
Zelluläre Akutantwort auf Kraftbeanspruchung

Analyse initialer Anpassungsprozesse der Muskelzelle durch
Krafttraining verschiedener Intensitäten und Belastungsdauern
(AZ 070103/09)

Sebastian Gehlert, Katrin Gutsche, Angelo Pricci, Thorsten Schiffer
& Wilhelm Bloch (Projektleiter)

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

Problematik

Die Aufrechterhaltung und Erhöhung von Muskelmasse ist im Leistungssport von fundamentaler Bedeutung. Ein effizientes Reizmuster durch Krafttraining ist in der Lage, eine substantielle Querschnittsvergrößerung von Muskelfasern zu bewirken und damit metabolische Kapazität sowie die Kraftentwicklung positiv zu beeinflussen. In der angewandten Trainingswissenschaft sind bislang jedoch wenig biologisch begründete Angaben zur Reizgestaltung im Krafttraining zu finden. Dies betrifft sowohl die Gestaltung einer akuten Trainingseinheit, als auch deren langfristig strukturierte Abfolge im Trainingsprozess. Für die Steuerung eines Krafttrainings werden daher immer noch Intensitätsvorgaben aus der klassischen Trainingslehre verwendet, die definierte Wiederholungszahlen mit dem Erreichen eines gewünschten Trainingszieles bspw. Hypertrophie gleichsetzen (Kraemer & Ratamess, 2004). Hierbei wird dem komplexen Vorgang der Muskelhypertrophie, der offensichtlich auch bei höheren und geringeren Lasten sowie verschiedener Kontraktionsform der Muskulatur zu Tage tritt, kaum Rechnung getragen. Einer solch verallgemeinerten Trainingssteuerung ist zwar nicht per se Erfolglosigkeit in der Auslösung gewünschter Trainingseffekte zuzusprechen, doch zeigen in der Trainingspraxis vielfach feststellbare Differenzen zwischen angestrebtem und erzieltem Trainingseffekt, dass ein deutlicher Mangel an Kenntnis bzgl. trainingsbedingter Ursache und definierter Anpassung im Skelettmuskel am Menschen besteht. Da die zelluläre Signaltransduktion im Muskel durch Kraftbeanspruchung mittlerweile umfassend beschrieben ist (Baar, 2006; Coffey & Hawley, 2007), bedarf die Diskrepanz zu einer inhaltlich unzureichend begründeten Trainingspraxis daher einer Verknüpfung zellulärer Adaptation mit praktisch verwertbaren Erkenntnissen zur Trainingsgestaltung. Da myozelluläre Anpassung immer mit einer gesteigerten Translations- bzw. Syntheseleistung für entsprechende Proteine einhergeht, ist für die Bewertung der Effizienz eines Trainingsreizes im Krafttraining zunächst die akute Antwort von in die Translationsinitiation involvierten Signalproteinen zu untersuchen (Blaauw et al., 2009). Die stresssensitiven zentralen Kinasen des MAP Kinase Signalweges ERK1/2 sowie auch AKT nehmen metabolische, mechanische (Martineau & Gardiner, 2001) und wachstumsfaktorabhängige Signale der Skelettmuskulatur auf, fungieren als direkte Einflussfaktoren auf die akut induzierte Gen Expression bzw. leiten Inputsignale

an definierte Signaltransduktionspfade weiter. Diesbezüglich kann AKT maßgeblich die Aktivierung der mTOR Signalkaskade einleiten, welche final auch zu einer Phosphorylierung des ribosomalen Proteins S6 (ABB 1 D.) und damit zur Initiierung der Muskelproteinsynthese führt (Camera et al., 2010; Rennie et al., 2004). ERK 1/2 kann daneben aber auch unter der Umgehung der mTOR Kaskade eine ergänzende Aktivierung von S6 vornehmen und damit Einfluss auf die trainingsinduzierte Proteinsynthese nehmen. Aufgrund mechanisch und metabolisch unterschiedlicher Belastung, ausgelöst durch definierte Kontraktionsmuster verschiedener Krafttrainingsprinzipien, ist auch von unterschiedlichen Mustern akuter Signaltransduktion nach Training auszugehen. Für die Bewertung des myozellulären Impacts einzelner Trainingsprinzipien erschien die Untersuchung initialer Muster der Signaltransduktion daher vielversprechend. Eine nach akuter Krafttrainingsbelastung durchgeführte Untersuchung der Muskelzelle über ein enges Zeitraster sollte Einblick in die belastungsspezifische Kinetik und Dynamik von Aktivierungsprozessen in der Signaltransduktion der Muskelzelle geben.

Methodik

21 männliche, moderat krafttrainierte Probanden (24 ± 3 Jahre; 181 ± 7 cm; 79 ± 9 kg) wurden randomisierten Gruppen mit unterschiedlicher Krafttrainingsbelastung zugeordnet. Die akute Reizsetzung durch Krafttraining wurde auf einem isokinetischen Trainingsgerät (Isomed 2000, D&R Ferstl GmbH, Deutschland) umgesetzt. Die Bewegungsausführung wurde über eine einbeinige Beinstreckbewegung bei einem Bewegungsausmaß von 70 Grad definiert. Es wurden 3 verschiedene Krafttrainingsstimuli appliziert:

1. Gruppe SD (N = 7); Standardtraining; 3 Sätze mit 10 Wiederholungen; 75 % dynamisch konzent./exzent. Maximalkraft ; 3 min Satzpause ; 65 Grad pro Sekunde Kontraktionsgeschwindigkeit.
2. Gruppe HIT (N = 7); Hochintensives Training; 1 Satz mit 20 Wiederholungen; 100 % dynamisch konzent./exzent. Maximalkraft; 40 Grad pro Sekunde Kontraktionsgeschwindigkeit.
3. Gruppe EXZ (N = 7); Exzentrisches Training; 3 Sätze mit 8 Wiederholungen; 100 % dynamisch exzent. Maximalkraft ; 25 Grad pro Sekunde Kontraktionsgeschwindigkeit.

Die Maximalkraft wurde gesondert über das veranschlagte Bewegungsausmaß bestimmt. Die ermittelten Kraft-Winkel-Relationen dienten mittels visueller Rückkopplung zur Belastungssteuerung am Testtag. Ruhebiopsien zur Bestimmung der basalen Aktivität von Signalparametern wurden nach 48 stündiger Ruhephase, 1-2 Wochen vor der akuten Trainingsbelastung am m. vastus lateralis entnommen. Im unmittelbaren Zeitverlauf 15, 30, 60, 240 min sowie 24 h nach Training wurden weitere Biopsien vorgenommen. Die Analyse der Biopate erfolgte auf histologischer Ebene mittels Immunhistochemie sowie im Gesamtmuskel via Westernblotting. Die quantitative Analyse erfolgte durch densitometrische Verfahren.

Ergebnisse

Ausgehend von einem initial ausgelösten Trainingsreiz werden je nach Kontraktionsform, muskulärer Ausbelastung und Höhe der mechanischen Spannung Inputsignale in die relevanten Signalpfade appliziert (Abb. 1 D). AKT als zentrale Upstreamkinase (Abb. 1 D Markierung) zeigte in unserer Untersuchung eine bis 2,5-fache Aufregulation innerhalb der ersten 60 min nach Krafttraining (Abb. 1 C). Die Dynamik der Phosphorylierung zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen, jedoch deutlich zeitliche Unterschiede in den Maxima der AKT Phosphorylierung. Während phosphoryliertes AKT bei STD und EXZ innerhalb 24 h auf den basalen Level abfiel konnte ein deutlich erhöhtes Niveau bei HIT bis zu 24 h nach einem einzelnen, hochintensiven Trainingssatz bemerkt werden (Abb. 1 C). Im sarkoplasmatischen Teil der Muskelfasern (Daten nicht gezeigt) konnte ebenfalls bei HIT im Vergleich zu STD und EXZ eine signifikante stärkere Aufregulation von phospho AKT beobachtet werden. EXZ zeigte nur eine geringfügige Steigerung der sarkoplasmatischen AKT Phosphorylierung, STD einen moderaten Anstieg bis zu 60 min nach Trainingsende. Insgesamt konnten keine signifikanten Unterschiede in der AKT Aktivierung zwischen Typ I und Typ II Fasern verzeichnet werden.

ERK 1/2 (Daten nicht gezeigt) zeigte im Westernblot keine signifikanten Unterschiede im Phosphorylierungsstatus zwischen den Gruppen, dennoch eine deutliche Aufregulation nach Trainingsbelastung. Wie auch bei AKT zeigten HIT und EXZ einen tendenziell stärkeren Respons bei der ERK 1/2 Phosphorylierung als STD bis zu 24 h nach Belastungsende. Der Verlauf der Phosphorylierung erschien darüber hinaus biphasisch moduliert zu sein mit einer akuten Aufregulation bis 15 min nach Training, einem darauf folgenden Abfall und erneuten Anstiegen ab 240 min nach Trainingsende. Auf histologischer Ebene konnte zu einzelnen Zeitpunkten eine signifikant höhere ERK 1/2 Phosphorylierung bei Typ I als bei Typ II Fasern festgestellt werden. Insgesamt konnten HIT und EXZ tendenziell stärkere ERK 1/2 Aktivierungen zeigen als STD. In der immunhistochemischen Färbung konnte für ERK 1/2, in schwächerem Ausmaß aber auch für AKT eine betonte Lokalisation in nukleären und perinukleären Regionen der Muskelfaser nachgewiesen werden. Die Phosphorylierung des ribosomalen Proteins S6 zeigte signifikante Anstiege von 30 bis 240 min nach Trainingsbelastung (Abb. 1 A und B). Es zeigten sich sowohl signifikante Unterschiede in der Dynamik der Aktivierung zwischen den Gruppen als auch den Fasertypen. Typ I Fasern zeigten bei STD signifikant stärkere S6 Phosphorylierungslevel bis 60 min nach Belastungsende als bei HIT und EXZ (Abb. 1 A). Demgegenüber zeigten Typ II Fasern (Abb. 1 B) bei HIT und EXZ signifikant stärkere Aktivierungen des rpS6 als bei STD. Insbesondere in der EXZ Gruppe zeigten sich von 15-240 min deutlich erhöhte Level von aktiviertem S6 als bei STD jedoch auch als HIT.

Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen eine deutliche Aufregulation von Signaltransduktionskinasen als Folge geringvolumiger und einmaliger Krafttrainingsreize. Ähnliche Ergebnisse wurden bislang als Folge höhervolumiger Belastungsreize dargestellt (Terzis et al., 2010), jedoch nicht im Vergleich verschiedener Krafttrainingsmethoden die sich in Intensität und Kontraktionsmuster unterscheiden. Hauptbefunde dieser Untersuchung sind:

1. Unterschiede bzgl. der Aktivierung von AKT und ERK zwischen Trainingsmethoden zeigen sich weniger in der Stärke der Aktivierung als im zeitlichen Verlauf nach Trainingsbelastung.
2. AKT und ERK zeigen keine Übereinstimmung in der Stärke der Aktivierung mit downstream lokalisierten Effektorproteinen wie des ribosomalen Proteins S6.
3. Es bestehen bei den applizierten Trainingsmustern teilweise unterschiedliche Aktivierungsmuster von Signalproteinen zwischen Typ I und Typ II Fasern.

Für die Trainingspraxis können hieraus wichtige Informationen abgeleitet werden. Es sollte berücksichtigt werden, dass – je nach Trainingsform – akute zelluläre Anpassungsprozesse über einen längerfristigen Zeitraum ablaufen können. Dies kann einerseits Hinweise auf einen fundamentalen verlaufenden Anpassungsprozess nach Training geben, andererseits auch induzierte Signale anderweitiger Trainingsformen über diesen Verlauf beeinflussen. Diesbezüglich muss im Verlauf weiterer Untersuchungen gezeigt werden, inwieweit sich dies positiv verstärkend oder potentiell hemmend auf die Anpassung von Folgereizen auswirkt. Die fehlende Übereinstimmung von Upstream und Downstream Signalproteinen könnte dadurch bedingt sein, dass es zu einer Konvergenz von mechanischen, metabolischen und wachstumsfaktorabhängigen Signalen verschiedener Einflussgrößen kommt, die auf die Aktivierung dieser Komponenten bzw. auch der Proteinsynthese Einfluss haben. Es wurde diesbezüglich gezeigt, dass mechanische Reize auch unter Umgehung von bekannten Signalkaskaden direkt die Proteinsynthese aufregulieren können (Klossner et al., 2009). Die Aktivierung von AKT und ERK kann jedoch auch eine verstärkte Genexpression sowie eine erhöhte mitochondriale Anpassung zur Folge haben. Dies zeigt, dass die akute Wirkung verschiedener Trainingsmethoden im Krafttraining unterschiedlich betonte Initialreaktionen in der Muskelzelle hervorrufen kann und damit langfristig auch strukturell verschiedene Anpassungen erzeugen könnte. Dies kann die Notwendigkeit trainingsmethodisch modulierter und periodisierter Trainingszeiträume begründen. Es ist anzunehmen, dass die unterschiedliche Aktivierung von Signalproteinen innerhalb der Fasertypen I und II direkt auf die Rekrutierung der unterschiedlichen Fasertypen während des Kontraktionsprozesses zurückzuführen ist. Es ist bekannt, dass maximal kräftige und exzentrische Kontraktionsmuster im Vergleich zu submaximalen Kontraktionen eine verstärkte Rekrutierung von schnellen Fasertypen bewirkt (Beltman et al., 2004). Somit besteht die Möglichkeit, über die Modulation von bestimmten Krafttrainingsmethoden die Involvierung eines Großteils der Muskelfasern in den Anpassungsprozess von Metabolismus und Hypertrophie mit einzubeziehen. Es muss jedoch im Verlaufe weiterer Untersuchungen gezeigt werden, wie sich die langfristige Gestaltung von

Trainingsprozessen unter Kopplung verschiedener Methodiken auch strukturell auf die myozelluläre Anpassung auswirkt. Die dargestellte Untersuchung zeigt eine zellulär wirksame Aufregulation der dargestellten Kinasen bei allen hier untersuchten Trainingsstimuli. Die nachgewiesene erhöhte Aktivierung der untersuchten Parameter weist einem hochintensiven oder exzentrischen Training mit hoher muskulärer Auslastung bedingt Vorteile gegenüber einem herkömmlichen Trainingsmuster (STD) zu.

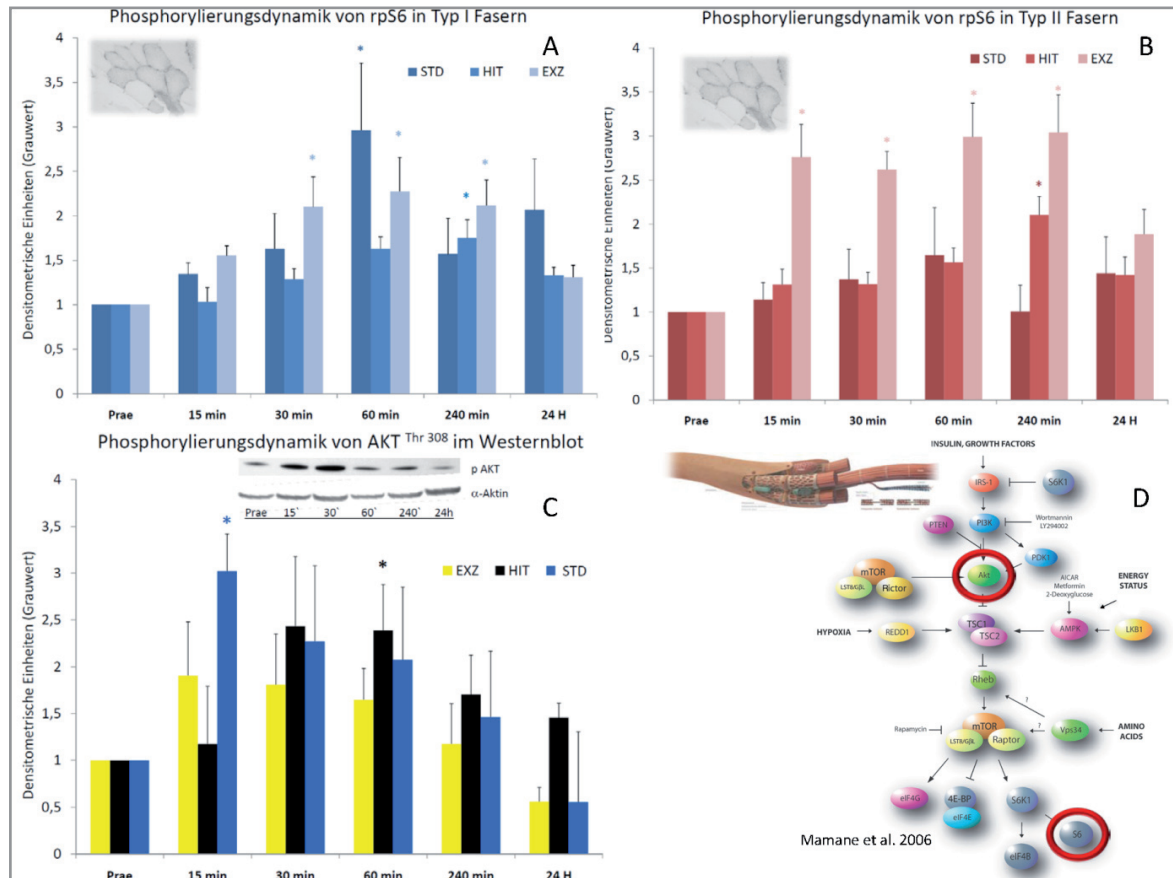


Abb. 1. (A) Dynamik und Zeitverlauf der Phosphorylierung von rpS6 in Typ I und (B) in Typ II Fasern innerhalb der Trainingsgruppen; (C) AKT^{Thr308} Phosphorylierung im Westernblot; (D) grafische Darstellung des AKT-mTOR-S6 Signalweges im Skelettmuskel (Abb. entnommen aus Mamane et al., 2006).

Literatur

- Baar, K. (2006). Training for endurance and strength: lessons from cell signaling. *Medicine and science in sports and exercise*, 38 (11), 1939-1944.
- Beltman, J. G. M., de Haan, A., Haan, H., Gerrits, H. L., van Mechelen, W. & Sargeant, A. J. (2004). Metabolically assessed muscle fibre recruitment in brief isometric contractions at different intensities. *European journal of applied physiology*, 92 (4-5), 485-492.
- Blaauw, B., Canato, M., Agatea, L., Toniolo, L., Mammucari, C., Masiero, E., Abraham, R., Sandri, M., Schiaffino, S. & Reggiani, C. (2009). Inducible activation of Akt increases skeletal muscle mass and force without satellite cell activation. *The FASEB journal* (official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology), 23 (11), 3896-3905.
- Camera, D. M., Edge, J., Short, M. J., Hawley, J. A. & Coffey, V. G. (2010). Early Time Course of Akt Phosphorylation after Endurance and Resistance Exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 42 (10), 1843-1852.
- Coffey, V. G. & Hawley, J. A. (2007). The molecular bases of training adaptation. *Sports medicine*, 37 (9), 737-763.
- Klossner, S., Durieux, A. C., Freyssenet, D. & Flueck, M. (2009). Mechano-transduction to muscle protein synthesis is modulated by FAK. *European journal of applied physiology*, 106 (3), 389-398.
- Kraemer, W. J. & Ratamess, N. A. (2004). Fundamentals of resistance training: Progression and exercise prescription. *Medicine and science in sports and exercise*, 36 (4), 674-688.
- Mamane, Y., Petroulakis, E., LeBacquer, O. & Sonenberg, N. (2006). mTOR, translation initiation and cancer. *Oncogene* 25 (48), 6416-6422.
- Martineau, L. C. & Gardiner, P. F. (2001). Insight into skeletal muscle mechanotransduction: MAPK activation is quantitatively related to tension. *Journal of applied physiology*, 91 (2), 693-702.
- Rennie, M. J., Wackerhage, H., Spangenburg, E. E. & Booth, F. W. (2004). Control of the size of the human muscle mass. *Annual review of physiology*, 66, 799-828.
- Terzis, G., Spengos, K., Mascher, H., Georgiadis, G., Manta, P. & Blomstrand, E. (2010). The degree of p70(S6k) and S6 phosphorylation in human skeletal muscle in response to resistance exercise depends on the training volume. *European journal of applied physiology*, 110 (4), 835-843.