych”. Wynikiem współpracy jest praca z moim współautorstwem (Kryściak K, Celichowski J, Drzymała-Celichowska H, Gardiner PF, Krutki P. *Force regulation and electrical properties of motor units in overloaded muscle. Muscle & Nerve* 2016, 53: 96-106), której celem było opisanie plastyczności procesów regulacji siły skurczów oraz potencjałów czynnościowych jednostek ruchowych w funkcjonalnie przeciążonym mięśniu kończyny tylnej. Przeciążenie mięśnia brzuchatego przyśrodkowego łydki było wywoływane przez tenotomię trzech jego synergistów (mięśnia brzuchatego bocznego łydki, płaszczkowatego i podeszwowego) u zwierząt, które po okresie pooperacyjnej rekonwalescencji, w celu zapewnienia aktywności mięśnia i wywołania jego faktycznego obciążenia, poddane były treningowi biegowemu z umiarkowanym obciążeniem na bieżni mechanicznej. Po okresie 3 miesięcy od operacji na zwierzętach wykonywano doświadczenia elektrofizjologiczne, w których wykazano, że w mięśniach u przeciążonych zwierząt stroma część krzywej zależności siły od częstotliwości stymulacji przebiegała w zakresie wyższych częstotliwości. Oznacza to, że dla uzyskania takiego samego poziomu siły skurczu motoneurony w przeciążonym mięśniu muszą generować wyższe częstotliwości wyładowań. Ponadto, w przeciążonym mięśniu wzrost

częstotliwości pobudzeń powodował większy wzrost siły w porównaniu do kontroli. W podsumowaniu wyników stwierdzono, że funkcjonalne przeciążenie mięśnia prowadzi do znaczących modyfikacji mechanizmów regulacji siły skurczu jednostek ruchowych, które są specyficzne dla danego typu tych jednostek.

Hanna Dyzymala - Celichowska