

Möglichkeiten der Trainingseffektivierung und Diagnostik im Belastungs- / Erholungszyklus (AZ 070113/10-11)

Karsten Krüger (Projektleiter) & Frank-Christoph Mooren

Universität Gießen, Abteilung für Sportmedizin

Problem

Regelmäßiges körperliches Training führt zu einer Vielzahl von Anpassungsreaktionen auf zellulärer und molekularer Ebene, welche schließlich auf makroskopischer Ebene als bekannte Phänomene wie das Sportlerherz oder die Kapillarisation der Muskulatur imponieren (Morganroth et al., 1975; Huston et al., 1985; Clarke, 1973; Conlee et al., 1979). Dabei sind die zugrunde liegenden Mechanismen dieser adaptiven Trainingseffekte bisher nur in Teilen erfasst. Jüngere Studien zeigen, dass eine verbesserte kardiovaskuläre Funktion und die Regeneration von im Trainingsprozess in ihrer Integrität gestörten Gewebe nicht nur auf Zellen beruht, die im jeweiligen Gewebe resident sind, sondern auch durch die Einwanderung von nicht ausdifferenzierten, zirkulierenden Zellen – sogenannten Vorläuferzellen – beeinflusst wird (Laufs et al., 2004; Laufs, 2005).

Das vorliegende Projekt hatte zum Ziel zu untersuchen, inwieweit mobilisierte Vorläuferzellen auch Auskunft über den Belastungs- / Erholungsprozess liefern und sie somit zur Diagnostik und Trainingseffektivierung eingesetzt werden können. Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen unterschiedlichen Belastungsarten und der Mobilisation von hämatopoetischen (HPCs=Hematopoetic progenitor cells) und endothelialen Vorläuferzellen (EPCs=Endothelial progenitor cells) im Blut untersucht. Dazu wurden Analysen der Anzahl und Funktionalität der Vorläuferzellen nach Ausdauerbelastungen, exzentrischen Belastungen und Kraftbelastungen durchgeführt. Gleichzeitig wurde eine Vielzahl weiterer Parameter des Belastungs- / Erholungszyklus erfasst und mit den Daten der Vorläuferzelluntersuchung korreliert.

Methoden

36 männliche untrainierte Probanden (Alter [Jahren] $26,47 \pm 1,11$, BMI [kg/m^2] $23,8 \pm 1,3$, rel. $\text{VO}_{2\text{max}}$ $45,8 \pm 3,5$) absolvierten nach einer Leistungsdiagnostik eine intensive Belastung (N = 12, AB) auf dem Fahrradergometer (Ausdauerbelastung, AB) bei 80 % der $\text{VO}_{2\text{max}}$, eine intensive Kraftbelastung (Kraftbelastung, KB, N = 12) oder eine exzentrische Belastung auf dem Laufband (exzentrische Belastung, ExB, N = 12) bei ebenfalls einer Intensität entsprechend 80 % der $\text{VO}_{2\text{max}}$ durch. Die Intensität bei der Kraftbelastung wurde bei 75 % der 1RM festgelegt (8 Übungen, 3 Serien). Jeweils vor, nach, 3 Stunden nach, 24 Stunden nach und 48 Stunden nach den Belastungen wurden venöse Blutproben gewonnen. Nach einer Erythrozytenlyse wurden die Zellen mit Antikörpern gegen CD45 (PC5), CD34 (FITC) und CD309 (VEGFR-2/KDR, PE) markiert und mittels Durchflusszytometrie analysiert. Mittels

Magnetic Nanoparticles wurden die CD34 positiven Zellen selektiert, in Methocult (Stem Cell Technologies) kultiviert und Colony Forming Units Assays (CFUs) durchgeführt. Gleichzeitig wurden Veränderungen der isometrischen Maximalkraft in den Extremitäten (M3, Firma Schnell), das subjektive Schmerzempfinden (McGill Pain-Questionnaire (Short Form, Deutsche Version)), das Blutbild, das hsCRP, der Kreatinkinase (CK) und des LDH bestimmt. Weiterhin wurde nach ausgewählten Belastungsformen noch das IL-1beta, der IL1-ra, das IL-6, das MCP-1 sowie das TNF-alpha gemessen.

Resultate

Nach der intensiven AB kam es direkt bis 24 Stunden nach der Belastung zu einem signifikanten Anstieg der HPCs (CD45+, CD34+) und der EPCs (CD45-, CD34+, CD309+) und einer Zunahme der CFUs zu den entsprechenden Zeitpunkten (Abb. 1 A). Nach der Kraftbelastung kam es nur zum Zeitpunkt 3 Stunden (HPCs) bzw. 24 Stunden (EPCs) nach der Belastung zu einem signifikanten Anstieg der Vorläuferzellen, wobei die CFUs signifikant bis 24 Stunden nach Belastungsende erhöht waren (Abb.1 B).

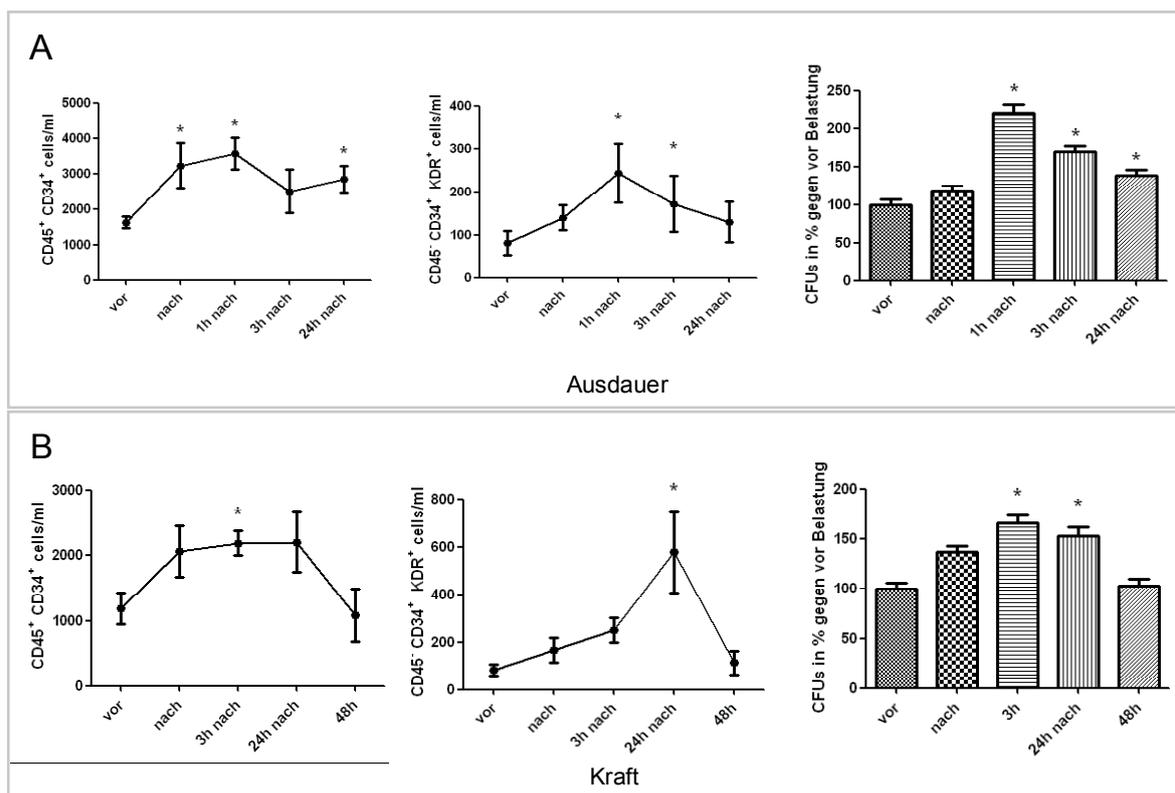


Abb. 1 A und B. Anzahl der HPCs und EPCs sowie der resultierenden CFUs vor, nach, 3 Stunden nach, 24 Stunden nach und 48 Stunden nach einer Ausdauerbelastung (A), Kraftbelastung (B).

Nach der exzentrischen Belastung kam es zu einem signifikanten Anstieg beider Vorläuferzelltypen, wobei erhöhte EPCs noch bis 48 Stunden nach der Belastung messbar waren. Auch die Anzahl der CFUs blieb bis weit in die Nachbelastungsphase erhöht (Abb. 1 C).

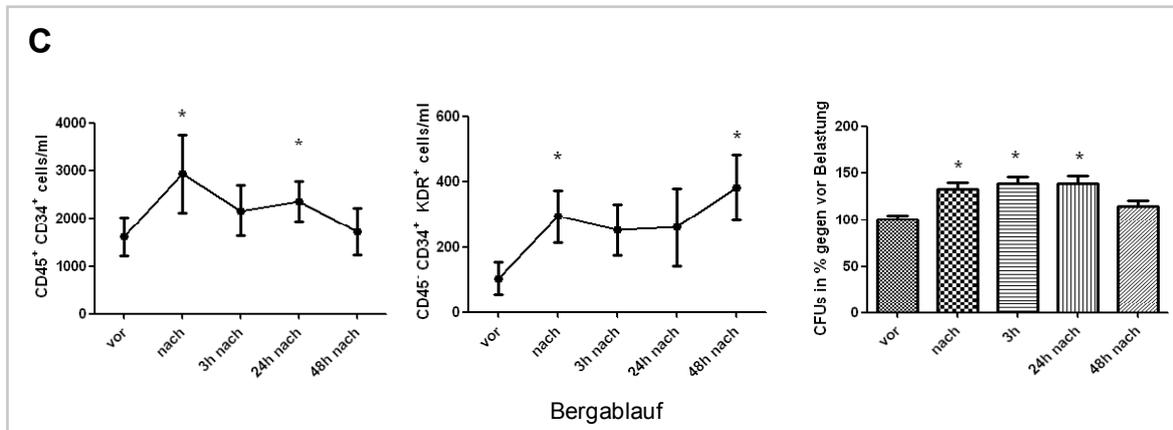


Abb. 1C. Anzahl der HPCs und EPCs sowie der resultierenden CFUs vor, nach, 3 Stunden nach, 24 Stunden nach und 48 Stunden nach einer exzentrischen Belastung (C).

Eine je nach Belastungsform ebenfalls leicht differierende Kinetik zeigten die subjektiven und objektiven Parameter des Belastungs- / Erholungszyklus (Tab. 1)

Tab. 1. Zeitverlauf verschiedener subjektiver und objektiver Parameter des Belastungs-Erholungszyklus vor, nach, 3h nach, 24h nach und 48h nach einer Ausdauerbelastung (A), einer Kraftbelastung (B) und einer exzentrischen Belastung auf dem Laufband (C).

A	vor	nach	1h nach	3h nach	24h nach
Kraft (NM)	204,4 ± 15,6	206,0 ± 15,2	193,9 ± 13,4*	192,7 ± 14,2*	196,2 ± 14,2
Schmerz (Score)	0,4 ± 0,1	30,3 ± 6,8	12,7 ± 3,54*	12,0 ± 3,3*	6,0 ± 2,1
CK (U/L)	124,5 ± 10,0	153,5 ± 13,5	175,4 ± 16,9*	333,0 ± 53,0*	428,5 ± 76,0*
LDH (U/L)	178,9 ± 10,6	187,0 ± 5,1	180,8 ± 6,6	197,5 ± 7,8*	179,9 ± 5,6
CRP (mg/l)	0,58 ± 0,12	0,57 ± 0,11	0,55 ± 0,11	0,50 ± 0,10	0,92 ± 0,12*

B

	vor	nach	3h nach	24h nach	48h nach
Kraft (NM)	360,4 ± 42,1	341,6 ± 32,2	401,9 ± 38,9	361,3 ± 35,9	357,1 ± 40,1
Schmerz (Score)	0,0 ± 0,0	36,0 ± 6,8*	22,4 ± 5,6*	27,3 ± 3,5*	24,2 ± 5,1*
CK (U/L)	281,2 ± 47,1	531,5 ± 152,1*	634,4 ± 224,1*	948,7 ± 124,2*	1938,5 ± 973,2*
LDH (U/L)	187,5 ± 10,3	203,3 ± 9,7	205,8 ± 8,9*	198,9 ± 8,4*	260,5 ± 41,6*
CRP (mg/l)	0,51 ± 0,06	0,52 ± 0,12	0,51 ± 0,12	0,57 ± 0,07*	0,40 ± 0,12

C

	vor	nach	3h nach	24h nach	48h nach
Kraft (NM)	394,7 ± 32,5	324,4 ± 36,7	328,5 ± 35,4*	353,3 ± 36,6*	357,2 ± 26,7*
Schmerz (Score)	1,0 ± 0,7	48,1 ± 6,2*	35,8 ± 11,9*	43,7 ± 8,5*	35,3 ± 11,0*
CK (U/L)	200,0 ± 48,4	289,8 ± 57,6	796,6 ± 134,6*	1178,3 ± 190,6*	588,7 ± 101,2*
LDH (U/L)	188,4 ± 17,0	224,8 ± 19,7	256,0 ± 18,6*	217,2 ± 11,4	193,4 ± 7,5
CRP (mg/l)	0,85 ± 0,22	0,91 ± 0,33*	0,87 ± 0,32	3,19 ± 0,94*	1,91 ± 0,50*

Tab. 1 zeigt den Verlauf andere Parameter des Belastungs- / Erholungszyklus nach der AB (A), KB (B) und der exB (C). Hier zeigte sich, dass sich alle Belastungstypen in der Kinetik und Qualität der subjektiven und objektiven Parameter im Regenerationsverlauf unterscheiden.

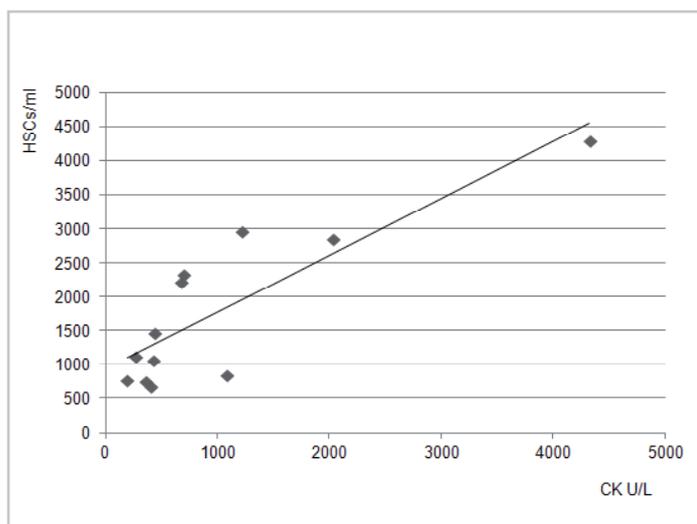


Abb. 2. Korrelationsanalyse zwischen den CK-Werten 24 Stunden nach Belastung mit der Anzahl der mobilisierten HPCs/ml ($r = 0,84, p < 0,05$)

Die Anzahl der Vorläuferzellen wurde zu unterschiedlichen Zeitpunkten mit den Parametern des Belastungs- / Erholungszyklus korreliert. Hier zeigte sich, dass die Anzahl der HPCs zu verschiedenen Zeitpunkten mit der Höhe der CK-Werte korrelierte. So ergab sich hier z. B. 24 Stunden nach Ende der Kraftbelastung eine positive Korrelation von $r = 0,84$, $p < 0,05$ (Abb. 2).

Neben Zusammenhängen zwischen den HPCs und weiteren objektiven Parametern der Muskeldestruktion bzw. des inflammatorischen Geschehens (wie z. B. auch dem hsCRP nach exzentrischen Belastungen) konnten gleichzeitig positive Zusammenhänge von HPCs und dem subjektiven Muskelschmerz ermittelt werden (z. B. nach AB $r = 0,68$, $p < 0,05$).

Korrelationen von EPCs mit den ermittelten Parametern des Belastungs-Erholungszyklus fielen weniger deutlich aus. Hier zeigten sich Trends, die einen positiven Zusammenhang zwischen der Anzahl der EPCs und der Wiederherstellung der Muskelfunktion darstellten. So ergab sich z. B. eine signifikante positive Korrelation zwischen der Anzahl der EPCs und der isometrischen Maximalkraft der Oberschenkelmuskulatur ($r = 0,66$, $p < 0,05$).

Neben den o. g. Zusammenhängen wurden selektiv Zusammenhänge der mobilisierten HPCs und EPCs zu weiteren biochemischen Parametern untersucht. Hier zeigten sich bei den HPCs positive Zusammenhänge zwischen den Vorläuferzellen und dem IL-8 sowie dem Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1).

Diskussion und Ausblick

Unterschiedliche Belastungsformen zeigen eine differenzierte Qualität und unterschiedliche Kinetik der Mobilisation der Vorläuferzellen. Korrelationsanalysen zu selektiven Zeitpunkten geben Hinweise auf Zusammenhänge mit anderen Parametern des Belastungs- / Erholungszyklus. So scheint die Mobilisation der HPCs einen Zusammenhang zu Muskeldestruktionsmarkern und dem Entzündungsgeschehen zu haben. Die Zusammenhänge der mobilisierten EPCs zu den anderen gemessenen Parametern erwiesen sich als weniger deutlich. Hier ließen sich eher positive Zusammenhänge zwischen der Anzahl der mobilisierten Zellen und der Wiederherstellung der Muskelfunktion feststellen.

Die vorliegende Studie lässt vermuten, dass sich Vorläuferzellen durchaus als zelluläre Marker des Belastungs- / Erholungsprozesses eignen. So scheinen die Anzahl und Funktionalität der Vorläuferzellen Hinweise darauf zu geben, in welchem Stadium der Regeneration sich eine Athletin bzw. ein Athlet befindet und inwieweit Reparatur- / Anpassungsprozesse fortgeschritten sind. Die vorliegenden Daten weisen für die Trainingspraxis die HSCs als effektivere Marker aus, da sie in höherer Anzahl vorhanden sind, deutlichere Zusammenhänge zum Erholungszyklus zeigen und einfacher zu detektieren sind.

Für den Nutzen von Vorläuferzellen als diagnostische Biomarker spricht, dass sie sich in sehr geringen Blutmengen messen lassen und auch die Aufarbeitung des Blutes recht schnell durchzuführen ist (Vollblut-Erythrozytenlyse). Gleichwohl ist Fachwissen erforderlich, um Anzahl und Funktionalität zu bestimmen. Notwendig erscheinen weitere Studien, die grundlagenwissenschaftlich die Rolle der Vorläu-

ferzellen bei der Reparation / Adaptation näher untersuchen. Gleichzeitig wären weitere Studien wünschenswert, die Veränderungen der Vorläuferzellen über einen längeren Zeitraum im Rahmen eines sportlichen Trainings untersuchen.

Literatur

- Clarke, D. H. (1973). Adaptations in strength and muscular endurance resulting from exercise. *Exercise and sport sciences reviews*, 1 (1), 73-107.
- Conlee, R. K. & Fisher, A. G. (1979). Skeletal muscle adaptations to growth and exercise. *The Nurse practitioner*, 4 (3), 34-35, 55.
- Huston, T. P., Puffer, J. C. & Rodney, W. M. (1985). The athletic heart syndrome. *The New England journal of medicine*, 4, pp. 24-32.
- Laufs, U., Urhausen, A., Werner, N., Scharhag, J., Heitz, A., Kissner, G., Bohm, M., Kindermann, W. & Nickenig, G. (2005). Running exercise of different duration and intensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*, 12 (4), 407-414.
- Laufs, U., Werner, N., Link, A., Endres, M., Wassmann, S., Jurgens, K., Miche, E., Bohm, M. & Nickenig, G. (2004). Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*, 109 (2), 220-226.
- Morganroth, J., Maron, B. J., Henry, W. L. & Epstein, S. E. (1975). Comparative left ventricular dimension in trained athletes. *Annals of internal medicine*, 82 (4), pp. 521-524.