
Differentielle Genexpression in peripheren, mononukleären Zellen nach sportlicher Belastung

Frank-Christoph Mooren (Projektleiter)

Universität Gießen

Einleitung

Regelmäßiges körperliches Training übt präventive und positive Effekte auf kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes, Krebs, Übergewicht und Immunsystem aus (Wielenga et al., 1998; Hoffman-Goetz et al., 1998; Woods, 1998; Moore et al., 1998; Kinningham, 1998; Shephard & Shek, 1998b). Dabei sind die zugrundeliegenden Mechanismen dieser günstigen Trainingseffekte bisher nur in Teilen erfasst. Gleiches gilt für die Mechanismen der Trainingsanpassung, die beim Leistungssportler letztendlich hohe Wettkampfleistungen möglich machen.

Intensive Ausdauerbelastungen wie klassischerweise ein Marathonwettkampf induzieren eine in Teilen inflammatorische Stressreaktion (Pedersen & Nielsen, 1997; Gabriel & Kindermann, 1997), die möglicherweise eine passager gesteigerte Infektneigung und/oder eine verringerte Leistungsfähigkeit während der anschließenden Erholungsphase begünstigt. Dabei sind Ablauf und Regulation dieser Stressreaktion auf eine akute Belastung bisher nur in Teilen erfasst. Gleiches gilt auch für die Effekte einer chronisch hohen Trainingsgesamtbelastung, die sich in einer Übertrainings-symptomatik und/oder einer ebenfalls gesteigerten Infektneigung äussern kann. Es ist zu betonen, dass es bisher nicht gelungen ist, die pathophysiologischen Mechanismen des Übertrainings zu verstehen. Die bisher verfolgten Erklärungsansätze wie die einer passager verringerten Glykogenverfügbarkeit, einer gestörten neuroendokrinen Regulation, einer durch lokalmuskuläre Überlastung erhöhten Zytokinausschüttung oder aber auch einer generell gestörten Immunfunktion (Lehmann et al., 1997; Mackinnon, 2000; Smith, 2000) geben zwar eine gewisse Richtung vor, blieben jedoch den letztendlichen Nachweis schuldig, jeweils allein betrachtet dem Auftreten und Ablauf einer Übertrainings-symptomatik zugrundezuliegen. Dieser Umstand bedingt zumindest teilweise die fehlende Verfügbarkeit verlässlicher diagnostischer Instrumente, welche eine in der Praxis umsetzbare Diagnose des Übertrainings ermöglichen (Urhausen & Kindermann, 2002).

Belastungsinduzierte Modulation des Immunphänotyps

Körperliche Belastung führt zu deutlichen Änderungen im Phänotypus des Immunsystems. Sowohl nach akuten als auch nach chronischen Belastungen (~ Training) kommt es zu quantitativen und qualitativen Veränderungen der Immunparameter. Beispielsweise kommt es nach akuten Belastungen zu einer Leukozytose und in der Nachbelastungsphase zu einer Lymphopenie. Chronische Trainingsbelastungen bewirken einen leichten Abfall der Lymphozytenpopulation während die Granulozyten relativ unverändert bleiben.

Starke körperliche Belastungen führen zu entzündungsähnlichen Reaktionen des Immunsystems mit verstärkter Sekretion von Akute-Phase-Proteinen und Cytokinen, wie TNF- α und Interleukin-6, sowie zu einer vermehrten Expression zellulärer Aktivierungsmarker (Espersen et al., 1996; Nieman et al., 1995; Nieman, 1997; Pedersen & Nielsen, 1997). Bei den neutrophilen Granulozyten kommt es zu einer vermehrten Expression von Adhensionsmolekülen wie z. B. CD62L etc. (Zola et al., 2000). Lymphozyten regulieren die Expression von CD45 (RA/R0), LFA-1 (CD11a/CD18) sowie CD38 als Ausdruck der stattfindenden Aktivierung herauf. Untersuchungen zur Zellproliferation zeigten uneinheitliche Ergebnisse, während erhöhte intrazelluläre Calciumtransienten nach Antigenstimulation wiederum die Aktivierung der Zellen belegen (Mooren et al., 2001a+b). Darüber hinaus induziert eine intensive Belastung eine vermehrte Apoptose von Lymphozyten (Mooren et al., 2002).

Außerdem werden die zellulären Leistungen bzw. Funktionen der Leukozyten durch Belastung deutlich moduliert. So kommt es in Abhängigkeit der Belastungsintensität zu Veränderungen des *oxydativen Bursts* und der Phagozytose von Leukozyten (Northoff et al., 1994; Gabriel & Kindermann, 1998). In Lymphozyten verändert körperliche Belastung die Fähigkeit zur Proliferation und zur Interleukinsekretion. Beides sind Funktionen, die von Veränderungen der Transkriptionsregulation abhängig sind. Die Regulation der Interleukin-2-Expression ist in den letzten Jahren besonders intensiv untersucht worden (Northoff et al., 1994). Interleukin-2 wird ausschließlich von T-Zellen nach adäquater Aktivierung exprimiert. Hierzu gehört ein entsprechendes Calcium-Signalmuster (siehe unten). Drei wichtige Transkriptionsfaktoren für die Interleukin-2 (IL-2) -Sekretion wurden im Detail untersucht; dies sind NF-AT, NF- κ B sowie AP-1. Die Expression ist vorübergehend und in Kinetik und Ausmaß ist die Antwort abhängig vom Calcium-Signal sowie von der Umgebung. So wurde z. B. auch eine Abhängigkeit der IL-2-Sekretion vom Energiegehalt der Nahrung gefunden. Der Einfluss sportlicher Belastung auf Transkriptionsebene von Leukozyten ist bisher nur sporadisch, z. B. Interleukin-2 und -6 mRNA-Level, untersucht worden.

Diese belastungsinduzierten Veränderungen im Immunphänotyp sind natürlich nicht nur das Resultat einer veränderten Genexpression. Erste Untersuchungen belegen jedoch, dass sportliche Aktivität ein wichtiger Regulator der Transkription ist, wobei eine Reihe an Faktoren die belastungsinduzierte Genexpression triggern bzw. regulieren können.

Belastungsinduzierte Stressreaktion und deren Auswirkung auf die Genexpression

Nachfolgend sollen einige Beispiele gegeben werden, wie belastungsassoziierte Stressfaktoren die Genexpression verändern können und in wie weit somit eine veränderte Genexpression ein Indikator für die Intensität einer sportlichen Belastung darstellen kann. Zu den belastungsassoziierten Stressfaktoren gehören mechanischer Stress, Hypoxie, Hyperthermie und Redoxstatus. Diese Faktoren können unmittelbar oder mittelbar über Veränderungen intrazellulärer Signalwege wie Calcium-Signalling, Kinase-Phosphatase-Balance oder auch Stresskinasen die Genexpression verändern. Nachfolgende Aufstellung erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit, sondern gibt lediglich einige kurze Beispiele. Zum vertieften Einblick sei auf entsprechende Übersichtsartikel verwiesen.

Mechanischer Stress

Mechanischer Stress ist ein wesentlicher Stimulus in der Induktion der Transkription (Vandenberg & Kaufman, 1979). Mechanische Deformation der Zellmembran ist in der Lage, mechanosensitive Ionenkanäle zu öffnen. Die Aktivierung dieser Ionenkanäle führt zu Veränderungen der intrazellulären Ionenhomöostase und kann nachfolgend verschiedene Signalwege, z. B. Phospholipasen sowie Proteinkinasen, aktivieren. Eine weitere Gruppe potentieller Mechanosensoren stellen die Integrine dar (Guan & Shalloway, 1992). Eine Dimerisierung der Integrinrezeptoren hat Auswirkungen auf das Zytoskelett und ist in der Lage, spezifische Proteine zu aktivieren. Hierzu gehört u. a. die fokale Adhäsionskinase (FAK) (Richardson & Parsons, 1996). Im Komplex mit anderen Kinasen kommt es zur Aktivierung von RAS und nachgeschalteten Effektorinasen, wie der mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAPK). Dieser Signalweg ist z. B. auch involviert in die Signalübertragung von Wachstumshormonen.

Neben der Aktivierung intrazellulärer Signalübertragungswege durch mechanischen Stress kann es in verschiedenen Zelltypen direkt zur Induktion von „Immediate-Early-Genes“ (IEG) kommen. In Herzmuskelzellen gehören dazu z. B. c-fos, c-jun, Egr-1, jun-B, c-myc sowie auch das Hitzeschockprotein HSP70 (Sadoshima & Izumo, 1993). Fos- und Jun-Proteine komplexieren zum Transkriptionsfaktor AP-1, der in verschiedenen Promotorregionen die differenzierte Genexpression regulieren kann.

Mechanischer Stress ist aber nicht nur wirksam in Verbindung mit kontraktilem Gewebe, sondern ist auch ein wichtiger Stressfaktor in der Hämodynamik. Scherkräfte wirken hierbei auf Endothelzellen genauso wie auf die Membranen der Leukozyten. Wichtige Moleküle, deren Expression durch Scherstress heraufreguliert werden kann, sind z. B. die NO-Synthase, Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), Monocyte-chemotactic-peptide (MCP-1), Zyklooxygenase-2 sowie Gewebe-Plasminogen-Aktivator (Diamond et al., 1990).

Hypoxie

Hypoxie ist ein weiterer, belastungsassoziierter Faktor, der in der Lage ist, die Genexpression zu regulieren. Dies betrifft vor allen Dingen die Regulation der Erythropoetin (EPO)-Expression. Innerhalb des EPO-Gens konnte ein wesentliches Enhancer-Element charakterisiert werden, das für die Induktion der EPO-Genexpression von besonderer Wichtigkeit ist. Der DNA-Bindungsfaktor dieses „Enhancer-Elementes“ konnte schließlich isoliert und charakterisiert werden, der sogenannte „Hypoxia-inducible-factor-1“ oder HIF-1 (Semenza & Wang, 1992). Darüber hinaus konnte jedoch auch gezeigt werden, dass Hypoxie eine Reihe weiterer Gene regulieren kann, die in den Energiestoffwechsel eingebunden sind. Dazu gehören z. B. die Gene für Pyruvatkinase, Aldolase A oder Phosphoglyceratkinase-1 als Enzyme der Glykolyse (Semenza et al., 1994). Interessanterweise konnte für 6 glykolytische Enzyme nachgewiesen werden, dass ihre Gene ebenfalls den HIF-1-Bindungsplatz besitzen, wie er beim EPO-Gen nachgewiesen werden konnte. Diese Untersuchungen zeigen, dass das HIF-1-Protein ein wesentlicher Faktor einer ganzen Kaskade von Genen ist, die notwendig sind, eine hypoxische Umgebung zu tolerieren.

Redoxstatus

Als letzter Einflussfaktor der Transkriptionsregulation sei der Redoxhaushalt erwähnt. Im allgemeinen ist das Zytosol einer Zelle überwiegend in einem reduzierten Zustand. Körperliche Belastungen, insbesondere erschöpfende körperliche Belastungen, erhöhen das Oxidationspotential, vermittelt durch die Formation freier Radikale. Verschiebungen innerhalb des Reduktions-Oxidations-Potentials der Zelle führt zu einer Modifikation einer Reihe von Proteinen, insbesondere an Cystein-(SH)-Gruppen. Diese Modifikation der Cysteinreste kann zu veränderten Konformationen und damit zu veränderten Aktivitäten der Proteine, ähnlich der Phosphorylierung führen. Daher ist der Redoxstatus einer Zelle in der Lage, Signalkaskaden zu beeinflussen und auf diese Weise auch Einfluss auf die Transkription zu nehmen.

Zu den redoxempfindlichen Transkriptionsfaktoren gehören NF κ B, Protoonkogene, wie z. B. c-fos, c-jun oder jun-B. Insbesondere der NF κ B-Weg ist bisher intensiv untersucht worden. Die Aktivierung von NF- κ B vollzieht sich in zwei Schritten. Der erste Schritt ist die Dissoziation von NF- κ B von seinem inhibitorischen Protein I- κ B. Nach der Dissoziation kann NF- κ B schnell in den Zellkern transportiert werden, wo es nach DNA-Bindung die Transkription induzieren kann. Der Dissoziationsschritt von NF- κ B von I- κ B wird stimuliert durch oxidativen Stress (Schreck et al., 1991). Dagegen wird die DNA-Bindung von NF- κ B durch oxidativen Stress herabgesetzt (Staal et al., 1990). Dieser Mechanismus wird geteilt mit einer Reihe anderer Transkriptionsfaktoren, deren DNA-Bindung durch oxidativen Stress herabgesetzt wird. Ein letztes wichtiges Beispiel für die redoxabhängige Modifikation der Aktivität eines Transkriptionsfaktors ist das Ras-Protoonkogen. Es ist eine wichtige Komponente an einer Vielzahl von Signalwegen, insbesondere des MAP-Kinase-Weges. Ras gehörte zur Familie der kleinen G-Proteine. Es wird aktiviert durch den Austausch von GDP für GTP und inaktiviert durch den reversen Vorgang. Innerhalb dieser Nukleotid-bindenden Einheit liegt eine reaktive Zysteingruppe, die empfindlich auf oxidativen Stress reagiert. Die Aktivierung von Ras durch Oxidation resultiert in der Phosphorylierung von Erk-1, Erk-2 und Elk-1. Elk-1 ist ein Transkriptionsfaktor, der an den c-fos Promotor bindet und damit direkt die Transkription beeinflusst (Lander et al., 1997).

Untersuchungen mit der Arraytechnologie

Herkömmliche Experimente wie Northern-, Southern-, Dot-blot-Analysen benötigen relativ lange Experimentierzeit und viel Probenmaterial um ein relativ kleines Datenvolumen zu gewinnen. Das gilt im Vergleich zur Chipanalyse auch für die PCR, die für jeden Parameter singulär (oder höchstens „multiplex“) durchgeführt werden muss.

Im Gegensatz dazu ist die Chipanalyse eine Methode, mit der aus wenig Probenmaterial mit relativ wenig Zeitaufwand die Expression einer Vielzahl an Genen untersucht werden kann (Abb. 1).

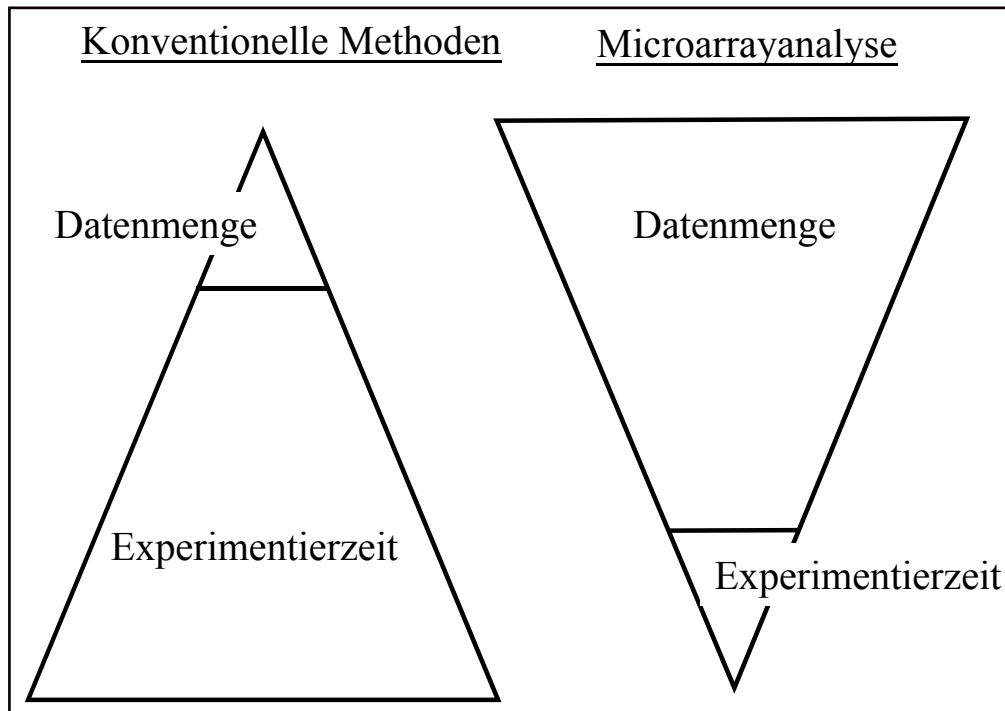


Abb. 1: Beziehung zwischen konventionellen und Chipanalysemethoden in Bezug auf Datenmenge und Zeit

Eine Auswahl aller zu einem Themengebiet interessierender Gene kann auf einen Chip gespottet werden und somit gleichzeitig untersucht werden. Theoretisch ist die Untersuchung des gesamten Genoms, d. h. Informationen über ca. 30.000 humane Gene in einem einzigen Arbeitsdurchgang möglich. Betrachtet man die mögliche Zahl der gleichzeitig untersuchten Parameter in einer Probe, kann man sogar den hohen Preis als relativ kostengünstig bezeichnen.

An dieser Stelle sei jedoch auf einen nicht unwesentlichen Schwachpunkt der Microarrayanalyse hingewiesen. Die Masse an auszuwertenden Daten erfordert die Evaluierung mittels hochkomplizierter statistischer Methoden. Ein gewisser Schwellenwert muss gesetzt werden, um signifikante Intensitätsunterschiede zu definieren und von experimentellen und zufallsbedingten Schwankungen abzugrenzen. Das kann Cut-off-Probleme induzieren. Gewichtige Veränderungen unterhalb des Schwellenwertes könnten übersehen werden. Diese Problematik fällt umso mehr ins Gewicht je größer der Chip, bzw. die Anzahl der gespotteten/analysierten Gene ist. Dies spricht vor allem bei fokussierten Fragestellungen für die Anwendung eines auf die relevanten Gene „reduzierten“ Stresschips in Eigenproduktion.

Bisherige Applikation von Microarrays in der Sportmedizin

Die neue Microarraytechnologie eröffnet dem Forscher auch in der Sportmedizin hunderte bis tausende von Genen gleichzeitig zu analysieren (Baldwin, 2000). Die Methodik erlaubt eine globalere Betrachtungsweise - weg von Einzelparameteranalysen hin zur Entdeckung gemeinsam regulierter Gengruppen - u. U. in neuen Zusammenhängen. Microarray-Studien im Zusammenhang mit intensivem Sport

wiesen kurzfristige Aktivierung und Deaktivierung von zahlreichen leukozytären Genen auf, die mit Stress, Entzündung und Gewebereparatur assoziiert sind (Fehrenbach et al., 2003; Connolly et al., 2004; Sonna et al., 2004; Fehrenbach et al., 2004). Hitzestress wird partiell für die beobachteten Veränderungen verantwortlich gemacht (Sonna et al., 2004).

Hypothesen und Untersuchungsziele

Microarrays stellen eine akkurate Technologie dar, um eine Vielzahl von Gensequenzen parallel und automatisiert zu untersuchen. Ihre Anwendbarkeit in der belastungsinduzierten Genexpressionsanalyse in Leukozyten von Sportlern konnte gezeigt werden. Das Besondere der Untersuchung mittels Genchip ist, dass nicht nur einzelne Kandidatengene, sondern eine große Gruppe auf mRNA-Ebene parallel analysiert werden kann. Die bislang vorliegenden Untersuchungen bezogen sich allerdings nahezu ausschließlich auf die Gesamtleukozyten als Zielzellen. Es fehlen Hinweise inwieweit es unterschiedliche Reaktionen der Leukozyten-Subpopulationen gibt. Außerdem gibt es kaum Hinweise auf die Kinetik der belastungsinduzierten Veränderungen.

Damit ergeben sich folgende Untersuchungsziele:

- Charakterisierung des für sportliche Belastungen relevanten Genpools durch
 - Untersuchung des Einflusses einer einzelnen hohen Ausdauerbelastung (= Marathonlauf) auf das differentielle Genexpressionsmuster in peripheren, mononukleären Zellen (PBMC)
- sowie die Darstellung der Kinetik der Genexpression in der Nachbelastungsphase.

Methoden

Probandenauswahl

Für die Marathonbelastung wurden 10 männliche ausdauertrainierte Probanden rekrutiert, die seit mindestens 3 Jahren regelmässig trainierten, einen wöchentlichen Laufumfang von im Mittel 70 - 100 km aufwiesen und bereits mindestens 2 Marathonläufe absolviert hatten. Die Läufer sollten beabsichtigen, den Marathon wettkampfmässig zu bestreiten.

Ausschlusskriterien

Bekannte Abhängigkeiten (Nikotin, Alkohol, Drogen, Tabletten), Hinweise auf Erkrankungen von Lunge, Herzkreislaufsystem, Leber, Verdauungssystem, Niere, Stoffwechsel, Hormonsystem, blutbildendem System oder Psyche, Krampfleiden. Entzündliche Erkrankungen.

Voruntersuchungen/Belastungsform

Voruntersuchungen: Anamnese, körperliche Untersuchung, Ruhe-EKG, Mehrstufentest auf dem Laufband mit Belastungs-EKG und Bestimmung der Laufgeschwindigkeit und Herzfrequenz an der individuellen anaeroben Schwelle (VIAS).

Belastungsform: Wettkampforientierte Teilnahme an einem offiziellen Marathonlauf (z. B. Schönbuchmarathon bei Tübingen oder Münster-Marathon).

Probengewinnung: vor, 1, 3, 24, 48 und 96 h nach Belastung (6 Zeitpunkte) venöse Blutabnahmen (jeweils ca. 40 ml, Gesamtmenge ca. 250 ml).

Genexpressionsanalytik mit Affymetrix-Chips

Die Genexpressionsanalytik mit Affymetrix-Chips wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Herrn Professor H. Funke, Molekulare Hämostasiologie, Friedrich-Schiller-Universität Jena, durchgeführt. Die Untersuchungen wurden mit dem GenChip®-System der Firma Affymetrix unter Verwendung des U133A-Chips durchgeführt. Mit diesem Chip können simultan die Konzentrationen von etwa 22.000 Genen gemessen werden.

Für die Durchführung der Hybridisierung werden 15 µg cRNA benötigt. Bei der Herstellung der cRNA mittels eines am Institut für Sportmedizin etablierten Protokolls wurden als Ausgangsmaterial etwa 15 µg gesamt-RNA benötigt.

Zellisolation

Periphere mononukleäre Zellen (PBMC) wurden aus Vollblut über Dichtegradientenzentrifugation abgetrennt.

RNA-Reinigung und cDNA-Umschreibung

Aus 1-5 x 10⁷ Zellen wurde die gesamt-RNA durch Lyse der Zellen in einem BME-haltigen GITC-Puffer freigesetzt und anschließend in Gegenwart von Ethanol und/oder hoher Salzkonzentration an eine Silicamembran gebunden und danach eluiert. Hierfür wurde das RNeasy Midi-Kit der Firma Qiagen verwendet. Anschließend erfolgte die reverse Transkription mit dem SuperScript Choice System der Firma Gibco BRL unter Verwendung eines Poly-T-Primers, in den eine T7-Promotersequenz integriert ist. Die anschließende Reinigung der erhaltenen cDNA erfolgte mittels Phenol-Chloroform-Extraktion unter Verwendung des PLG light-Systems der Firma Eppendorf. Die gereinigte cDNA wurde anschließend unter Verwendung von biotinylierten Ribonucleotiden in cRNA umgeschrieben.

cRNA-Analyse

Die biotinylierte und fragmentierte cRNA wurde über Nacht mit dem Genchip inkubiert. Dabei erfolgte eine Hybridisierung der einzelnen cRNA-Moleküle an komplementäre Oligonukleotide auf dem Genchip. Nach anschließendem Waschen wurden Oligonukleotid-cRNA-Hybride in einem mehrstufigen Prozess mit Streptavidin-Phycoerythrin-Komplexen fluoreszierend markiert. Anschließend erfolgte die Messung der Fluoreszenzsignale, deren Höhe direkt proportional zur Menge der cRNA ist, mit der die Hybridisierung erfolgte. Die xy-Koordinaten der 22.000 verschiedenen Gene, die auf dem Chip repräsentiert sind, sind bekannt. Dadurch kann eine Zuordnung der Intensitäten der gemessenen Fluoreszenzsignale zu den einzelnen Genen erfolgen.

Datenanalyse

Die primäre Datenanalyse erfolgte mit der integrierten Software. Die Daten liegen dann in Form einer Tabelle vor, in der den einzelnen Genen die gemessenen Intensitäten der für sie spezifischen Fluoreszenzsignale zugeordnet sind. Die Qualitätskontrolle und die Grundauswertung erfolgten mit der Software Expressionist® (GeneData). Zusätzliche und weiterführende Analysen werden mit den statistischen Funktionen des Programmpakets S-PLUS durchgeführt. Für Vergleiche von Fall- und Kontrollgruppen wurden multiple t-Teste und Wilcoxon-Rank-Sum Teste durchgeführt. Signifikante Gruppen wurden einer Clusteranalyse unterzogen und es wurden weitere funktionelle, stoffwechselspezifische Kenngrößen ermittelt.

Die mittels Clusteranalyse identifizierten Gengruppen wurden in nachfolgenden Experimenten auf ihre Potenz, gruppenspezifische Zuordnungen über ROC-Analysen weiter validiert.

RT-PCR

Die Ergebnisse der Microarray-Untersuchungen bedürfen einer Validierung. Daher wurde die Expression der signifikanten Gene mittels entsprechender Primer und RT-PCR am vorliegenden Untersuchungsmaterial überprüft.

Ergebnisse

Differenzielle Genexpression in Leukozyten-Subpopulationen

Die belastungsinduzierte Genexpression war am deutlichsten in der frühen Nachbelastungsphase ausgeprägt, d. h. 0,5 bzw. 3 h nach Ende des Marathonlaufs. Während dieses Zeitraumes zeigten die Monozyten eine deutlich höhere Sensitivität als die Lymphozyten-Fraktion. So waren bei den Monozyten 1.308 Gene signifikant verändert exprimiert, während es bei den Lymphozyten nur 191 Gene waren.

Die Gene verteilten sich vor allem auf die folgenden Signalprozesse:

- Tyrosinkinasen
- Zytokin-Bindungen
- TNF- und TOLL-Zezeptoren
- Hitze-Schockproteine
- Substrat-Transporter

Die wesentlichen Veränderungen einzelner Gene konnten erfolgreich mit der PCR bestätigt werden.

Kinetik der belastungsinduzierten Genexpression

24 Stunden nach Ende des Marathonlaufs waren die Genexpressionsprofile nahezu wieder auf Ausgangsniveau zurückgekehrt. Allerdings zeigte sich hierbei, dass nun die Lymphozyten deutlich sensitiver waren und den Belastungsstress erheblich länger reflektierten. Zu diesem Zeitpunkt waren bei den Lymphozyten noch 30 Gene verändert, während es bei den Monozyten nur noch 8 Gene waren (Abb. 2).

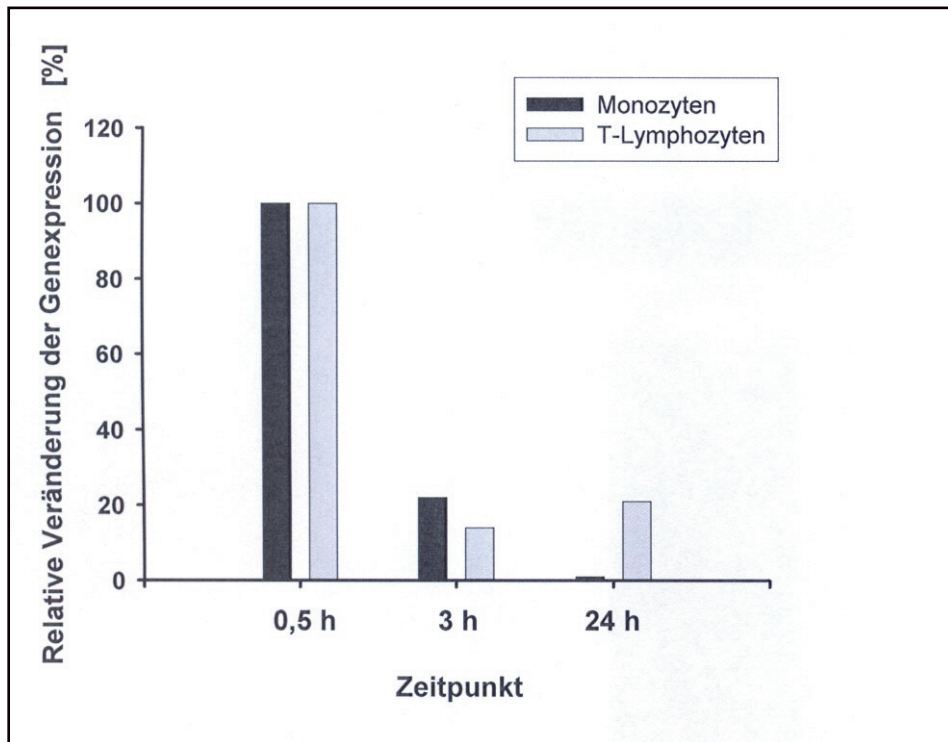


Abb. 2: Kinetik der belastungsinduzierten Genexpression in Leukozyten-Subpopulationen

Zusammenfassung und Ausblick

Die Ergebnisse der aktuellen Studie konnten zunächst zeigen, dass sportliche Belastung quantitativ zu deutlich unterschiedlichen Antworten in Immunzellsubpopulationen führt. Monozyten zeichnen sich als die wesentlich sensitivere Zellpopulation aus, was sicherlich auch mit der unterschiedlichen Halbwertszeit/Lebensdauer der beiden Zelltypen zu tun hat. Zukünftig muß also sehr genau abgeschätzt werden, welche Zielzelle untersucht werden soll. Monozyten eignen sich damit eher für schnelles und frühes Monitoring, während T-Zellen längerfristig Belastung wieder spiegeln.

Unter qualitativen Aspekten sind die Unterschiede zwischen beiden Zelltypen deutlich geringer. In beiden Zelltypen werden vor allem stress-sensitive Signalwege angesprochen, wobei sich eine gute Übereinstimmung mit früheren Studien ergab.

Damit zeichnen sich gute Chancen für die zukünftige Entwicklung eines belastungs-sensitiven Sport-Chips ab, dessen Validierung für das Trainings- und Belastungsmanagement allerdings noch einer Reihe weiterer Untersuchungen bedarf.

Literatur

- Baldwin, K.M. (2000). Research in the exercise sciences: where do we go from here? *Journal of applied physiology*, 88 (1), 332-336.
- Connolly, P.H., Caiozzo, V.J., Zaldivar, F., Nemet, D., Larson, J., Hung, S.P., Heck, J.D., Hatfield, G.W. & Cooper, D.M. (2004). Effects of Exercise on Gene expression in Human Peripheral blood Mononuclear Cells. *Journal of applied physiology*.
- Diamond, M.S., Staunton, D.E., de Fougères, A.R., Stacker, S.A., Garcia-Aguilar, J., Hibbs, M.L. & Springer, T.A. (1990). ICAM-1 (CD54): a counter-receptor for Mac-1 (CD11b/CD18). *The journal of cell biology*, 111 (6 Pt 2), 3129-3139.
- Diffie, G.M., Seversen, E.A., Stein, T.D. & Johnson, J.A. (2003). Microarray expression analysis of effects of exercise training: increase in atrial MLC-1 in rat ventricles. *American journal of physiology: Heart and circulatory physiology*, 284 (3), H830-H837.
- Espersen, G. T., Elbaek, A., Schmidt-Olsen, S., Ejlersen, E., Varming, K. & Grønnet, N. (1996). Short-term changes in the immune system of elite swimmers under competition conditions. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 6, 156-163.
- Fehrenbach, E., Niess, A.M., Moeller, E., Russwurm, S. & Northoff, H. (2004). Gene expression analysis after exercise stress using microarrays [abstract]. In: Gene expression analysis after exercise stress using microarrays.
- Fehrenbach, E., Zieker, D., Niess, A.M., Moeller, E., Russwurm, S. & Northoff H. (2003). Microarray technology – the future analyses tool in exercise physiology? *Exercise immunology review*, 9, 49-58.
- Gabriel, H. & Kindermann, W. (1997). The acute immune response to exercise: What does it mean? *International journal of sports medicine*, 18 (Suppl 1), S28-S45.
- Gabriel, H. & Kindermann, W. (1998). Leistungssport und Immunsystem. *Leistungssport*, 28 (5), 4-13.
- Guan, J.L. & Shalloway, D. (1992). Regulation of focal adhesion-associated protein tyrosine kinase by both cellular adhesion and oncogenic transformation. *Nature*, 358 (6388), 690-692.
- Hoffman-Goetz, L., Apter, D., Demark-Wahnefried, W., Goran, M.I., McTiernan, A. & Reichman, M.E. (1998). Possible mechanisms mediating an association between physical activity and breast cancer. *Cancer* 83 (3), 621-628.
- Kiningham, R.B. (1998). Physical activity and the primary prevention of cancer. *Prim Care*, 25 (2), 515-536.
- Lander, H.M., Hajjar, D.P., Hempstead, B.L., Mirza, U.A., Chait, B.T., Campbell, S. & Quilliam, L.A. (1997). A molecular redox switch on p21(ras). Structural basis for the nitric oxide-p21(ras) interaction. *The journal of biological chemistry*, 272 (7), 4323-4326.

- Lehmann, M., Lormes, W., Opitz-Gress, A., Steinacker, J.M., Netzer, N., Foster, C. & Gastman, U. (1997). Training and overtraining: an overview and experimental results in endurance sports. *Journal of sports medicine and physical fitness*, 37 (1), 7-17.
- Mackinnon, L.T. (2000). Overtraining effects on immunity and performance in athletes. *Immunology and cell biology*, 78 (5), 502-509.
- Moore, M.A., Park, C.B. & Tsuda, H. (1998). Physical exercise: a pillar for cancer prevention? *European journal of cancer prevention*, 7 (3), 177-193.
- Mooren, F.C., Bloming, D., Lechtermann, A., Lerch, M.M. & Völker, K. (2002). Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *Journal of applied physiology*, 93 (1), 147-153.
- Mooren, F.C., Lechtermann, A., Fromme, A., Thorwesten, L. & Völker, K. (2001). Alterations in intracellular calcium signaling of lymphocytes after exhaustive exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 33 (2), 242-248.
- Mooren, F.C., Lechtermann, A., Pospiech, S., Fromme, A., Thorwesten, L., Völker & K. (2001). Decoupling of intracellular calcium signaling in granulocytes after exhaustive exercise. *International journal of sports medicine*, 22 (5), 323-328.
- Nieman, D.C. (1997). Immune response to heavy exertion. *Journal of applied physiology*, 82, 1385-1394.
- Nieman, D.C., Henson, D.A., Sampson, C. S., Herring, J. L., Suttles, J., Conley, M., Stone, M. H., Butterworth, D. E. & Davis, J. M. (1995). The Acute Immune Response to Exhaustive Resistance Exercise. *International journal of sports medicine*, 16, 322-328.
- Northoff, H., Weinstock, C. & Berg, A. (1994). The cytokine response to strenuous exercise. *International journal of sports medicine*, 15, S167-S171.
- Pedersen, B.K. & Nielsen, H.B. (1997). Acute exercise and the immune system. In: *Exercise immunology*, 5-38, edited by Pedersen, B.K., Landes Company.
- Richardson, A. & Parsons, T. (1996). A mechanism for regulation of the adhesion-associated proteintyrosine kinase pp125FAK. *Nature*, 380 (6574), 538-540
- Sadoshima, J. & Izumo, S. (1993). Mechanical stretch rapidly activates multiple signal transduction pathways in cardiac myocytes: potential involvement of an autocrine/paracrine mechanism. *Journal of the European Molecular Biology Organization*, 12 (4), 1681-1692
- Schreck, R., Rieber, P. & Baeuerle, P.A. (1991). Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *Journal of the European Molecular Biology Organization*, 10 (8) 2247-2258
- Semenza, G.L. & Wang, G.L. (1992). A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Molecular and cellular biology*, 12 (12), 5447-5454.

- Semenza, G.L., Roth, P.H., Fang, H.M. & Wang, G.L. (1994). Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *The journal of biological chemistry*, 269 (38), 23757-23763.
- Shephard, R.J. & Shek, P.N. (1998b). Associations between physical activity and susceptibility to cancer: possible mechanisms. *Sports medicine*, 26 (5), 293-315.
- Smith, L.L. (2000). Cytokine hypothesis of overtraining. *Medicine and science in sports and exercise*, 32, 317-331.
- Sonna, L.A., Wenger, C.B., Flinn, S., Sheldon, H.K., Sawka, M.N. & Lilly, C.M. (2004). Exertional heat injury and gene expression changes: a DNA microarray analysis study. *Journal of applied physiology*, 96 (5), 1943-1953.
- Staal, F.J., Roederer, M., Herzenberg, L.A. & Herzenberg, L.A. (1990). Intracellular thiols regulate activation of nuclear factor kappa B and transcription of human immunodeficiency virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 87 (24), 9943-9947
- Urhausen, A. & Kindermann, W. (2002). Diagnosis of overtraining: What tools we have? *Sports medicine*, 32, 95-102.
- Vandenburgh, H. & Kaufman, S. (1979). In vitro model for stretch-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Science*, 203 (4377), 265-268.
- Wielenga, R.P., Erdman, R.A., Huisveld, I.A., Bol, E., Dunselman, P.H., Baselier, M.R. & Mosterd, W.L. (1998). Effect of exercise training on quality of life in patients with chronic heart failure. *Journal of psychosomatic research*, 45 (5), 459-464.
- Woods, J.A. (1998). Exercise and resistance to neoplasia. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 76 (5), 581-588.
- Zola, H. (2000). Markers of cell lineage, differentiation and activation. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 14 (3), 218-219.