

## **Analyse von mitochondrialen Anpassungsprozessen durch Ausdauertraining**

Sebastian Gehlert, Sebastian Weber & Wilhelm Bloch (Projektleiter)

Deutsche Sporthochschule Köln, Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin,  
Abteilung für molekulare und zelluläre Sportmedizin

### **Einleitung: „Ausdauertraining und mitochondriale Anpassung“**

Ausdauertraining besitzt für die Entwicklung oxidativer Leistungsfähigkeit sowohl unter leistungssportlichen als auch gesundheitserhaltenden Gesichtspunkten eine fundamentale Bedeutung. Hauptverantwortlich für Trainingseffekte auf die oxidative Kapazität der Skelettmuskulatur ist die vermehrte Expression funktionaler Proteine des Mitochondriums durch metabolische und mechanische Stimuli. Bislang stehen jedoch einer molekularbiologisch weitgehend nachvollziehbaren Kausalkette zwischen Ursache und Wirkung mitochondrialer Anpassung, wenig präzise und teilweise schlecht begründete Trainingsmethoden der Sportpraxis gegenüber. Diesbezüglich stellt z. B. der in der Trainingspraxis häufig verwendete Steuerungsparameter „Herzfrequenz“ nur eine gesamt-systemische „Folge“ jener Belastungsgrößen dar, die direkte Anpassungen in Muskelzellen und Mitochondrien auslösen. Es wird hier besonders deutlich, dass die Möglichkeit zu einer Vorhersage trainingsinduzierter Anpassungen mit solchen Methoden schwierig ist. Hinzu kommt, dass in der Trainingspraxis weitgehend undefiniert ist, in welchem Umfang und mit welcher Intensität teils dogmatisch propagierte Grundagentrainingsprogramme umgesetzt werden müssen, um möglichst effiziente Aktivierungen mitochondrialer Signalmoleküle zu bewirken (Taylor et al., 2005). Zu den maßgeblichen Schlüsselproteinen, die fundamentale Adaptionen der Mitochondrien einleiten, zählen neben der 5'AMP aktivierten Proteinkinase (AMPK) (Winder et al., 2000; Bergeron et al., 2001; Zong et al., 2002) auch der peroxisome proliferator activated rezeptor gamma coactivator 1  $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) sowie der nuclear respiratory factor 1 (NRF-1) und eine Reihe zwischengeschalteter Signalmoleküle (CamKIV, Calmodulin, PKC, p38) (Hood et al., 2006). Zu deren Aktivierung führen kontraktionsinduzierte und metabolische Stimuli (Abb. 1) wie bspw. eine leistungsabhängige AMP Produktion, intrazelluläre Calciumoszillationen durch Frequenz und Intensität von Muskelkontraktionen, sowie die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) an der inneren Mitochondrienmembran (Hood et al., 2006). Da die Mehrheit aller experimentellen Studien zu diesem Thema den Fokus auf einzelne Parameter mitochondrialer Signaltransduktion legt und allzu oft Adaptationen nur unter laborkontrollierten Bedingungen bei leistungs-homogenen Probanden<sup>1</sup> provoziert, erscheinen Studien sinnvoll, die über den Zeitverlauf multiple Adaptionen essentieller Parameter auch unter praxisnahen Bedingungen untersuchen. Unter welchen Bedingungen definierte Trainingsprogramme Einfluss auf die Entwicklung mitochondrialer Kapazitäten des Athleten nehmen, ist eine sportwissenschaftliche Kernfrage.

<sup>1</sup> Bei der hier und nachfolgend in dieser Publikation verwendeten männlichen Sprachform der Personenbezeichnungen ist die weibliche Form stets mitgedacht. In Einzelfällen, wo ausdrücklich nur die männliche bzw. weibliche Form gemeint ist, wird diese auch verwendet.

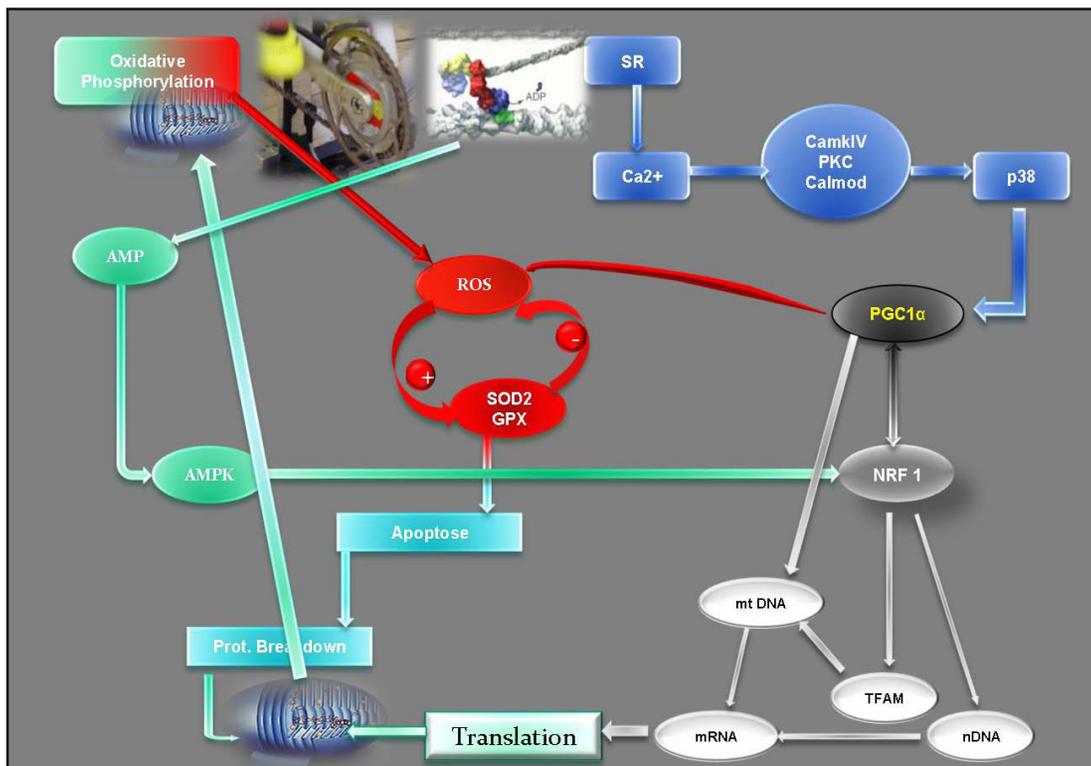


Abb. 1: Regulationswege der mitochondrialen Biogenese

## Methode

In dieser Studie sollte die Adaption mehrerer Parameter mitochondrialer Signaltransduktion auf ein gut nachvollziehbares Belastungsmuster im Radtraining nachvollzogen werden. Das Belastungsmuster wurde eng an praxisnahem Training in Form eines extensiven Grundlagentrainings orientiert. Die Studie wurde an unterschiedlich gut trainierten Probanden durchgeführt und setzte ein Belastungsmuster an, welches sich als prozentuale Nutzung der individuellen  $VO_{2max}$  definierte. Zielsetzung war es, mittels einer hohen Abtastrate von Muskelbiopsien und Messungen der  $VO_{2max}$  sowohl zelluläre als auch systemische Anpassungen über den Gesamtzeitraum nachvollziehen zu können. An der Untersuchung nahmen 12 männliche Radfahrer teil ( $29 \pm 6$  Jahre,  $78 \pm 10$  kg,  $183 \pm 5$  cm,  $VO_{2max} 57 \pm 10$  ml/min/kg). Die Studie erstreckte sich über 45 Tage mit konstanter und unveränderter Belastung bei gleich bleibender Trainingszeit. Im Abstand von 9 Tagen wurden Messungen der  $VO_{2max}$  sowie Muskelbiopsien vorgenommen. Die Trainingsbelastung wurde als prozentualer Anteil der  $VO_{2max}$  kalkuliert (Sauerstoffumsatz durch Training in Relation zum maximal möglichen  $O_2$  Umsatz pro Zeiteinheit). Es wurden 2 Gruppen mit unterschiedlicher Funktionsbelastung gebildet. Gruppe „H“ trainierte mit 5,5 % - 7 %, Gruppe „L“ mit 3,5 % - 5 % prozentualer Nutzung der  $VO_{2max}$ . Die Trainingssteuerung wurde von den Probanden mittels SRM Leistungs-messsystemen überwacht. Mittels Spirometrie wurden gesamt-systemische Anpassungen der oxidativen Kapazität in Form der  $VO_{2max}$  untersucht. Über immunhistochemische Färbung von Kryoschnitten ( $10 \mu m$ ) der Muskelbiopsiate wurden Änderungen der Dichte relevanter Signalproteine über den Zeitverlauf untersucht (PGC-1 $\alpha$ , SOD2, NRF-1, AMPK, Calcineurin).

Über spektralphotometrische Messungen wurde die Entwicklung der Enzymaktivität von Atmungskettenkomplex 4 (COX) und Citratsynthase (CS) dokumentiert. Die Proteinmenge von COX und CS wurde zusätzlich über Immunoblots bestimmt.

## Ergebnisse

Es zeigte sich, dass die  $VO_{2max}$  im Zeitverlauf eine tendenziell größere Steigerung in der höher belasteten Gruppe hatte. Histologisch und biochemisch bestimmte Parameter zeigten über den Zeitverlauf tendenzielle, jedoch kaum signifikante Veränderungen der Expression bzw. Aktivität. Diese Änderungen konnten nicht zweifelsfrei in Bezug zur Belastungsgruppe gebracht werden. Ferner konnte in der Adaption dieser Parameter im Prae-Post-Vergleich ein im Bezug auf die Belastung uneinheitliches Muster festgestellt werden. Es wurden über und innerhalb des Studienzeitraumes in beiden Gruppen Zeitpunkt-abhängig positive und negative Anpassungen nachgewiesen. Es ergab sich ein tendenzieller Zusammenhang zwischen der Variabilität der  $VO_{2max}$  und einer trainingsbedingt leichten Variabilität der Trainingsbelastung. Diese Schwankung der Trainingsbelastung konnte jedoch nicht zweifelsfrei als auslösender Faktor für alle nachfolgend definierten Veränderungen der Signalparameter oder der  $VO_{2max}$  bestimmt werden. Im Prae-Post-Vergleich konnte für die niedrig belastete Gruppe eine Steigerung der Radikalfänger-Dichte (SOD2) in der höher belasteten Gruppe eine signifikante Senkung des SOD2 verzeichnet werden. Die Ergebnisse deckten sich diesbezüglich nur teilweise mit Ergebnissen aus der Literatur, wo an Tierversuchen höhere Intensitäten mit deutlichen Aufregulationen von SOD2 einhergingen (Hollander et al., 1999). Interessanterweise konnte für die Dichteänderung von SOD2 im Prae-Post Vergleich eine signifikante Korrelation mit einer entsprechenden Änderung der PGC-1 $\alpha$  Dichte hergestellt werden. Da PGC-1 $\alpha$  eine herausragende Rolle in der Mitochondrienanpassung spielt, hätte die Entstehung von oxidativem Stress im vorliegenden Fall eine mitochondriale Anpassung begünstigen können (Lee et al., 2000). Die tendenzielle Senkung der  $VO_{2max}$  in der niedrig belasteten Gruppe bestätigte diese Vermutung auf gesamtsystemischer Ebene jedoch nicht. Die mitochondrialen Proteine COX4 und CS zeigten über den Zeitverlauf bei einem Teil der Probanden eine positive Anpassung bis zur Mitte der Studie, welche jedoch zum Studienende rückläufig war (Abb. 2). In anderen Fällen wurden jedoch auch gegenläufige Adaptionsmuster verzeichnet. Die Ergebnisse von COX können in Zusammenhang gebracht werden mit der konstant vorgegebenen Trainingsbelastung und der Möglichkeit einer auf diese Belastung hin sich vermindernenden Anpassungssensitivität. Als beachtenswert erscheint die Tatsache, dass die Entwicklung der mitochondrialen Markerproteine COX und CS nicht in allen Fällen von einer entsprechenden Entwicklung der zeitnah gemessenen  $VO_{2max}$  begleitet war. Erst zum Ende der Studie konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Enzymaktivität von CS und COX verzeichnet werden, möglicherweise als Folge eines optimierten Substratflusses zwischen Atmungskette und Citratzyklus.

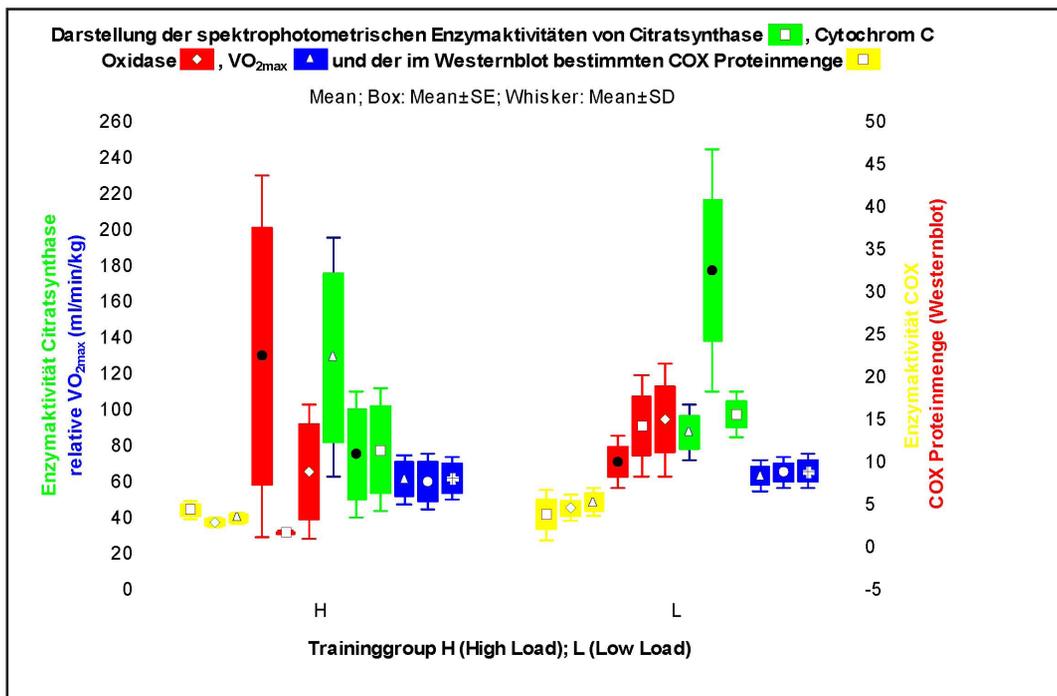


Abb.2: Entwicklung von Citratsynthase, Cytochrom C Oxidase und maximaler Sauerstoffaufnahme im Zeitverlauf

## Diskussion

Eines der Hauptprobleme ist selbst bei einem zyklischen und valide nachvollziehbaren Belastungsstimulus wie dem Radfahren, dass es stets zu einem multifaktoriellen Belastungsgefüge kommt, welches simultan verschiedene Signalparameter aktiviert. Dieses beinhaltet sowohl eine mechanische Stimulation über die Kraft der Muskelkontraktion als auch eine komplexe Signaltransduktion ausgelöst durch energetische Prozesse oder Radikalenbildung. In diesem Zusammenhang kann der im Radfahren stets vorhandene Faktor der Trittfrequenzgestaltung sowohl in der mechanischen Reizauslösung als auch in der Erzeugung von sich verändernden Mustern der Calciumfreisetzung innerhalb eines Trainings sehr bedeutsam sein. Hinzu kommt, dass über den Zeitverlauf die für eine Trainingssteuerung verwendeten Parameter Trainingsumfang und Intensität vor dem Hintergrund einer sich ändernden Leistungsfähigkeit des Athleten eine veränderte Wirksamkeit erfahren. Eine realitätsnahe Belastung sieht sich demnach einer Vielzahl an Variablen ausgesetzt, welche sich für eine künftig bessere Nachvollziehbarkeit solcher Anpassungsprozesse zunächst strukturieren und bündeln lassen müssen. Zu diesem Zweck müssen künftig in Anlehnung an diese Studie eine Vielzahl weiterer Versuchsreihen umgesetzt werden, die unter Zuhilfenahme ausgeklügelter Methodiken und unter Verwendung hochspezifischer Belastungen, auch zusätzlich homogene Belastungskollektive verwenden. Es wird deutlich, dass Endpunktvergleiche der muskulären Anpassung nicht ausreichen. Die hier angewendeten Methoden und untersuchten Marker der Regulation der mitochondrialen Anpassung scheinen, trotz der meist nur tendenziellen Ergebnisse, geeignet künftig effiziente Belastungsmuster herauszu-

filtern, welche nicht nur für den Athleten, sondern auch im Rahmen von degenerativen Erkrankungen und dem Präventivsport ein Höchstmass an mitochondrialer Anpassung bei geringst möglichem Aufwand ermöglichen.

## Literatur

- Bergeron, R., Ren, J.M., Cadman, K.S., Moore, I.K., Perret, P., Pypaert, M., Young, L.H., Semenkovich, C.F. & Shulman, G.I. (2001). Chronic activation of AMP kinase results in NRF-1 activation and mitochondrial biogenesis. *American journal of physiology, endocrinology and metabolism*, 281 (6), E1340-E1346.
- Hood, D.A., Irrcher, I., Ljubcic, V. & Joseph, A.M. (2006). Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *Journal of experimental biology*, 209 (12), 2265-2275.
- Hollander, J., Fiebig, R., Gore, M., Bejma, J., Ookawara, T., Ohno, H., & Ji, L.L. (1999) Superoxide dismutase gene expression in skeletal muscle: fiber-specific adaptation to endurance training. *American journal of physiology*, 277 (3 Pt 2), R856-862.
- Lee, H.C., Yin, P.H., Chi, C.W. & Wie, Y.H. (2000). Increase of mitochondria and mitochondrial DNA in response to oxidative stress in human cells. *Biochemical journal*, 348 (Pt 2), 425-432.
- Taylor, E.B., Lamb, J.D., Hurst, R.W., Chesser, D.G., Ellingson, W.J., Greenwood, L.J., Porter, B.B., Herway, S.T. & Winder, W.W. (2005). Endurance training increases skeletal muscle LKB1 and PGC-1alpha protein abundance: effects of time and intensity. *American journal of physiology, endocrinology and metabolism*, 289 (6), E960-968.
- Winder, W.W., Holmes, B.F., Rubink, D.S., Jensen, E.B., Chen, M. & Holloszy, J.O. (2000). Activation of AMP-activated protein kinase increases mitochondrial enzymes in skeletal muscle. *Journal of applied physiology*, 88 (6), 2219-2226.
- Zong, H., Ren, J.M., Young, L.H., Pypaert, M., Mu, J., Birnbaum, M.J. & Shulman, G.I. (2002). AMP kinase is required for mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to chronic energy deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99 (25), 15983-15987.

