



universität
wien

Magisterarbeit

Titel der Magisterarbeit

Regeneration der Skelettmuskulatur durch Stammzellen

Verfasserin

Barbara Hopfgartner

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, April 2010

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 066 826

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Magisterstudium Sportwissenschaft

Betreuerin:

Dipl.-Ing. Dr. Barbara Wessner

Vorwort

Immer schon war mein Interesse am Sport wie auch an der Medizin sehr groß. Schon am Beginn meines Magisterstudiums Sportwissenschaften wurde meine Aufmerksamkeit über molekulare und zellbiologische Vorgänge geweckt. Aus diesem Grund stand für mich schon früh fest, meine Magisterarbeit über Stammzellen in der Sportmedizin zu schreiben.

Jedoch ohne die Unterstützung vieler Personen wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen. Ohne alle namentlich zu nennen gebührt ihnen ein herzliches Dankeschön. Im Speziellen danke ich Herrn O. Univ.-Prof. Dr. Norbert Bachl für die Genehmigung der inhaltlichen Thematik und Frau Dipl.-Ing. Dr. Barbara Wessner für die Ermöglichung der Arbeit und für die konstruktive Betreuung.

Abstract (englisch)

This master thesis focus on the basic biology of stem and progenitor cells, espacially satellite cells. Adult skeletal muscle is rich on a population of muscle stem and progenitor cells. They are called satellite cells and are located under the basal lamina of muscle fibres. Satellite cells become activated upon injury, proliferate and differentiate into new muscle fibres. Their main function is to mediate postnatal muscle growth, repair and maintenance of skeletal muscle. Furthermore cellular and meolecular mechanismen of activation, proliferation and differentiation are demonstrated.

Because of the enormous potential of satellite cells in regeneration the attention for stem and progenitor cell depent regeneration increased intensively in sports medicine in the last years. Increasingly new cellular methods are used to examine the influence of physical activity on stem and progenitor cell-mediated musculoskeletal regeneration. There are strong evidence that especially resistance training, but also endurance training, have an influence on the pool of satellite cells. Physical activity influence the activation, proliferation and differentiation of satellite cells. These are important mechanismen for muscle adaptation, including repair, regeneration and hypertrophy. In this thesis a lot of studies are shown that support the potential of physical activity in the regeneration of skeletal muscle.

Unfortunately, sports injuries increased dramatically over the years. Sports injuries usually involve tissues that display a limited capacity for healing. In the last years the treatment of these injuries has improved, but up to today no optimal solution has been found for treatment of sports-related injuries, inclusive muscle, ligament and tendon injuries. New molecular approaches focus on the treatment of these injuries. These methods belong to tissue engineering. Treatment with growth factors stimulate and accelerate the healing. But also cell therapy and gene therapy are promising.

However, tissue engineering could also be used for illegal increase of physical performance. Therefore it is to be hoped, that methods which detect gene doping will bei developed sufficiently as soon as possible.

Abstract (deutsch)

Die vorliegende Magisterarbeit konzentriert sich auf die Grundlagenbiologie von Stamm- und Vorläuferzellen, speziell in der Skelettmuskulatur. Der adulte Skelettmuskel ist reich an Muskelstammzellen und deren Vorläuferzellen, den sogenannten Satellitenzellen, welche unter der Basallamina der Muskelfasern lokalisiert sind. Satellitenzellen werden vor allem bei einer Schädigung des Skelettmuskels aktiviert. In weiterer Folge proliferieren und differenzieren sie in neue Muskelfasern. Somit liegen die Hauptaufgaben der Satellitenzellen im postnatalen Muskelwachstum, Reparatur und Aufrechterhaltung von Skelettmuskulatur.

Aufgrund des enormen Potentials der Satellitenzellen in der Regeneration von Skelettmuskulatur, ist das Interesse an der Stamm- und Vorläuferzellen vermittelten Regeneration in der Sportmedizin in den letzten Jahren stark gestiegen. Immer mehr neue zelluläre Methoden werden angewendet um den Einfluss von körperlicher Belastung auf die Stamm- und Vorläuferzellen vermittelte muskuloskeletale Regeneration zu untersuchen. Es sind genügend Studien vorhanden, die besagen, dass vor allem Krafttraining, aber auch Ausdauertraining, einen Einfluss auf den Satellitenpool haben. Gezielte körperliche Belastung beeinflusst die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung der Satellitenzellen. Dies sind wichtige Mechanismen für die Muskeladaptation, welche Reparatur, Regeneration und Hypertrophie beinhaltet.

Über die letzten Jahre kam es zu einem Anstieg an Sportverletzungen. Sportverletzungen betreffen für gewöhnlicher Weise Gewebe, die einer limitierenden Heilungsfähigkeit unterliegen. In den letzten Jahren kam es zu einer Verbesserung der Behandlungen von Sportverletzungen, jedoch gibt es bis heute noch keine optimale Strategien für die Behandlung von Sportverletzungen betreffend der Muskel, der Bänder und der Sehnen. Neue molekulare Zugänge fokussieren sich auf die Behandlung solcher Verletzungen. Diese Techniken gehören dem „Tissue engineering“ an. Die Behandlung mit Wachstumsfaktoren stimulieren und beschleunigen den Heilungsprozess. Zelltherapie und Gentherapie sind ebenfalls vielversprechend.

Das „Tissue engineering“ könnte in Zukunft leider auch missbräuchlich für die illegale Leistungssteigerung im Sport eingesetzt werden. Deswegen ist zu hoffen, dass erfolgreiche und sichere Methoden, welche Gendoping aufzeigen, schnell und effizient entwickelt werden.

1	<u>EINLEITUNG</u>	3
2	<u>BEGRIFFSERKLÄRUNG</u>	5
2.1	STAMMZELLE	5
2.2	PROGENITORZELLE	6
3	<u>EINTEILUNG VON STAMMZELLEN</u>	7
4	<u>ADULTE STAMMZELLEN</u>	9
4.1	STAMMZELLTYPEN DER ADULTEN STAMMZELLE	9
4.2	ENTWICKLUNG EINER STAMMZELLE	10
4.3	GRUND FÜR DIE DIFFERENZIERUNG VON STAMMZELLEN	11
4.4	PHÄNOMEN DER TRANS-DIFFERENZIERUNG	11
5	<u>ENDOTHELIALE PROGENITORZELLE</u>	14
5.1	DEFINITION UND ROLLE DER ENDOTHELIALEN PROGENITORZELLE	14
5.2	DIFFERENZIERUNG DER ENDOTHELIALE PROGENITORZELLE	15
5.3	MARKER DER ENDOTHELIALEN PROGENITORZELLE	16
6	<u>MESENCHYMALE STAMMZELLEN</u>	18
6.1	DEFINITION UND ROLLE DER MESENCHYMALEN STAMMZELLE	18
6.2	DIFFERENZIERUNG DER MESENCHYMALEN STAMMZELLE	18
6.3	MARKER DER MESENCHYMALEN STAMMZELLE	19
7	<u>HÄMATOPOETISCHE STAMMZELLEN</u>	21
7.1	DEFINITION UND ROLLE DER HÄMATOPOETISCHEN STAMMZELLE	21
7.2	DIFFERENZIERUNG DER HÄMATOPOETISCHEN STAMMZELLEN	21
7.3	MARKER DER HÄMATOPOETISCHEN STAMMZELLE	23
8	<u>STAMM- UND VORLÄUFERZELLEN DES SKELETTMUSKELS</u>	25
8.1	SATELLITENZELLEN	25
8.1.1	LOKALISATION DER SATELLITENZELLEN IM SKELETTMUSKEL	25
8.1.2	URSPRUNG UND ENTWICKLUNG DER SATELLITENZELLEN	26
8.2	MUSCLE SIDE-POPULATION CELLS	27
8.3	DYSREGULATIONEN DER SATELLITENZELLEN	27
8.3.1	MUSKULÄRE DYSTROPHIE	28
8.3.2	ATROPHISCHER REIZ/MUSKELATROPHIE	29
8.3.3	SATELLITENZELLEN IM ALTERUNGSPROZESS	29
9	<u>MECHANISMEN DER REGENERATION UND WIEDERHERSTELLUNG DER SKELETTMUSKULATUR</u>	31
9.1	ZELLULÄRE MECHANISMEN DER MUSKELREGENERATION	32
9.2	MOLEKULARE MECHANISMEN DER STILLLEGUNG, AKTIVIERUNG, PROLIFERATION UND DIFFERENZIERUNG VON SATELLITENZELLEN	35
9.2.1	STILLLEGUNG	35
9.2.2	AKTIVIERUNG, PROLIFERATION UND DIFFERENZIERUNG	36
9.2.3	SELBSTERNEUERUNG	38

9.3 SIND SATELLITENZELLE EINE HOMOGENE ODER EINE HETEROGENE GRUPPEN AN SATELLITENZELLEN?	38
<u>10 AUSWIRKUNGEN VON KÖRPERLICHEM TRAINING AUF DIE AKTIVIERUNG VON SATELLITENZELLEN</u>	<u>41</u>
10.1 AUSWIRKUNGEN VON MEHRWÖCHIGEN KRAFTTRAINING AUF DIE AKTIVIERUNG VON SATELLITENZELLEN	41
10.2 AUSWIRKUNGEN EINER EINZIGEN KRAFTTRAININGSEINHEIT AUF DIE AKTIVIERUNG DER SATELLITENZELLEN	54
10.3 AUSWIRKUNGEN VOM MEHRWÖCHIGEN AUSDAUERTRAINING AUF DIE AKTIVIERUNG VON SATELLITENZELLEN	58
<u>11 MOLEKULARE ANSÄTZE IN DER SPORTMEDIZIN</u>	<u>63</u>
11.1 TISSUE ENGINEERING IN DER SPORTMEDIZIN	63
11.2 WACHSTUMSFAKTOREN	64
11.3 GENTHERAPIE	66
11.4 ZELLTHERAPIE	68
11.4.1 GRUNDLEGENDES	69
11.4.2 REGENERATION VON KNORPEL	70
11.4.3 REGENERATION VON SEHNEN UND BÄNDER	70
11.4.4 REGENERATION VON SKELETTMUSKULATUR	71
<u>12 DISKUSSION</u>	<u>76</u>
<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>79</u>
<u>ABBILDUNGS- UND TABELLENVERZEICHNIS</u>	<u>83</u>
<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	<u>86</u>

1 Einleitung

Umbau- und Regenerationsprozesse des menschlichen Organismus durch körperliches Training laufen unter Beteiligung von Stamm- und Vorläuferzellen ab. Es ist bekannt, dass körperliche Aktivität einen Einfluss auf die Regeneration der Skelettmuskulatur und auf das Kardiovaskulär- und Vaskulärsystem des Körpers hat. Außer für die Skelettmuskulatur ist bis heute über den Einfluss von körperlichem Training auf die Stamm- und Vorläuferzellen-vermittelte Regeneration noch relativ wenig bekannt. In allen Bereichen sind Fragen nach der durch Training induzierten Aktivierung und Mobilisierung der Stamm- und Vorläuferzellen, sowie der einbezogenen Faktoren und zugrunde liegenden Mechanismen offen (Bloch & Brixius, 2006a).

In den letzten Jahren hat sich der Fokus der sportmedizinischen Forschung und ihrer praktischen Anwendung durch das Einbeziehen von zellulären, subzellulären und extrazellulären Veränderungen in Organen und Gewebe erweitert. Die moderne Sportmedizin nutzt vermehrt molekular- und zellbiologische Untersuchungsverfahren und Erkenntnisse zur Untersuchung von funktionellen und strukturellen Anpassungsprozessen auf körperliche Belastung (Bloch, 2007).

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem Regenerationspotential der Skelettmuskulatur durch Stammzellen. Anfangs werden die Grundlagen der Stammzellen zusammengefasst und weiters wird ein Überblick über die verschiedenen Typen der adulten Stammzellen gegeben. Auf die Stamm- und Vorläuferzellen, besonders auf die Satellitenzellen, des Skelettmuskels wird besonders Rücksicht genommen. Neben der Lokalisation dieser Zelle, werden Dysregulation und ihr Beitrag im Alterungsprozess besprochen.

Da der Skelettmuskel die Fähigkeit besitzt sich an Stressoren anzupassen und umfangreiche Beschädigungen zu reparieren, werden kurz die zellulären und molekularen Mechanismen der Muskelregeneration aufgezeigt.

Der Hauptteil gibt einen Überblick über den Stand der Forschungen bezüglich der Auswirkungen von Kraft- und Ausdauertraining auf die Aktivierung von Satellitenzellen. Hierbei wird aufgezeigt, in wie weit Stamm- und Vorläuferzellen in die Regeneration von Skelettmuskulatur eingreifen und welche Rolle sie dabei spielen.

Der abschließende Teil befasst sich mit den molekularen Ansätzen der Behandlung von Muskel-Skelett-Verletzungen in der Sportmedizin. Da jährlich Millionen Menschen sich muskuloskeletale Verletzungen zu ziehen, versucht man neben den konventionellen Therapien, neue und effizientere Methoden der Regeneration zu erforschen. Konkret handelt es sich hierbei um das Tissue Engineering. Grundlegendes des Tissue

Engineering, sowie die Beeinflussung durch Wachstumsfaktoren, Gentherapie und besonders die Zelltherapie in der Regeneration von muskuloskeletalen Verletzungen werden erläutert. Die Arbeit wird durch eine Diskussion der inhaltlichen Themen abgerundet.

2 Begriffserklärung

2.1 Stammzelle

Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts und Walter (2004, S. 1755) definieren die Stammzelle als eine verhältnismäßig undifferenzierte Zelle, die sich unbegrenzt und dauernd teilen kann und dabei Tochterzellen abgibt, die zu bestimmten Zelltypen enddifferenziert werden können.

Jede Tochterzelle, die bei der Teilung einer Stammzelle entsteht, kann entweder Stammzelle bleiben (Selbsterneuerung) oder sich zu einer endgültig differenzierten Zelle weiterentwickeln (siehe Abbildung 1). Die endgültige Differenzierung umfasst mehrere Schritte aus zusätzlichen Zellteilungen, bis die Tochterzelle den Zustand endgültiger Spezialisierung erreicht.

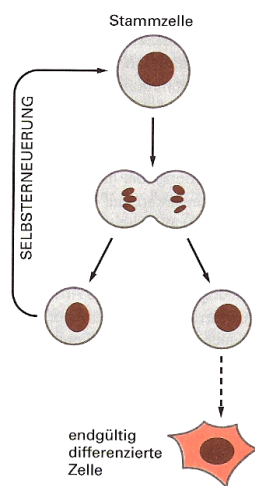


Abbildung 1: Selbsterneuerung und Differenzierung der Stammzelle (Alberts et al., 2004, S. 1473)

Die beiden Tochterzellen einer Stammzelle müssen sich nicht immer unterschiedlich entwickeln. Stammzellen können sich nämlich auf zwei unterschiedliche Wege teilen. Entweder nach dem Schema einer symmetrischen Teilung oder einer asymmetrischen.

Erfolgt die Teilung ausschließlich zur Erhaltung des Stammzellenpools, erfolgt eine symmetrische Teilung. Soll jedoch eine Tochterzelle in weiterer Folge zu einer differenzierten Zellen werden, so teilt sich die Stammzelle asymmetrisch (siehe Abbildung 2).

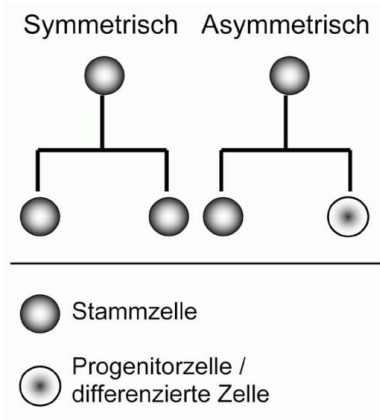


Abbildung 2: Symmetrisches und Asymmetrisches Teilungsmuster einer Stammzelle (Koestenbauer et al., 2006, S. 324)

Wie in Abbildung 2 ersichtlich, entsteht bei symmetrischen Teilung zwei mit der Ursprungszelle identische Tochterzellen und bei der asymmetrischen Teilung eine selbst erneuerungsfähige Stammzelle und eine differenzierte Tochterzelle (=Progenitorzelle oder auch Vorläuferzelle). Der Grund für eine symmetrische oder asymmetrische Teilung ist bis jetzt noch weitgehend unbekannt. Jedoch nimmt man an, dass es sich dabei um ein Prinzip handelt, das auf vererbten Faktoren der Mutterzelle oder auf Umwelteinflüssen beziehungsweise auf beidem basiert (Koestenbauer, Zech & Dohr, 2006).

2.2 Progenitorzelle

Die Progenitorzelle ist ein Abkömmling einer pluripotenten adulten Stammzelle. Es handelt sich dabei um eine Zelle, die bereits eine partielle Differenzierung beziehungsweise eine Determination durchgemacht hat und grundsätzlich auf einen bestimmten zellulären Differenzierungsweg festgelegt ist (Bloch, Brixius, Schmidt & Wahl, 2006b).

3 Einteilung von Stammzellen

Stammzellen können nach zwei Gesichtspunkten eingeteilt werden: bezüglich ihres Entwicklungsstadiums oder ihres Entwicklungspotentials in vivo¹ (Koestenbauer et al., 2006).

Entwicklungspotential	Entwicklungsstadium
Totipotent	Blastomeren bis zum 8-Zellstadium
Pluripotent 	Embryonale Stammzellen (ESs, ECs, EGs)
	Fetale Stammzellen
	Adulte Stammzellen (HSCs, NSCs, MSCs, ...)

Abbildung 3: Entwicklungspotential und Entwicklungsstadien der Stammzelle (ESs = embryonale Stammzellen; ECs = embryonale Teratokarzinom-Stammzellen; EGs = primordiale Stammzellen; HSCs = hämatopoetische Stammzellen; NSCs = neurale Stammzellen; MSCs = mesenchymale Stammzellen) (Koestenbauer et al., 2006, S. 325)

Bezogen auf die Entwicklungsstadien unterscheidet man Blastomere bis zum 8-Zellstadium, embryonale Stammzellen (Zellen aus der Embryonalphase), fetale Stammzellen (Zellen aus der Fetalphase) und adulte Stammzellen.

Totipotente (gleich omnipotente) Stammzellen findet man ausschließlich in der Embryonalentwicklung bis zum 8-Zellstadium. Diese Art von Zellen haben noch die Fähigkeit einen gesamten Organismus zu generieren. Dies heißt, dass diese Stammzellenart zu einem vollständigen Lebewesen heranreifen kann (Döhmen & Reis, 2002). Sie gehören damit zur obersten Hierarchieebene woraus dann durch Zellteilungen und dabei stattfindenden Differenzierungsvorgänge pluripotente Stammzellen hervorgehen (Heinemann & Kersten, 2007). Über das 8-Zellstadium hinaus wird das Potential der Zellen auf die Pluripotenz begrenzt.

Pluripotente Stammzellen sind solche, aus denen sich die unterschiedlichsten Gewebe des menschlichen Körpers entwickeln können. Der Unterschied zur totipotenten Stammzelle liegt daran, dass aus der Pluripotenten kein komplettes Individuum mehr entstehen kann. Zu dieser Gruppe gehören, wie in Abbildung 3 ersichtlich sind, die embryonalen Stammzellen und nichtembryonalen Stammzellen. Zu den nichtembryonalen

¹ im lebenden Organismus

Stammzellen zählen die fetalen Stammzellen (zum Beispiel Nabelschnurstammzellen) sowie die adulten – erwachsenen – Stammzellen (Döhmen et al., 2002).

Embryonale Stammzellen (ES) werden gewonnen indem sie dem Embryo aus der inneren Zellmasse der Blastozyste² entnommen werden. In diesem Stadium sind diese nicht mehr totipotent, welches bedeutet, dass kein eigenständiges Lebewesen mehr entstehen kann. Sie können jedoch noch zu mehr als 200 verschiedenen Gewebetypen heranwachsen (Döhmen et al., 2002).

Die fetale Stammzelle ist eine pluripotente Stammzelle. Ihr Vorteil gegenüber der adulten Stammzelle in späteren Lebensjahren besteht darin, dass sie noch weitgehend durch Keime und mögliche maligne³ transformierte Zellen unbelastet zu sein scheint (Döhmen et al., 2002).

Auf die embryonale und fetale Stammzelle wird in dieser Arbeit nicht näher eingegangen, da dies für die weiteren Themen der Magisterarbeit nicht als relevant erscheint. Es wird im Weiteren nur von den humanen adulten Stammzellen spezieller berichtet.

² Keimblase (im Entwicklungsstadium nach dem 8-Zellstadium)

³ bösartig

4 Adulte Stammzellen

Als adulte Stammzellen werden jene Zellen bezeichnet, die in einem Organ für die Regeneration dieses Organs zur Verfügung stehen und vom Organismus für diese Aufgabe vorbehalten werden. Bis vor ein paar Jahren wurden diese Zellen als monopotent angesehen, nur für die eine Aufgabe vorbereitet, ihr Organ regenerationsfähig zu halten (Döhmen et al., 2002). Lange Zeit nahm die Wissenschaft an, dass adulte Stammzellen nur in Gewebe, die eine hohe zelluläre „turn-over“-Rate aufweisen, vorkommen (zum Beispiel Haut, Blut, Darm,...) und nur Zelltypen ihres Ursprungsgewebes bilden können. Diese Eigenschaft, sich im Verlauf des Differenzierungsprozesses innerhalb der eigenen Zell-Linie, aus der sie stammen, zu entwickeln, nennt man Plastizität. Zum Beispiel werden hämatopoetische Stammzellen (HSCs) zu allen Zellen des Blutsystems (Koestenbauer et al., 2006).

Jedoch wurde 1998 eine neue Fähigkeit der Stammzellen entdeckt. Das Phänomen der „Trans-Differenzierung“. Auf dieses Phänomen wird in Kapitel 4.4 noch näher eingegangen.

4.1 Stammzelltypen der adulten Stammzelle

In den vergangenen Jahren haben die Wissenschaftler eine große Anzahl an Stamm- und Vorläuferzellen für unterschiedliche Zellarten gefunden (siehe Abbildung 4). Stamm- und Vorläuferzellen weilen im menschlichen Organismus im Knochenmark, in anderem Gewebe oder zirkulieren zum Teil im Blut (Asahara & Kawamoto, 2004).

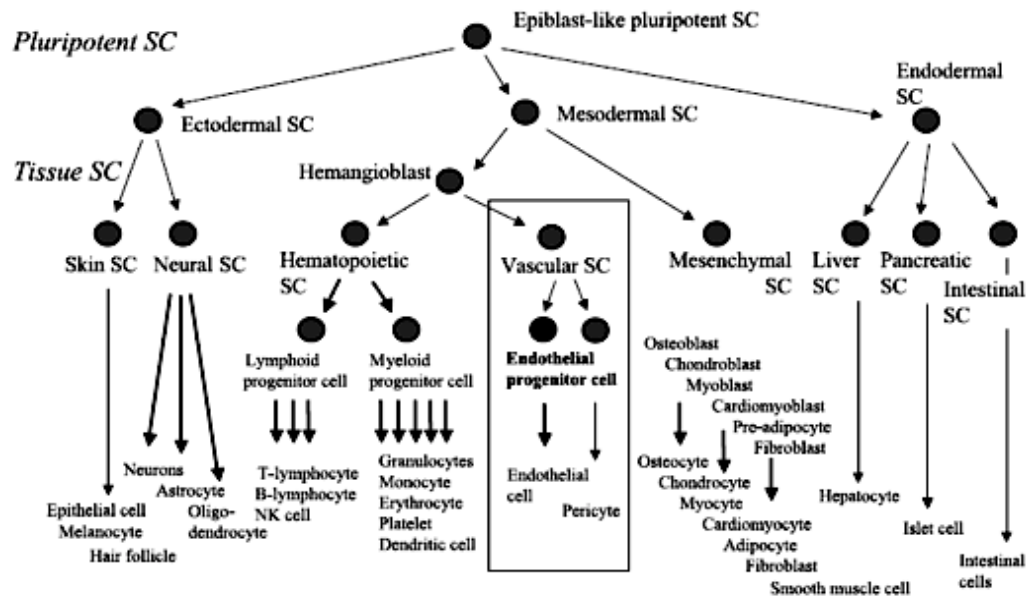


Abbildung 4: Postnatale Stamm- und Vorläuferzellen (Asahara, et al, 2004)

Das Knochenmark im adulten Organismus ist der Ort, der vor allem Stamm- und Vorläuferzellen aufweist. Dort sind es zwei verschiedene Stammzelltypen- die hämatopoetischen (hematopoetic stem cells, HSC) und die mesenchymalen (mesenchymal stem cells, MSC) Stammzellen. Wobei sich die hämatopoetischen Stammzelle zu allen Zellen des Blutes und die mesenchymalen zu verschiedenen anderen Zelltypen, wie zum Beispiel zu Muskelzellen oder Osteoblasten differenzieren können. Endotheliale Vorläuferzellen sind überwiegend im Gefäßsystem anzufinden, und besitzen die Fähigkeit zu Endothelzellen zu differenzieren. Ein weiterer Typ sind die Satellitenzellen (adulte Skelettmuskel-Stammzellen), deren Herkunft der Skelettmuskel darstellt. Weiters gehören unter anderem zu den Stammzelltypen noch die neurale Stammzelle und die kardiale Progenitorzelle, welche vorwiegend im Gehirn beziehungsweise im Herzen anzutreffen sind (siehe auch Abbildung 6).

4.2 Entwicklung einer Stammzelle

Mit dem abgeschlossenen 8-Zellstadium der embryonalen Stammzelle entwickelt sich die Blastozyste. Aus den Keimscheibenzellen (Embryoblast; innere Zelle Masse (ICM))

entstehen die drei Keimblätter⁴ mit ihren dazugehörigen Stammzellen, die zu den Gewebszellen (zum Beispiel neuronale Stammzellen) werden. Wie schon anfangs erwähnt, erhalten die Gewebszellen ihren Pool durch Autoreproduktion und entwickeln sich über die Vorläuferzellen zu den differenzierten Zellen (siehe Abbildung 5).

4.3 Grund für die Differenzierung von Stammzellen

Der menschliche Organismus beinhaltet zirka 200 verschiedene Zelltypen. Jeder dieser Zelltypen hat eine bestimmte Aufgabe im menschlichen Körper, deren Erfüllung spezielle biochemische und mechanische Funktionalitäten erfordert. Diese Funktionalitäten entstehen durch Differenzierung der Zellen aus Vorläufer- und Stammzellen. Der Prozess der Zelldifferenzierung erfolgt kontinuierlich im Organismus, aufgrund von programmierten Zelltod (Apoptose), Verletzungen, Blutungen oder anderer Ursachen. Dieser Nachschub an Stammzellen muss permanent stattfinden, um einerseits den natürlichen Zellverlust durch Alterung auszugleichen und andererseits bei Erkrankungen oder stärkeren Verletzungen die Regenerationsfähigkeit des Körpers zu gewährleisten (Maurer, 2006).

4.4 Phänomen der Trans-Differenzierung

Die Trans-Differenzierung (=hohe Plastizität; Transdetermination) bedeutet, dass die Stammzelle auch die Fähigkeit besitzt aus einem bestimmten adulten Gewebe in eine reife Zelle eines anderen Gewebes zu differenzieren (Koestenbauer et al., 2006). So konnten 1998 Ferrari und sein Team erstmals zeigen, dass Stammzellen wesentlich mehr Zelltypen bilden können als nur die ihres Ursprunggewebes. Es gelang ihnen der Beweis, dass aus Stammzellen des Knochenmarks Muskelzellen entstehen können (Ferrari, Cusella-De Angelis, Coletta, Paolucci, Stornaiuolo, Cossu & Mavilio, 1998). Diese Trans-

⁴ Die Keimblätter sind die ersten Differenzierungen in der Embryonalentwicklung in unterschiedliche Zellschichten, aus denen sich anschließend verschiedene Strukturen, Organe und Gewebe entwickeln. Ein Embryo hat drei Keimblätter. Dazu zählen das Ektoderm (äußeres Keimblatt), das Mesoderm (mittleres Keimblatt) und das Entoderm (inneres Keimblatt). Aus dem Ektoderm entwickelt sich in weiterer Folge unter anderem das zentrale und periphere Nervensystem, die Sinnesorgane und die Epidermis (Epithel). Das Mesoderm bildet unter anderem die Muskulatur, die Wirbelsäule, Herz, Nieren, Genitalgänge und Schichten der Darmwand und das Entoderm zum Beispiel Schilddrüsen, Respirationstrakt, Leber und die epitheliale Auskleidung des Magen-Darm-Kanals (Sadler, 1998).

Differenzierung kann sowohl innerhalb des Keimblattes aber auch über die Grenze eines Keimblattes hinweg stattfinden (siehe Abbildung 5).

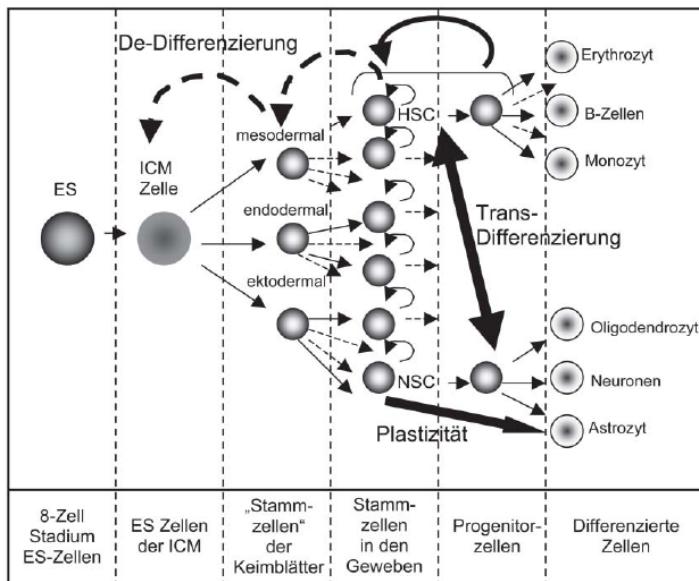


Abbildung 5: Stammzellenbaum und Phänomen der Trans-Differenzierung (Koestenbauer et al., 2006).

Es folgten zahlreiche Untersuchungen und so konnte zum Beispiel 2001 berichtet werden, dass beim Menschen eine Knochenmarkszellen über den Herzkatheter in eine zerstörte Herzmuskelregion eingeleitet wurden und somit die Herzmuskelfunktion erhalten werden konnte (Döhmen et al., 2002).

In Abbildung 6 lässt sich erkennen welches nachgewiesene Potential diversen Stammzellen besitzen. Erkannt wurde zum Beispiel, dass die mesenchymalen Stammzellen über ein Regenerationspotential von seinem Herkunftsort des Knochenmarks hinweg, ein Potential im Herz-, Gefäß-, Skelettmuskel- und Gehirnbereich zur Regeneration aufweisen (Bloch et al., 2006a).

	Abkürzung	Herkunft	Nachgewiesenes Regenerationspotential für
Mesenchymale Stammzellen	MSC	Knochenmark	Herz, Gefäß, Skelettmuskel, Gehirn, Knochen
Hämatopoetische Stammzellen	HSC	Knochenmark	Herz, Gefäß, Skelettmuskel, Gehirn, Knochen
Endotheliale Stamm-/Progenitorzellen	EPC	Knochenmark	Herz, Gefäß
Satellitenzellen 'adulte Skelettmuskel - Stammzellen'		Skelettmuskel Skelettmuskel	Skelettmuskel, Herz Skelettmuskel
Neurale Stammzellen Kardiale Progenitorzellen		Gehirn (adult) Herz	Gehirn Herz

Abbildung 6: Verschiedene adulte Stammzellenarten und ihr Regenerationspotential (Bloch et al., 2006a, S. 69)

Adulte Stammzellen gehören deswegen zu einem großen Hoffnungsträger der regenerativen Medizin. Aufgrund des Phänomens der Trans-Differenzierung eröffnen sich noch ungeahnte Möglichkeiten der adulten Stammzellen.

5 Endotheliale Progenitorzelle

5.1 Definition und Rolle der endothelialen Progenitorzelle

Endotheliale Progenitorzellen (EPC) sind primitive Knochenmarkszellen, welche die Kapazität für die Proliferation⁵, Migration und Differenzierung in verschiedene vollentwickelte Zellen haben. Im Besonderen besitzen sie die Aufgabe in Zellen zu reifen, die das Lumen der Blutgefäße auskleiden (Szmitko, Fedak, Weisel, Stewart, Kutryk & Verma, 2003).

Das Endothel (ausdifferenzierte endotheliale Progenitorzelle) ist eine einschichtige Auskleidung der innenliegenden Oberfläche der Gefäße, Herzklappen und zahlreichen Körperhöhlen⁶. Diese spielen eine wichtige Rolle bei der Thrombogenität, Antikoagulation (Hemmung der Blutgerinnung), Leukozyten- und Blutplättchen-Adhäsion und Gefäßwandkontraktion und –relaxation. Endotheliale Dysfunktionen prädisponieren Vasokonstriktionen (Engstellung der Blutgefäße), Thrombosen und Atherosklerose. Endotheliale Progenitorzellen sind des Weiteren für die endotheliale Aufrechterhaltung, Neovaskularisation (pathologische Neubildung von Gefäßen), wie auch Reendothelisation wichtig (Szmitko et al., 2003).

Nach einer Endothelzellschädigung, zum Beispiel durch eine Ischämie oder Verletzung, werden sofort physiologische Reparaturprozesse in Gang gebracht. In kurzen und vereinfachten Worten gefasst, beginnt der Ablauf dieses Prozesses mit der Mobilisierung endothelialer Vorläuferzellen aus dem Knochenmark. Anschließend erfolgt über Chemotaxis die Rekrutierung und die Adhäsion der endothelialen Vorläuferzellen am Ort der Schädigung, sowie abschließend die Migration und die Differenzierung in funktionstüchtigen Zellen (Beck, Rafat, Yard & Hanusch, 2007).

⁵ lat. proles: Nachkommenschaft (Vermehrung von Zellen). Pschyrembel, 2002

⁶ jeder natürliche, von Mesothel oder Epithel ausgekleidete, in sich geschlossene oder mit anderen Räumen beziehungsweise der Außenwelt in Verbindung stehende Körperhohlraum. Dazu zählen unter anderen Bauch-, Brust-, Schädel-, Nasen-, Mundhöhle, der Rachenraum, die Liquorräume und Gelenkhöhlen (<http://www.tk-online.de/rochelexikon>; Zugriff am 26. Oktober 2008)

5.2 Differenzierung der endotheliale Progenitorzelle

1997 haben Asahara et al. das Vorkommen von endothelialen Vorläuferzellen in peripheren Blut bei normalen erwachsenen Menschen beschrieben. Diese Zellpopulation repräsentiert bei einem gesunden Menschen in der mononukleären Zellfraktion weniger als 0,0001 Prozent (0,001 bis 0,05 % nach Beck et al., 2007) der endotheliale Vorläuferzellen im peripheren Blut und weniger als ein Prozent der Knochenmarkszellen. Die Abstammung und somit auch die Definition der endothelialen Progenitorzelle sind bis heute noch nicht eindeutig erforscht. Jedoch zeigten reichliche Studien, dass Endothelvorläuferzellen möglicherweise unter anderem von Hämangioblasten abstammen könnten. Der Hämangioblast scheint ein gemeinsamer allgemeiner Vorläufer von hämatopoetischen Stammzellen und endothelialen Vorläuferzellen zu sein (Prieto, Fernandez-Ruiz, Kawa, Sarobe & Qian, 2008).

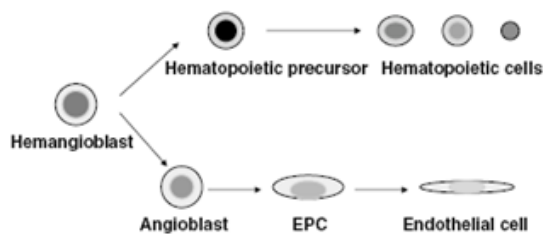


Abbildung 7: Differenzierung der Endothelvorläuferzelle (Prieto et al., 2008; S. 767)

Ein Wachstumsfaktor sei dafür verantwortlich, dass der Hämangioblast zu einem Angioblast⁷ differenziert und dass der Angioblast in weiterer Folge sich zu einer endothelialen Vorläuferzelle und schlussendlich zu einer Endothelzelle weiter entwickelt (siehe Abbildung 7) (Prieto et al., 2008).

Endotheliale Progenitorzellen beziehungsweise Endothelzellen können sich weiters aus hämatopoetischen Stammzellen, sowie aus mesenchymalen Stammzellen differenzieren (siehe Abbildung 8) (Beck et al., 2007; Szmitko et al., 2003).

⁷ Angioblasten stammen aus den Blutinseln der Dottersackwand sich differenzierende Zellen unbestimmter Keimblattzugehörigkeit. Sie dienen als primäre Bildungszellen der Blutgefäßwand (Endothel) und des Herzens (<http://www.tk-online.de/rochelexikon>; Zugriff am 24. Oktober 2008). Der Dottersack ist das Ernährungsorgan des Embryos. Desweiteren gehen aus dem Dottersack die Keimzellen und die Stammzellen für die Blutbildung hervor (Sadler, 1998).

5.3 Marker der endothelialen Progenitorzelle

Eine exakte Definition der Marker ist noch nicht vorhanden und ist somit noch Bestandteil intensiver Diskussionen. Grund hierfür ist unter anderem, dass die endothelialen Progenitorzellen viele gemeinsame Oberflächenmarker mit den hämatopoetischen Stammzellen aufweisen. Der Begriff endotheliale Progenitorzelle kann demzufolge eine Gruppe von Zellen sein, welche eine Vielzahl an Stufen umfasst – erstreckend von Hämagenioblast bis zur voll differenzierten Endothelzelle (Asahara et al., 2004). Jedoch gilt als gesichert das gemeinsame Vorhandensein der Kombination des Hämatopoesemarkers CD⁸34, des endothelialen Markers VEGF-R₂⁹ und des endothelialen Progenitormarkers CD133, welches eine Identifizierung endothelialer Stammzellen erlaubt (Pietro et al., 2008; Beck et al., 2007).

⁸ CD-Nomenklatur: internationales System für die Bezeichnung von Differenzierungsantigenen (engl. Cluster of Differentiation beziehungsweise Cluster Determinants) auf der Zelloberfläche von Leukozyten und Zellen, deren Zellmembran-Antigene mit denen von Immunzellen identisch sind. Die Differenzierung erfolgt durch Antikörper in der Durchflusszytometrie. Vergleich Zellmarker.

Zellmarker sind für bestimmte Zellen und verschiedene Subtypen einer Zellart spezifische antigene Oberflächenstrukturen auf der Zellmembran von Zellen, die mit Hilfe von monoklonalen Antikörpern nachgewiesen werden können (mittels Durchflusszytometrie) und eine Differenzierung ermöglichen (<http://www.wdg.psychyrembel.de/>; Zugriff am 29. Oktober 2008).

⁹ Vascular endothelial growth factor –Rezeptor 2 (auch KDR genannt): Rezeptor des Wachstumsfaktor. Der VEGF reguliert die Neubildung und die Durchlässigkeit der Blutgefäße. (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 7. November 2008)

Regeneration der Skelettmuskulatur durch Stammzellen

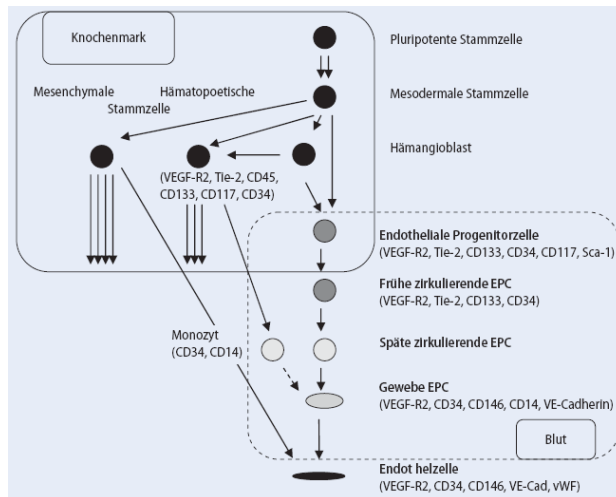


Abbildung 8: Differenzierung und Charakterisierung endothelialer Vorläuferzellen (Beck et al., 2007, S. 424)

6 Mesenchymale Stammzellen

6.1 Definition und Rolle der mesenchymalen Stammzelle

Die mesenchymalen Stammzellen (MSC) vertreten eine Zellpopulation des Knochenmarks. Etwa 0,0001 Prozent der Knochenmarkzellen sind mesenchymale Stammzellen (Jackson, Jones, Scotting & Sottile, 2007). Sie durchleben die ununterbrochene Proliferation und haben das Potential multiple mesenchymale Stammzellabkömmlinge hervorzurufen. Dazu zählen mesodermale Zelltypen des Bindegewebes wie Osteoblasten („Knochenmutterzellen“), Chondrozyten (Knorpelzellen), Adipozyten (Fettzellen), glatte Muskelzellen, quer gestreifte Muskelzellen (Schöler, 2004), Gefäßendothelien und Stromazellen. Mesenchymale Stammzellen werden herkömmlich aus dem Knochenmark isoliert, wo sie die Hämatopoese (Blutbildung) durch die Absonderung von Zytokinen¹⁰, Wachstumsfaktoren, extrazellulärer Matrix und anderer Gewebezelltypen unterstützen. Jedoch sind Berichte zufolge mesenchymale Stammzellen in nahezu jedem Organ präsent (Van Poll, Parekkadan, Borel Rinkes, Tilles & Yarmush, 2008). Im Besonderen wurden diese im adulten Organismus in Fettgewebe, trabekulären Knochen, Knochenhaut, Synovium, Leber, Haut, Herz, Lunge und Milz identifiziert (Payushina, Domaratskaya & Starostin, 2006). Dieses erhebt die Möglichkeit, dass mesenchymale Stammzellen einen ruhenden Pool an „wiedergutmachenden“ Stammzellen erzeugen, die im Falle einer Beschädigung im Körper aktiv werden und den Reparaturmechanismus unterstützen. Jedoch bleibt die Rolle der endogenen mesenchymalen Stammzellen in der Geweberegeneration aufgrund eines Mangels an eindeutigen Markern schwer nachvollziehbar (Van Poll et al., 2008).

6.2 Differenzierung der mesenchymalen Stammzelle

Anfänglich waren adulte mesenchymale Stammzellen eine Population an multipotenten Zellen, welche im Knochenmark gefunden wurden. Lang waren sie dazu bekannt fähig zu sein um in Osteozyten, Chondrozyten und Adipozyten zu differenzieren. In der letzten Zeit unterzog die Wissenschaft diesen Zellen genaueren Untersuchungen und es wurde

¹⁰ Oberbegriff für zahlreiche körpereigene Substanzen, die von aktivierten T-Zellen und anderen Zellen während der natürlichen und spezifischen Immunantwort freigesetzt werden (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 28. Oktober 2008).

bekannt, dass die mesenchymalen Stammzellen ein Differenzierungspotential über ihre mesenchymale Abstammungslinie aufweisen. Das heißt, dass sie, wie auch die hämatopoetische Stammzelle, Abkömmlinge aller drei Keimblätter bilden kann. Es wurde nachgewiesen, dass die mesenchymale Stammzellen sowohl in vitro, als auch in vivo die Fähigkeiten haben neurale Zellen zu bilden. Weiters zeigte sich ein myogenes, speziell kardiomyogenes, Potential (jedoch nur in vitro) (siehe Abbildung 9) (Jackson et al., 2006).

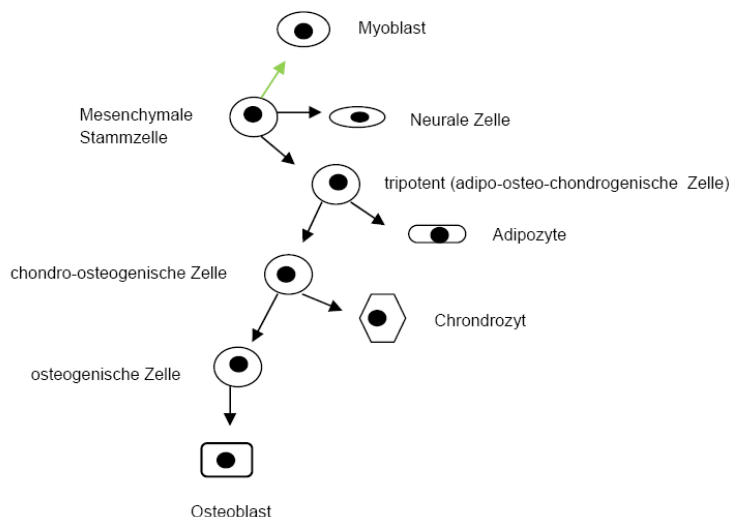


Abbildung 9: Differenzierungspotential der mesenchymalen Stammzelle (modifiziert nach Payushina et al, 2008)

6.3 Marker der mesenchymalen Stammzelle

Eine eindeutige Definition der Marker ist aber bis heute noch immer nicht möglich. Jedoch konnte der Marker CD29 und/oder CD105 in 95 Prozent der Fälle als Oberflächenmarker identifiziert werden (Jackson et al., 2007). Es scheint auch so, als könnte die Expression des Antigens CD117 sich als Marker erweisen. Die Erscheinung dieses Markers ist aber stark von dessen Stufen der Differenzierung abhängig. Umso weiter die Zelle differenziert ist, umso schwerer wird es, diesen Marker nachzuweisen, denn je nach Differenzierungsfortschritt ändert eine Stammzelle ihre Marker (Payushina et al., 2006).

Des Weiteren werden mesenchymale Stammzellen durch die Abwesenheit von einigen hämatopoetischen Marker, wie CD14, CD31, CD45, CD86 und Glycophorin A, charakterisiert (Payushina et al., 2006).

Der Hauptgrund warum es zu keiner exakten Definition von Markern kommt, ist wahrscheinlich der, dass die Expression der Antigene im Laufe ihrer

Differenzierungsstufen wechseln. (Jackson et al., 2006). Dies bedeutet, dass die mesenchymale Stammzellen in Kultur überwiegend ihre Expressionen verlieren, so dass zum Zeitpunkt der kulturtechnischen reinen Population, über die die mesenchymalen Stammzellen definiert sind, diese Marker nicht mehr zur Verfügung stehen (Wulf, Chapuy & Trümper, 2006).

7 Hämatopoetische Stammzellen

7.1 Definition und Rolle der hämatopoetischen Stammzelle

Als hämatopoetische (=Blut bildend) Stammzellen (HSC) bezeichnet man die Stammzellen, aus denen sich durch Zellteilung und Differenzierung, alle Arten von Blutzellen entwickeln. Die pluripotente hämatopoetische Stammzelle steht am Beginn der Entwicklung aller hämatopoetischen Reihen (lymphozytär, myeloisch, erythrozytär und megakaryozytär). Die Proliferation und die Differenzierung der Zellen werden unter anderem durch ein komplexes Zusammenspiel von Wachstumsfaktoren (unter anderem Zytokine) reguliert (Schölmerich, Burdach, Drexler, Hallek, Hiddemann, Hörl, Klein, Landthaler, Lenz, Mann, Mössner, Müller-Ladner, Reichen, Schmiegel, Schröder, Seeger, Stremmel, Suttorp, Weilemann, Wöhrle & Zeuner, 2007).

Hämatopoetischen Stammzellen werden wie Stammzellen anderer Organsysteme willkürlich durch folgende Stammzeleigenschaften definiert: ein hohes proliferatives Potential, der Erhalt von Stammzeleigenschaften von mindestens einer Tochterzelle bei einer Teilung (Selbsterneuerung), die Fähigkeit differenzierter Zellen aller Blutzellenreihen zu bilden und eine hohe Langlebigkeit (Buske, Glimm & Feuring-Buske, 2006).

Ihre zentrale Aufgabe liegt dementsprechend in der Hämatopoese (Blutbildung).

7.2 Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen

Die hämatopoetische Stammzelle entsteht aus nicht hämatologischen Vorläuferzellen mesodermalen Ursprungs während der Bildung des Dottersacks des Embryos. Diese embryonalen (=primitiven) Stammzellen migrieren im weiteren Verlauf in die fetale Leber und bilden dort die definitive Hämatopoese entsprechend der im Knochenmark des Erwachsenen vorkommenden Blutbildung.

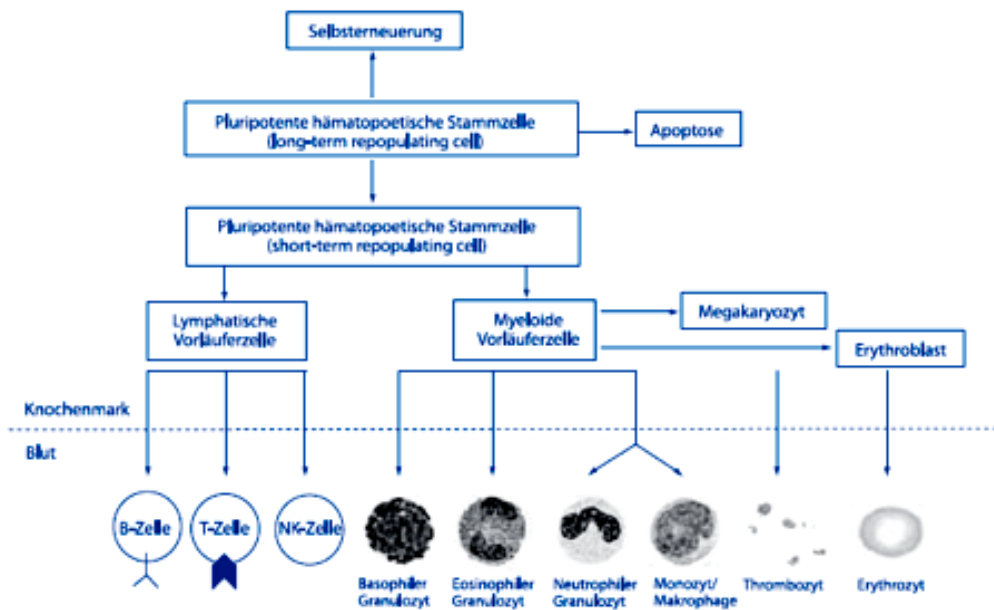


Abbildung 10: Entwicklungsstufen hämatopoetischer Stammzellen (Schölmerich et al., 2007, S.305)

Abbildung 10 zeigt vereinfacht, wie sich die hämatopoetischen Stammzellen differenzieren. Es werden mindestens zwei Reifegrade von der pluripotenten Stammzelle unterschieden. Erstens die langfristige Rekonstitution (Wiederherstellung) der Hämatopoese („longterm“ hämatopoetische Stammzelle) und zweitens jene Stammzelle, die lediglich kurzfristig („shortterm“ hämatopoetische Stammzelle) die Hämatopoese aufrechterhalten. Schlägt eine hämatopoetische Stammzelle den Weg der Differenzierung ein, so entwickeln sich nachfolgend zwei multipotente Progenitorzellen- eine lymphatische und eine myeloischen Vorläuferzelle. Aus diesen entwickeln sich wiederum über verschiedenste Zwischenstufen alle reifen Zellen der lymphatischen und myeloischen Reihe. Aus den myeloiden Vorläuferzellen können sich weiters auch die erythrozytäre und megakaryozytäre Reihe mit ihren Abkömmlingen entwickeln. All diese Zellen zirkulieren im Blut und führen dort jeweils spezielle Aufgaben durch. Die neutrophilen Zellen (=Phagozyten¹¹) der granulozyten Reihe sind beispielsweise für die bakterielle Abwehr

¹¹ „Fresszelle“ mit der Fähigkeit, unbelebte oder belebte Fremdpartikel (Mikroorganismen, Blutzellen, Gewebstrümmer etc.) aufzunehmen und zu verdauen (Phagozytose). Sie werden unterschieden als– mobile – Mikrophenen (Granulozyten) und als – überwiegend sessile – Makrophagen (zum Beispiel Monozyten) (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 4. November 2008)

zuständig. Die eosinophile Zellen sind für die Abwehr von Parasiten verantwortlich, während die Aufgabe der basophilen Zellen bis heute noch nicht eindeutig geklärt ist.

Ein paar der reifen Blutzellen können weiter differenzieren und besondere Funktionen ausführen. Aus Monozyten können so Makrophagen (eine weitere Gruppe von Phagozyten) entstehen, nachdem diese das Blut verlassen haben und in das Gewebe eingewandert sind. Diese Zellen werden dann entsprechend ihrer Lokalisation im Gewebe benannt, zum Beispiel Kupfer-Zellen in der Leber oder Alveolarzellen in der Lunge. Lymphatische Zellen haben ebenfalls die Fähigkeit sich noch weiter zu differenzieren und bestimmte Aufgaben im Organismus wahrzunehmen. Aus den hoch spezialisierten β -Zellen können sich Plasmazellen entwickeln, die nach einem bestimmten Reiz nur einen einzigen Antikörper produzieren.

Die Entwicklung aller blutbildenden Reihen (ausgehend von der pluripotente Stammzelle) passiert im roten Knochenmark spongiöser Knochen. Reife hämatologische Zellen verlassen das Knochenmark über venöse Sinusoide¹², welche das Geflecht aus feinen Knochenbälkchen durchziehen. Die Regulation der Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Stammzelle zu Endzellen ist ein Prozess, der andauernd und kurzfristig den Bedürfnissen des menschlichen Körpers angepasst wird (Schölmerich et al., 2007).

7.3 Marker der hämatopoetischen Stammzelle

Die Voraussetzung für den Nachweis von Stammzellen mittels Antikörper ist, dass die Stammzelle sowohl in ausreichend hoher Dichte, als auch möglich selektiv auf der Zellmembran von Stammzellen exprimieren. Die Knochenmarkzellen werden mittels Antikörperkonjugaten (Bindung von Antikörper) gegen ein Antigen, zum Beispiel CD34, markiert und analysiert.

CD34 gehört zu den hoch auflösenden selektiven Stammzellenmarker der hämatopoetischen Stammzelle. Hierzu kommen noch eine Menge an Subpopulationen, wie zum Beispiel das Glykoprotein CD38, CD133 oder CD318 (=CD318). Das CD38 wird auf zirka 99 Prozent aller CD34+ Knochenmarkzellen exprimiert. Sehr häufig werden frühe primitive hämatopoetische Stammzellen über den Phänotyp CD34+CD38- definiert.

¹² besonders weite Blut- und Lymphkapillaren (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 4. November 2008)

Diese Marker lassen sich beispielsweise mit Standardimmunfluoreszenztechniken nachweisen. Nahezu 100 Prozent der CD34+CD38- Zellen koexprimieren CD133 und CD133, die ebenfalls als robuste Stammzellenmarker bezeichnet werden. Nach Sack, Tärnol und Rothe (2007) sind weitere Oberflächenmarker, unter anderem CD90 (Thy-1) (ein lymphoides Antigen), CD164 oder CD117, bekannt. Dimmeler et al. (2005) definieren als Hauptoberflächenmarker der frühen hämatopoetischen Stammzelle CD34, CD133, CD45 und Thy-1 (siehe Abbildung 11).

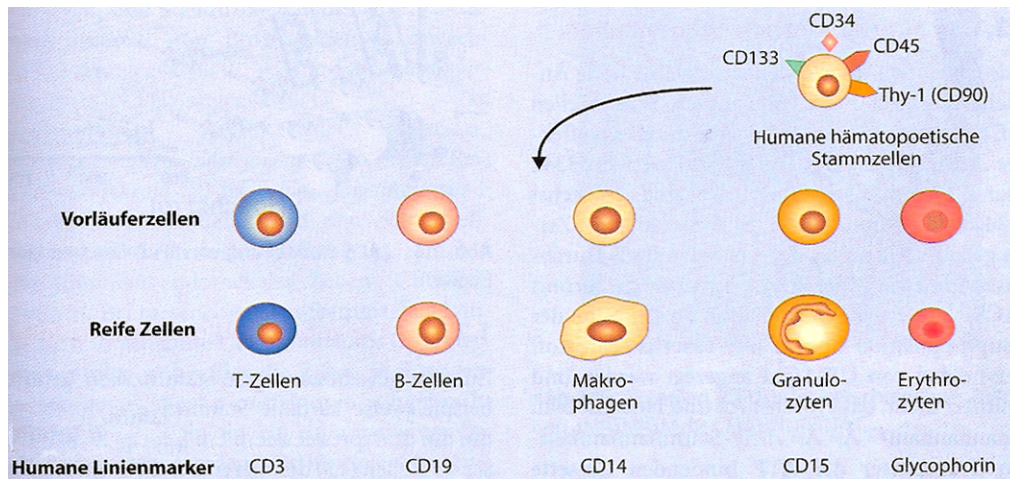


Abbildung 11: Marker der humanen hämatopoetischen Stammzelle (Dimmeler et al., 2005, S.21)

Es ist ersichtlich, dass sich die Wissenschaftler bei gewissen Markern nicht hundertprozentig einig sind. Einer der Hauptgründe ist, dass im Laufe der Differenzierung der Phänotyp einer Stammzelle sich in Richtung der jeweiligen Zellreihe ändert und so nach Differenzierungsgrad andere Oberflächenmarker aufweist. Somit sind einige Zellreihen durch das Vorkommen bestimmter spezifischer Oberflächenstrukturen gekennzeichnet. Zum Beispiel exprimieren T-Zellen das Antigen CD3 oder β -Zellen CD19, während andere Zellen nur durch eine Kombination verschiedener Membranantigene und Zelleigenschaften voneinander abgrenzbar sind (Schölmerich et al., 2007).

8 Stamm- und Vorläuferzellen des Skelettmuskels

Der adulte Skelettmuskel umfasst unterschiedliche Zellpopulationen. Die am meist erforschten Zellen sind die Satellitenzellen (myogenen Vorläuferzellen) und die „muscle side-population cells“. Der adulte Skelettmuskel besitzt die Fähigkeit, sich trotz terminaler Differenzierung, an Stimuli (wie beispielsweise an ein Trauma oder körperliche Belastung) gut anpassen zu können. Dies verdankt er vorwiegend den Satellitenzellen. Diese besitzen ein sehr hohes Potential in Reaktion auf Stress zu proliferieren und zu differenzieren. Sie sind somit ein wichtiger Faktor in der muskulären Regeneration, Reparatur und Hypertrophie im Sinne des Adaptationsprozesses an körperliche Belastung.

8.1 Satellitenzellen

Die Satellitenzellen sind verantwortlich für postnatale Aufrechterhaltung, Wachstum, Reparatur und Regeneration der Skelettmuskulatur (Kuang & Rudnicki, 2008a).

8.1.1 Lokalisation der Satellitenzellen im Skelettmuskel

Satellitenzellen sind anatomisch durch ihre Lage auf der Plasmamembran der Muskelfasern charakterisiert und werden von der Basallamina umgeben (siehe Abbildung 12).

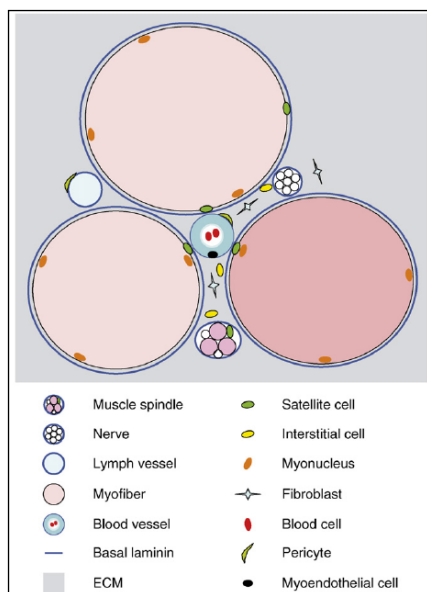


Abbildung 12: Lage der ruhenden Satellitenzellen (Satellitenzellennische) (Kuang et al., 2008a, S. 83)

Unter normalen physiologischen Bedingungen ruhen diese im Skelettmuskel. Als Antwort auf aktivierende Signale, wie zum Beispiel ein Trauma, werden die Satellitenzellen aktiviert. Im Anschluss unterziehen sie sich einer Teilung und folglich differenzieren sie sich in ausgereifte Muskelzellen (Kuang et al., 2008a).

8.1.2 Ursprung und Entwicklung der Satellitenzellen

All unsere Skelettmuskulatur des Rumpfes und der Extremitäten stammt von einem Somiten (=Ursegment) ab. Genauer gesagt handelt es sich um segmentale Derivate des Mesoderms, welches sich auf beiden Seiten der axialen Struktur des vertebralen Embryos entwickelt. Wenn der Somit ausgereift ist, erhält der dorsale Part eine epitheliale Struktur - das Dermomyotom - die Quelle von myogenen Vorläuferzellen. Diese Zellen lösen sich anfänglich von den Seiten des Dermomyotom, um den ersten Skelettmuskel, das Myotom, zu formen (Buckingham, 2007). Skelettale Myogenese wird somit durch myogene Zellen ausgelöst und es kommt zu grundlegender Formung von Muskelfasern. Diese myogenen Vorläuferzellen charakterisieren sich durch Pax3/Pax7 Expression und durch das Fehlen von anderen myogenen Regulationsfaktoren/Transkriptionsfaktoren¹³ (MRF; inkludiert Myf5, MyoD Mrf4 und Myogenin¹⁴) (siehe Abbildung 13) (Kuang et al., 2008a). Diese myogenen Vorläuferzellen entspringen dem zentralen Anteil des Dermomyotom und bleiben während der ganzen Embryogenese der Entwicklung der Skelettmuskulatur erhalten. Später in der fetalen Entwicklung generieren diese ansässigen Vorläuferzellenpopulationen Zellen in eine Satellitenposition rund um die Muskelfasern in sublaminaire Position.

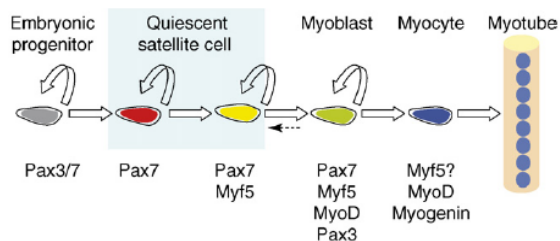


Abbildung 13: Transkriptionale Kontrolle der Entwicklung von Myotuben (Kuang et al., 2008a, S. 83)

¹³ Spezielle Transkriptionsfaktoren sind an der Aktivierung muskelspezifischer Gene beteiligt.

¹⁴ auch die Bezeichnung Myf-4 ist für Myogenin gebräuchlich

Auf die genauen molekularen Expressionsmuster der Stilllegung, Aktivierung, Proliferation und Differenzierung der Satellitenzellen wird im Kapitel 9.2.1 und 9.2.2 noch spezieller darauf eingegangen.

8.2 Muscle side-population cells

Eine der wichtigsten Fraktion der „muscle-derived stem cells“ sind Randpopulationen (side population-SP), welche den hämatopoetischen Marker Sca-1 exprimieren, aber keine Expression von Satellitenzellenmarkern aufweisen. „Side-population“ sind in hohem Maße mit Zellen angereichert, die hämatopoetischen Kolonien bilden. Zudem sind diese Randpopulationen mit hämatopoetischen Potential, positiv auf den CD45 Marker. Jedoch haben Untersuchungen in vitro gezeigt, dass Randpopulationen nicht in Myozyten differenzieren können. Im Gegensatz dazu können Satellitenzellen in Myozyten übergehen, aber exprimieren keinen Sca-1 oder CD45 Marker und können des weiteren auch keine hämatopoetischen Siedlungen bilden. Im Tiermodell konnte allerdings gezeigt werden, dass Randpopulationen Potential aufweisen in Myozyten und Satellitenzellen nach einer intramuskulären Transplantation zu differenzieren. Außerdem durchleben Randpopulationen nach einer Kokultivierung mit Myoblasten eine myogene Ausprägung. Die Kokultivierung mit Myoblasten oder gezwungenen Expression von MyoD (bedingte Muskeldifferenzierung von Randpopulationen) brachte bei einem Mausexperiment den Marker Pax7, ein essentielles Gen für die Entwicklung von Satellitenzellen, hervor. Diese Belegdaten besagen, dass Satellitenzellen und „muscle-derived stem cells“ unterschiedliche Populationen an Zellen repräsentieren und, dass „muscle-derived stem cells“ das Potential aufweisen zu myogenen Zellen werden zu können via myozytärer induktiver Interaktion (Asakura, Seale, Girgis-Gabardo & Rudnicki, 2002).

Parallel zu den Satellitenzellen entstammt eine signifikante Anzahl von „muscle side-population stem cells“ ebenfalls vom Somiten und vielleicht teilen sie sich sogar einen gemeinsamen Vorläufer mit den Satellitenzellen (Le Grand & Rudnicki, 2007).

8.3 Dysregulationen der Satellitenzellen

Unter bestimmten Umständen können Dysregulationen der myogenen Satellitenzellen oder der Faktoren, welche die Satellitenzellenregulation vermitteln, zu einer gestörten Muskelregeneration oder sogar zu chronischen Myopathien führen (Shortreed, Johnston & Hawke, 2008). Im Folgenden werden einige dieser Erkrankungen, in welchen die myogenen Satellitenzellenregulation beeinträchtigt ist, näher erläutert.

8.3.1 Muskuläre Dystrophie

Bei einer Muskeldystrophie handelt es sich um eine Gruppe von genetisch degenerativen Erkrankungen, die willkürlich Muskeln beeinträchtigen. Die häufigste und verheerendste Form der muskulären Dystrophie ist jene des Types Duchenne (DMD). Dieser Typ ist durch eine Muskelschwäche gekennzeichnet, die von den Beinmuskeln ausgehend auf Rumpf und Schultergürtel übergreift. Schließlich entwickelt sich eine Muskelatrophie, die dazu führt, dass die Kinder zirka im 10. Lebensjahr gehunfähig werden. Im finalen Stadium leiden die Patienten an muskulärer Ateminsuffizienz. Obwohl sich die Therapieverfahren verbessert haben, liegt die Lebenserwartung nur um 20 Jahre. Die Duchenne'sche Muskeldystrophie tritt mit einer Häufigkeit von etwa 1:3500 neugeborenen Jungen auf und gehört damit zu den häufigsten schweren Erbkrankheiten.

Die Krankheit wurde auf dem X-Chromosom lokalisiert und betrifft das Dystrophingen. Dieses Gen ist das mit Abstand größte Gen, das im Menschen für ein Protein codiert. Es beinhaltet 79 Exons, welche zirka 2,6 Millionen bp bedecken. Diese Größe macht es anfällig für Rearrangements und Rekombinationen, die zu Mutationen führen. In 60 Prozent der Fälle sind die Mutationen Deletionen von einem oder mehrerer Exons. Daneben werden auch Duplikationen, Translokationen oder Punktmutationen gefunden. Allgemein kann gesagt werden, dass die Mutationen, die den offenen Leserahmen unterbrechen, zu einem vorzeitigen Abbruch der Dystrophinsynthese führen und somit eine Duchenne'sche Muskeldystrophie verursachen. Mutationen, die den Leserahmen nicht verändern, resultieren eher in einer milderer Form der muskulären Dystrophie- dem Becker'schen Typ. Dieser Typ hat ein ähnliches Erscheinungsbild, jedoch einen gutartigen und langsam fortschreitenden Verlauf. In der Regel beginnt die Krankheit abseits des 10. Lebensjahrs und die Invalidität tritt erst im Alter von 40 oder 50 Jahren ein. Die Lebenserwartung ist nur wenig verkürzt und dieser Typ ist wesentlich seltener (1:20 000) als der Typ Duchenne.

Das Dystrophingen ist ein bedeutendes Strukturelement in den Muskelzellen, das die Proteine des internen Cytoskeletts mit dessen in der Zellmembran verbindet. Ein Verlust dieser Funktion führt zur Zerstörung der Muskelfasern, zu Lecken in der Zellmembran und zu Veränderungen in Signalkaskaden (Graw, 2006).

Als Antwort auf wiederholte Muskelkontraktionen entsteht eine ausgedehnte Muskeldegeneration. Die myogenen Satellitenzellen antworten und reparieren den verletzen Muskel. Bedauerlicherweise weisen die neu generierten Muskelfasern auch ein Fehlen des funktionalen Dystrophingen auf, da es sich um eine genetische Erkrankung handelt. Diese kontinuierlichen Phasen der Degeneration und Regeneration erschöpft den

Pool an myogenen Satellitenzellen schlussendlich. Der Muskelapparat eines erkrankten Menschen im Alter von fünf Jahren hat schon eine Muskelregeneration im Ausmaß von sechs sechzig jährigen Menschen durchlaufen.

Im Moment gibt es keine Heilungsmethoden für DMD, obwohl eine Vielzahl an Therapien getestet wurden, um zumindest das Krankheitsbild zu schwächen (Shortreed et al., 2008).

8.3.2 Atrophischer Reiz/Muskelatrophie

Bei einer Muskelatrophie kommt es zu einer Reduktion der Muskelmasse und zu einer Abnahme der Satellitenzellen. Eine Atrophie kann durch diverse Faktoren, wie zum Beispiel durch eine Denervation, Immobilisation oder Mangelernährung, entstehen. Entsteht die Atrophie durch eine Phase der Immobilität, so werden bei der Wiederherstellung der Mobilität die Satellitenzellen aktiviert und es kommt zur Proliferation. In Folge neubevölkern die Satellitenzellen den atrophieren Skelettmuskel. Im Gegensatz dazu, resultiert ein atrophischer Reiz im adulten Skelettmuskel in einen irreversiblen Umformungsprozess, wodurch der myogene Satellitenzellegehalt abnimmt und die Proliferationskapazität dieser Zellen beeinträchtigt wird (Shortreed et al., 2008).

Anders als bei anderen Formen der Atrophie, ist die Denervation eher ein pathologischer Stress, als ein physiologischer. Eine Denervation produziert eine Art Inaktivitätsatrophie, welche sich durch Muskelfaserdegeneration charakterisiert und mit einer ausgeprägten Veränderung der Muskelfasern und ruhenden Satellitenzellen begleitet wird. In der Initialphase der Denervation ist ein Anstieg der Satellitenzellen um drei bis neun Prozent zu verzeichnen. Bei einer länger andauernden Denervation (um die 18 Monate) kommt es zu einer signifikanten Abnahme der Satellitenzellen. Dieser fortschreitende Rückgang von Satellitenzellen könnte mit der Apoptose der Zellen einhergehen. Alternativ könnte es aber auch sein, dass es bei längeren Denervationen zu einem Mangel an neurotrophen Input kommt, welches eine negative Auswirkung auf die Satellitenzellenfunktion und –gehalt zur Folge hat. Die Mechanismen für dieses Phänomen sind unklar, aber beträchtliche Daten unterstützen die Annahme, dass die intakten neuromuskulären Verbindungen hemmende Einflüsse, in Bezug auf den Satellitenpool, vermitteln (Zammit, 2008).

8.3.3 Satellitenzellen im Alterungsprozess

Der sukzessive Verlust von Muskelmasse und Muskelkraft ist einer der Kennzeichen im Alterungsprozess. In vielen Fällen führt dies zuerst zu einer Beeinträchtigung für den Menschen und später zu einem Verlust der Selbstständigkeit. Diese altersbedingte

Veränderung des Muskels kann, zumindest teilweise, auf eine Abnahme der körperlichen Aktivität, auf ein Überhandnehmen von Erkrankungen und auf nicht korrekte Ernährungsweisen zurückgeführt werden (Snijders, Verdijk & van Loon, 2009).

Skelettmuskeln älterer Menschen sind auf Muskelschädigungen mehr anfällig als jüngere und weisen des Weiteren eine geminderte Regenerationsfähigkeit auf. Zahlreiche Faktoren tragen zu einem altersbedingten Verlust von Skelettmuskulatur und deren Kontraktilität bei. Dieser Alterungsprozess bezüglich der Abnahme von Skelettmuskulatur wird Sarkopenie genannt.

Bei der Geburt sind zirka 15% aller Muskelzellkerne Satellitenzellen. Dies reduziert sich auf 1 bis 6% in ausgereiften Muskelfasern. Dieser kontinuierliche Abfall begleitet die Lebensdauer eines Organismus. Die Abnahme der Satellitenzellen im Alter resultiert wahrscheinlich durch einen Rückgang der Muskelzellkerne und durch einen mäßigen Verlust der Proliferationsfähigkeit. Des Weiteren kommt es zu einer Veränderung des zellulären und extrazellulären Milieus, welches scheinbar zu einer Verringerung der Satellitenzellenaktivierung führt (Snijders et al., 2009).

Da Satellitenzellen für die Aufrechterhaltung, Wachstum und Regeneration essentiell sind, könnte dieser altersbedingte Rückgang der Satellitenzellen und/oder das Unvermögen der Aktivierung und Proliferation auf einen Stimulus zu einer altersbedingten Atrophie der Skelettmuskel beitragen. Bisher gibt es aber in der Wissenschaft keine Einigkeit darüber, ob die Anzahl der Satellitenzellen mit fortschreitendem Alter abnimmt. Sowohl in Tierversuchen als auch bei Untersuchungen am humanen Skelettmuskel gibt es heutzutage keinen Konsensus. Diese offensichtliche Diskrepanz ist auf unterschiedliche Alterskategorien der Probanden zurückzuführen. Im humanen Skelettmuskel scheint es, als würde der Pool an Satellitenzellen bis in die siebte Dekade aufrechterhalten bleiben und erst danach abnehmen.

Es dürfte jedoch so sein, dass ein Rückgang der Satellitenzellenanzahl einhergehend mit einem Unvermögen der Aktivierung im Alter auftreten. Deswegen wäre es sinnvoll, dass zukünftige Studien sich nicht nur auf die Erhöhung der Satellitenzellen fokussieren, sondern auch effiziente Strategien entwickeln, um die Satellitenzellenaktivierung zu stimulieren. Beide Strategien scheinen wesentlich für die Vorbeugung und Aufschiebung des altersbedingten Verlustes an Muskelmasse zu sein (Snijders et al., 2009).

9 Mechanismen der Regeneration und Wiederherstellung der Skelettmuskulatur

Die Fähigkeit des Skelettmuskels umfangreiche Beschädigungen zu reparieren, genauso wie sich an Stressoren, wie zum Beispiel an strapaziöse Belastungen anzupassen, wird durch eine komplexe Reihe von zellulären und extrazellulären Auslösereize vermittelt. Die Adaptation des Skelettmuskels an starke Belastungen (via Muskelhypertrophie) beruht auf der Fusion von myogenen Satellitenzellen zu Muskelfasern durch die „myonuclear domain theory“. Im Wesentlichen suggeriert diese Theorie, dass Muskelzellkerne innerhalb der Skelettmuskelfasern die Produktion der mRNA (messenger Ribonukleinsäure) und Proteinen für ein begrenztes Volumen an Cytoplasma kontrollieren, so dass eine Erhöhung der Muskelfasergröße (Hypertrophie) mit einem proportionalen Anstieg von Muskelzellkernen assoziiert sein muss (siehe Abbildung 14). Diese Theorie wird aber in einigen Studien widerlegt, welches in einem der nachfolgenden Kapitel anhand von Studien erläutert wird.

Die neuen Muskelzellkerne kommen von den myogenen Satellitenzellpopulationen. Regeneration von intensiver Muskelbeschädigung, wie zum Beispiel einem Muskeltrauma, resultiert durch Schmelzen von Satellitenzellen um neue Muskelfaser hervorzurufen. Reparierte und frisch generierte Muskelfasern können durch deren zentral lokalisierten Kern identifiziert werden (Shortreed et al., 2008).

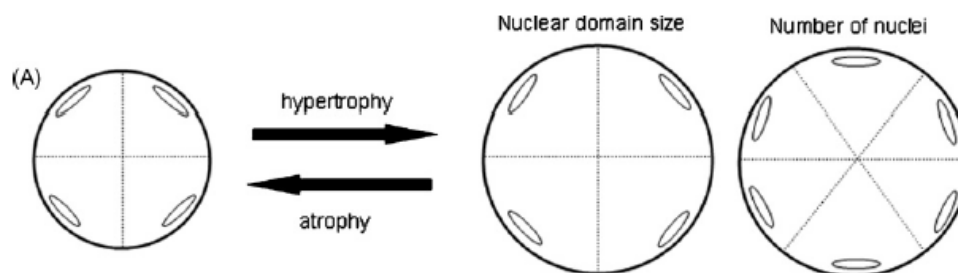


Abbildung 14: Adaptive Prozess der Skelettmuskulatur (Snijders et al., 2009, S. 2)

Wie schon in einem der vorhergehenden Kapitel erwähnt handelt es sich bei den Satellitenzellen um einen Rückstand an selbsterneuerungsfähigen Vorläuferzellen, welche zu mehrere Regenerationsrunden im Stande sind und sich nach jeder diskreten Episode der Muskelverletzung wiederherstellen. Jedoch ist die Fähigkeit der Selbsterneuerung begrenzt (Goetsch, Hawke, Gallardo, Richardson & Garry, 2003). Der Skelettmuskel ist ein hoch regeneratives Gewebe und ist einer der wenigen Gewebe, das sich effizient auf eine extensive Beschädigung regenerieren kann. Die Regeneration von

Muskelgewebe ist ein komplexer Mechanismus und verlangt eine koordinative Interaktion zwischen den myogenen Vorläuferzellen (=Satellitenzellen), Wachstumsfaktoren, Zytokinen¹⁵, Entzündungs- und vaskulären Komponenten und der extrazellulären Matrix¹⁶ (ECM). Zahlreichen Studien haben die physiologische Regulierung des regenerativen Prozesses als Antwort auf eine Muskelschädigung beschrieben, jedoch bleibt die molekulare Antwort, welche die Abschnitte des Reparaturprozesses charakterisieren, unklar (Goetsch et al., 2003; Shi & Garry, 2006).

Die Fähigkeit zur Selbsterneuerung geht mit einem seltenen Pool an undifferenzierten myogenen Vorläuferzellen einher, infolge der Lokalisation an der Peripherie von ausgereiften Skelettmuskelfasern. Satellitenzellen werden in einem frühen Stadium des myogenen Programms aufgehalten, so dass kein Mitglied der MyoD-Familie der Transkriptionsfaktoren exprimieren kann. Unter „spannungsfreien“ Bedingungen ruhen die Satellitenzellen. Folgt eine Muskelschädigung werden die Satellitenzellen mobilisiert. Folglich kommt es zur Proliferation und Differenzierung und zur Verschmelzung in multinukleare Muskelfasern. In gewisser Hinsicht wiederholt sich das fundamentale Event der Muskelentstehung (Goetsch et al., 2003).

9.1 Zelluläre Mechanismen der Muskelregeneration

Allgemein teilt man die Muskelregeneration in vier Phasen ein: Aktivierung, Proliferation, Differenzierung und Reifung (siehe Abbildung 15) .

¹⁵ Oberbegriff für zahlreiche körpereigene Substanzen (Peptide), die von aktivierten T-Zellen und anderen Zellen während der natürlichen und spezifischen Immunantwort freigesetzt werden. Funktion: Die Zytokine haben vielfältige, vor allem proinflammatorische, immunregulatorische und die Hämatopoese (Entzündungszellen) steuernde Funktionen. Sie sind wichtig für Reparaturmechanismen von Gewebeschäden und wirken für viele Zellen als Wachstumsfaktoren (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 7. August 2009)

¹⁶ Auch Interzellularflüssigkeit genannt. Es handelt sich um die Flüssigkeit, die sich außerhalb der Zellen befindet und besteht aus der Gesamtheit aller Makromoleküle im Interzellularraum. Pschyrembel, 2002

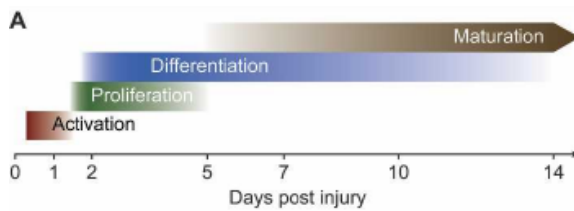


Abbildung 15: Phasen der Muskelregeneration (Shi et al., 2006, S. 1697)

Die Aktivierung beginnt zirka innerhalb der ersten zwei Stunden nach der Beschädigung des Skelettmuskels. Die Proliferation der Satellitenzellen erreicht ihren Höhenpunkt etwa am zweiten bis dritten Tag nach der Verletzung. Kurz nach Einsetzen der Proliferation beginnen die Zellen zu differenzieren und schlussendlich zu reifen (Shi et al., 2006).

Um zelluläre Mechanismen der Muskelregeneration untersuchen zu können, muss eine Schädigung der Skelettmuskulatur vollzogen werden. Experimentelle Schädigung von Skelettmuskulatur ist auf unterschiedliche Arten möglich. Dabei kann es sich beispielsweise um Zerquetschungen, Erfrierungen oder chemische Beschädigung handeln.

Goetsch et al. (2003) induzierte in einem Mausmodell eine Schädigung des M. gastrocnemius durch eine intramuskuläre Zufuhr von 150 µl Cardiotoxin- eine toxische Substanz. 75 bis 90 Prozent des Muskels wurde damit zerstört. Die zelluläre Antwort auf die induzierte Muskelschädigung wurde mit standardisierten histologischen Techniken verfolgt. Während der akuten Verletzungsphase (≤ 6 Stunden nach der Injektion) hyalinisieren¹⁷ und vakuolisieren¹⁸ die betroffenen Muskelfasern und deren Kerne lysieren¹⁹ (siehe Abbildung 16A und 16B). Interstitielle²⁰ Ödeme²¹, myonuklearer Drop-out

¹⁷ Hyalin: heterogene Substanz aus einfachen oder zusammengesetzten Proteinen. Bei einer Degeneration des Bindegewebes beziehungsweise der Faserstruktur verklumpen sich die Eiweiße zu Hyaline zusammen. Pschyrembel, 2002

¹⁸ Eine Vakuolisierung ist eine Vakuolenbildung bei vakuolärer Degeneration. Eine Vakuole ist ein von semipermeabler Elementarmembran umgebenes Bläschen ($\varnothing > 100$ nm) im Zellplasma oder -kern, mit wässrigem oder dickflüssigem Inhalt (unter anderem Eiweiß, Fett, Glykogen) und erfüllt Transport-, Speicher- und/oder phagozytäre Funktionen (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>, Zugriff am 7. August 2009).

¹⁹ Auflösung

²⁰ dazwischen liegend (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 7. August 2009).

²¹ Flüssigkeitsansammlung

und die Anwesenheit von neutrophilen Infiltrat (PMN²²) charakterisierten diese Initialphase (Abbildung 16A). Mikrovaskuläre Thrombosen sind erwiesen (Abbildung 16B) und Satellitenzellen übernehmen einen aktiven Zustand. Zwölf Stunden nach der induzierten Verletzung lysieren die Muskelfasern, welches in die Produktion von proteinreichen Ödemen resultiert. Die Entzündungsantwort besteht zunächst aus PMN, welche nekrotische (abgestorbene) Muskelfasern phagozytieren²³ (Abbildung 16D) und sekundär, im späteren Stadium, aus Makrophagen²⁴ (zwei bis fünf Tage nach Verletzung). Anknüpfend an die Aktivierung teilen sich die Satellitenzellen (Tag zwei bis vier) und charakterisieren damit die regenerative Phase, wobei es nach zirka 48 Stunden zur Formung von sichelförmigen Strukturen rund um die nekrotischen²⁵ oder beschädigten Muskelfasern kommt (Abbildung 16D). Frisch regenerierte Muskelfasern werden leicht identifiziert als eine kleine basophile Muskelfaser mit einem zentralen Kern (Abbildung 16E bis 16G). Mit der Fertigstellung der Muskelregeneration durch die Organisation (zweiter bis fünfter Tag) und Reifung (fünfter bis siebter Tag) der Biomatrix (Abbildung 16G und 16H), kommt es nach 14 Tagen zu einer Wiederherstellung der Muskelarchitektur. Zusätzlich wurde kein Beweis für rückbleibende Narben oder bleibende Fibrosen²⁶ durch extensive Schädigung beobachtet (Goetsch et al., 2003).

²² Abkürzung für „polymorphonuclear cell“ beziehungsweise „polymorphonuclear leukocyte“. In diesem Fall handelt es sich um eine polymorphenuklare Zelle- ein Leukozyt (Neutrophil) mit einem multigeklappten Kern (<http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/polymorphonuclear+cell>; Zugriff am 7. August 2009).

²³ Phagozytose ist die Aufnahme fester Partikel (zum Beispiel Gewebstrümmer, Fremdkörper oder Mikroorganismen) in das Zellinnere von Phagozyten mit intrazellulären (enzymatischen, oxidativen) Abbau. Bei einem Phagozyt handelt es sich dementsprechend um eine sogenannte Fresszelle. Pschyrembel, 2002

²⁴ Gehören zu den Phagozyten. Pschyrembel, 2002

²⁵ Bei einer Nekrose handelt es sich um lokalen Gewebstod in einem lebenden Organismus als schwerste Folge einer örtlichen Stoffwechselstörung, zum Beispiel infolge von Sauerstoffmangel, chemischer (bakterieller Gifte), physikalischer (Wärme, Kälte, Strahleneinwirkung) oder traumatischer Ursache (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 7. August 2009).

²⁶ Bei einer Fibrose handelt es sich um eine Vermehrung des Bindegewebes. Pschyrembel, 2002

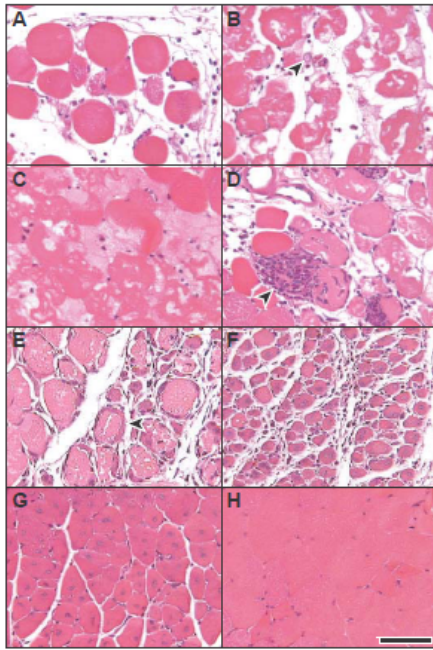


Abbildung 16: zelluläre Mechanismen der Muskelregeneration (Goetsch et al., 2003, S. 263).

9.2 Molekulare Mechanismen der Stilllegung, Aktivierung, Proliferation und Differenzierung von Satellitenzellen

9.2.1 Stilllegung

Ruhende Satellitenzellen exprimieren eine Vielzahl von Proteinen, welche für ihre Identifizierung genutzt werden können. Unter den meist verbreiteten befinden sich CD34, M-cadherin, Pax7, syndecan-3, syndecan-4 und c-met. Keiner von diesen Markern ist einzigartig für ruhende Satellitenzellen. Trotzdem identifiziert eine partikuläre Kombination von Stammzellen und Abstammungsmarkern eindeutig Muskelstammzellenpopulationen.

Die Stilllegung geht unter anderem mit der Expression von Myostatin (GDF8) einher. Es handelt sich dabei um ein Mitglied der TGF β -Superfamilie. Myostatin verhindert durch seine Expression die Aktivierung von Satellitenzellen (Dhawan & Rando, 2005) und ein Mangel von Myostatin führt zur Expression von Pax7 und treibt die Bildung der myogenen Zellen an, welche ein hohes Level an Pax7 exprimieren (McFarlane, Hennebry, Thomas, Plummer, Ling, Sharma & Kambadur, 2007).

Ruhende Satellitenzellen exprimieren keine beziehungsweise eine unerhebliche Menge an myogenen Regulationsfaktoren (MRFs), wie MyoD, Myf5, Myogenin und MRF4,

welche alle zu den bHLH²⁷ Transkriptionsfaktoren zählen und fähig sind Satellitenzellen im myogenen Programm voranzutreiben (Dhawan et al., 2005).

Pax3 und Pax7 gehören zu der Paired-box-Familie und sind Transkriptionsfaktoren. Diese sind essentiell für spezielle myogene Vorläuferzellen und exprimieren somit in ruhenden Satellitenzellen. Pax7 wird in den meisten Muskeln der Extremitäten exprimiert, wohingegen Pax3 nur in bestimmten Muskelgruppen vorhanden ist (Dhawan et al., 2005).

9.2.2 Aktivierung, Proliferation und Differenzierung

Die Aktivierung von Satellitenzellen ist ein schrittweiser Prozess und kann durch eine Reihe von Stimuli (wie zum Beispiel ein Trauma oder körperliches Training) ausgelöst werden. Nach der Aktivierung durch extrinsisch (äußere) Signale wandern die Satellitenzellen in die Muskelzellen ein und beginnen zu proliferieren und zu differenzieren. Nach der Aktivierung gibt es für die Entwicklung der Satellitenzellen zwei unterschiedliche Möglichkeiten: ein Teil der proliferierenden Stammzellen geht zurück in den Ruhestand, so dass der ursprüngliche Pool an Satellitenzellen ersetzt wird und eine gewisse Anzahl an Satellitenzellen wieder als Reservezellen vorliegen. Dies wird Selbsterneuerung (self-renewal) genannt. Der andere Teil geht weiter in die Differenzierungsphase, wo schlussendlich neue Muskelfasern entstehen. Die Aktivierung von Satellitenzellen wird durch eine Reihe von Faktoren geregelt. Zu den wichtigsten Faktoren gehören Wachstumsfaktoren wie zum Beispiel HGF (hepatocyte growth factor-sein Rezeptor wird c-met genannt), IGF (insulin growth factor) und FGF (fibroblast growth factor) und die myogenen regulatorischen Faktoren wie MyoD und Myogenin (Lui, Gampert, Prokopchuk & Steinacker, 2007).

Hepatocyte growth factor – HGF - ist ein multifunktionales Zytokin. HGF und sein Rezeptor c-met wurden in Satellitenzellen lokalisiert und grenzen an Muskelfasern an. Die Expression von HGF ist proportional zum Grad der Muskelbeschädigung. Dem HGF wird eine Vielzahl von Rollen in der Regulation der Satellitenzellen, inklusive der Rolle des Aktivators der Satellitenzelle und als Inhibitor der Differenzierung in Myoblasten, nachgesagt. HGF ist dementsprechend fähig Satellitenzellen zu aktivieren und sie in die Phase der Proliferation zu treiben. Zusätzlich vermindert eine HGF-Verabreichung die Satellitenzellen Differenzierung durch die transkriptionale Inhibierung der myogenen regulatorischen Faktoren, wie MyoD und Myogenin (Hawke & Garry, 2001).

²⁷ basic Helix-Loop-Helix

Fibroblast growth factor - FGF- spielt eine wichtige Rolle in der Aktivierung und Proliferation. Die FGF-Familie besteht aus neun Mitgliedern (FGF-1 bis FGF-9) (Hawke et al., 2001), ist im Muskelgewebe vorhanden und wird bei Beschädigung freigesetzt. Vor allem FGF-2 scheint genauso wirksam zu sein wie HGF um die Satellitenzellen zu aktivieren, und sie in die Phase der Proliferation zu bringen (Dhawan et al., 2005).

Der Insulin-like growth factor-I und II - IGF I und IGF II – sind bekannt für die Regulation des Insulinmetabolismus wichtig zu sein. Zusätzlich sind sie für die Regulation der Muskelregeneration unumgänglich. IGF-I und IGF-II erhöhen in vitro die Proliferation und Differenzierung (Hawke et al., 2001).

Myostatin wirkt sich blockierend auf die Satellitenzellenaktivierung aus und wirkt somit als Suppressor.

Myogenen Faktoren wie MyoD und Myogenin spielen eine entscheidende Rolle bei der Myogenese. Die genauen Mechanismen sind bis heute noch nicht völlig geklärt. Man vermutet jedoch, dass MyoD sowohl bei der Determinierung²⁸ als auch bei der Proliferation und Differenzierung von Bedeutung ist, wohingegen Myogenin vermutlich nur an der Differenzierung beteiligt ist. Einige Studien zeigen, dass diese zwei Faktoren durchaus bei der Muskelfasertransformation eine Rolle spielen. Es wurde unter anderem nachgewiesen, dass im vorwiegend schnelle Muskelfaser enthaltenden Muskel eine hohe Expression von MyoD und im Muskel mit vorwiegend langsamen Muskelfasern eine hohe Expression von Myogenin vorliegt (Liu et al., 2007).

Zusätzlich Faktoren, die bei der Aktivierung von Satellitenzellen eine Rolle spielen sind Zytokine. IL-6 (interleukin-6) und LIF (leukemia inhibitory factor) stimulieren die Proliferation von Satellitenzellen. Drei Stunden nach Beschädigung des Skelettmuskels steigt die Expression von LIF und nach zirka zwölf bis vierundzwanzig Stunden nach Beschädigung wird IL-6 exprimiert. LIF und IL-6 könnten die mutmaßlichen Wachstumsfaktoren sein, die Makrophagen absondern, um die Proliferation zu stimulieren (Seale & Rudnicki, 2000). Liu et al. (2007) beschreiben, dass Zytokin IL-4 ebenfalls eine Rolle in der Aktivierung der Satellitenzellen aufweist. Die Funktion von IL-4 liegt in der Stimulation der differenzierte Myozyten zu Myotubenfusion.

²⁸ Festlegung von Struktur und Funktion

9.2.3 Selbsterneuerung

Die Balance zwischen Selbsterneuerung und Differenzierung ist ausschlaggebend für die Aufrechterhaltung von Stammzellen und Gewebsregulation. Dysfunktionen führen entweder zur Verminderung der Selbsterneuerung, welches zu einer Erschöpfung der Stammzellenpopulation führt, oder zu einer Überproduktion von Stammzellen, was eine Tumorentstehung zur Folge hätte.

Grundsätzlich können verschiedene Mechanismen diese Balance bewirken. Als einer der wahrscheinlichsten Mechanismen zählt die asymmetrische Teilung (Abbildung 17A). Durch diese Art der Teilung entsteht aus einer Mutterzelle zwei ungleiche Tochterzellen: eine ist für die Selbsterneuerung bestimmt und die andere für die Differenzierung. Alternativ könnten noch zwei andere Teilungswege eine Rolle spielen – die symmetrische Teilung mit zwei stochastischen (zufälligen) Tochterzellen (Abbildung 17B) und die symmetrische Teilung, wobei entweder zwei idente selbsterneuerungsfähige oder zwei differenzierte Tochterzellen (Abbildung 17C) entstehen können (Kuang, Gillespie & Rudnicki, 2008b).

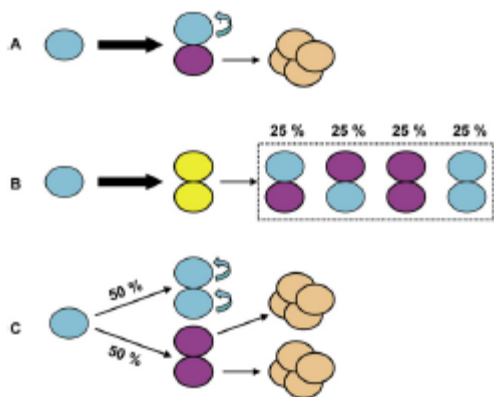


Abbildung 17: Mechanismen der Selbsterneuerung von Stammzellen. (A): Asymmetrische Teilung. (B) und (C): zwei mögliche Formen der symmetrischen Teilung (Kuang et al., 2008b, S.23)

9.3 Sind Satellitenzelle eine homogene oder eine heterogene Gruppen an Satellitenzellen?

Anfangs nahm man an, dass Satellitenzellen eine homogene Population sind. Abbildung 18A zeigt das homogene Model der Selbsterneuerung. Werden ruhende Satellitenzellen ($Pax7^{+}$ -grüner Kern) aktiviert so verlassen sie ihre Nische, bewegen sich außerhalb der Basallamina, starten den Zellzyklus und koexprimieren MyoD (grün-roter Kern). Die „Nachkommen“ der aktivierten Satellitenzellen, die Myoblasten, unterziehen sich multiple Runden der Teilung und die meisten von ihnen regulieren die Pax7-Expression herunter,

aufrechterhalten die MyoD Expression (roter Kern) und differenzieren um zu verschmelzen und um multinukleare Muskelfaser zu formen beziehungsweise den verlorenen Muskelzellkern (schwarz) zu ersetzen. Eine Fraktion der Myoblasten behält jedoch die Pax7-Expression bei, aber verliert die Expression von MyoD (grüner Kern) und verlässt schlussendlich wieder den Zellzyklus (Zammit et al., 2008). Dabei handelt es sich um Pax7⁺MyoD⁻Zellen. Diese Zellen stellen eine Selbsterneuerungsfraction dar. Das Modell setzt jedoch voraus, dass Satellitenzellen eine relativ homogene Population sein müssen, in welcher die Zellen aktiviert und MyoD exprimiert werden muss bevor die Entscheidung für Selbsterneuerung oder Differenzierung gefallen ist. Folglich sind die meisten Satellitenzellen fähig zur Selbsterneuerung (Le Grand et al., 2007).

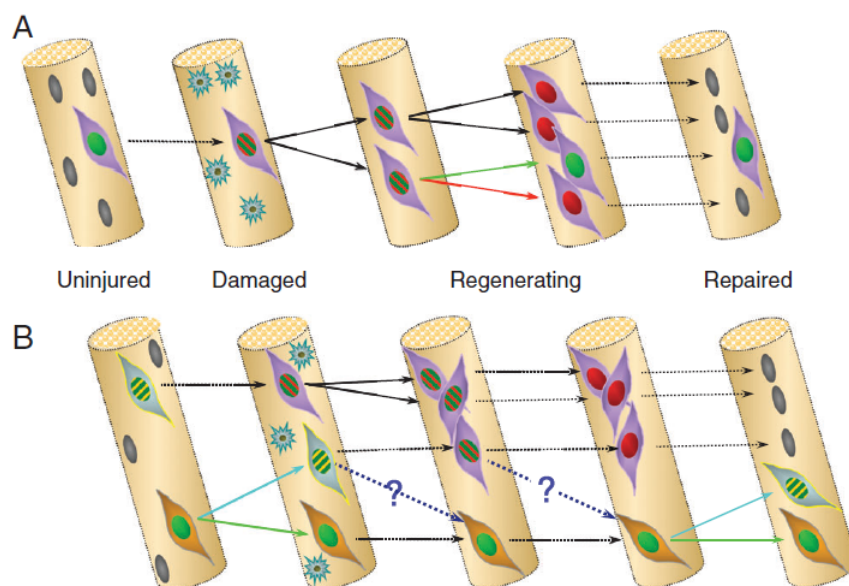


Abbildung 18: Zwei mögliche Methoden der Satellitenzellen-Selbsterneuerung (Zammit et al., 2008. S. 2978).

Im Laufe der Zeit geriet aber mehr und mehr die Frage in den Vordergrund, ob Satellitenzellen eine heterogene Gruppe sein könnte. Satellitenzellenpopulationen könnten ein Kontinuum an Zellen entwickeln, die mehr (oder weniger) Stammzellencharakter aufweisen, da unter Umständen manche Zellen weniger oft aktiviert werden und sich daher weniger Teilungen unterziehen. Alternativ könnte sich somit die Satellitenzellenpopulation aus zwei Gruppen – den myogenen Vorläuferzellen und eine Art von „Satellitenstammzellen“ – in der selben anatomischen Lokalisation zusammensetzen (Zammit et al., 2008). Kuang et al. (2008b) führte dazu ein Mausmodell durch. Es zeigten sich zwei Gruppen an Satellitenzellen. 90 Prozent der Satellitenzellen exprimierten, neben Pax7, Myf5 (Pax7⁺Myf5⁺-Zellen). Die restlichen 10 Prozent dagegen nicht - Pax7⁺Myf5⁻-Zellen. Dies hat natürlich eine andere Art/Model der Selbsterneuerung

zur Folge (siehe Abbildung 18B). In der Abbildung ist zunächst eine unverletzter Muskelfaser mit zwei unterschiedlichen Pax7⁺-Zellen zu sehen- eine die Myf5 exprimiert (grün-gelber-Kern) und eine die kein Myf5 exprimiert (grüner Kern). Bei Beschädigung ruft die Pax7⁺Myf5⁺-Zelle einen Pax7⁺MyoD⁺-Myoblast hervor (grün-roter Kern), welcher in Folge der Proliferation, Herunterregulierung von Pax7 (roter Kern) und Differenzierung unterliegt. Im Gegensatz dazu können sich die Pax7⁺Myf5⁻ „Satellitenstammzellen“ (grüner Kern) asymmetrisch teilen, was entweder zu mehr Nachkommen der Satellitenstammzellen führt, oder Pax7⁺Myf5⁺-Zellen (grün-gelber Kern) den Muskelkern erneuern (Zammit et al., 2008).

Abschließend ist zu sagen, dass der genaue molekulare Weg der Aktivierung, Selbsterneuerung, Proliferation und Differenzierung noch nicht genau entschlüsselt werden könnte und zwischen den Autoren Diskrepanzen herrschen.

10 Auswirkungen von körperlichem Training auf die Aktivierung von Satellitenzellen

10.1 Auswirkungen von mehrwöchigen Krafttraining auf die Aktivierung von Satellitenzellen

Verdijk, Gleeson, Jonkers, Meijer, Savelberg, Dendale & van Loom (2009) untersuchten die Auswirkungen von Krafttraining auf die Zusammensetzung der Muskelfasertypen und den Gehalt der Satellitenzellen bei älteren Männern. Sie untersuchten 14 gesunde Männer im Alter von 65 bis 85 Jahren während einem 12-wöchigen Interventionsprogrammes. Ausschlusskriterien für die Teilnahme an dem Programm waren kardiale oder periphere Gefäßkrankheiten, orthopädische Beeinträchtigungen und/oder Typ 2 Diabetes. Alle Teilnehmer waren zu diesem Zeitpunkt gesund, lebten selbständig und nahmen in den letzten fünf Jahren an keinem Trainingsprogramm teil.

Das Untersuchungsdesign beinhalte ein 12-wöchiges Krafttrainingsprogramm. In dieser Zeit wurden anthropometrische Messungen (Höhe, Körpermaße, Beinumfang), Kraftmessungen, eine Computertomographie und eine Doppelröntgenenergieabsorptiometrie (DEXA) zur Messungen der Knochendichte (Osteodensitometrie) und Muskelbiopsien durchgeführt.

Allen Teilnehmer wurden standardisierten Mahlzeiten (57% Kohlenhydrate, 30% Fett und 13% Proteine) vor jedem Testtag bereitgestellt. Des Weiteren mussten sie drei Tage vor der Testung anstrengende körperliche Aktivitäten unterlassen und ihre Nahrungsaufnahme dokumentieren. An allen Testtagen nahmen die Teilnehmer ein Taxi oder öffentliche Verkehrsmittel um an die Forschungsstätte zu gelangen. Desweiteren mussten sie nüchtern sein.

Die Maximalkraft wurde durch einen „one-repetition maximum (1RM)“ Krafttest an einer regulären Beinpresse (LP) und an einem Beinstrecker (LE) getestet. Eine Woche vor der ersten Muskelbiopsie wurde das 1RM von jedem Teilnehmer bestimmt. Des Weiteren wurde das 1RM nach der vierten und achten Woche, nach der Beendigung der Intervention und zwei Tage nach der letzten Belastungseinheit gemessen. Das Training wurde unter Beaufsichtigung drei Mal in der Woche über einen Zeitraum von 12 Wochen durchgeführt. Es beinhaltete fünf Minuten aufwärmen an einem Fahrradergometer, gefolgt von vier Serien an der Beinpresse und Beinstrecker und einem fünfminütigen cool-down am Fahrradergometer. In den ersten vier Woche wurde die Belastung von 60% des 1RM mit 10 bis 15 Wiederholungen pro Serien auf 75% des 1RM mit 8 bis 10

Wiederholungen/Serie erhöht. Anfang der fünften Woche wurden 4 Serien mit jeweils 8 Wiederholungen mit 75%-80% des 1RM durchgeführt. Während den Serien war eine Pause von 1,5 bis 3 Minuten erlaubt. Die Kraftübungen wurden immer zur selben Zeit am Morgen durchgeführt. Die Einnahme des Frühstücks fand immer 1,5 Stunden vor dem Training und das Mittagessen immer 2 Stunden nach dem Training statt. Die anatomische Querschnittfläche des M. quadriceps wurde durch eine Computertomographie vor Beginn und nach Beendigung des Interventionsprogrammes (3 Tage nach der letzten Kraftmessung und vor der Muskelbiopsie) bemessen. Ein 3-mm dickes axiales Bild wurde in der Mitte zwischen der Spina iliaca anterior superior und dem Ende der Patella gemacht. Direkt nach dem CT wurden die Körperzusammensetzung und die Knochendichte mit DEXA gemessen. Zusätzlich wurden vor und vier Tage nach Beendigung des Krafttrainingsprogramms Blutproben genommen.

Der Tage vor dem Beginn der Intervention und vier Tage nach der letzten Kraftmessung wurde eine Muskelbiopsie am rechten Bein des M. vastus lateralis bei jedem Teilnehmer am Morgen im nüchternen Zustand durchgeführt. Die erste Biopsieprobe wurde zirka 15 cm über der Patella entnommen und die Biopsieprobe nach der Trainingsintervention zirka 1 cm rumpfwärts der ersten Biopsiestelle (Verdijk et al., 2009).

	Before	After
Body mass (kg)	80.2 ± 3.4	80.1 ± 3.4
Height (m)	1.71 ± 0.01	1.71 ± 0.01
BMI (kg/m ²)	27.4 ± 1.1	27.4 ± 1.1
Leg volume (L)	8.2 ± 0.5	8.3 ± 0.5*
Glucose (mmol/L)	5.6 ± 0.2	5.5 ± 0.1
HbA1c (%)	5.8 ± 0.1	5.7 ± 0.1
OGIS (mL/min/m ²)	368 ± 22	382 ± 19
1RM LE (kg)	88 ± 4	111 ± 5*
1RM LP (kg)	170 ± 8	210 ± 10*

Notes: Data are means ± SEMs; BMI, body mass index; OGIS, oral glucose insulin sensitivity index (29); 1RM, one-repetition maximum; LE, leg extension; LP, leg press.

* Significantly different compared with before the intervention ($p < .05$).

Abbildung 19: Anthropometrische-, Blut- und Kraftwerte der Teilnehmer vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 335)

Abbildung 19 zeigt die Veränderung der Teilnehmer vor und nach der mehrwöchigen Trainingsintervention in Bezug auf die anthropometrischen Daten, 1RM und Blutwerte. Das Beinvolumen vergrößerte sich signifikant (siehe Abbildung 19) und das 1 RM stieg sowohl bei der LP, als auch bei der LE signifikant an (siehe Abbildung 19). Beim Beinstrecker steigerten sich die Teilnehmer von 88 ± 4 kg auf 111 ± 5 kg und bei der Beinpresse von 170 ± 8 kg auf 210 ± 10 kg. Die totale Körpermasse, Größe und Body-Mass-Index veränderten sich nicht. Glucose- und Insulinkonzentrationen und HbA1c-

Gehalt lagen alle im normalen Blutwertbereich eines gesunden Menschen und änderten sich nicht während dem Trainingsprogramm.

	Before	After
Lean mass (kg)	57.4 ± 1.6	58.0 ± 1.7
Fat mass (kg)	19.6 ± 2.4	19.0 ± 2.4*
Body fat (%)	23.6 ± 2.2	22.9 ± 2.2*
Leg lean mass (kg)	18.3 ± 0.5	19.3 ± 0.5*
Leg fat (%)	18.9 ± 2.3	18.3 ± 2.3*
CSA (cm ²)	75.9 ± 3.7	82.4 ± 3.9*

Notes: Data are means ± SEMs; CSA, cross-sectional area of the right quadriceps muscle.

* Significantly different compared with before the intervention ($p < .05$).

Abbildung 20: Körperzusammensetzung und Muskelmasse der Teilnehmer vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 336)

Die Magermasse aller Teilnehmer tendierte etwas zu steigern (von $57,4 \pm 1,6$ kg auf $58,0 \pm 1,7$ kg). Es kam jedoch nicht zu einer signifikanten Zunahme. Bei der Fettmasse kam es zu einer signifikanten Abnahme (siehe Abbildung 20). Die Magermasse des Beines nahm signifikant von $18,3 \pm 0,5$ kg auf $19,3 \pm 0,5$ kg zu. Entsprechend nahm der Fettgehalt in den Beinen ab. Die Knochendichte blieb unverändert. Die Querschnittfläche des M. quadriceps femoris vergrößerte sich innerhalb des mehrwöchigen Trainingsprogramms von $75,9 \pm 3,7$ cm² auf $82,4 \pm 3,9$ cm².

Vor dem Behandlungsbeginn waren die Anteile bezüglich der Muskelfaserverteilung der Typ I und Typ II Muskelfasern $47\% \pm 4\%$ und $53\% \pm 4\%$ und der besetzte flächenmäßigen Anteil von Typ I und Typ II im Muskel betrug $52\% \pm 4\%$ und $48\% \pm 4\%$ (siehe Abbildung 21). In dem dreimonatigen Training kam es weder zu einer Erhöhung der Anzahl von Typ I und Typ II Muskelfasern noch zu einer prozentuellen Erhöhung der Muskelfaseranteile, die die Muskelfläche belegen. Jedoch war der Unterschied zwischen den Größen der Querschnittflächen der Muskelfasern nach dem Trainingsprogramm nicht mehr offensichtlich. Das heißt, dass die Querschnittfläche vor dem Training der Typ I und Typ II Muskelfasern $6,635 \pm 354$ µm² und $5,438 \pm 319$ µm² betrug und nach dem dreimonatigen Training $6,881 \pm 493$ µm² und $6,982 \pm 503$ µm². Somit ist im Gegensatz zu den Typ I Faser, bei den Typ II eine signifikante Zunahme der Querschnittfläche zu erkennen (von $5,438 \pm 319$ µm² auf $6,982 \pm 503$ µm²).

	Before Intervention			After Intervention		
	Fiber%	CSA (μm^2)	CSA%	Fiber%	CSA (μm^2)	CSA%
Type I	47 $\pm$ 4	6,635 $\pm$ 354	52 $\pm$ 4	47 $\pm$ 3	6,881 $\pm$ 493	46 $\pm$ 3
Type II	53 $\pm$ 4	5,438 $\pm$ 319*	48 $\pm$ 4	53 $\pm$ 3	6,982 $\pm$ 503 [†]	54 $\pm$ 3

Notes: Data are means $\pm$ SEMs; CSA: fiber cross-sectional area; CSA%: percentage area occupied by muscle fiber type.

* Significantly different compared with the Type I muscle fibers ($p < .01$).

[†] Significantly different compared with before the intervention ($p < .01$).

Abbildung 21: Verteilung der Typ I und Typ II Muskelfasern vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 336)

Zum Behandlungsbeginn beinhaltet der Typ I Muskelfaser mehr Muskelzellkerne als Typ II (siehe Abbildung 22). Nach dem Trainingsprogramm war dieser Unterschied aber nicht mehr zu beobachten. Typ I und Typ II Muskelfasern beinhalteten $3,4 \pm 0,3$ und $3,3 \pm 0,8$ Muskelzellkerne. Im Kontrast zu Typ I Muskelfasern tendierte die Anzahl der Muskelzellkerne in Typ II Muskelfasern während dem Trainingsprogramm von $2,8 \pm 0,2$ auf $3,3 \pm 0,3$ zu zunehmen.

	Before	After
Number of nuclei per fiber		
I	3.6 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3
II	2.8 $\pm$ 0.2*	3.3 $\pm$ 0.3
Fiber area per nucleus (μm^2)		
I	1,918 $\pm$ 133	2,096 $\pm$ 118
II	2,029 $\pm$ 159	2,149 $\pm$ 148
Number of SCs per fiber		
I	0.089 $\pm$ 0.006	0.096 $\pm$ 0.011
II	0.048 $\pm$ 0.003*	0.084 $\pm$ 0.008 [†]
SC %		
I	2.6 $\pm$ 0.3	2.7 $\pm$ 0.3
II	1.8 $\pm$ 0.1*	2.6 $\pm$ 0.3 [†]
Number of SCs per square millimeter		
I	13.9 $\pm$ 1.2	12.9 $\pm$ 1.2
II	9.2 $\pm$ 0.8*	11.9 $\pm$ 0.9 [†]

Notes: Data are means $\pm$ SEMs; SC, satellite cells; SC%, number of SCs as a percentage of the total number of nuclei (ie, number of myonuclei + number of SCs); I, Type I muscle fibers; II, Type II muscle fibers.

* Significantly different compared with the Type I muscle fibers ($p < .01$).

[†] Significantly different compared with before the intervention ($p < .01$).

Abbildung 22: Gehalt der Muskelzellkerne und Satellitenzellen vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 337)

Betrachtet man die Anzahl der Satellitenzellen pro Muskelfaser, so ist in Abbildung 22 zu sehen, dass vor der Intervention die Typ II Muskelfasern signifikant weniger enthielten als die Typ I Fasern ($0,048 \pm 0,003$ vs. $0,089 \pm 0,006$). Der Prozentsatz und die Anzahl der Satellitenzellen per Quadratmillimeter war in Typ II Muskelfasern ebenfalls niedriger als in Typ I Fasern zu Behandlungsbeginn. Im Gegensatz zu den Typ I Muskelfasern kam es nach dem 12-wöchigen Training zu einem signifikanten Anstieg der Satellitenzellen in den Typ II Fasern (siehe Abbildung 22 und 23). Die Anzahl der Satellitenzellen in Typ II Muskelfasern stieg signifikant von $0,048 \pm 0,003$ auf $0,084 \pm 0,008$, der prozentuelle Anteil der Satellitenzellen in Typ II Fasern stieg von $1,8 \pm 0,1$ auf $2,6 \pm 0,3$ und die Anzahl der

Satellitenzellen per Quadratmillimeter in Typ II Muskelfasern stieg ebenfalls signifikant von $9,2 \pm 0,8$ auf $11,9 \pm 0,9$ nach dem Trainingsprogramm. Entsprechend gab es nach dem Training keinen Unterschied im Gehalt der Satellitenzellen zwischen Typ I und Typ II Muskelfasern.

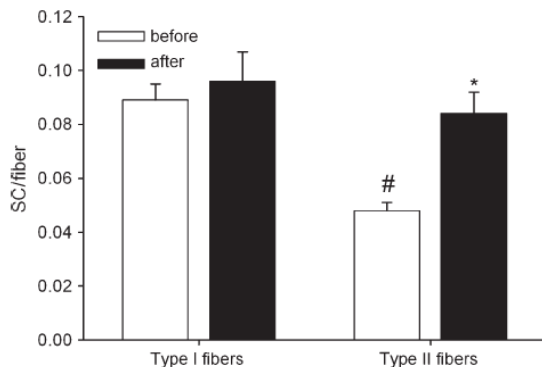


Abbildung 23: Durchschnittliche Anzahl von Satellitenzellen in Typ I und Typ II Muskelfasern vor und nach dem 12-wöchigen Interventionsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 337)

Zusammengefasst zeigte Studie von Verdijk et al. (2009), dass ein dreimonatiges Krafttraining zu einer Vergrößerung der Muskelmasse, zu einer Reduzierung der Fettmasse und zu einer Steigerung der Muskelkraft bei älteren Männern führt. Die dabei beobachtete Skelettmuskelhypertrophie ist vor allem bei den Typ II Muskelfasern zu beobachten und war besonders durch eine Vergrößerung des Satellitenzellengehalts begleitet (siehe Abbildung 22 und 23). Zudem tendierten die Anzahl der Muskelzellkerne pro Typ II Muskelfasern zu steigen (siehe Abbildung 22), wohingegen die Faserfläche pro Muskelzellkern während des Studienverlaufs relativ beibehalten blieb (siehe Abbildung 22). Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit der Erkenntnis, dass Muskelfaserhypertrophie durch den Anstieg der Aktivität von vorher existierenden Satellitenzellen und/oder dem Zusammenschluss von neu geformten Muskelzellkernen definiert ist. Somit ist die Proliferation und die anschließende Verschmelzung der differenzierten Nachkommen der Satellitenzellen essentiell für die Hypertrophie der Typ II Muskelfasern. In dieser Hinsicht ist es überraschend, dass nur eine Tendenz bezüglich einer Steigerung an Muskelzellkernen in Typ II Muskelfasern gegeben war und keine signifikante Steigerung. Der Grund hierfür könnte sein, dass nur vor und nach der Trainingsintervention eine Biopsie durchgeführt wurde. Somit kann nur über eine Steigerung der Satellitenanzahl mit nachfolgender Vereinigung von neuen Muskelzellkernen und anschließender Muskelhypertrophie spekuliert werden. Jedoch zeigten in vitro Untersuchungen, dass ein Anstieg an Satellitenzellen und nachfolgenden Vereinigung von neuen Muskelzellkernen einer Muskelhypertrophie vorangehen.

Beobachtet man die großen interindividuellen Unterschiede in der Antwort auf Hypertrophie und die Beziehungen zwischen den Veränderungen in Muskelfasergröße, Satellitenzellengehalt und Muskelzellkerngehalt, ist es interessant nachzudenken, welche Faktoren hierfür noch verantwortlich sein könnten. Frühere Untersuchungen haben aufgezeigt, dass die myogenen Regulationsfaktoren (Myogenin, MyoD, myf-5 und MRF4) und verschiedene Wachstumsfaktoren wie IGF und HGF eine Rolle in der belastungsvermittelten Hypertrophie und in der Satellitenzellenaktivierung und/oder Proliferation und Differenzierung spielen.

Nichtsdestotrotz zeigt die Studie von Verdijk et al. (2009), dass das Muskelgewebe älterer Menschen noch fähig ist Satellitenzellen zu aktivieren, proliferieren und differenzieren und, dass die neuen Muskelzellkerne zu neuen Muskelfasern verschmelzen können.

Roth, Martel, Ivey, Lemmer, Tracy, Metter, Hurley und Rogers (2001) untersuchte ebenfalls die Auswirkungen von Krafttraining auf die Satellitenzellen. Der Unterschied zu der Untersuchung von Verdijk et al. (2009) besteht darin, dass die Gruppe von Roth sowohl jüngere als auch ältere Menschen untersucht hat. Sie wollten wissen, ob es einen Unterschied in der Aktivierung von Satellitenzellen und folglich in der Hypertrophie zwischen den jüngeren und älteren Menschen gibt. Insgesamt wurden 29 Teilnehmer in vier Gruppen aufgeteilt: sieben junge Frauen, sieben ältere Frauen, sieben jüngere Männer und acht ältere Männer. Alle Probanden waren Nichtraucher und waren frei von jeglichen kardiovaskulären-, Stoffwechsel- und Muskel-Skelett-Erkrankungen. Zudem durften sie in den letzten sechs Jahren nicht an einem regelmäßigen Trainingsprogramm teilgenommen haben. Die Körperzusammensetzung wurde bestimmt (siehe Abbildung 24) und vor jedem morgendlichen Scan durften die Teilnehmer acht Stunden lang nichts essen.

Parameter	Older Men	Older Women	Young Men	Young Women
<i>n</i>	8	7	7	7
Age (y)	69 ± 3	67 ± 3	25 ± 3	26 ± 1
Height (cm)	173.3 ± 4.3	157.0 ± 6.1	180.4 ± 10.7	168.5 ± 5.8
Weight (kg)	83.6 ± 10.5	71.1 ± 8.8	93.0 ± 18.3	69.2 ± 6.4
% Body fat				
Before HRST	30 ± 6	41 ± 6*	26 ± 8	31 ± 5
After HRST	30 ± 5	39 ± 7*	26 ± 8	32 ± 3

Notes: Data are means ± SE. HRST = heavy resistance strength training.

*Significantly greater than all other groups ($p < .05$).

Abbildung 24: Körperparameter der jüngeren und älteren Frauen und Männer (Roth et al., 2001, S. 242)

Vor dem neunwöchigen hochanspruchsvollen Krafttraining (HRST²⁹) gab es drei leichte Trainingseinheiten für jeden Teilnehmer, um ihn an das Gerät zu gewöhnen. Nach diesen Einheiten wurde das 1RM und 5RM ausgetestet. Vor jeder Krafttrainingseinheit wurde drei Minuten auf einem Fahrradergometer aufgewärmt. Anschließend wurde sowohl der rechte, als auch der linke M. quadriceps statisch gedehnt. Dann folgten eine Krafttrainingseinheit laut dem HRST-Protokoll und anschließend ein Cool-down. Das HRST-Protokoll für das neunwöchige überwachte Interventionsprogramm schaute folgendermaßen aus: die Probanden absolvierten ein einseitiges HRST der Kniestrecker des dominanten Beines. Das andere Bein diente immer nur zum Vergleich und wurde so platziert, dass es zu keiner Kontraktion innerhalb der Muskeln kommen konnte. Das Krafttrainingsprogramm bestand aus drei Einheiten pro Woche und aus fünf Serien pro Trainingseinheiten. Die Widerstandskraft für jede Übung beruhte auf dem 5RM. Nach dem Ausführen einer aufwärmenden Serie (50% des 1RM), führten die Teilnehmer die zweite Serie mit fünf Wiederholungen mit dem Gewicht des 5RM aus. Danach folgte eine 30-sekündige Pause. Die dritte Serie bestand aus 10 Wiederholungen, wobei die ersten vier bis fünf Wiederholungen mit dem Gewicht des 5RM ausgeführt werden mussten und das Gewicht anschließend so herab reduziert wurde, dass die Teilnehmer mit der letzten Wiederholung erschöpft waren. Dieser Verlauf wurde bei der vierten und fünften Serie wiederholt, so dass der Teilnehmer nach 15 beziehungsweise 20 Wiederholungen körperlicher ermüdet war. Nach der dritten, vierten und fünften Serie hatten die Probanden, 90, 150 und 180 Sekunden Pause. Das 5RM erhöhte sich pro Trainingseinheit um ein bis zwei Kilogramm.

Vor und nach dem mehrwöchigen Trainingsprogramm musste sich jeder Teilnehmer einer Muskelbiopsie unterziehen. Die Entnahmestelle am M. vastus lateralis lag 14 cm (Frauen) beziehungsweise 16 cm (Männern) proximal (rumpfwärts) von der Patella. Die erste Biopsie fand eine Woche vor der Gewöhnung an das Gerät statt und die Abschlussbiopsie 24 bis 48 Stunden nach der letzten Trainingseinheit, wobei die Entnahmestelle um 2,5 Millimeter proximal und lateral versetzt war. Jede Muskelfaser wurde mittels eines Elektronenmikroskops auf Muskelzellkerne und Satellitenzellen untersucht. Um die Aktivität der Satellitenzellen untersuchen zu können, orientierten sich die Wissenschaftler an Veränderungen in der Zellmorphologie. Ein Anstieg oder Überfluss der Organellenstrukturen kennzeichnete indirekt die Aktivität der Satellitenzelle. Zu den morphologischen Charakteristiken der Organellen zählten unter anderen die

²⁹ heavy resistance strength training

Mitochondrien, der Golgi-Apparat, das endoplasmatische Retikulum, die Fläche der Satellitenzelle und die Fläche des Satellitenzellenkerns. Die Organellen wurden aufgrund ihrer Frequenz und Ausmaß ihres Vorkommens als nicht beobachtet (-), höchst selten (+), selten (++) , gelegentlich (+++) oder häufig (++++) gereiht. Die Bewertung „Aktiv“ oder „Inaktiv“ vollzog der Untersucher aufgrund von Punkten für jede einzelne morphologische Charakteristik der Zelle. Satellitenzellen wurden als „Aktiv“ eingestuft, wenn mindestens vier Beurteilungskategorien der Organellen mit +++ oder besser beurteilt wurden (Roth et al., 2001).

Nach der neunwöchigen HRST-Intervention kam es in allen vier Gruppen zu einer Steigerung des 1RM. Das 1RM vor und nach der Intervention war bei den älteren Männern ($73,9 \pm 2,9$ k und $94,6 \pm 3,6$ kg) und bei den jüngeren Männern ($79,4 \pm 8,0$ kg und $99,8 \pm 8,6$ kg) signifikant höher als bei den älteren Frauen ($42,7 \pm 2,1$ kg und $52,1 \pm 3,0$ kg). Die Kraft der jüngeren Frauen ($61,9 \pm 6,6$ kg und $85,1 \pm 7,1$ kg) war signifikant größer als die der älteren Frauen vor und nach dem Programm. HRST resultierte in einem signifikanten Anstieg der Muskelkraft in allen Gruppen.

Alle Gewebeproben des trainierten Beines enthielten zusammen 58 Satellitenzellen vor dem Behandlungsbeginn und 86 nach dem HRST. Dieser Anstieg geht vor allem auf die signifikante Zunahme der Satellitenzellen bei den älteren Frauen (von 22 vor und 44 nach HRST) zurück. Der Satellitenzellenanteil [Satellitenzellen/(Muskelzellkerne + Satellitenzellen)] stieg signifikant durch das HRST im trainierten Bein in allen Gruppen. Zudem verzeichneten die älteren Frauen einen signifikant höheren Anstieg als die restlichen Gruppen (siehe Abbildung 25). Zu keinen Veränderungen der Satellitenzellenanteile kam es, wie vermutet, im untrainierten Bein bei allen Gruppen (Roth et al., 2001).

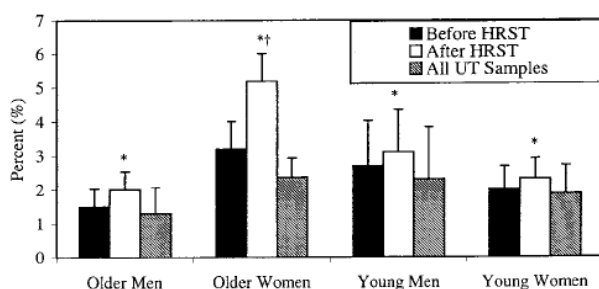


Abbildung 25: Verhältnis der Satellitenzellen [Satellitenzellen/(Muskelzellkerne + Satellitenzellen)] im M. vastus lateralis von gesunden jungen und alten Frauen und Männern vor und nach dem HRST. Before HRST = Daten vom dominanten Bein vor HRST; after HRST = Daten vom dominanten Bein nach HRST. All untrained (UT) Proben = zusammengefasste Daten von dem untrainierten Bein. *Signifikanter Abweichung in Bezug auf vor HRST. † Signifikanter höher Anstieg der Satellitenzellen in Vergleich zu den restlichen Gruppen (Roth et al., 2001, S. 243)

Sowohl vor, als auch nach dem HRST hatte die Gruppe der jüngeren Frauen signifikant größere Satellitenzellenflächen im Vergleich zu den jüngeren und älteren Männern, obwohl kein signifikanter Unterschied in der Kernfläche oder dem Kern/Zellflächen-Verhältnis zwischen den Gruppen weder vor, noch nach dem HRST am trainierten Bein festgestellt werden konnten (siehe Abbildung 26). Vergleiche zwischen dem trainierten und untrainierten Bein zeigen eine signifikante Vergrößerung der Zellfläche von $12,4 \pm 0,7$ auf $15,3 \pm 1,2 \mu^2$ und der Kernfläche von $7,4 \pm 0,4$ auf $9,1 \pm 0,7 \mu^2$ (siehe Abbildung 26). Bezüglich des Kern/Zellflächenverhältnis und des Heterochromatins³⁰ gab es keine sichtbaren Veränderungen (siehe Abbildung 26) (Roth et al., 2001).

Parameters	All Untrained Samples	After HRST
<i>n</i>	94	72
Cell area (μ^2)	12.4 ± 0.7	$15.3 \pm 1.2^*$
Nuclear area (μ^2)	7.4 ± 0.4	$9.1 \pm 0.7^*$
Nucleus/cell area ratio (%)	59.1 ± 1.3	60.4 ± 1.4
Heterochromatin (%)	39.5 ± 1.6	39.0 ± 1.0

Notes: Data are means $\pm$ SE. HRST = heavy resistance strength training. "All untrained samples" are defined as any muscle sample not subjected to the HRST stimulus (before-training samples pooled with both control leg samples).
*Significantly greater than all untrained samples ($p < .05$). No other significant differences.

Abbildung 26: Morphologie der Satellitenzellen vor und nach dem mehrwöchigen Trainingsprogramm (Roth et al., 2001, S. 243)

Des Weiteren kam es zu einem signifikanten Unterschied hinsichtlich dem Anteil von aktiven Satellitenzellen in den Gewebeproben der mehrwöchigen trainierten Muskeln im Vergleich zu den Proben der untrainierten Muskeln (21 aktive Satellitenzellen von 67 bei den Proben nach HRST und 6 aktive Satellitenzellen von 88 vor dem HRST). Wie in Abbildung 27 graphisch dargestellt, waren 31% der Satellitenzellen nach dem HRST aktiv. Im Vergleich dazu waren im dominanten Bein vor HRST nur 7% und im untrainierten nur 6% der Satellitenzellen aktiv (siehe Abbildung 27). Zwischen den Gruppen kam es zu keiner signifikanten Abweichung in der Anzahl von aktiven Satellitenzellen, jedoch

³⁰ Chromatin weißt im Gegensatz zum Euchromatin sowohl in der Inter- als auch in der Metaphase des Zellzyklus lichtmikroskopisch den gleichen Verdichtungs- oder Kondensationsgrad auf. Heterochromatin ist hoch spiralisiert, elektronenoptisch fibrillendicht, oft genarm und am besten in der Prophase der Mitose darstellbar.

Bei Chromatin handelt es sich um das spezifisch anfärbbare Material des Zellkerns. Eine fädige Struktur, bestehend vor allem aus DNS und Histonen (basisches Chromosomenprotein), die gemeinsam Nucleosomen bilden (<http://www.tk-online.de/rochelexikon/>; Zugriff am 23. August, 2009)

verzeichneten die älteren Frauen einen etwas höheren Anteil an aktiven Satellitenzellen (Roth et al., 2001).

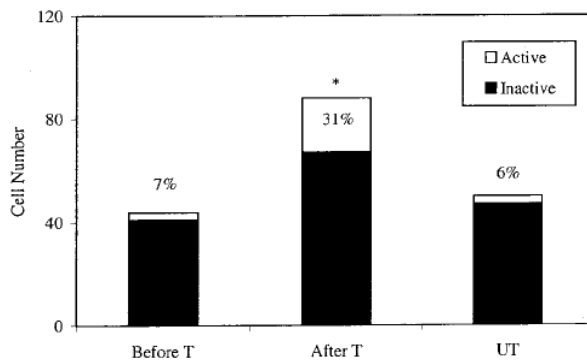


Abbildung 27: Anzahl der aktiven und inaktiven Satellitenzellen. Before T: Proben vor dem HRST; After T: Proben nach HRST; UT: Proben des untrainierten Kontrollbeines. *signifikanter Unterschied zu Bevor T und UT (Roth et al., 2001, S. 244)

Der einzige wirkliche Unterschied in Bezug auf die Studie von Verdijk und seinen Mitarbeiter (2009) lag daran, dass es zu keiner Veränderung vor und nach dem mehrwöchigen HRST bezüglich der Muskelfasertypen gekommen ist. Es konnten keine signifikanten Veränderungen bei den Muskelfaseranteilen nach dem HRST und kein signifikanter Anstieg der Muskelfaserfläche in allen Muskelfasertypen festgestellt werden.

In der vorliegenden Untersuchung von Roth et al. (2001) stiegen die Anteile der Satellitenzellen bei jüngeren und älteren Frauen und Männern signifikant, als Resultat eines neunwöchigen HRST, an. Zusätzlich stieg die Anzahl der aktiven Satellitenzellen in allen Gruppen. Interessanterweise verzeichneten die älteren Frauen, verglichen mit den anderen Gruppen, einen größeren Anstieg in der Anzahl an aktiven Satellitenzellen als Antwort auf HRST.

Angesichts der Tatsache, dass die Satellitenzellen nur vor und nach dem neunwöchigen Trainingsprogramm untersucht wurden, liegen Spekulationen vor, dass der Höhepunkt der Satellitenzellen-Aktivierung wahrscheinlich früher, nämlich während der Trainingsperiode, aufgetreten ist und eine umfangreiche Differenzierung schon zum Zeitpunkt vor der letzten Biopsie stattgefunden hat. Die nicht stattgefundenen morphologischen Veränderungen im untrainierten Bein sind Beweise für eine erhöhte zelluläre Aktivität im trainierten Muskel. Demnach liefern diese Studienresultate den Beweis für die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung von Satellitenzellen als Antwort auf Krafttraining bei jüngeren und älteren Frauen und Männern (Roth et al., 2001).

Eine andere sehr interessante Studie kommt von Kadi, Schjerling, Anderson, Charifi, Madsen, Christensen und Andersen (2004). Sie untersuchten die Satellitenzellen und

Muskelzellkerne nicht nur während einem Trainingsprogramm, sondern auch noch Wochen danach. 15 gesunde junge Männer (Alter: 24 ± 1 Jahre; Körperhöhe: 181 ± 2 cm; Körpergewicht vor der Trainingsintervention: $75,4 \pm 2,4$ kg; Körpergewicht nach der Trainingsintervention: $75,9 \pm 2,1$ kg) wurden über einen Trainingszeitraum von 90 Tagen und über einen nachfolgenden trainingsfreien Zeitraum von ebenfalls 90 Tagen beobachtet und untersucht. Das Ziel der Studie war die Anpassung des Gehaltes von Satellitenzellen und Muskelzellkerne während eines 90-tägigen Krafttrainings und die nachfolgende Regulierung in den nachfolgenden Wochen ohne Training zu untersuchen. Alle Teilnehmer waren gesund und nahmen zuvor an keinem organisierten Sport teil und unterzogen sich im letzten Jahr keinem Krafttraining.

Die progressive Trainingsintervention ging über drei Monate. Drei Mal pro Woche wurde trainiert. Vier verschiedene Übungen für die Beine wurden ausgeführt: Beinpresse, Beinstrecker, Squat Jumps und Hamstring Curl. Vier bis fünf Serien mit sechs bis zwölf Wiederholungen wurden absolviert, entsprechend dem 6 bis 12 RM. Zusätzlich wurde noch der Oberkörper trainiert.

Nach dem dreimonatigen Trainingsprogramm kehrten die Teilnehmer wieder in ihr normales Alltagsleben mit dem gleichen Aktivitätslevel wie vor der Intervention (kein Kraft- und Ausdauertraining) zurück.

Die Muskelbiopsie wurde am M. vastus lateralis des rechten Beines vor, nach 30 Tagen und nach dem Trainingsprogramm (90 Tage nach Beginn der Intervention) durchgeführt. Die letzte Biopsie im Trainingszeitraum fand 24 Stunden nach der letzten Trainingseinheit statt. Der Unterschied zu all den anderen Studien besteht darin, dass weitere Muskelbiopsie im nachfolgenden trainingsfreien Zeitraum durchgeführt wurden. Am 3., 10., 30., 60. und 90. Tag nach der Trainingsintervention entnahmen die Untersucher wieder Proben des Muskelgewebes.

Für die Identifizierung der Satellitenzellen wurde ein Antikörper gegen CD56 verwendet. Dieser Antikörper erkennt neuronale Adhäsionsmoleküle (NCAM), welche im frühen Stadium der Myogenese und der Satellitenzellen exprimiert werden. Eine Peroxidase-Markierung wurde mittels DAB Substrat für die Visualisierung des Antikörpers verwendet. Die Basallamina wurde mit einem Antikörper gegen Laminin sichtbar gemacht. So konnte gut unterschieden werden, ob sich ein Zellkern innerhalb oder außerhalb der Muskelfaser befand. Durch die Verwendung des Mayer's Hämatoxylin konnten die Muskelzellkerne erkannt werden. Satellitenzellen zeigten einen braunen Rand, die einen Zellkern beinhalteten. Muskelzellkernen erschienen blau. Die Marker Cyclin D1 und p21 mRNA

wurden ebenfalls im Verlauf der Studie mittels Northern Blot gemessen. Diese weisen auf die Aktivierung und Proliferation der Satellitenzellen hin (Kadi et al., 2004).

Die Anzahl der Satellitenzellen pro Muskelfaser stieg signifikant während der Trainingsperiode an. Nach 30 Tagen Krafttraining war die Anzahl der Satellitenzellen signifikant erhöht und nach 90 Tagen waren diese nochmals erhöht (siehe Abbildung 28)

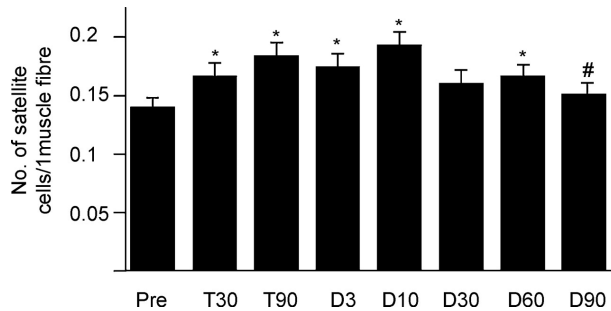


Abbildung 28: Anzahl der Satellitenzellen pro Muskelfaser vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90). * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1008)

Nach 30 Tagen Training wuchs die Anzahl der Satellitenzellen um 19,3% und nach 90 Tagen um 31,4% an.

Die beiden Zellzyklusmarker CyclinD1 und p21 mRNA stiegen nach 30 Tagen Training um das 2-fache beziehungsweise 6-fache an und nach 90 Tagen war p21 mRNA noch immer um das 3-fache erhöht und CyclinD1 ging auf den Ausgangswert zurück (siehe Abbildung 29).

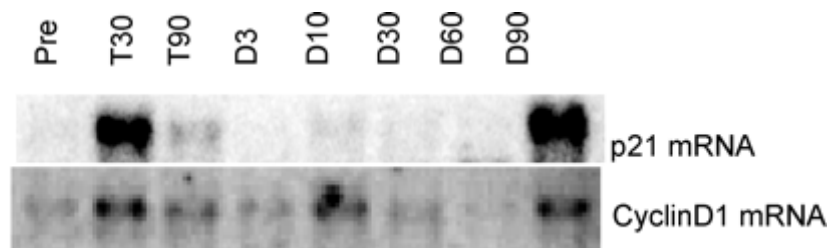


Abbildung 29: Northern Blot der p21 mRNA und CyclinD1 mRNA (Kadi et al., 2004, S. 1008)

Während der trainingsfreien Periode erreichten die p21 und CyclinD1 mRNA sehr ähnliche Werte wie vor der Trainingsintervention.

Bei der Anzahl der Muskelzellkerne pro Muskelfaser kam es zu keiner signifikanten Änderung während des Trainings oder während des trainingsfreien Zeitraums (siehe Abbildung 30). Durchschnittlich befanden sich 2,85 Muskelzellkerne pro Querschnittfläche einer Muskelfaser vor dem Training. Nach dem 90-tägigen Training durchschnittlich 2,82.

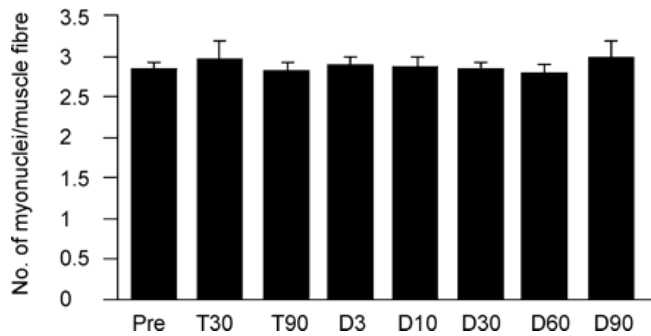


Abbildung 30: Durchschnittliche Anzahl der Muskelzellkerne pro Muskelfaser vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) (Kadi et al., 2004, S. 1009)

Durch das Krafttraining kam es zu einem signifikanten Zuwachs hinsichtlich der Muskelfaserquerschnittfläche. In den ersten 30 Tagen stieg die Muskelfaserfläche um 6% und nach 90 Tagen um 17% (siehe Abbildung 31). Wie zu erwarten reduzierte sich diese wieder in der Periode des trainingsfreien Stadiums (Kadi et al., 2004).

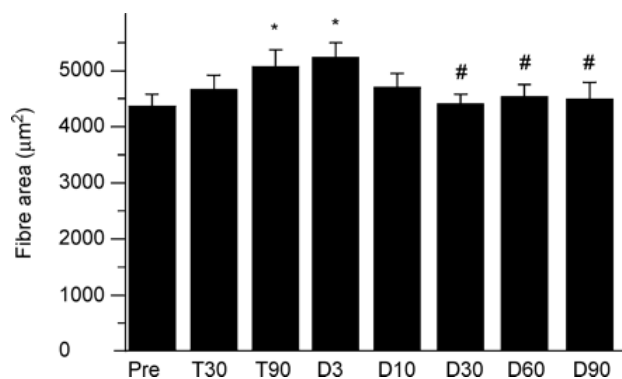


Abbildung 31: Durchschnittliche Querschnittfläche der Muskelfasern vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1009)

Kadi und seine Mitarbeiter (2004) untersuchten des Weiteren, ob sich die Fläche, welche durch einen einzelnen Muskelzellkern kontrolliert wird, veränderte (=Veränderung der Größe des Muskelzellkern-Domain). Vor dem Trainingsbeginn kontrollierte jeder Muskelzellkern eine durchschnittliche Fläche von 1522 µm². Diese Muskelzellkern-Domain stieg signifikant schrittweise während des Krafttrainings an (siehe Abbildung 32). Bis am dritten Tag der trainingsfreien Periode blieb diese gleichermaßen erhöht. Danach fiel die Muskelzellkern-Domain wieder herab. Nach 30 Tagen trainingsfrei wurde der Ausgangswert wieder erreicht.

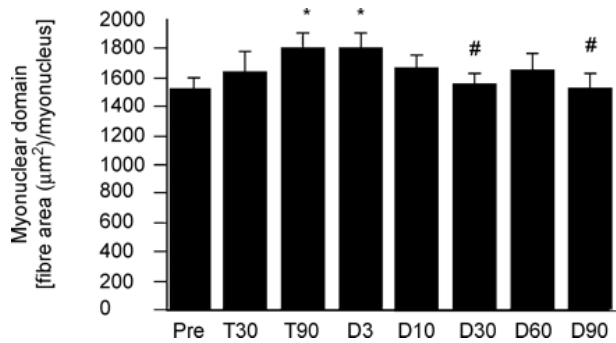


Abbildung 32: Muskelzellkern-Domain vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1010)

Zusammenfassend zeigt die Studie von Kadi et al. (2004), dass ein 30-tägiges Krafttraining effizient genug ist, um den Pool der Satellitenzellen zu erhöhen und, dass zusätzliche 60 Tage diesen noch weiter steigern. Diese erhöhte Anzahl der Satellitenzellen kann über mehrere trainingsfreie Tage aufrechterhalten bleiben. Zusätzlich zeigten sich signifikante Anstiege der CyclinD1 und p21 mRNA, welches auf ein erhöhtes Level an Aktivierung und Proliferation der Satellitenzellen hinweist. Die hoch ausgeprägte Überexpression in der p21 mRNA am 30ten und 90ten Tag des Training, aber nicht am dritten Tag der trainingsfreien Periode, deutet darauf hin, dass die proliferierten Zellen den Zellzyklus verlassen um neue ruhende Satellitenzellen zu formen. Zusammengefasst kann gesagt werden, dass der Anstieg von CyclinD1 und p21 mRNA während der Trainingsperiode auf eine ausführliche Zellteilung hindeutet, welche in einen Anstieg der Satellitenzellen resultiert.

Die Hypertrophie der Muskelfasern war nicht durch einen Anstieg der Muskelzellkerne begleitet. Somit war jeder Muskelzellkerne fähig einen größeren cytoplasmatischen Bereich zu unterstützen. Summa summarum sind keine zusätzliche Muskelzellkern nötig um eine Hypertrophie zu induzieren (Kadi et al., 2004).

10.2 Auswirkungen einer einzigen Krafttrainingseinheit auf die Aktivierung der Satellitenzellen

Dreyer, Blanco, Sattler, Schroeder und Wiswell (2006) untersuchten, ob die Anzahl der Satellitenzellen 24 Stunden nach einer einzigen Krafttrainingseinheit erhöht ist. Des Weiteren stellten sie die Hypothese auf, dass die Antwort der Muskulatur auf Krafttraining älterer Menschen weniger ausgeprägt ist im Vergleich zu jüngeren.

Gesunde Teilnehmer im Alter zwischen 21 und 35 Jahren und älter als 60 nahmen an der Untersuchung teil. Vor der Teilnahme unterzog sich jeder Proband einer körperlichen Untersuchung und einem Bluttest um Erkrankungen und muskuläre Entzündungen auszuschließen. Schlussendlich durften 21 Teilnehmer an der Studie teilnehmen.

Die Muskelbiopsie wurde am M. vastus lateralis des dominanten Beines durchgeführt. Zwei Biopsien im Abstand von 11 bis 15 Tagen wurden durchgeführt. Die erste Biopsie war einige Tage vor der einzelnen Krafttrainingseinheit um den Effekt der ersten Biopsie hinsichtlich Muskelregeneration und der damit verbunden Beeinflussung der Satellitenzellen zu minimieren. Die zweite Biopsie fand 24 Stunden nach der Trainingseinheit statt. Die Biopsiestelle der ersten Biopsie befand sich 18 cm proximal von der Patella, die der zweiten um zwei bis vier Zentimeter versetzt. 100 bis 175 mg Muskelgewebe wurde bei jeder Biopsie entnommen.

Einbeinige maximale exzentrische isokinetische Belastung wurde auf einem Beinstrecker (60°/s) durchgeführt. Die Teilnehmer wurden vorher an das Gerät gewöhnt und bei der Ausführung mittels Schultergurt, einer Hüftfixierung und Oberschenkelfixierung fixiert. Die Trainingseinheit setzte sich aus 6 Serien zusammen, wobei die erste Serie aus 12 maximalen Wiederholungen und die restlichen 5 Serien aus 16 maximalen Wiederholungen bestanden.

Für die Identifizierung von Satellitenzellen wurde der Antikörper CD56 verwendet. Er richtet sich gegen Nervenzell-Adhäsionsmolekül (NCAM), welche Satellitenzellen beherbergen. Unglücklicherweise gelang es den Forschern nicht, die Muskelgewebeproben mit einem zweiten beziehungsweise dritten Marker (CD34 und M-cadherin) zu markieren. Dies gilt in gleichen Maßen für den anti-MyoD1 Marker, welcher ein potenzieller Marker für aktivierte Satellitenzellen darstellt. Um eine Satellitenzellen zu charakterisieren verwendetet die Forscher folgende Qualifikationen: (1) die Zelle musste positiv auf NCAM sein und (2) jede positive NCAM-Zelle musste sublaminar liegen, welches durch den Laminin-Antikörper bewiesen wurde. Zellkerne, die innerhalb der Lamina lagen wurden als Muskelzellkerne identifiziert und positive sublaminare NCAM-Zellen als Satellitenzellen. Der NCAM-Antikörper färbt sowohl aktivierte als auch ruhende Satellitenzellen. Für die Erkennung der Muskelfasertypen wurde der Antikörper MyHC_{slow} verwendet. Reagiert die Muskelzelle positiv auf den Antikörper, so handelt es sich um eine Typ I Muskelfaser, wenn nicht, dann um eine Typ II Muskelfaser (Dreyer et al., 2006).

Die älteren Männern hatten einen größeren Anteil an Typ I Muskelfasern und einen kleineren Anteil an Typ II Muskelfasern als die jüngeren Männer (siehe Abbildung 33) (Dreyer et al., 2006).

	Type I (%)	Type I CSA (μm^2)	Type II (%)	Type II CSA (μm^2)
Young ($n = 10$)	52 $\pm$ 9	6,431 $\pm$ 1,638	48 $\pm$ 9	6,257 $\pm$ 1,569
Older ($n = 9$)	66 $\pm$ 16*	5,804 $\pm$ 1,357	34 $\pm$ 16 [†]	4,714 $\pm$ 1,195 [‡]

Values are mean $\pm$ SD. Data for percent fiber type and fiber type specific cross-sectional area generated from preexercise biopsy samples.

*Significantly greater than young group type I ($P = 0.025$) and older group type II.

[†]Significantly less than young group type I ($P = 0.033$).

[‡]Significantly less than young type II ($P = 0.029$) and older type I ($P = 0.013$).

Abbildung 33: Anteile und Querschnittfläche (cross-sectional area) der Typ I & II Muskelfasern (Dreyer et al., 2006, S. 247)

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Querschnittfläche von Typ I und Typ II Muskelfasern bei den jüngeren Probanden. Bei den älteren Männern zeigte sich eine Muskelfasertypen spezifische Atrophie der Typ II Muskelfasern (siehe Abbildung 33). Die Querschnittflächen der Typ II Muskelfasern war bei den älteren Männern geringer als bei den Jüngeren, wobei die Typ I Muskelfasern keine Differenzen aufwiesen (siehe Abbildung 33).

Die Anzahl der Muskelzellkerne/Muskelfaserquerschnitt unterschied sich zwischen den Gruppen nicht (siehe Abbildung 34) und es kam auch zu keiner Änderung nach der Trainingseinheit. Des Weiteren gab es zwischen den zwei Gruppen keinen Unterschied hinsichtlich der zentral lokalisierten Muskelzellkerne pro Muskelfasern (siehe Abbildung 34). Zusätzlich gab es keine Veränderung vor und nach dem Training bezüglich der Muskelzellkerne/Muskelfaser (Dreyer et al., 2006).

Group	Time point (muscle fibers analyzed)	Myonuclei/muscle fiber	Central myonuclei/muscle fiber	Satellite cell/muscle fiber cross-section	Satellite cell proportions [†]	Mean change for satellite cell proportions [‡]
Young ($n = 10$)	Preexercise biopsy (101 $\pm$ 23) ^h	2.56 $\pm$ 0.6	0.03 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.02	2.86 $\pm$ 0.6	+3.2 $\pm$ 1.3 ^d
	Postexercise biopsy (108 $\pm$ 33) ^h	2.72 $\pm$ 0.5	0.06 $\pm$ 0.10	0.18 $\pm$ 0.05 ^{b,c}	6.05 $\pm$ 1.4 ^{b,c}	
Older ($n = 9$)	Preexercise biopsy (134 $\pm$ 37) ^h	2.34 $\pm$ 0.4	0.03 $\pm$ 0.02	0.07 $\pm$ 0.02	2.81 $\pm$ 0.7	+1.3 $\pm$ 0.6
	Postexercise biopsy (132 $\pm$ 17) ^{a,h}	2.31 $\pm$ 0.4	0.04 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.02 ^b	4.12 $\pm$ 1.0 ^b	

^aData are presented as mean $\pm$ SD.

^bSignificantly greater than preexercise biopsy ($P < 0.001$ and $P = 0.002$ for young and older men, respectively).

^cSignificantly greater than older group at postexercise biopsy ($P = 0.001$).

^dSignificantly greater than older group mean change for satellite cell proportions ($P < 0.001$).

^eSignificantly greater number of muscle fibers analyzed than young at postexercise biopsy ($P = 0.018$).

[†]Proportion of sublamellar nuclei that are satellite cells; calculation = [satellite cell/(satellite cell + myonuclei)] $\times$ 100.

[‡]Mean change = mean (postexercise biopsy – preexercise biopsy) for satellite cell proportions by age group.

^hAverage number of muscle fibers analyzed per subject.

Abbildung 34: Verteilung von Muskelzellkerne und Satellitenzellen (Dreyer et al., 2006, S. 247)

Die zweite Biopsie verzeichnete einen kräftigen Anstieg in der Anzahl der Satellitenzellen. Außerdem beobachteten die Forscher in einigen Gewebeproben der NCAM-positiven Zellen, Zellen, die zwei Zellkerne beinhalteten (siehe Abbildung 35). Dies stellt den Beweis für eine sich aktiv teilende Zelle.

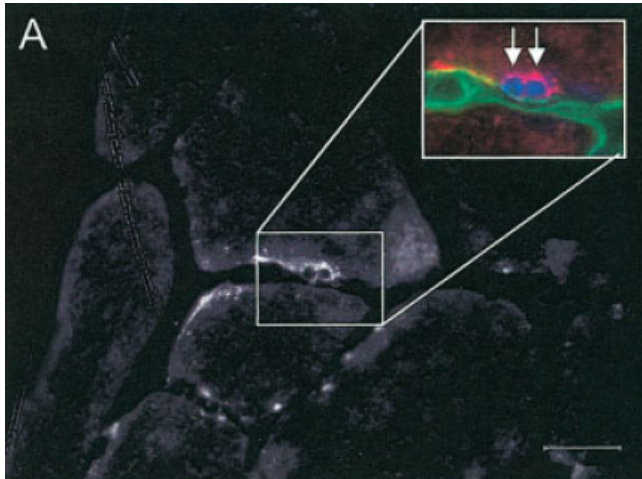


Abbildung 35: NCAM-positive Zelle mit zwei Zellkernen (Dreyer et al., 2006, S. 248)

Vor dem Training war zwischen den Gruppen kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Anzahl der Satellitenzellen/Muskelfaserquerschnitt zu beobachten. Jedoch nach der Trainingsintervention kam es bei den Jüngeren zu einem signifikanten Anstieg der Satellitenzellen/Muskelfaserquerschnitt und zudem hatten sie einen signifikant höheren Anstieg als die älteren Männer. Bei den Älteren kam es auch zu einem signifikanten Anstieg bezüglich der Satellitenzellen/Muskelfaserquerschnitt nach dem Training (siehe Abbildung 34). Der Anteil der Satellitenzellen $[(\text{Satellitenzellen} / (\text{Satellitenzellen} + \text{Muskelzellkerne})) \times 100]$ waren vor dem Training in beiden Gruppen sehr ähnlich. Ein signifikanter Anstieg nach dem Training war in beiden Gruppen zu beobachten (siehe Abbildung 34 und 36), welches darauf hindeutet, dass beide Gruppen einen Trainingsreiz hatten. Die jüngeren Männer verzeichneten aber einen höheren Anstieg, als die Älteren (siehe Abbildung 34) (Dreyer et al., 2006).

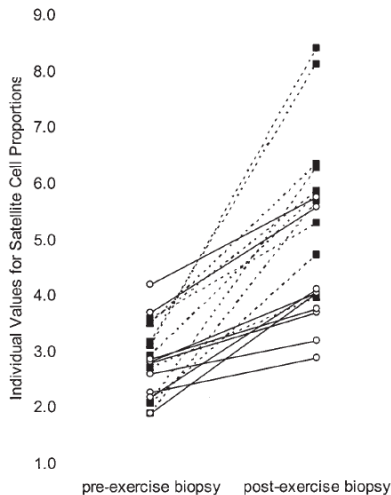


Abbildung 36: Anteil der Satellitenzelle vor und nach der Intervention aller Probanden. Gestrichelte Linien mit ausgefüllten Quadraten repräsentiert die jüngere Gruppe. Die durchgezogene Linien mit den leeren Kreisen repräsentiert die ältere Gruppe (Dreyer et al., 2006, S. 251)

Die Studie von Dreyer et al. (2006) demonstrierte, dass es sowohl bei jüngeren Männern, als auch bei älteren zu einem signifikanten Anstieg von Satellitenzellen durch ein einmaliges Maximalkrafttraining kommt. So wie vorausgesagt, kam es aber bei den Jüngeren zu einem höheren signifikanten Anstieg der Satellitenzellen/Muskelfaserquerschnitt, im Vergleich zu den älteren Männern (141% vs 51%). Insgesamt belegen die Daten von Dreyer und seinen Mitarbeitern (2006), dass beide Gruppen einen signifikanten Anstieg der Satellitenzellen verzeichnen konnten und, dass der Anstieg bei den jüngeren Männern höher war, als bei den älteren Männern.

Auch bei dieser Studie gibt es Dinge, die man kritisch anmerken sollte. Erstens gab es keine Kontrollgruppe. Somit konnte nicht ausgeschlossen werden, dass der Anstieg der Satellitenzellen eventuell durch die Störung des Muskelgewebes der ersten Biopsie ausgelöst wurde. Wie schon vorher erwähnt, kam es bei der Markierung der Satellitenzellen zu einigen Problemen und somit unterlag die Identifizierung der Satellitenzellen einem einzigen Marker.

10.3 Auswirkungen vom mehrwöchigen Ausdauertraining auf die Aktivierung von Satellitenzellen

Leider sind wissenschaftliche Untersuchungen bezüglich der Auswirkung von Ausdauertraining auf die Aktivierung von Satellitenzellen relativ rar. Einer der wenigen Untersuchungen ist von Charifi, Kadi, Feasson und Denis (2003). Da das Krafttraining den Anteil der Satellitenzellen im trainierten Muskel erhöhen kann, stellte sich Charifi et al.

(2003) die Frage, ob Ausdauertraining die Frequenz der Satellitenzellen bei älteren Menschen auch steigern kann. Wenn Ausdauertraining die Aktivierung von Satellitenzellen fördern könnte, so würde dies eine exzellente therapeutische Strategie gegen den Verlust der Muskelfunktion sein. Obendrein bringt das Ausdauertraining auf einem Fahrradergometer (im Vergleich zu Krafttraining) weniger Risiko mit sich Muskelfasern zu beschädigen, da exzentrische Kontraktionen ausbleiben (Charifi et al., 2003).

Elf Männer im Alter von 73 ± 3 Jahren (80 ± 2 kg; 171 ± 5 cm) nahmen an der überwachten Trainingsintervention teil. Sie absolvierten ein 14-wöchiges Ausdauertraining auf einem Fahrradergometer. Trainiert wurde vier Mal in der Woche für je 45 Minuten. Jede Trainingseinheit war intermittierend, sprich vier Minuten Belastung mit einer Intensität von 65% bis 75% der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) und die nachfolgenden fünfte Minute mit 85% bis 95% der VO_{2max} . Diese fünfminütigen Sequenzen wurden innerhalb der 45 Minuten sieben Mal ohne Unterbrechung wiederholt. Die maximale Sauerstoffaufnahme wurde mittels Spiroergometrie ermittelt. Die Belastung begann bei null Watt und steigerte sich alle zwei Minuten um 20 Watt bis zur subjektiven Ausbelastung. Die maximale Sauerstoffaufnahme wurde vor und nach der 14-wöchigen Trainingsintervention gemessen.

Vor und nach dem mehrwöchigen Trainingsprogram unterzogen sich die Teilnehmer einer Muskelbiopsie am M. vastus lateralis, wobei die zweite Biopsie zwei Zentimeter von der ersten Einstichstelle entfernt lag.

Satellitenzellen wurden durch den CD56 Antikörper identifiziert. Dieser Antikörper verfärbt aktivierte und ruhende Satellitenzellen. Eine Peroxidase-Markierung wurde mittels DAB Substrat³¹ durchgeführt, welches ein braunes Reaktionsproduktes des Zielantigens liefert. Die Schnitte wurden zusätzlich mit Mayer's Hämatoxylin³² behandelt um die Muskelzellkerne sichtbar zu machen. Muskelzellkerne färbten sich blau und Satellitenzellen braun (siehe Abbildung 37). Zur Veranschaulichung der Muskelzellkerne und Satellitenzellen wurde eine Vergrößerung (x 40 und 60) hergestellt. Der Gebrauch der Vergrößerung erlaubte eine klare Trennung zwischen Muskelzellkerne innerhalb der

³¹ Diaminobenzidin = Peroxidasesubstrat. Zum Nachweis endogener Peroxidase und zur Färbung immunhistochemischer Nachweise (http://www.carl-roth.de/media/_de-de/usage/CN75.pdf; Zugriff am 20. August 2009).

³² Inhaltsstoff des Blauholzes. Es wird insbesondere in der Histologie zum Färben von Zell- und Gewebestrukturen, wie zum Beispiel Zellkernen, eingesetzt.

Plasmamembran und den Satellitenzellen außerhalb der Faser. Muskelzellkerne und Satellitenzellen wurden an jeder Muskelfaser (drei Mal) gezählt (Charifi et al., 2003).

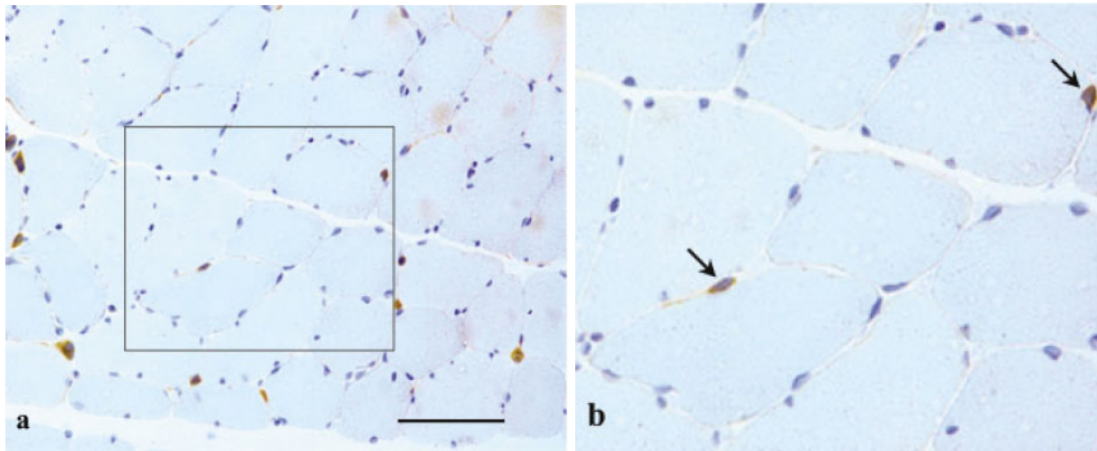


Abbildung 37: Identifikation von Satellitenzellen und Muskelzellkerne. (a) Muskelzellkerne sind blau und Satellitenzellen braun. Der Querstrich repräsentiert 100 µm. (b) 40-fache Vergrößerung des Ausschnittes von a. Die Pfeile zeigen auf die Satellitenzellen (Charifi et al., 2003, S. 89)

Nach dem 14-wöchigen Ausdauertraining kam es zu einer signifikanten Zunahme der maximalen Sauerstoffaufnahme um 13,5%. Die Aktivität der Citratsynthase³³ stieg signifikant um 33% und die Phosphofructo-Kinase³⁴-Aktivität blieb unverändert (siehe Abbildung 38).

	$\dot{V}O_2$ peak (ml.min. ⁻¹ kg ⁻¹)	CS (µmol.min. ⁻¹ g ⁻¹)	PFK (µmol.min. ⁻¹ g ⁻¹)
Before training	28.8 ± 5.9	45 ± 18	154 ± 41
After training	32.7 ± 5.4	60 ± 27	144 ± 29
P-value	<0.05	<0.05	NS

Abbildung 38: $\dot{V}O_{2max}$, CS (Citratsynthase) und PFK (Phosphofructo-Kinase) vor und nach dem 14-wöchigen Ausdauertraining (Charifi et al., 2003, S. 90)

Die Auswertung der Muskelbiopsie offenbarte keine Anzeichen von Muskelschädigungen. Die Frequenz der Satellitenzellen, also die Anzahl der Satellitenzellen pro Muskelfaser (s/f) oder pro gesamte Kerne ([s/(m+s)]) stiegen signifikant während des mehrwöchigen Ausdauertrainings an (siehe Abbildung 39).

³³ Ist für die erste Reaktion im Citratzyklus zuständig. Citratsynthase kondensiert Acetyl-CoA und Oxalacetat zu Citrat (Karlson, Doenecke & Koolman, 1994).

³⁴ Ist eine wichtige Kinase in der Glykolyse (Umwandlung von Glucose in Pyruvat). Sie phosphoryliert Fructose-6-phosphat unter ATP-Verbrauch zu Fructose-1,6-bisphosphat (Karlson et al., 1994).

	Mean no. of myonuclei per fiber	Satellite cell frequency	
		% Total nuclei	No. per fiber
Before training	3.3 ± 0.3	2.4 ± 0.7	0.09 ± 0.03
After training	3.5 ± 0.6	3.1 ± 0.9	0.11 ± 0.03
P-value	NS	<0.001	<0.001

Abbildung 39: Durchschnittliche Anzahl an Muskelzellkerne pro Faser und Frequenz der Satellitenzellen vor und nach dem Interventionsprogramm (Charifi et al., 2003, S. 91)

Am Ende des Trainingsprogrammes stieg die Anzahl der Muskelzellkerne um sechs Prozent. Dieser Anstieg ist jedoch nicht signifikant.

Obwohl kein signifikanter Unterschied in der Muskelfasergröße (vor der Intervention: $5,463 \pm 971 \mu\text{m}^2$; nach der Intervention $6,197 \pm 1,708 \mu\text{m}^2$) zu beobachten war, besagen die Ergebnisse, dass das Ausdauertraining jedoch mäßig wirksam war, eine Hypertrophie zu induzieren. Es gab eine signifikante Zunahme hinsichtlich der Fläche der Typ IIa Muskelfasern (siehe Abbildung 40).

	Fiber type	%	Mean area (μm^2)
Before training	I	60 ± 18	6,012 ± 990
	IIa	27 ± 17	4,966 ± 1,329
	IIb	11 ± 7	4,563 ± 1,023
	IIc	2 ± 3	4,499 ± 630
After training	I	64 ± 17	6,393 ± 1,636
	IIa	22 ± 13	6,121 ± 2,152*
	IIb	12 ± 8	5,085 ± 1,741
	IIc	2 ± 1	6,684 ± 2,678

*Significantly different ($P < 0.05$).

Abbildung 40: Durchschnittliche Fläche der verschiedenen Muskelfasern vor und nach dem 14-wöchigen Ausdauertraining (Charifi et al., 2003, S. 91)

Die Analyse der Muskelfaserverteilung zeigte, dass vor der Intervention mehr als die Hälfte Typ I Muskelfasern waren. Typ IIc Muskelfasern wurden nur sehr rar entdeckt (zwei Prozent vor und nach dem Ausdauertraining). Das Trainingsprogramm konnte keine Veränderungen in der Muskelfaserverteilung induzieren.

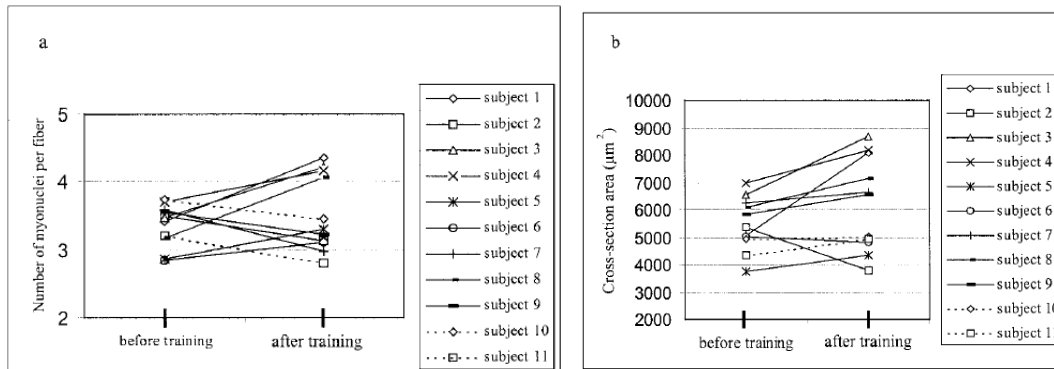


Abbildung 41: (a) Anzahl der Muskelzellkerne pro Faser; (b) Querschnittsfläche der Muskelfasern vor und nach dem Training (Charifi et al., 2003, S. 91)

Diese Studie von Charifi et al. (2003) rief einen Anstieg um 29% (von 2,4% auf 3,1%) der Satellitenzellen im Skelettmuskel durch mehrwöchiges Ausdauertraining bei älteren Menschen hervor. Der beobachtete Anstieg der Satellitenzellenanteile unterstützt indirekt den Beweis für die Aktivität der Satellitenzellen als Antwort auf Ausdauertraining. Eine oder vielleicht sogar die wichtigste Aufgabe der Satellitenzellen ist die Bildung von Tochterzellen, welche anschließend mit den Muskelfasern verschmelzen können und so die Anzahl der Muskelzellkerne zu erhöhen. Die Studie von Charifi et al. (2003) verzeichnete einen geringen aber nicht signifikanten Anstieg (6%) der Muskelzellkerne durch Ausdauertraining. Es gibt kaum verfügbaren Daten/Untersuchungen, die die Regulierung von Muskelzellkernen als Antwort auf Ausdauertraining verzeichnen. Dieser Aspekt wurde weitgehend in Bezug auf Krafttraining untersucht, da dort die Hypertrophie von Muskelfaser die Hauptadaptation darstellt.

Kritisch möchte ich anmerken, dass es so erscheint als würde es erhebliche interindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden geben. Abbildung 41a zeigt bei sechs Probanden einen Anstieg an Muskelzellkerne pro Muskelfaser nach dem Ausdauertraining, wohingegen fünf Probanden aber einen Abfall verzeichneten. Bei den Querschnittsflächen der Muskelfasern (Abbildung 41b) zeigten sich ebenfalls interindividuelle Unterschiede. Bei zwei Probanden kam es zu einer Abnahme der Querschnittsfläche der Muskelfasern, welches sogar auf eine Atrophie hindeuten könnte. Jetzt kann nur spekuliert werden, weshalb es zu einer Abnahme kam. Vielleicht unterzogen sich diese Männer in ihrem normalen Alltag vermehrter Aktivität, so dass dieses mehrwöchige Ausdauertraining keinen Trainingsreiz darstellte. Bei all den anderen Teilnehmern zeigte sich jedoch eine Zunahme der Querschnittsfläche der Muskelfasern.

11 Molekulare Ansätze in der Sportmedizin

Jährlich ereignen sich mehr als 100 Millionen muskuloskeletale Verletzungen weltweit - Tendenz steigend. Zu den Muskel-Skelett-Verletzungen zählen Verletzungen der Sehnen, der Bänder, der Muskel und der Knochen. Diese Verletzungen bringen einen signifikanten Verlust der sportlichen Performance mit sich. Ein erheblicher Anteil der muskuloskeletalen Verletzungen sind schwierig zu behandeln und viele Athleten verspüren einen „Langzeit-Schmerz“ und Unannehmlichkeiten (Ljungqvist, Schweltnus, Bachl, Collins, Cook, Khan, Maffulli, Pitsiladis, Riley, Goldspink, Venter, Derman, Engebretsen & Volpi, 2008). Gründe für die steigenden Zahlen an muskuloskeletalen Verletzungen sind das wachsende Gesundheitsbewusstsein, die zunehmende Zahl von Freizeitsportlern, der Trend zu Modesportarten mit erhöhtem Verletzungsrisiko, schlecht trainierte Bewegungsabläufe und eine verbesserte Diagnostik (Bosch & Krettel, 2002).

Da das Öfteren nach einer konservativen oder operativen Therapie die komplexe Struktur und die biomechanische Eigenschaften von Bänder, Sehnen und Muskels nicht vollständig wiederhergestellt werden konnte, stellt sich das Tissue engineering immer mehr in den Vordergrund. Das Tissue engineering bietet die Möglichkeit die Ligament-, Sehnen- und Muskelheilung zu verbessern. Die Herausforderung ist die Wiederherstellung einer originären Struktur mit biomechanischen Eigenschaften, die nach Trauma wieder eine physiologische Gelenkinematik ermöglichen (Bosch et al., 2002).

11.1 Tissue engineering in der Sportmedizin

Die Behandlung von sportverbundenen muskuloskeletalen Verletzungen hat sich in den letzten zwei Dekaden kontinuierlich verbessert. Neue minimal invasiv operative Techniken (besonders die Arthroskopie), neue Instrumente, moderne Rehabilitation, Medikamente und gesteigertes Fachwissen über die Biomechanik der Gelenke und Pathophysiologie von Trauma führten zu Optimierung und Beschleunigung der Heilung von Verletzungen. Trotz des Fortschritts gehen Defizite in der Behandlung von Verletzungen mit der limitierten Heilungskapazität der meisten Geweben des muskuloskeletalen Systems einher. Ligamente, Sehnen, Menisken und Gelenksknorpel sind alle Gewebe mit einer niedrigen Blutversorgung und niedrigen Zellumsatz. Aus diesem Grund ist der Heilungsverlauf in diesen Gewebearten verlängert und resultiert generell in der Bildung von Narben oder Gewebedefekten. Keine optimale Lösung für die Behandlung von muskuloskeletalen Sportverletzungen wurde bisher gefunden. Somit werden neue

biologische Ansätze für die Behandlung von Sportverletzungen erforscht (Huard, Li, Peng & Fu, 2003). Das Tissue Engineering steht dabei im Mittelpunkt.

Tissue engineering hat das Ziel funktionelles Gewebe und letztendlich auch komplette Ersatzorgane herzustellen. Im wesentlichen werden 3 Strategien verfolgt: die Applikation von gewebeinduzierenden Substanzen (zum Beispiel Wachstumsfaktoren), die Applikation von isolierten Zellen und die Besiedlung von Matrices mit Zellen. Die dazugehörigen Konzepte konzentrieren sich auf die Beeinflussung von Mediatoren (Wachstumsfaktoren, Gentherapie) mit dem Ziel die Gewebeheilung zu verbessern, auf die Herstellung von biologischen und synthetischen Matrices, sowie auf die Verwendung von bioaktiven Zell-Matrix-Konstrukten (siehe Abbildung 42) (Bosch et al., 2002).

Konzept	Funktion
Wachstumsfaktoren	Modulation der Gewebeheilung
Gentherapie	Modulation der Gewebeheilung
Zelltherapie	Synthese von ECM
Zell-Matrix-Komposite	Ersatz von Gewebe
Fibroblasten auf Kollagenmatrix	
Fibroblasten auf polymerer Matrix (PGA, PLAGA)	
MPC auf Kollagenmatrix	

ECM Extrazelluläre Matrix; PGA Polyglykolsäure; PLAGA Copolymer aus PLA (Polylactid) und PGA; MPC „mesenchymale progenitor cells“.

Abbildung 42: Konzepte des Tissue Engineerings (Bosch et al., 2002, S. 89)

Im weiteren Verlauf dieser Arbeit wird nur äußerst kurz auf Tissue Engineering mittels Wachstumsfaktoren und Gentherapie eingegangen. Der Focus wird auf die Zelltherapie gerichtet.

11.2 Wachstumsfaktoren

Zahlreiche experimentelle Studien zeigten, dass Wachstumsfaktoren in Knochen- und Knorpelbildung, Frakturenheilung, Sehnen- und Bandreparatur und Skelettmuskelregeneration involviert sind. Aus diesem Grund ist der therapeutische Gebrauch im Bereich der Sportmedizin von enormer Interesse (Ljungqvist et al., 2008). Wachstumsfaktoren sind Proteine, welche von den ansässigen Zelle an der Verletzungsstelle (zum Beispiel Fibroblasten, endothelialen Zellen oder mesenchymalen Stammzellen) und eindringenden Reparatur- oder Entzündungszellen (zum Beispiel Blutplättchen, Makrophagen und Monozyten) synthetisiert werden. Diese Wachstumsfaktoren sind zur Proliferation, Migration und Differenzierung von Zellen fähig. Der stimulierende Effekt von verschiedenen Wachstumsfaktoren wurde in einer Vielzahl von Geweben demonstriert (siehe Abbildung 43). Das Gen, das für die meist bekannten

Wachstumsfaktoren codiert, wurde bestimmte und durch den Gebrauch von rekombinanter DNA-Technologie ist es heutzutage möglich eine große Menge dieser rekombinierten Proteine für den Einsatz von Behandlungen zu produzieren (Huard et al., 2003). Viele von den Wachstumsfaktoren sind kommerziell erhältlich und werden in klinischen Einrichtungen verwendet.

	Skeletal muscle	Articular cartilage	Meniscus	Ligament/tendon	Bone
IGF-1	+	+	+/-	+	+
bFGF	+	+	+	+	+
NGF	+		-	-	
aFGF	+/-		-	+/-	
PDGF AA	-		-	+/-	+/-
PDGF AB	+/-		+	+/-	
PDGF BB				+	
EGF	-	+	+	+	-
TGF- α	-		+	-	
TGF- β	-	+	+	+/-	+
BMP-2		+	+		+
CDMP (1-3)		+			
BMP-4					+
BMP-7					+
VEGF					+/-

Abbildung 43: Effekte von Wachstumsfaktoren in unterschiedlichen Geweben des muskuloskeletalen Systems. IGF-1: insulin growth factor-1; bFGF: basic fibroblast growth factor; NGF: nerve growth factor; aFGF: acidic fibroblast growth factor; PDGF: platelet-derived growth factor; EGF: epidermal growth factor; TGF: transforming growth factor; BMP: bone morphogenic protein; CDMP: Cartilage-derived morphogenetic protein; VEGF: vascular endothelial growth factor (Huard et al., 2003, S. 94)

In vitro Studien haben demonstriert, dass die Ligament-Fibroblasten-Proliferation durch „fibroblast growth factor (FGF)“, „epidermal growth factor (EGF)“ und „platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB)“ signifikant erhöht wird, während „transforming growth factor (TGF) β 1 and β 2“ die Kollagensynthese signifikant erhöht.

In vivo Tierstudien zeigten, dass vor allem die Anfangsphase der Bänderheilung durch PDGF-BB und TGF- β 1 signifikant unterstützt wird. Aber nicht alle Studien verzeichneten einen positiven Effekt. Zum Beispiel kam es zu keiner signifikant verbesserten Heilung mit exogenen TGF- β 1 in einem anderem Tiermodel. Dies weist darauf hin, dass in vivo Studien eine hohe Komplexität aufweisen und weitere Untersuchungen unter anderen über die Effekte der Dosis, Zeit der Anwendung, Trägermedium und exogenen und endogenen Wachstumsfaktoren stattfinden müssen (Woo, An Jia, Zou & Gabriel, 2004). Die Techniken (platelet-rich Plasma³⁵, autologous blood injection³⁶ und autologous

³⁵ Thrombozytenreichen Plasma

³⁶ autologe (patienteneigene) Blutinjektion

conditioned serum³⁷) um Wachstumsfaktoren einzubringen sind im Menschen bisher nur sehr rar erforscht, aber die Resultate sind erfolgversprechend bezüglich der Heilung vom muskuloskeletalen Verletzungen (Creaney & Hamilton, 2008).

Im Tiermodel haben sich manch sehr interessante Kandidaten an Wachstumsfaktoren hervorgehoben, die auf eine längerfristige Erforschung in menschlichen klinischen Versuchen „warten“.

Einen Aspekt, den ich noch abschließend erwähnen möchte ist, dass der Gebrauch von Wachstumsfaktoren im Leistungssport streng unter der Kontrolle der „World Anti-Doping Agency (WADA)“ liegt. Speziell, weil es Bedenken bezüglich dem Missbrauch gewisser Wachstumsfaktoren, wie zum Beispiel insulinähnliche Wachstumsfaktoren, als leistungssteigerndes Mittel gibt (Creaney et al., 2008).

11.3 Gentherapie

Ein Gen ist ein Segment an DNS mit einer einzigartigen Anordnung von Nukleotidbasen, welche für ein spezifisches Protein kodieren. Die Genexpression ist der Prozess, bei dem ein Gen in mRNA transkribiert wird und diese wiederum in ein Protein translatiert wird.

Lamsam, Fu, Robbins und Evans (1998, S. 74) definiert Gentherapie folgendermaßen: „Gene Therapy is a technique in which a functioning gene is inserted into a human cell to correct a genetic error or to introduce a new function to the cell for therapeutic purpose.“

Seit den frühen 1990er gibt es Gentherapieversuche. Ursprünglich wurde die Gentherapie benutzt um genetische Erbkrankheiten (durch Manipulation an Keimbahnzellen) zu behandeln, jedoch limitieren sich die Forschungen und Anwendungen durch die beachtlichen ethischen Bedenken und ineffizienten Technologien.

Genmanipulation an somatischen Zellen ist jedoch weitgehend akzeptiert. Gentherapie ist in der Sportmedizin anwendbar, da es den Transfer von zweckmäßigen Genen (zum Beispiel Gene, die für Wachstumsfaktoren oder Antibiotika kodieren) in Zielgewebe ermöglicht. Folglich können therapeutische Stoffe direkt durch lokale Zellen an der Verletzungs- oder Entzündungsstelle in Heilungsprozess unterstützenden Mengen produziert werden (Huard et al., 2008).

³⁷ autologes konditioniertes Serum

Da bei der Applikation von Wachstumsfaktoren immer wieder Probleme auftauchten, wurde das Konzept der lokale Produktion dieser Faktoren durch ortsständige Zellen entwickelt. Durch lokoregionäre³⁸ Gentherapie werden exogene Gene, die beispielsweise für einen bestimmten Wachstumsfaktor kodieren, in ein Individuum transferiert. Hierzu sind Transfersysteme, sogenannte Vektoren, notwendig, da isolierte DNA sonst nicht aufgenommen und exprimiert werden kann. (Bosch et al., 2002).

Damit eine Genexpression zustande kommen kann, muss das zu transferierende DNA-Stück in den Nukleus (Zellkern) eindringen. Dort kann es entweder in das Wirtschromosomen integrieren oder separat als Episom vorliegen. Nach der Transkription wird die generierte mRNA aus den Zellkern transportiert und von den Ribosomen im Cytoplasma in ein Protein translatiert. Folglich wird die Zelle ein Reservoir von produzierenden Cytokinen, so dass der Heilungsprozess unterstützt wird.

Virale und nicht-virale Vektoren können benutzt werden, um genetisches Material in eine Wirtszelle zu transferieren. Nicht-virale Vektoren (zum Beispiel Liposomen) sind normalerweise leichter zu erzeugen und resultieren weniger in Toxizität oder Immunogenität, aber deren Genanlieferung wird durch eine geringere Transfektionsrate behindert. Virale-Vektoren stellen eine bessere Methode dar. Bevor ein Virus für die Gentherapie verwendet werden kann, müssen alle pathogenen Genen entfernt werden und durch die „Gene von Interesse“ ausgetauscht werden. Die meist gebräuchlichsten Vektoren sind Adenovirus (dsDNA-Virus), Retrovirus ((+)ssRNA-Virus), Adeno-assoziiertes-Virus (ssDNA-Virus – Helfervirus) und Herpes Simplex Virus (dsDNA-Virus). Lokale und systematische Transfektionsstrategien werden in der Gentherapie verwendet. Bei der systematischen Methode werden die Vektoren in den Blutkreislauf injiziert und diese verteilen sich anschließend in alle Organe/Gewebe des Körpers. Diese Methode wird bevorzugt, wenn das Zielgewebe nicht direkt erreicht werden kann. Der Mangel an Blutversorgung von gewissen Geweben, wie zum Beispiel Knorpelgewebe oder Meniskus, stellt diese Methode als ungeeignet für die Behandlung von bestimmten Verletzungen im muskuloskeletalen System dar. Aus diesem Grund wird häufig in der Sportmedizin eine lokale Gentherapie durchgeführt. Zwei Basisstrategien kommen für lokale Gentherapie im muskuloskeletalen System zur Anwendung: entweder werden die Vektoren direkt in das Wirtsgewebe (in vivo) injiziert oder es werden Zellen von dem verletzten Gewebe entnommen, in vitro genetisch modifiziert (Transfektion) und in die

³⁸ auf eine bestimmte eng begrenzte Stelle beschränkt

Verletzungsstelle reinjiziert. Die in vivo Methode ist technisch einfacher, jedoch ist die indirekte Methode sicherer, da die Genmanipulation unter kontrollierten Bedingungen außerhalb des Körper stattfinden kann (Huard et al., 2003).

Sicherheit ist das Hauptanliegen bei dem Gebrauch von Gentherapie in der Behandlung von Sportverletzungen. Temporäre und selbstlimitierende Genexpressionen sind in der Behandlung von muskuloskeletalen Verletzungen erwünscht. Das Risiko von Nebeneffekten und möglichen Konsequenzen sind unakzeptabel in der Sportmedizin. Die Integration von viralen Vektoren in ein Wirtsgenom trägt Mutationsrisiken. Abnormale Regulation von Zellwachstum, Toxizität einhergehend mit chronischer Überexpression von Wachstumsproteinen und Entwicklung von Krebs sind theoretisch denkbar und daher sollten alle Gentherapien mit äußerster Vorsicht betrachtet werden (Huard et al., 2003).

Leider liegt auch hier wieder der Gedanke nahe, dass in naher Zukunft die Technologie des Gentransfer nicht nur zur Behandlung von Verletzungen, sondern auch (illegal) für Leistungssteigerung im Sport angewendet wird. Hierbei würde es sich dann um das sogenannte „Gendoping“ handeln. Gendoping dient potentiell zur Steigerung der Muskelgröße und –kraft, zur Erhöhung der Ausdauerleistung und zur Verminderung von Schmerzen bei Verletzungen. Unter anderen spielen folgenden Gene eine große Rolle für Gendoping: Erythropoietin (EPO, Steigerung der Ausdauerleistungsfähigkeit), VEGF und FGF (Steigerung der Ausdauerleistungsfähigkeit), IGF-1 und MGF (anabolischer Effekt – Erhöhung der Muskelmasse und Muskelkraft) und Gene, die Myostatin hemmen (Stimulation von Muskelwachstum und Regeneration). Somit sind derzeit schon Wissenschaftler aus verschiedenen Disziplinen beschäftigt, innovative, spezifische, sensible und nicht-invasive Zugänge zu erforschen um Gendoping aufzudecken (Bauoutina, Alexander, Ej Rasko & Emslie, 2007).

11.4 Zelltherapie

Die Zelltherapie ist eine andere potentielle Methode die Heilung von muskuloskeletalen Sportverletzungen zu verbessern.

Da die adulten Stammzellen in verschiedene Zellen differenzieren, werden sie heute in medizinischen Gebieten für die Heilung von Krankheiten, aber auch Verletzungen, eingesetzt.

Vor allem die mesenchymalen Stammzellen spielen eine große Rolle bei der Regeneration von muskuloskeletalen Verletzungen, da sie, wie in Abbildung 44 ersichtlich ist, sich unter anderen in Knochen-, Knorpel-, Muskel- und Sehnenzellen entwickeln

können. Somit liegt es nahe, mesenchymale Stammzellen für die Therapie von Muskel-, Knorpel-, Sehnen- und Bänderverletzungen in der Sportmedizin einzusetzen.

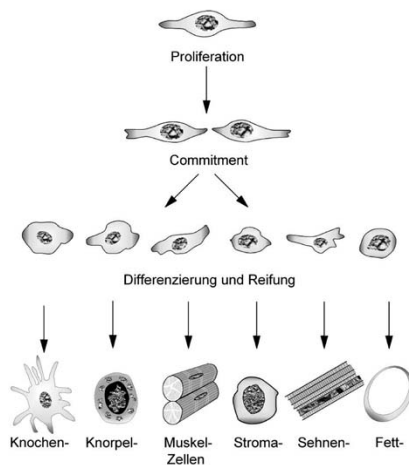


Abbildung 44: Entwicklungspotential mesenchymaler Stammzellen (Ganten & Ruckpaul, 2008, S. 261)

11.4.1 Grundlegendes

Mesenchymale Stammzellen können entweder direkt entnommen werden (und in vitro vermehrt werden) um sie anschließend ins verletzte Gewebe zu injizieren, oder mittels verschiedener Trägermaterialien in das verletzte beziehungsweise degenerierte Gewebe transplantiert werden. Es ist heute bereits möglich, einfach organisiertes Gewebe außerhalb des Körpers (ex vivo oder in vitro) in komplexen bioartifiziellen

Gewebestrukturen herzustellen. Diese werden Patienten zur Unterstützung erkranktem Geweben implantiert. Durch zellbiologische Grundvoraussetzungen ergeben sich drei wesentliche Grundbausteine für die Ex-vivo-Herstellung bioartifizieller Gewebe beim Tissue Engineering: 1) funktionelle gewebespezifischer Zellen, 2) Trägerstrukturen (Matrices, Scaffold), die eine dreidimensionale (3D) Form vorgeben, die zellulären Komponenten umschließen und in ihrer Funktion unterstützen, und 3) Kulturgefäße (Bioreaktoren), in denen die Zellen auf die Matrix aufgebracht und das bioartifizielle Gewebe ex vivo reifen kann (dabei wird die Zufuhr von Nahrung und Sauerstoff sowie der Abtransport von Stoffwechselprodukten und Kohlendioxid sichergestellt) .

Trägermaterialien müssen eine gewebespezifische Organisation von Zellen, sowie die Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen zulassen. Die Form- und mechanische Stabilität ist ein wichtiger Faktor für die erfolgreiche Implantation (Ganten et al., 2008).

Abschließend werde ich kurz auf diverse Regenerationsmöglichkeiten der Zelltherapie bei sportbedingten Verletzungen eingehen, wobei als nächstes äußerst kurz auf

Knorpelgewebe, Sehnen und Bänder eingegangen wird und anschließend die Zelltherapie bei Muskelverletzungen etwas spezieller erläutert wird.

11.4.2 Regeneration von Knorpel

Heutzutage sind autologe Knorpeltransplante im klinischen Einsatz. Knorpelgewebe benötigt nur wenige Nährstoffe und ist im menschlichen Körper nicht vaskularisiert. Die Abnutzung und Degeneration von Gelenkknorpelgewebe ist aufgrund von Sportverletzungen weit verbreitet.

Bei der Zelltherapie des Knorpels werden aus einer Biopsie des gesunden Kniegelenks Knorpelzellen isoliert und in vitro kultiviert. Durch bestimmte Kulturbedingungen dedifferenzieren die Chondrozyten zu fibroblastähnlichen Zellen, die sich schnell vermehren. Vor der Transplantation der neuen Zellen, wird zunächst das schadhafte Knorpelgewebe entfernt und der Defekt anschließend mit den autologen in vitro vermehrten Zellen aufgefüllt. Es wird allerdings nicht der hyaline Knorpel produziert, sondern zum Großteil der weniger strapazierfähige Faserknorpel. Die Patienten können jedoch die Gelenke nach vier bis sechs Wochen wieder normal belasten (Ganten et al., 2008).

11.4.3 Regeneration von Sehnen und Bänder

Die mesenchymalen Stammzellen werden aus dem Knochenmarkspunktat durch Zentrifugation isoliert und in vitro expantiert um eine hohe Zellzahl für die Transplantation zu erreichen. Durch die Zugabe bestimmter Wachstumsfaktoren (zum Beispiel FGF-2) wird das Zellwachstum beschleunigt. Die Zellen werden nach Erreichung der erwünschten Zellkonzentration entweder direkt oder auf einer Matrix (Vicrylnetz oder Kollagengel) als Träger in den Wundbereich transplantiert (Bosch et al., 2002).

Young, Butler, Weber, Caplan, Gordon und Fink (1998) transplantierte kultivierte, autologe mesenchymale Stammzellen auf einem Zellmatrixkonstrukt in eine 1-cm-lange Verletzung einer Hasen-Achillessehne. Das behandelte Gewebe hatte eine signifikant größere Querschnittsfläche und deren Kollagenfasern erschienen besser angeordnet, als die der Kontrollgruppe. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass solch organisierten Kollagenimplantate in großen Sehnendefekten signifikant die Biomechanik, Struktur und vielleicht auch die Funktion der Sehne nach der Verletzung verbessert.

Eine Therapie von Sehnen- und Bandverletzungen mit mesenchymalen Stammzellen erscheint sehr vielversprechend zu sein. Bevor es jedoch zur klinischen Anwendung kommt, sind noch weitere Studien notwendig, die aufzeigen, dass das neu gebildete Gewebe

hinsichtlich seiner biomechanischen Eigenschaften besser ist, als das nach konventioneller Therapie (Bosch et al., 2002).

11.4.4 Regeneration von Skelettmuskulatur

Aufgrund des Mangels an humanen klinischen Studien wird hier auf Tiermodelle verweisen.

Matziolis, Winkler, Schaser, Wiemann, Krockner, Tuischer, Perka & Duda (2006) untersuchten an Ratten das Regenerationspotential eines ausgewählten Skelettmuskels durch die Applikation von mesenchymalen Stammzellen nach Verletzung. 16 männliche Ratten wurden für diese Untersuchung benötigt. Alle Ratten mussten sich einer Entnahme von mesenchymalen Stammzellen aus dem Schienbeinknochen (Tibia) unterziehen. Diese wurden anschließend unter entsprechenden Bedingungen kultiviert. Sieben Tage nach der Entnahmen unterzogen sich alle Ratten einer physischen Traumatisierung des linken Musculus soleus. 14 Tage nach der Stammzellenentnahme (sieben Tage nach Verletzungszeitpunkt, wo der inflammatorische Prozess abnimmt, die Revaskularisierung wieder hergestellt ist und der Abbau von apoptotischen Zellen stattgefunden hat) wurden der Hälfte der Ratten (n=8) je 10^6 autologe Stammzellen in den verletzten Muskel injiziert, währenddessen die Kontrollgruppe (n=8) in gleicher Weise nur eine Kochsalzlösung (ohne Stammzellen) verabreicht wurde. Drei Wochen nach der Behandlung wurden bei allen Ratten unter narkotisierten Bedingungen Kraftmessungen am rechten unverletzten und linken verletzten Musculus soleus durch Stimulation des Ischiasnervs durchgeführt. Es wurde dabei die „fast-twitch“³⁹ und „tetanic“⁴⁰ Kontraktionskapazität des linken und rechten Musculus soleus beider Gruppen gemessen. Anfangs wurden die Kontraktionskräfte der beiden Gruppen des unverletzten Muskels getestet und verglichen. Es zeigten sich, wie erwartet, keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Der unverletzte Muskel hatte eine durchschnittliche fast-twitch Kontraktionskraft von $0,69 \pm 0,13$ N und eine tetanische Kontraktionskraft von $1,32 \pm 0,37$ N. Anschließend wurde die verletzten Muskeln getestet. Somit konnte die

³⁹ FT-Faser (englisch fast twitch fibers „schnell zuckende Fasern“) können hohe Kräfte entwickeln, ermüden aber auch viel schneller als ST-Fasern (slow twitch fibers).

⁴⁰ Tetanische Kontraktion (Tetanus): wenn die Frequenz der eintreffenden Reize so groß ist, dass die Einzelzuckungen verschmelzen. In einer tetanischen Kontraktion entwickelt eine Muskelfaser die maximal mögliche Kontraktionsspannung und Kontraktionskraft. Die Dauer des Aktionspotential ist also wesentlich kürzer als die der Einzelzuckung (Hick, 2006)

Regenerationsfähigkeit des Muskels untersucht werden. Bezüglich der tetanischen Kontraktion erreichte der verletzte Muskel der Kontrollgruppe ein Wiedererlangen der Kontraktionskraft von $39 \pm 10\%$. Im Gegensatz dazu erreichten die Ratten mit der autologen Stammzellinjektion eine Wiederherstellung von $54 \pm 9\%$ der tetanischen Kontraktionskraft. Die Differenz zu den unbehandelten Ratten war statistisch signifikant (siehe Abbildung 45).

Vergleichbare Resultate wies die fast-twitch Stimulation auf. Die Kontrollgruppe erreichte $59 \pm 12\%$ der Kontraktionskraft des unverletzten Muskels, wohingegen die mit Stammzellen behandelten Ratten eine signifikante Steigerung der funktionalen Regeneration von $72 \pm 13\%$ aufwiesen (siehe Abbildung 45).

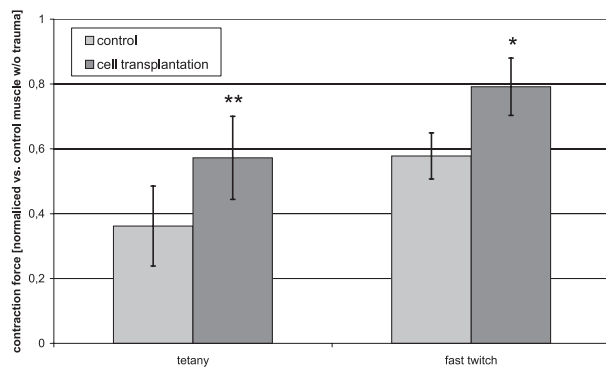


Abbildung 45: Effekt der autologen mesenchymalen Stammzellen-Applikation bei der Messung der Kontraktionskräfte unter „tetanic-“ und „fast-twitch“-Stimulation. (*p = 0.05, **p = 0.014) (Matziolis et al., 2006, S. 364)

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass autologe mesenchymale Stammzelleninjektion zu einer vergleichbaren Verbesserung der Kontraktion unter tetanischen- und fast-twitch Stimulation (14% vs. 13%) führt, welches auf eine ausgeprägte Verbesserung der funktionalen Muskelregeneration deutet (Matziolis et al., 2006).

Eine vergleichbare Studie lieferten Natsu, Ochi, Mochizuki, Hachisuka, Yanada & Yasunaga (2004). Sie untersuchten die Regenerationsfähigkeit eines ausgewählten Skelettmuskels bei Ratten. Der größte Unterschied zu der Studie von Matziolis et al. (2006) war, dass eine Allotransplantation⁴¹ von mesenchymalen Stammzellen durchgeführt wurde. Die mesenchymalen Stammzellen wurden aus zwei GFP⁴² transgenen Ratten unter entsprechenden Bedingungen aus dem Femur und der Tibialis

⁴¹ Stammzellen stammen nicht vom Empfänger selbst, sondern von einem Spender derselben Art.

⁴² Green-fluorescent protein

entnommen, kultiviert und vermehrt.

108 männliche Ratten wurden für die weitergehenden Untersuchungen herangezogen und randomisiert in 3 Gruppen eingeteilt: Gruppe M (n=36) bekam mesenchymale Stammzellen gemischt mit Fibrinkleber (=Gewebekleber) in den verletzten Muskel injiziert, Gruppe F (n=36) nur Fibrinkleber und Gruppe L (n=36) gar keine Behandlung des verletzten Muskels. In allen drei Gruppen wurde operativ eine Verletzung des M. tibialis anterior in gleicher Weise herbeigeführt. Die Messungen der maximalen isometrischen Zugkraft des M. tibialis anterior durch Elektrostimulation des Peroneusnerves fanden am 3., 7., 14., 28., 56. und 84. Tag nach der Transplantation statt. Die Frequenz der Stimulation betrug 1 Hz („fast-twitch“-Kontraktion)(einzelne elektrische Stimulation) und 50 Hz („tetanic“-Kontraktion). Neben einer Reihe von makroskopischen und histologischen Untersuchungen wurde die Kraftverhältnisse zwischen dem gesunden und dem verletzten Bein gemessen. Zu den einzelnen Gruppenergebnissen:

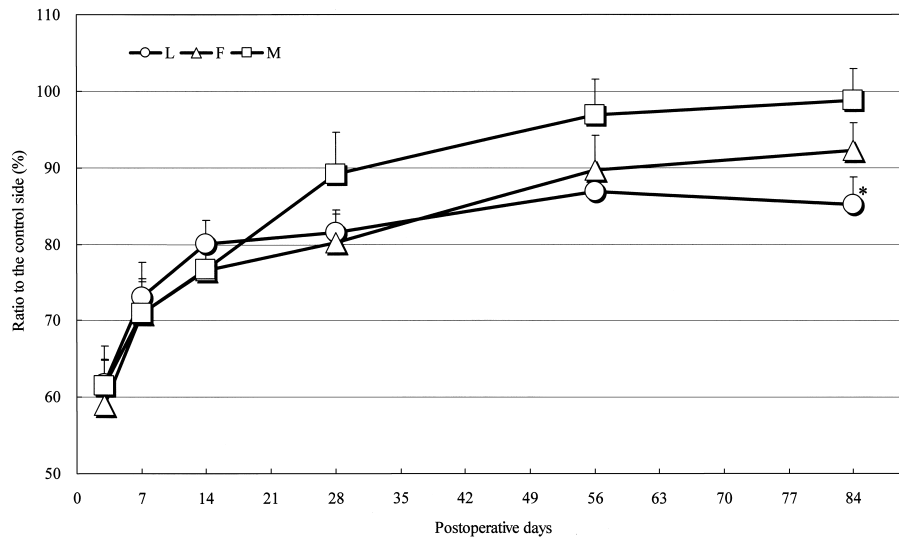
Gruppe M: Das fast-twitch-Kraftverhältnis (R_F/L_F) betrug 61,5% am postoperativen 3. Tag und stieg stufenweise auf 98,8% am 84. Tag nach der Transplantation. Das Tetanus-Kraftverhältnis (R_T/L_T) verzeichnete 61,9% am 3. Tag nach Transplantation und stieg schrittweise bis auf 95,9% am 28. postoperativen Tag. 99,2% wurden am 84. Tag erreicht. Das Tetanus-Kraftverhältnis am 28. Tag nach der Transplantation war signifikant höher, als in allen anderen Gruppen (siehe Abbildung 46).

Gruppe F: Das fast-twitch-Kraftverhältnis (R_F/L_F) lag bei 58,9% am postoperativen 3. Tag und stieg auf 92,2% am 84. Tag nach der Transplantation. Das Tetanus-Kraftverhältnis (R_T/L_T) am 3. postoperativen Tag betrug 62,3% und verzeichnete einen Anstieg auf 97,2% am 84. Tag (siehe Abbildung 46).

Gruppe L: Das fast-twitch-Kraftverhältnis (R_F/L_F) am 3. postoperativen Tag lag bei 61,7% und verbesserte sich auf 85,1% am 84. Tag nach der Transplantation. Das Tetanus-Kraftverhältnis (R_T/L_T) war bei 62,9% am 3. Postoperativen Tag und stieg auf 93,2% am 84. Tag. Das fast-twitch-Kraftverhältnis am postoperativen 84. Tag war signifikant

niedriger im Vergleich zu Gruppe F und M (siehe Abbildung 46).

A



B

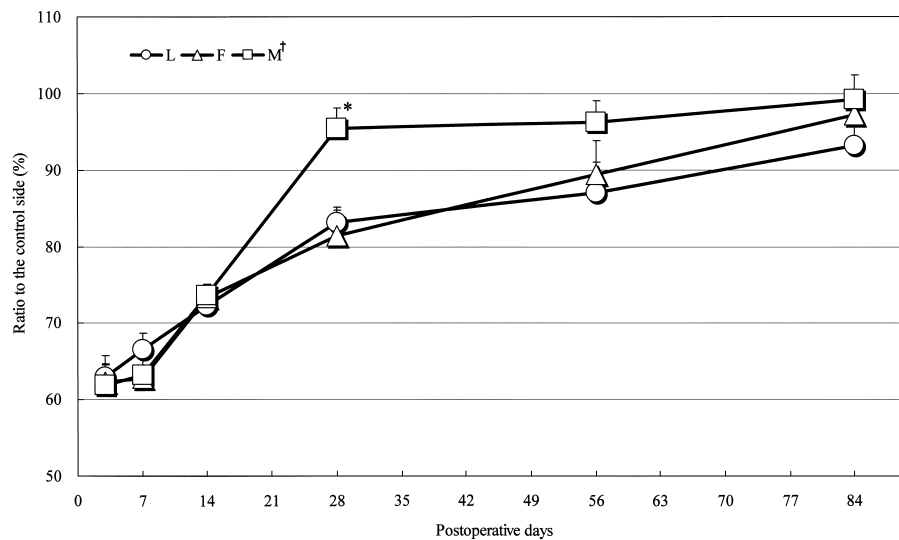


Abbildung 46: (A) fast-twitch-Kraftverhältnisse des verletzten M. tibialis anterior zum unverletzten M. tibialis anterior. *signifikante niedrigere Regeneration im Vergleich zu Gruppe M und F. (B) Tetanus-Kraftverhältnis des verletzten M. tibialis anterior zum unverletzten M. tibialis anterior des Kontrollbeins. * signifikant höhere Regeneration im Vergleich zu Gruppe F und L. † Gruppe M unterschied sich signifikant zu den Gruppen F und L. (Natsu et al., 2004, S. 1103)

In der vorliegenden Studie wurde aufgezeigt, dass die Spenderzellen in Muskelvorläuferzellen differenzieren. Jedoch wurden weitere Reaktionen, wie zum Beispiel die Differenzierung von Muskelvorläuferzellen in Skelettmuskel und die Fusion von Myofibrillen nicht beobachtet. Nichtsdestotrotz konnte funktionale Skelettmuskelregeneration in einem frühen Stadium durch Applikation von

mesenchymalen Stammzellen erzielt werden. Dementsprechend müssen andere noch unbekannte Mechanismen in die Regeneration von Skelettmuskelgewebe involviert sein. Abschließend lässt sich aber sagen, dass die Transplantation von mesenchymalen Stammzellen die Reifung der Myofibrillen und die Wiederherstellung der Muskelkraft in einem frühen Stadium der Regeneration unterstützt (Natsu et al., 2004).

Mesenchymale Stammzellen weisen also ein enormes Potential für die Regeneration von muskuloskeletalen Verletzungen auf. Die meisten Studien sind Tiermodelle. Grund für den Mangel an humanen klinischen Studien inkludiert den Bedarf an optimalen Quellen und Methoden für die Differenzierung von Zellen und die Erfordernis von optimal chirurgischen Materialien und Methoden für die Applikation von Stammzellen (Ljungqvist et al., 2008).

12 Diskussion

Die Möglichkeit der Erhöhung von Satellitenzellen im menschlichen Skelettmuskel hat eine wichtige klinische Bedeutung, da undifferenzierte Satellitenzellen ruhende Vorläuferzellen sind, die zur Teilung und Differentiation befähigt sind und eine Rolle in dem Wachstum und/oder Regeneration der Skelettmuskulatur spielen. Untersuchungen zeigten, dass sportliche Aktivität die Aktivierung von Satellitenzellen beeinflusst. Verdijk et al. (2009) zeigte, dass sich durch ein mehrwöchiges Krafttraining die Anzahl der Satellitenzellen in Muskelfasern signifikant erhöht und es zu einer Vergrößerung der Muskelmasse kommt. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit anderen Autoren. Roth et al. (2001) kam ebenfalls auf das Ergebnis, dass die Zahl der Satellitenzellen durch ein mehrwöchiges Krafttraining im trainierten Muskel zunimmt. Dementsprechend deuten die Resultate darauf hin, dass Muskelhypertrophie durch den Anstieg der Aktivität von vorher existierenden Satellitenzellen und die Formung von Muskelfasern definiert ist. Dreyer et al. (2006) stellte sogar einen signifikanten Anstieg von Satellitenzellen durch eine einmalige Krafttrainingseinheit fest. Alle diese Untersuchungen liefern deutliche Hinweise beziehungsweise Beweise, dass die Proliferation und die anschließende Verschmelzung der differenzierten Nachkommen der Satellitenzellen essentiell für die Hypertrophie des Skelettmuskels sind.

Neben dem Krafttraining verzeichnet auch das Ausdauertraining einen Anstieg von Satellitenzellen im Skelettmuskel. Charifi et al. (2003) stellte einen signifikanten Anstieg der Satellitenzellen im Skelettmuskel durch mehrwöchiges Ausdauertraining fest. Dieser Anstieg unterstützt indirekt den Beweis für die Aktivität der Satellitenzellen als Antwort auf Ausdauertraining.

Eine der wichtigsten Aufgabe der Satellitenzellen ist die Bildung von Tochterzellen, welche anschließend mit den existierenden Muskelfasern verschmelzen können und so die Anzahl der Muskelzellkerne erhöhen. Der Effekt der Erhöhung von Muskelzellkernen konnte jedoch nicht in allen Studien aufgezeigt werden. Bei Verdijk et al. (2009) und Charifi et al. (2003) war nur eine Tendenz der Zunahme von Muskelzellkernen zu beobachtet. Auch die Studie von Kadi et al. (2004) zeigte auf, dass die Muskelfaserhypertrophie nicht durch einen Anstieg der Muskelzellkerne begleitet war. Vielleicht spielen hierbei aber auch große interindividuelle Unterschiede eine große Rolle. In der Studie von Charifi et al. (2003) wiesen nämlich einige Probanden einen Anstieg und andere einen Abfall an Muskelzellkernen pro Muskelfasern auf. Unbeschränkt bleibt aufgrund der vorliegenden Studien, die hohe Plastizität von Satellitenzellen als Antwort

auf sportliches Training. Mäßige Veränderungen in der Größe der Muskelfasern können dementsprechend ohne der Addition von neuen Muskelzellkernen erzielt werden, was darauf hinweist, dass existierende Muskelzellkerne fähig sind ein bestimmtes Level an Muskelfaserhypertrophie zu unterstützen.

Aufgrund der jährlich enormen Anzahl von muskuloskeletalen Verletzungen, also Bänder-, Sehnen- und Muskelverletzungen, werden neue Ansätze in der Regeneration dieser Gewebe erforscht. Durch Muskel-Skelett-Verletzungen kommt es zu einem signifikanten Verlust der sportlichen Performance. Selbst nach konventioneller Therapie bleiben Athleten andauernde oder wiederkehrende Schmerzen vorhanden. Deswegen sucht die Wissenschaft nach besseren Methoden der Behandlung. Das Tissue Engineering bietet neue molekulare Ansätze in der Sportmedizin. Mit dem Ziel funktionelles Gewebe wiederherzustellen werden hauptsächlich 3 Strategien verfolgt: Die Applikation von gewebeinduzierenden Substanzen (wie zum Beispiel Wachstumsfaktoren), die Gentherapie und die Zelltherapie. Da die Wachstumsfaktoren in Knochen- und Knorpelbildung, Frakturenheilung, Sehnen- und Bänderreparatur und Skelettmuskulaturregeneration involviert sind, ist der therapeutische Gebrauch in der Sportmedizin von großem Interesse. Techniken, um Wachstumsfaktoren zur Verletzungsstelle zu bringen sind aber längst noch nicht optimal entwickelt. Da bei der Applikation von Wachstumsfaktoren immer wieder Probleme auftauchen, rückt die Gentherapie in den Vordergrund. Hierbei werden exogene Gene, die beispielsweise für einen bestimmten Wachstumsfaktor kodieren, in ein Individuum transferiert, um die lokale Produktion dieser Faktoren zu unterstützen. Da die Gentherapie immer einen Vektor benötigt, ist sie mit besonderer Vorsicht zu genießen, da immer ein Mutationsrisiko existiert.

Die Zelltherapie stellt eine andere potentielle Methode der Heilung von Verletzungen in der Sportmedizin dar. Vor allem spielen die mesenchymalen Stammzellen, also Zellen, die vorwiegend dem Knochenmark entstammen, eine große Rolle bei der Regeneration von Sportverletzungen. Die Langzeiterprobung von solchen Therapieansätzen in klinischen humanen Studien sind noch nicht vorhanden und reduzieren sich daher auf Tiermodelle. Matziolis et al. (2006) stellte eine verbesserte Regenerationsfähigkeit des verletzten Muskels durch autologe mesenchymale Stammzelleninjektion fest. Auch das Team um Natsu (2004) untersuchte das Potential der Zelltherapie bei Muskelverletzung. Im Unterschied zu Matziolis erfolgte eine allogene Stammzellentransplantation. Aber auch hier konnte eine erhöhte Wiederherstellung der Muskelkraft in dem frühen Stadium der Regeneration festgestellt werden. Mesenchymale Stammzellen weisen dementsprechend

ein enormes Potential für die Regeneration von muskuloskeletalen Verletzungen auf. Jedoch müssen die Methoden der Differenzierung von Zellen vor der Applikation, sowie die chirurgischen Methoden für die Einbringung der Stammzellen verbessert werden, so dass sie im Menschen erfolversprechend werden.

Das Tissue Engineering lässt somit auf verbesserte Methoden der Heilung und der Therapie von Sportverletzungen hoffen.

Die Kehrseite der Medaille ist jedoch die illegale Verbesserung der sportlichen Leistung. Es gibt berechtigter Weise Bedenken bezüglich dem Missbrauch gewisser Wachstumsfaktoren und der Gentherapie. Der Begriff „Gendoping“ wird in nächster Zeit immer mehr in den Vordergrund rücken. Potentiell könnte Gendoping zur Steigerung der Muskelgröße und –kraft, zur Erhöhung der Ausdauerleistung und zur Verminderung von Schmerzen bei Verletzungen eingesetzt werden. Das IOC und die WADA werden alles daran setzen, um Methoden zur Aufdeckung von Gendoping zu entwickeln, um zu gewährleisten, dass solche illegale Praktiken zur Leistungssteigerung hoffentlich erfolglos bleiben. Es wird alles daran gesetzt werden, dass solch Technologien ausschließlich der Vorbeugung und der Behandlung von Sportverletzungen zugute kommen.

Literaturverzeichnis

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P. (2004). *Molekularbiologie der Zelle*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co
- Asahara, T. & Kawamoto, A. (2004). Endothelial progenitor cells for postnatal vasculogenesis. *American Journal of Physiology: Cell Physiology*, 287, C572-C579
- Asakura, A., Seale, P., Girgis-Gabardo, A. & Rudnicki, M. (2002). Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. *The Journal of Cell Biology*, 159 (1), 123-134
- Baoutina, A., Alexander, I. E., Ej Rasko, J. & Emslie, K. R. (2007). Potential Use of Gene Transfer in Athletic Performance Enhancement. *Molecular Therapy*, 15 (10), 1751-1766
- Beck, G. C., Rafat, N., Yard, B. & Hanusch, C. (2007). Die Rolle endothelialer Vorläuferzellen in der Sepsis. *Der Anaesthetist*, 5, 423-428.
- Bloch, W (2007). Neue molekular- und zellbiologische Ansätze in der Sportmedizin. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 58 (9), 338 - 343
- Bloch, W. & Brixius, K. (2006a). Sport und Stammzellen. Exercise and stem cells. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 57 (3), 68-72.
- Bloch, W., Brixius, K., Schmidt, A. & Wahl, P. (2006b). Sport – ein Weg zur kardiovaskulären Regeneration durch Vorläufer- und Stammzellen. *Blickpunkt DER MANN*, 4, 16-22
- Bosch, U. & Krettel, C. (2002). Tissue Engineering von Sehnen- und Ligamentgewebe. *Der Unfallchirurg*, 105 (2), 88-94
- Buckingham, M. (2007). Skeletal muscle progenitor cells and the role of Pax genes. *Comptes Rendus Biology*, 330 (6-7), 530-533
- Buske, C., Glimm, H. & Feuring-Buske, M. (2006). Hämatopoetische Stammzelltherapie. Biologische Grundlagen. *Der Internist*, 47, 459-466
- Charifi, N., Kadi, F., Feasson, L. & Denis, C. (2003). Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle & Nerve*, In Press, 1-11
- Creaney, L. & Hamilton, B. (2008). Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of Play. *British Journal of Sports Medicine*, 42, 314-320
- De Gruyter, W. (2002). Pschyrembel Klinisches Wörterbuch (259., neu bearbeitete Auflage). Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG
- Dhawan, J. & Rando, T. A. (2005). Stem cells in postnatal myogenesis: molecular mechanisms of satellite cell quiescence, activation and replenishment. *TRENDS in Cell Biology*, 15 (12), 666-673
- Döhmen, G. & Reis, H. (2002). Stammzellen. Forschung im Überblick. *Deutsches Ärzteblatt*, 99 (41), A2680-A2684
- Dreyer, H. C., Blanco, C. E., Sattler, F. R., Schroeder, E. T. & Wiswell, R. A. (2006). Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle & Nerve*, 33, 242-253
- Ferrari, G., Cusella-De Angelis, G., Coletta, M., Paolucci, E., Stornaiuolo, A., Cossu, G. & Mavilio, F. (1998). Muscle Regeneration by Bone Marrow-Derived Myogenic Progenitors. *Science*, 279, 1528-1530
- Ganten, D. & Ruckpaul, K. (2002). *Grundlagen der Molekularen Medizin [Elektronische Ressource]*. Berlin: Springer Medizin Verlag Heidelberg

- Goetsch, S. C., Hawke, T. J., Gallardo, T. D., Richardson, J. A & Garry, D. J. (2003). Transcriptional profiling and regulation of the extracellular matrix during muscle regeneration. *Physiological Genomics*, 10, 1-37
- Graw, J. (2006). *Genetik* (4., vollständig überarbeitete Auflage). Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York
- Hawke, T. J. & Garry, D. J. (2001). Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *Journal of Applied Physiology*, 91, 534-551
- Heinemann, T. & Kersten, J. (2007). *Stammzellenforschung. Naturwissenschaftliche, rechtliche und ethische Aspekte*. München: Verlag Karl Alber Freiburg
- Hick, C. (2006) *Intensivkurs Physiologie* (5., vollständig überarbeitete Auflage). München: Elsevier, Urban und Fischer
- Huard, J., Li, Y., Peng, H. & Fu, F. H. (2003). Gene therapy and tissue engineering for sports medicine. *The Journal of Gene Medicine*, 5, 93-108
- Jackson, L., Jones, D., Scotting, P. & Sottile, V. (2007). Adult mesenchymal stem cells: Differentiation potential and therapeutic applications. *Journal of Postgraduate Medicine*, 53 (2), 121-127
- Kadi, F., Schjerling, P., Andersen, L., Charifi, B., Madsen, J. L., Christensen, L. R. & Andersen, J. L. (2004). The effect of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *The Journal of Physiology*, 558, 1005-1012
- Karlson, P., Doenecke, D. & Koolman, J. (1994). *Kurzes Lehrbuch der Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler* (14., neubearbeitete Auflage). Stuttgart: George Thieme Verlag Stuttgart New York
- Koestenbauer, S., Zech, N. & Dohr, G. (2006). Trans-Differenzierung von adulten Stammzellen – Ist eine Veränderung in Richtung naiverer Zellen möglich? *Journal für Reproduktionsmedizin und Endokrinologie*, 3 (5), 324-330
- Kuang, S. & Rudnicki, M. (2008a). The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. *Trends in Molecular Medicine*, 14 (2), 82-91
- Kuang, S., Gillespie, M. A. & Rudnicki, M. A. (2008b). Niche Regulation of Muscle Satellite Cell Self-Renewal and Differentiation. *Cell Stem Cell* 2, 2 (1), 22-31
- Lamsam, C., Fu, F. H., Robbins, P. D. & Evans, C. H. (1997). Gene Therapy in Sports Medicine. *Sports Medicine*, 25 (2), 73-77
- Le Grand, F. & Rudnicki, M. A. (2007). Skeletal muscle satellite cells and adult myogenesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 19, 628-633
- Ljungqvist, A., Schwelinius, M. P., Bachl, N., Collins, M., Cook, J., Khan, K. M., Maffulli, N., Pitsiladis, Y., Riley, G., Golspink, G., Venter, D., Derman, E. W., Engebretsen, L. & Volpi, P. (2008). International Olympic Committee Consensus Statement: Molecular Basis of connective Tissue and Muscle Injuries in Sport. *Clinics In Sports Medicine*, 27 (1), 231-239
- Lui, Y., Gampert, L., Prokopchuk, O. & Steinacker, J. M (2007). Satellitenzellaktivierung beim Krafttraining. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, 58 (1), 6-11
- Matziolis, G., Winkler, T., Schaser, K., Wiemann, M., Krockner, D., Tuischer, J., Perka, C. & Duda, G. N. (2006). Autologous Bone Marrow-Derived Cells Enhance Muscle Strength Following Skeletal Muscle Crush Injury in Rats. *Tissue Engineering*, 12 (2), 361-367
- Maurer, A. (2006). *Adulte Stammzellen in der Biotechnologie und für die zukünftige regenerative Medizin*. Zugriff am 7. November 2008 unter <http://idw-online.de/pages/de/news183656>
- McFarlane, C., Hennebry, A., Thomas, M., Plummer, E., Ling, N., Sharma, M. & Kambadur, R. (2007). Myostatin signals through Pax7 to regulate satellite cell self-renewal. *Experimental Cell Research*, 314, 317-329

- Natsu, K., Ochi, M., Mochizuki, Y., Hachisuka, H., Yanada, S. & Yasunaga, Y. (2004). Allogeneic Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stromal cells Promote the Regeneration of Injured Skeletal Muscle without Differentiation into Myofibers. *Tissue Engineering*, 10 (7), 1093-1111
- Payushina, O., Domaratskaya, E. & Starostin, V. (2006). Mesenchymal Stem Cells: Sources, Phenotype, and Differentiation Potential. *Biology Bulletin*, 33 (1), 2-18
- Prieto, J., Fernandez-Ruiz, V., Kawa, M.P., Sarobe, P. & Qian, C. (2008). Cells as vehicles for therapeutic genes to treat liver diseases. *Gene Therapy*, 15, 765-771
- Roth, S. M., Martel, G. F., Ivey, F. M., Lemmer, J. T., Tracy, B. L., Metter, E. J., Hurley, B. F. & Rogers, M. A. (2001). Skeletal Muscle Satellite Cell Characteristics in Young and Older Men and Women After Heavy Resistance Strength Training. *Journal of Gerontology*, 56A (6), B240-B247
- Sack, U., Tärnok, A. & Rothe, G. (2007). *Zelluläre Diagnostik. Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie*. Freiburg: S. Karger Verlag für Medizin und Naturwissenschaften GmbH
- Sadler, T. (1998). *Medizinische Embryologie. Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen*. (9. Überarbeitete und neugestaltete Auflage). Stuttgart: George Thieme Verlag
- Schöler, H. (2004). Das Potential von Stammzellen. Eine Bestandsaufnahme. *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung-Gesundheitsschutz*, 47, 565-577
- Schölmerich, J. (Hrsg.), Burdach, S., Drexler, H., Hallek, M., Hiddemann, W., Hörl, W. H., Klein, H. E., Landthaler, M., Lenz, K., Mann, K., Mössner, J., Müller-Ladner, U., Reichen, J., Schiengel, W., Schröder, J. O., Seeger, W., Stremmel, W., Suttrop, N., Weilemann, L. S., Wöhrle, J. C. & Zeuner, J. A. (2007). *Medizinische Therapie 2007* | 2008. Heidelberg: Springer Medizin Verlag
- Seale, P. & Rudnicki, M. A. (2000). A New Look at the Origin, Function, and „Stem-Cell“ Status of Muscle Satellite Cells. *Development Biology*, 218 (2), 115-124
- Shi, X. & Garry, D. J. (2006). Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes Development*, 20, 1692-1708
- Shortreed, K., Johnston, A. & Hawke, T. (2008). *Satellite Cells and Muscle Repair*. In: Skeletal Muscle Damage and Repair. USA: Human Kinetics
- Snijders, T., Verdijk, L. B. & van Loon, L. J. C. (2009). The impact of sarcopenia and exercise on skeletal muscle satellite cells. *Ageing Research Reviews*, 8 (4), 328-338
- Szmitko, P., Fedak, P., Weisel, R., Stewart, D., Kutryk, M. & Verma, S. (2003). Endothelial Progenitor Cells. New Hope for a Broken Heart. *Circulation*, 107; 3093-3100
- Van Poll, D., Parekkadan, B., Borel Rinkes, I., Tilles, A. & Yarmush, M. (2008). Mesenchymal Stem Cell Therapy für Protection and Repair of Injured Vital Organs. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 1 (1), 42-50
- Verdijk, L. B., Gleeson, B. G., Jonkers, R. A. M., Meijer, K., Savelberg, H. C. M., Dendale, P. & van Loon, L. J. C. (2009). Skeletal Muscle Hypertrophy Following Resistance Training Is Accompanied by a Fiber Type-Specific Increase in Satellite Cell Content in Elderly Men. *Journal of Gerontology*, 64A (3), 332-339
- Woo, S. L. Y., An Jia, F., Zou, L. & Gabriel, M. T. (2004). Functional Tissue Engineering for Ligament Healing: Potential of Antisense Gene Therapy. *Annals of Biomedical Engineering*, 32 (3), 342-351
- Wulf, G. G., Chapuy, B. & Trümper, L. (2006). Mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks. Phänotyp, Aspekte der Biologie und klinische Perspektiven. *Medizinische Klinik*, 101 (5), 408 - 413

- Young, R. G., Butler, D. L., Weber, W., Caplan, A. I., Gordon, S. L. & Fink, D. J. (1998). Use of mesenchymal Stem Cells in a aCollagen Matrix for Achilles Tendin Repair. *The Journal of Bone und Joint Surgery*, 16, 406-413
- Zammit, P., Partridge, T. & Yablonka-Reuveni (2006). The Skeletal Muscle Satellite Cell: The Stem Cell That Came in From the Cold. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 54 (11), 1177-1191
- Zammit, P. S. (2008). All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others? *Journal of Cell Science*, 121, 2975-2982

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Abbildung 1: Selbsterneuerung und Differenzierung der Stammzelle (Alberts et al, 2004, S. 1473)	5
Abbildung 2: Symmetrisches und Asymmetrisches Teilungsmuster einer Stammzelle (Koestenbauer et al, 2006, S. 324)	6
Abbildung 3: Entwicklungspotential und Entwicklungsstadien der Stammzelle (ESs = embryonale Stammzellen; ECs = embryonale Teratokarzinom-Stammzellen; EGs = primordiale Stammzellen; HSCs = hämatopoetische Stammzellen; NSCs = neurale Stammzellen; MSCs = mesenchymale Stammzellen) (Koestenbauer et al, 2006, S. 325)	7
Abbildung 4: Postnatale Stamm- und Vorläuferzellen (Asahara, et al, 2004)	10
Abbildung 5: Stammzellenbaum und Phänomen der Trans-Differenzierung (Koestenbauer et al, 2006).	12
Abbildung 6: Verschiedene adulte Stammzellenarten und ihr Regenerationspotential (Bloch et al, 2006, S. 69)	13
Abbildung 7: Differenzierung der Endothelvorläuferzelle (Prieto et al, 2008; S. 767)	15
Abbildung 8: Differenzierung und Charakterisierung endothelialer Vorläuferzellen (Beck et al, 2007, S. 424)	17
Abbildung 9: Differenzierungspotential der mesenchymalen Stammzelle (modifiziert nach Payushina et al, 2008)	19
Abbildung 10: Entwicklungsstufen hämatopoetischer Stammzellen (Schölmerich et al, 2007, S.305)	22
Abbildung 11: Marker der humanen hämatopoetischen Stammzelle (Dimmeler et al, 2005, S.21)	24
Abbildung 12: Lage der ruhenden Satellitenzellen (Satellitenzellennische) (Kuang et al., 2008, S. 83)	25
Abbildung 13: Transkriptionale Kontrolle der Entwicklung von Myotuben (Kuang et al., 2008, S. 83)	26
Abbildung 14: Adaptive Prozess der Skelettmuskulatur (Snijders et al., 2009, S. 2)	
Abbildung 15: Phasen der Muskelregeneration (Shi et al., 2006, S. 1697)	33
Abbildung 16: zelluläre Mechanismen der Muskelregeneration (Goetsch et al., 2003, S. 263).	35
Abbildung 17: Mechanismen der Selbsterneuerung von Stammzellen. (A): Asymmetrische Teilung. (B) und (C): zwei mögliche Formen der symmetrischen Teilung (Kuang et al., 2008, S.23)	38
Abbildung 18: Zwei mögliche Methoden der Satellitenzellen-Selbsterneuerung (Zammit et al., 2008. S. 2978).	39
Abbildung 19: Anthropometrische-, Blut- und Kraftwerte der Teilnehmer vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 335)	42
Abbildung 20: Körperzusammensetzung und Muskelmasse der Teilnehmer vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 336)	43
Abbildung 21: Verteilung der Typ I und Typ II Muskelfasern vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 336)	44
Abbildung 22: Gehalt der Muskelzellkerne und Satellitenzellen vor und nach dem 12-wöchigen Trainingsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 337)	44
Abbildung 23: Durchschnittliche Anzahl von Satellitenzellen in Typ I und Typ II Muskelfasern vor und nach dem 12-wöchigen Interventionsprogramm (Verdijk et al., 2009, S. 337)	45
Abbildung 24: Körperparameter der jüngeren und älteren Frauen und Männer (Roth et al., 2001, S. 242)	46
Abbildung 25: Verhältnis der Satellitenzellen [Satellitenzellen/(Muskelzellkerne + Satellitenzellen)] im M. vastus lateralis von gesunden jungen und alten Frauen und Männern vor und nach dem HRST. Before HRST = Daten vom dominanten Bein vor HRST; after HRST = Daten vom dominanten Bein nach HRST. All untrained (UT) Proben = zusammengefasste Daten von dem untrainierten Bein. *Signifikanter Abweichung in Bezug auf vor HRST. † Signifikanter höher Anstieg der Satellitenzellen in Vergleich zu den restlichen Gruppen (Roth et al., 2001, S. 243)	48
Hopfgartner, Barbara (2010)	83

Abbildung 26: Morphologie der Satellitenzellen vor und nach dem mehrwöchigen Trainingsprogramm (Roth et al., 2001, S. 243)	49
Abbildung 27: Anzahl der aktiven und inaktiven Satellitenzellen. Before T = Proben vor dem HRST; After T = Proben nach HRST; UT = Proben des untrainierten Kontrollbeines. *signifikanter Unterschied zu Bevor T und UT	50
Abbildung 28: Anzahl der Satellitenzellen pro Muskelfaser vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90). * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1008)	52
Abbildung 29: Northern Blot der p21 mRNA und CyclinD1 mRNA (Kadi et al., 2004, S. 1008)	52
Abbildung 30: Durchschnittliche Anzahl der Muskelzellkerne pro Muskelfaser vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) (Kadi et al., 2004, S. 1009)	53
Abbildung 31: Durchschnittliche Querschnittfläche der Muskelfasern vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1009)	53
Abbildung 32: Muskelzellkern-Domain vor dem Training (Pre), 30 Tage nach dem Trainingsbeginn (T30), 90 Tage nach dem Trainingsbeginn (T90) und nach 3,10,60 und 90 Tagen im trainingsfreien Zeitraum (D3, D10, D30, D60, D90) * Signifikanter Unterschied zu vor dem Training (Pre). # Signifikanter Unterschied zu T90 (Kadi et al., 2004, S. 1010)	54
Abbildung 33: Anteile und Querschnittfläche (cross-sectional area) der Typ I & II Muskelfasern (Dreyer et al., 2006, S. 247)	56
Abbildung 34: Verteilung von Muskelzellkerne und Satellitenzellen (Dreyer et al., 2006, S. 247)	56
Abbildung 35: NCAM-positive Zelle mit zwei Zellkernen (Dreyer et al., 2006, S. 248)	57
Abbildung 36: Anteil der Satellitenzelle vor und nach der Intervention aller Probanden (Dreyer et al., 2006, S. 251)	58
Abbildung 37: Identifikation von Satellitzellen und Muskelzellkerne. (a) Muskelzellkerne sind blau und Satellitenzellen braun. Der Querstrich repräsentiert 100 µm. (b) 40-fache Vergrößerung des Ausschnittes von a. Die Pfeile zeigen auf die Satellitenzellen (Charifi et al., 2003, S. 89)	60
Abbildung 38: VO _{2max} , CS (Citratsynthase) und PFK (Phosphofructo-Kinase) vor und nach dem 14-wöchigen Ausdauertraining (Charifi et al., 2003, S. 90)	60
Abbildung 39: Durchschnittliche Anzahl an Muskelzellkerne pro Faser und Frequenz der Satellitenzellen vor und nach dem Interventionsprogramm (Charifi et al., 2003, S. 91)	61
Abbildung 40: Durchschnittliche Fläche der verschiedenen Muskelfasern vor und nach dem 14-wöchigen Ausdauertraining (Charifi et al., 2003, S. 91)	61
Abbildung 41: (a) Anzahl der Muskelzellkerne pro Faser; (b) Querschnittfläche der Muskelfasern vor und nach dem Training (Charifi et al., 2003, S. 91)	62
Abbildung 42: Konzepte des Tissue Engineerings	64
Abbildung 43: Effekte von Wachstumsfaktoren in unterschiedlichen Geweben des muskuloskeletalen Systems. IGF-1: insulin growth factor-1; bFGF: basic fibroblast growth factor; NGF: nerve growth factor; aFGF: acidic fibroblast growth factor; PDGF: platelet-derived growth factor; EGF: epidermal growth factor; TGF: transforming growth factor; BMP: bone morphogenic protein; CDMP: Cartilage-derived morphogenetic protein; VEGF: vascular endothelial growth factor (Huard et al., 2003, S. 94)	65
Abbildung 44: Entwicklungspotential mesenchymaler Stammzellen (Ganten et al., 2008, S. 261)	69
Abbildung 45: Effekt der autologen mesenchymalen Stammzellen-Applikation bei der Messung der Kontraktionskräfte unter „tetanic-“ und „fast-twitch“-Stimulation. (*p = 0.05, **p = 0.014) (Matziolis et al., 2006, S. 364)	72
Abbildung 46: (A) fast-twitch-Kraftverhältnisse des verletzten M. tibialis anterior zum unverletzten M. tibialis anterior . *signifikante niedrigere Regeneration im Vergleich zu Gruppe M und F. (B) Tetanus-Kraftverhältnis des verletzten M. tibialis anterior und des unverletzten M. tibialis (Hopfgartner, Barbara (2010)	84

anterior des Kontrollbeins. * signifikant höhere Regeneration im Vergleich zu Gruppe F und L. † Gruppe M unterschied sich signifikant zu den Gruppen F und L. 74

Abkürzungsverzeichnis

aFGF:	acidic fibroblast growth factor
bFGF:	basic fibroblast growth factor
bHLH:	basic-helix-loop-helix
BMP:	bone morphogenic protein
CDMP:	Cartilage-derived morphogenetic protein
DAB:	Diaminobenzidin
DEXA:	dual-energy x-ray absorptiometer
DMD:	Duchenne muscular dystrophy
ECM:	extrazelluläre Matrix
ECs:	embryonale Teratokarzinom-Stammzellen
EGF:	epidermal growth factor
EGs:	primordiale Stammzellen
EPO:	Erythropoietin
ESs:	embryonale Stammzellen
FT:	fast-twitch
GFP:	grün fluoreszierendes Protein
HbA1c:	Glykohämoglobin
HRST:	heavy resistance strenght training
HSCs:	hämatopoetische Stammzellen
ICM:	innere Zellmasse
IGF-1:	insulin growth factor-1
IL-6:	Interleukin 6
IOC:	Internationales Olympisches Komitee
LE:	leg extension
LG:	leg press

LIF: leukemia inhibitory factor

MRF: myogene Regulationsfaktoren

MSCs: mesenchymale Stammzellen

NCAM: Neural Cell Adhesion Molecule

NGF: nerve growth factor

NSCs: neurale Stammzellen

PDGF: platelet-derived growth factor

RM: repetition maximum

TGF: transforming growth factor

VEGF-R₂: vascular endothelial growth factor-Receptor 2

VEGF: vascular endothelial growth factor

WADA: World –Doping Agency

Eidesstattliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und nur die ausgewiesenen Hilfsmittel verwendet habe. Diese Arbeit wurde weder an einer anderen Stelle eingereicht noch von anderen Personen vorgelegt.“

Ort, Datum

Unterschrift

Hopfgartner Barbara

Geburtsdatum: 06.11.1984

Geburtsort: Wien

Staatsbürgerschaft: Österreich

Familienstand: ledig

Handynummer: 0676/89325634

E-Mail: barbara.hopfgartner@gmail.com

Schulbildung

Seit Jänner 2009 Bakkalaureat Biologie – Schwerpunkt Mikrobiologie und Genetik

Seit März 2008 Magisterstudium Sportwissenschaften - Abschluss voraussichtlich Mai/Juni 2010; Thema der Magisterarbeit: Regeneration der Skelettmuskulatur durch Stammzellen

März 2005 - Februar 2008 Bakkalaureat für Gesundheitssport

1994 - 2003 Sportrealgymnasium Maria Enzersdorf

1990 - 1994 Volksschule Perchtoldsdorf

Weitere Ausbildungen

2005 Ausbildung zur Rettungssanitäterin

Berufliche Tätigkeit

Seit April 2009 Kinder- und Jugendbetreuung Wiener Kinderfreunde

Seit Oktober 2007 Übungsleiterin für Kleinkinder-, Kinder- und Jugendturnen Sport Union Südstadt

September 2005 – Juni 2009 Übungsleiterin für Kinder- und Jugendturnen Sport Union Rodaun

Juli/August 2008 und 2009 Hi Jump Ferienwochen – Kindersportbetreuerin

September 2004 – Oktober 2007 LEBIG- Rettungsleitstelle Niederösterreich

November 2003 - Mai 2004 Arena Fitness im Kur- und Rehabilitationszentrum Althofen/Kärnten

Praktika

Oktober bis Dezember 2008 Berufspraktikum IMSB Südstadt

Juli 2007 Praktikum Sonderkrankenanstalt-
Rehabilitationszentrum St. Radegund

Juli 2001 Donau Versicherung

Juli 2000 Wiener Städtische Versicherung

**Besondere
Fähigkeiten**

EDV-Kenntnisse

Englisch 8 Schuljahre

Private Interessen

Ehrenamtlicher Rettungsdienst Bezirksstelle Brunn am Gebirge

Leistungssport Eiskunstlauf (1989-1999)