

D. Pette

## Das adaptative Potential des Skelettmuskels

### The adaptative potential of skeletal muscle

Fakultät für Biologie, Universität Konstanz

#### Zusammenfassung

Skelettmuskeln sind aus verschiedenen schnellen und langsamen Fasertypen zusammengesetzt. Diese Fasertypen verfügen über ein hohes adaptatives Potential. Sie besitzen die Fähigkeit, ihren Phänotyp durch qualitative und quantitative Änderungen der Genexpression zu verändern, um längerfristig geänderten funktionellen Erfordernissen zu entsprechen. Erhöhte neuromuskuläre Aktivität löst Umwandlungen schneller in langsamere Fasertypen aus, während verminderte neuromuskuläre Aktivität die Umwandlung langsamer in schnellere Fasertypen induziert. Das tierexperimentelle Modell der chronischen Elektrostimulation hat die Bedeutung neuronaler Impulsmuster für die Ausprägung von Muskelfaser-Phänotypen aufgezeigt und besser als andere experimentelle Protokolle die funktionelle, und metabolische Plastizität der Muskelfasern demonstriert.

In diesem Übersichtsartikel werden Phänomene und molekulare Grundlagen der durch niederfrequente Stimulation in schnellen Muskeln kleiner Säugetiere ausgelösten schnell → langsam Fasertypübergänge beschrieben. Die mit einem tonischen Impulsmuster induzierten Fasertypübergänge beruhen auf Änderungen in der Expression von Proteinisoformen myofibrillärer und anderer sarkomerischer Proteine. Sie werden begleitet von Änderungen im Enzymaktivitätsmuster anaerober und aerober Stoffwechselwege, die eine Steigerung des aerob-oxidativen Potentials zur Folge haben. Das Ausmaß dieser Veränderungen, die zur Umwandlung von schnellen, rasch ermüdbaren in langsame, ermüdungsresistente Muskeln

führt, ist beispielhaft für das hohe adaptative Potential der Muskelfaser.

**Schlüsselwörter:** Elektrostimulation; Energiestoffwechsel; Fasertyptransformation; Genexpression; Muskelfasertypen; Myosin

#### Summary

Skeletal muscles are composed of fast and slow fibre types. These fibre types represent versatile entities characterized by a high adaptive potential as a result of qualitative and quantitative alterations in gene expression, muscle fibres are capable of responding to altered functional demands by changing their phenotypic properties. Thus, enhanced neuromuscular activity elicits fast-to-slow fibre type transitions, whereas reduced neuromuscular activity induces slow-to-fast fibre type conversions. In this conjunction, chronic electrical stimulation has greatly contributed to elucidate the impact of neuronal impulse patterns on muscle fibre phenotypes and to demonstrate the full range of the functional and metabolic plasticity of muscle. This review focuses on the phenomena and underlying molecular mechanisms of fast-to-slow fibre type transitions induced by chronic low-frequency stimulation in small mammals. These transitions result from multiple alterations in the expression patterns of myofibrillar and other sarcomeric proteins. They are accompanied by profound changes in enzyme activities of anaerobic and aerobic metabolic pathways, resulting in a markedly

enhanced aerobic-oxidative potential the extent of these alterations, which ultimately transform fast-twitch, fast-fatigable muscles into slow-twitch, fatigue-resistant muscles, demonstrates the high adaptive potential of the muscle fibre.

**Key words:** Chronic electrical stimulation; energy metabolism; fibre type transition; gene expression, muscle fibre types; myosin

Skelettmuskeln sind aus strukturell, funktionell, molekular und metabolisch verschiedenen Fasertypen zusammengesetzt und darum ein extrem heterogenes Gewebe. Verschiedene Fasertypen lassen sich histochemisch, immunochemisch oder nach molekularen Kriterien voneinander abgrenzen. Ihre Vielfalt beruht darauf, daß die meisten Proteine des Myofibrillenapparates, des Ca<sup>2+</sup>-regulatorischen Systems und des Energiestoffwechsels in mehreren Isoformen, Isotypen oder Isozyemen vorkommen (66,70,71). Isoformen eines Proteins üben ähnliche, aber nicht identische Funktionen aus. Sie sind entweder Produkte von Multigenfamilien oder werden durch Exonspleißen erzeugt. Das hexamere Myosinmolekül, das aus schweren und leichten Peptidketten zusammengesetzt ist, ist für beide Phänomene beispielhaft. In Säugetiermuskeln werden bisher ca. 10 Isoformen der schweren Myosinkette unterschieden. Jede von ihnen ist Produkt eines eigenen Gens. Ein Beispiel für Vielfalt durch Exonspleißen liefern die schnellen Isoformen der „essentiellen“ leichten Myosinkette. Die mRNAs der beiden Isoformen werden durch Kombination von z.T. identischen und z.T. verschiedenen Exons aus dem primären Transkript eines einzigen Gens gebildet (5).

Terminal differenzierte Muskelfasern sind keine starr fixierten, sondern dynamische Elemente mit der Fähigkeit, ihre Eigenschaften an veränderte Bedürfnisse anzupassen. Mit anderen Worten, Muskelfasern verfügen über ein großes adaptatives Potential. Unter dem Einfluß verschiedener äußerer Faktoren ändern Muskelfasern das Expressionsmuster ihrer Proteinisoformen (72). Auf diese Weise können Muskelfasern ihren Phänotyp an-

dern, um sich den Erfordernissen längerfristig veränderter Funktionen anzupassen. Bevor jedoch auf die Phänomene von Fasertypübergängen eingegangen wird, seien einige Definitionen zur Typisierung von Muskelfasern vorangestellt.

## Muskelfasertypen

Wenn Muskelfasern ihren Phänotyp unter dem Einfluß exogener Faktoren ändern, stellt sich die Frage, ob es überhaupt sinnvoll ist, bestimmte Fasertypen zu unterscheiden. Nicht nur aus historischer Sicht, sondern auch aus praktischen Gründen ist diese Frage positiv zu beantworten. Das Vorherrschen bestimmter Phänotypen innerhalb der Faserpopulationen von Skelettmuskeln ist nicht zu übersehen und hat zur Abgrenzung von Fasertypen geführt. Verfeinerte analytische Methoden haben in letzter Zeit allerdings den Begriff des Fasertyps relativiert, vor allem im Hinblick auf sog. Hybrid- oder Übergangsfasern (siehe unten).

Im wesentlichen haben sich zwei Klassifizierungsschemata durchgesetzt. Beide beruhen auf Ergebnissen qualitativ histochemischer Färbungen. Bei der Methode von *Barnard* und Mitarbeitern dient ein einfacher Nachweis der myofibrillären Adenosintriphosphatase (mATPase) zur Unterscheidung von schnellen (F = fast-twitch) und langsamen (S = slow-twitch) Fasern. Färbeprofile von Bezugsenzymen des aeroboxidativen Stoffwechsels (Succinat-Dehydrogenase oder NADH-Tetrazolium-Reduktase) grenzen drei metabolische Typen voneinander ab, G (glycolytic), OG (oxidative-glycolytic) und O (oxidative). Aus der Zuordnung von metabolischen Merkmalen zur schnell/langsam Charakteristik resultieren drei Fasertypen, FG (fast-twitch glycolytic), FOG (fast-twitch oxidative-glycolytic) und SO (slow-twitch oxidative) (4, 65). Allerdings erfolgt die metabolische Unterscheidung der schnellen FG- und FOG-Typen auf der Grundlage eines groben Rasters. Quantitative Messungen von Enzymaktivitäten erlauben nämlich keine scharfe Abgrenzung von „glykolytischen“ und „oxidativen“ Fasern. Vielmehr zeigt sich, daß die Enzymaktivitäten anaerober und aerober Stoffwechselwege in schnellen Fasern große Streuungen aufweisen (77,90), (80), (41,57,69).

Für die schnellen Muskelfasern folgt daraus, daß metabolische und kontraktile Eigenschaften nicht streng gekoppelt sind (70).

Das zweite Verfahren der Fasertypisierung basiert auf einem verfeinerten histochemischen Aktivitätsnachweis der mATPase (10,11,31,32). Dabei handelt es sich um die ATPase-Aktivität der schweren Myosinkette bzw. ihrer Isoformen (70,94,95). In Muskeln kleiner Säugetiere wurden zunächst nur zwei schnelle Fasertypen, Typ IIA und Typ IIB und ein langsamer Typ I unterschieden. Durch Kombination der mATPase-Histochemie mit immunohistochemischen Färbungen (26,83) und elektrophoretischer Analyse der schweren Myosinketten in mikrodissidierten Einzelfasern (98,99) gelang die Abgrenzung eines dritten schnellen Fasertyps. Von einigen Autoren wird er als Typ IID (33,70), von anderen als Typ IIX bezeichnet (84,85). Diese drei schnellen Fasertypen enthalten verschiedene Isoformen der schweren Myosinkette (MHC = myosin heavy chain), IIB-Fasern MHCIIb, IID (IIX) Fasern MHCIIId (MHCIIx) und IIA-Fasern MHCIIa.

Die Isoformen der schweren Myosinkette unterscheiden sich in ihren ATPase-Aktivitäten. Messungen an gehäuteten Einzelfasern der Ratte ergaben höchste ATPase-Aktivitäten für den Typ IIB, etwas geringere für die Typen IID und IIA, und sehr viel niedrigere für den Typ I (8). Der Typ IID (IIX) ist in seiner histochemischen mATPase-Charakteristik den Typ IIB-Fasern ähnlich. Das erklärt, warum Typ IID-Fasern (IIX) erst spät erkannt und vor ihrer Entdeckung dem Typ IIB zugerechnet wurden. Auch in der neueren Literatur wird oftmals nicht zwischen Typ II B und Typ II D unterschieden.

Die langsamen Typ I-Fasern exprimieren eine der kardialen  $\beta$ MHC entsprechende Isoform, MHCIB. In letzter Zeit mehrten sich jedoch die Hinweise, daß die Typ I-Fasern keine homogene Population darstellen. Elektrophoretische Analysen und Messungen der kontraktiven Eigenschaften von Fasern, die auf Grund ihrer mATPase-Histochemie dem Typ I entsprechen, weisen auf die Existenz von Subtypen innerhalb der langsamen Faserpopulation hin (23,40). Ähnliche Schlußfolgerungen lassen sich auch aus unterschiedlichen Verteilungsmustern

der leichten Myosinketten in menschlichen Typ I-Fasern ziehen (48)

Es ist verwirrend, wenn die FG-, FOG-, SO-Nomenklatur auf Fasertypen angewandt wird, die auf Grund ihrer histochemischen mATPase-Profile unterschieden wurden. Zwar entspricht der SO-Typ dem mATPase-definierten Typ I, aber FOG- und FG-Fasern sind nicht unbedingt identisch mit Typ IIA- bzw. IIB-Fasern (63,70,77). Allein schon die Abgrenzung eines dritten schnellen Fasertyps (IID bzw. IIX) zeigt, daß eine Übereinstimmung der beiden Nomenklaturen für schnelle Fasern nicht bestehen kann. Aus diesen Gründen sollten Fasertypen stets mit der Nomenklatur benannt werden, die erkennen läßt, mit welcher Methode ihrer Unterscheidung erfolgte.

Ein weiteres Problem der Fasertypisierung ergibt sich aus Spezies-spezifischen Besonderheiten (33). Besonders auffällig ist das bei den in der Literatur bisher als Typ IIB bezeichneten Fasern des Menschen. Die elektrophoretische Beweglichkeit der schweren Myosinkette dieser Fasern entspricht derjenigen von MHCIIa kleiner Säugetiere (z.B. Ratte, Kaninchen). Sequenzstudien an der MHC-Isoform in menschlichen Fasern, die histochemisch dem Typ IIB entsprechen, führten zur Aufdeckung großer Ähnlichkeit mit der MHCIIId (MHCIIx) der Ratte (20,92). Aus diesem Grunde benennen einige Autoren neuerdings die histochemisch durch mATPase-Färbung als IIB typisierten menschlichen Fasern als Typ Iix z.B. (2).

Weitere Spezies-spezifische Unterschiede betreffen das Spektrum der Proteinisoformen homologer Muskeln. Muskeln kleiner Säugetiere enthalten höhere Anteile der schnellen MHC-Isoformen als die entsprechenden Muskeln größerer Säugetiere (33). So enthält z.B. der Psoasmuskel von Maus und Ratte nahezu ausschließlich Typ IIB-Fasern, während der m. psoas im Kaninchen ein nahezu reiner Typ IID-Muskel ist. Typ IIB-Fasern finden sich in anderen Kaninchenmuskeln in wesentlich geringerer Zahl als in entsprechenden Muskeln von Ratte und Maus. In Skelettmuskeln von Hund (93), Schaf (59) und Pferd (79) findet sich überhaupt keine der MHCIIb homologe Isoform. Demnach nimmt die Expression der schnellen MHCIIb bzw. der Anteil der Typ IIB-Fasern mit zunehmender Körpergröße ab. Das er-

# ÜBERSICHTEN

klärt auch das Fehlen von MHCIIb-enthaltenden Fasern in Muskeln des Menschen, die als schnelle Fasern nur den Typ IID (IIX) und den weniger schnellen Typ IIA enthalten.

## Reine und Hybridfasern

Neben sog. reinen Fasertypen, die nur eine einzige MHC-Isoform enthalten, finden

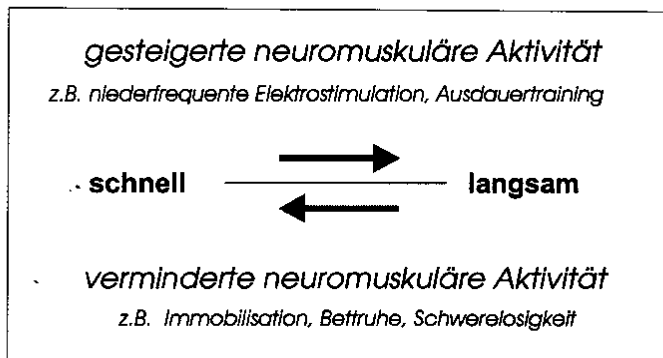


Abbildung 1: Schematische Darstellung von schnell- $\rightarrow$ langsam und langsam- $\rightarrow$ schnell Fasertypübergängen infolge erhöhter bzw. reduzierter neuromuskulärer Aktivität.

sich in normalen Muskeln auch Hybrid- oder Übergangsfasern. Sie enthalten zwei, eventuell sogar mehr MHC-Isoformen. Normalerweise ist ihr Anteil an der Faserpopulation gering, nimmt aber unter Bedingungen, die zu Fasertypumwandlungen führen, erheblich zu. Die Koexistenz bestimmter MHC-Isoformen in Hybridfasern ermöglicht es, diese als Übergangsfasern zwischen reinen Fasertypen einzuordnen. Die Muskeln kleiner Säugetiere enthalten demnach ein Spektrum von reinen und Hybridfasern, das sich zwischen dem Typ IIB als schnellsten und dem Typ I als langsamsten erstreckt: Typ IIB (MHCIIb), Typ IIB/D (MHCIIb+MHCIIId), Typ IID (MHCIIId), Typ IID/A (MHCIIId+MHCIIa), Typ IIA (MHCIIa), Typ IIA/I (MHCIIa+MHCII $\beta$ ), Typ I (MHCII $\beta$ ). Die Typ IIA/I-Fasern werden auch als IIC-Fasern bezeichnet (70). Da in menschlichen Muskeln die MHCIIb-Isoform nicht vorkommt, beginnt hier das schnell/langsam-Faserspektrum auf der Stufe von Typ IID (IIX). Bei den in der Literatur als Typ IIB/IIA bezeichneten Fasern in Muskeln des Menschen handelt es sich in Wirklichkeit um IID/IIA- bzw. IIX/IIA-Hybridfasern.

Die funktionelle Zuordnung der verschiedenen Fasertypen gründet sich auf Messungen der kontraktile Eigenschaften von gehäuteten Einzelfasern. Messungen von lastfreier Verkürzungsgeschwin-

digkeit (7,9,25), vor allem aber kinetische Parameter der sog. Streckungsaktivierung haben es ermöglicht, die kontraktile Eigenschaften der verschiedenen Fasertypen dem oben aufgeführten Spektrum der MHC-Isoformen in reinen und Hybridfasern zur Seite zu stellen (24,40). In Übereinstimmung damit stehen auch die an gehäuteten Muskelfasern (Ratte) gemessenen ATPase-Aktivitäten: Typ IIB > Typ IID(X) > Typ IIA >> Typ I (8). Messungen an Muskelfasern des Menschen bestätigen die Abnahme der ATPase-Aktivität in gleicher Reihenfolge: Typ IID(X) > Typ IIA >> Typ I (97).

nen ATPase-Aktivitäten: Typ IIB > Typ IID(X) > Typ IIA >> Typ I (8). Messungen an Muskelfasern des Menschen bestätigen die Abnahme der ATPase-Aktivität in gleicher Reihenfolge: Typ IID(X) > Typ IIA >> Typ I (97).

## Fasertypübergänge

Verschiedene Faktoren beeinflussen die

phänotypischen Eigenschaften der Muskelfasern, z.B. Änderungen des neuronalen Impulsmusters (Denervation, Kreuzinnervation, chronische Elektrostimulation), kontraktile Aktivität, mechanische Belastung bzw. Entlastung (Dehnung, Immobilisation, Schwerelosigkeit), bestimmte Hormone (z.B. Thyroidhormon). Abgesehen von der Wirkung des Thyroidhormons (Hypothyreose fördert schnell/langsam Übergänge, Hyperthyreose wirkt entgegengesetzt), lassen sich die Effekte folgendermaßen zusammenfassen (72): Gesteigerte neuromuskuläre Aktivität (z.B. Ausdauertraining, niederfrequente Elektrostimulation) fördert den Übergang schneller in langsamere Fasertypen; verminderte neuromuskuläre Aktivität (z.B. Inaktivität, passive Verkürzung, Schwerelosigkeit) begünstigt Übergänge in entgegengesetzter Richtung (Abb. 1).

Dabei hängt das Ausmaß der Übergänge nicht nur vom Grad der Akti-

vitätsänderung, sondern auch von ihrer Dauer ab. Außerdem bestehen Spezies-spezifische Unterschiede im Ausmaß der Effekte, z.T. auch in Abhängigkeit von der Funktion der Muskeln.

Der prägende Einfluß der Innervation auf den Muskelphänotyp wurde erstmals durch das Kreuzinnervationsexperiment von *Buller, Eccles und Eccles* gezeigt (13). Bereits mit diesem Experiment wurde die Plastizität des Muskelfaserphänotyps in ihrem ganzen Ausmaß demonstriert. Der Einfluß der Innervation läßt sich auf Motoneuronspezifische Impulsmuster zurückführen. Wie zuerst am Kaninchen gezeigt wurde, führt die Stimulation schneller Muskeln, z.B. m. tibialis anterior (TA), m. extensor digitorum longus (EDL), mit einem für „langsame“ Motoneurone charakteristischen, tonisch-niederfrequenten Impulsmuster zu einer Verlangsamung von Kontraktion und Relaxation (68,81,82). Zahlreiche Arbeiten haben sich seitdem dieses Modells zum Studium der schnell/langsam Transformation bedient und gezeigt, daß die chronisch-niederfrequente Stimulation (CNS) schnelle in langsame Muskeln umwandelt (Übersichtsartikel: 72, 74).

Die Bedeutung des neuronalen Impulsmusters für Ausprägung und Erhalt von Fasertyp-spezifischen Eigenschaften läßt sich auch am Beispiel der langsam  $\rightarrow$  schnell-Transformation demonstrieren. Stimulation des m. soleus der Ratte mit einem für schnelle Muskeln typischen, phasisch-hochfrequenten Impulsmuster, wandelt diesen langsamen Muskel in einen

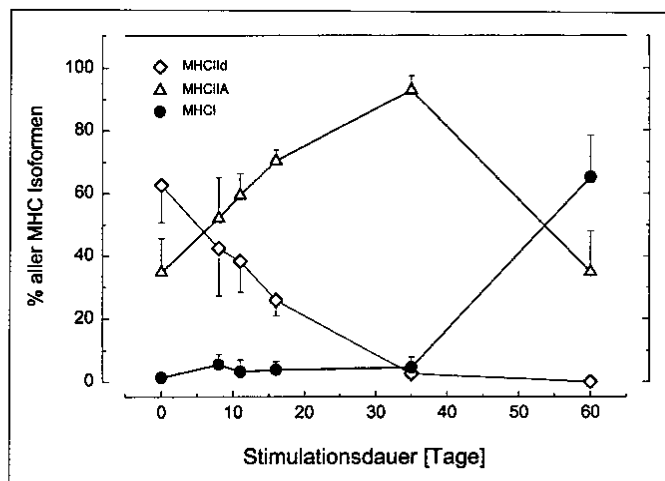


Abbildung 2: Zeitverlauf der durch niederfrequente Stimulation (10 Hz, 12 Std. täglich) im m. tibialis anterior des Kaninchens induzierten Änderungen der Expression von Isoformen der schweren Myosinkette (MHC). Aufgetragen sind Durchschnittswerte  $\pm$  SD, n = 3-5 pro Zeitpunkt. Modifiziert nach (56).

schneller kontrahierenden Muskel um (19,27,27,30,30,34,58). Voraussetzung ist allerdings die Denervation des stimulierten Muskels, um das tonische Impulsmuster der langsamen Motoneurone auszuschalten. Bei diesem Modell kommt es darum zur Überlagerung von Denervations- und Stimulationseffekten. Bei der schnell -> langsam Transformation stellt sich dieses Problem nicht, weil hier das phasisch-hochfrequente Impulsmuster der schnellen Motoneurone durch die Stimulation mit 10 Hz vollständig überlagert wird. Die folgenden Ausführungen stellen die CNS in den Mittelpunkt der Betrachtung, denn an keinem anderen Modell als diesem läßt sich das adaptative Potential des Skelettmuskels besser demonstrieren.

## Die chronisch-niederfrequente Stimulation

Wirkungen der CNS wurden zumeist an schnellen Zuckungsmuskeln (EDL und TA) von Kaninchen und Ratten untersucht. Gegenüber anderen tierexperimentellen Protokollen zur Steigerung der neuromuskulären Aktivität, z.B. Training auf dem Laufband oder Schwimmen, hat die CNS deutliche Vorteile. Das standardisierte Stimulationsprogramm ermöglicht es, adaptive Veränderungen des Muskels unter definierten und reproduzierbaren Bedingungen zu verfolgen. Bei der CNS bleibt die induzierte Steigerung der neuromuskulären Aktivität auf einen einzigen Muskel bzw. eine Muskelgruppe beschränkt. Im Gegensatz zur Willkürmotorik und zu Trainingsstudien werden bei CNS alle motorischen Einheiten des stimulierten Muskels gleichmäßig und maximal aktiviert. Systemische Effekte, die z.B. beim Lauf- oder Schwimmtraining interferieren können und eventuell zentralnervöse, humorale (z.B. Katecholamine) oder kardiovaskuläre Reaktionen auslösen, sind bei CNS weitgehend ausgeschlossen. Im Gegensatz zum Training entfällt bei CNS auch die initiale Gewöhnungsphase, denn mit dem Einschalten des Stimulators kommt die gesteigerte neuromuskuläre Aktivität in vollem Ausmaß zur Wirkung. Zeitabhängige Veränderungen funktioneller, metabolischer und molekularer Eigenschaften lassen sich unmittelbar nach Beginn und

über die gesamte Dauer der Stimulation verfolgen.

Schließlich läßt die CNS weitaus größere Steigerungen der neuromuskulären Aktivität zu als jedes andere auf Willkürmotorik basierende Modell.

## Kurze Zusammenfassung der durch CNS induzierten Veränderungen

Alle bisher untersuchten funktionellen Elemente der Muskelfaser erfahren unter dem Einfluß der CNS tiefgreifende Veränderungen (73). Orchestrierte Änderungen der Genexpression führen mit zunehmender Stimulationsdauer zum Austausch „schneller“ gegen „langsame“ Proteinisoformen. Inbegriffen sind nicht nur myofibrilläre sondern auch zahlreiche andere Proteine der Muskelfaser. Stets eilen den Veränderungen auf Proteinebene entsprechende Veränderungen auf mRNA-Ebene voraus. Bei einigen Proteinen, die nur als schnelle und langsame Isoformen vorkommen, erfolgt der schnell/langsam Übergang in einem Schritt, bei anderen in mehreren Schritten, z.B. im Falle der schweren Myosinkette (Abb. 2).

Im schnellen TA des Kaninchens kommt es bei CNS zunächst zu einem Austausch von MHCIIId durch die nächst langsamere Isoform, MHCIIa. Mit zunehmender Dauer der Stimulation wird dann MHCIIa durch die langsame MHCII $\beta$  ersetzt (56). Neueren Ergebnissen zufolge kommt es zwischen MHCIIa und MHCII $\beta$  zu einer vorübergehenden Expression der normalerweise in extrafusalen Fasern nicht exprimierten MHCII $\alpha$  (36,75). Analysen der MHC-Isoformen in Einzelfasern zeigen eine massive Zunahme von Hybridfasern mit Koexpression der bei der schnell/langsam Transformation nacheinander exprimierten MHC-Isoformen (Abb. 3) (17).

Im Falle von Troponin, dem regulatorischen Protein des dünnen Filaments, existieren inhibitorische (TnI) und Calciumbindende (TnC) Untereinheiten nur als schnelle und langsame Isoformen. Ihr schnell -> langsam Austausch erfolgt synchron mit dem MHCIIa -> MHCII $\alpha$ /MHCII $\beta$  Übergang. Die dritte Untereinheit des trimeren Troponinmoleküls, das Tropomyosin-bindende TnT existiert in mindestens

drei schnellen und zwei langsamen Isoformen. Die Übergänge der drei schnellen TnT-Isoformen erfolgen synchron mit denen der drei schnellen MHC-Isoformen (56). Offensichtlich erstrecken sich die Kontrollmechanismen, die eine koordinierte Umwandlung wichtiger Funktionselemente der Muskelfaser steuern, nicht nur auf einzelne Proteine oder Unterein-

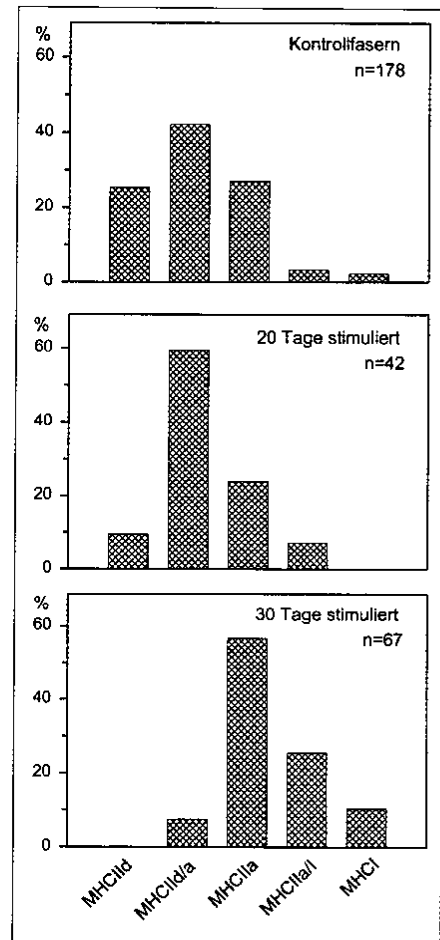


Abbildung 3: Prozentuale Verteilung von reinen Fasertypen und Hybridfasern im normalen, 20 Tage und 30 Tage niederfrequenz stimulierten (10 Hz, 12 Std. täglich) m. tibialis anterior des Kaninchens. Die Isoformenspektren der schweren Myosinkette (MHC) wurden durch Einzelfaserelektrophorese ermittelt. Reine Fasertypen: IID (MHCIIId), IA (MHCIIa) und I (MHCII). Hybridfasern: IID/IA (MHCIIId+MHCIIa), IA/I (MHCIIa+MHCII). Modifiziert nach (17).

heiten verschiedener Proteine, sondern auch auf Proteine verschiedener zellulärer Strukturen, z.B. des dicken und dünnen Filaments.

Auch im Bereich der Membranproteine finden sich Beispiele für eine koordinierte Umwandlung verschiedener Funktionselemente. So erfolgt im sarkoplasmatischen Retikulum der Austausch der

# ÜBERSICHTEN

schnellen Isoform der  $Ca^{2+}$ -ATPase (SERCA1a) gegen die langsame Isoform (SERCA2) synchron mit dem MHCIIa  $\rightarrow$  MHCII $\alpha$ /MHCII $\beta$  Übergang im dicken Filament (35). Im sarkoplasmatischen Retikulum wird zugleich Phospholamban induziert (44,54). Phospholamban ist ein Membranprotein, das nur in langsamen Muskelfa-

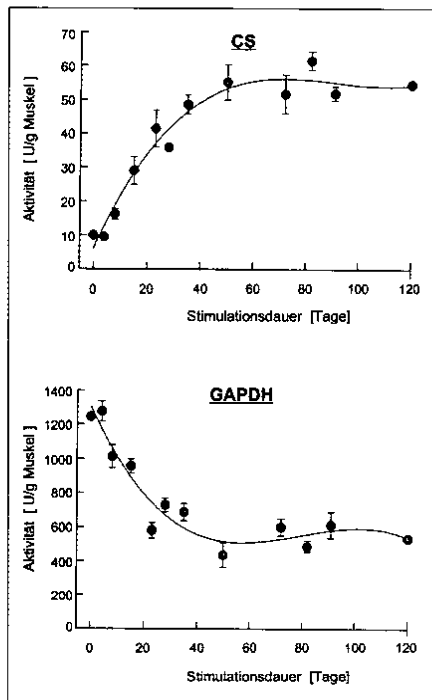


Abbildung 4: Zeitverlauf der durch niederfrequente Stimulation (10 Hz, 12 Std. täglich) im m. tibialis anterior des Kaninchens induzierten Änderungen von Aktivitäten der Citrat-Synthase (CS, Bezugsenzym des Citrat-Cyclus) und Glyceraldehydphosphat-Dehydrogenase (GAPDH, Bezugsenzym der Glykolyse). Aufgetragen sind Mittelwerte  $\pm$  SE,  $n = 2-5$  pro Zeitpunkt. Modifiziert nach (43).

sern und im Herzmuskel vorkommt und dort als Regulator der  $Ca^{2+}$ -ATPase wirkt. In schnellen Muskeln ist dieses Regulatorprotein jedoch nicht nachweisbar. Im Gegensatz zur Induktion des Phospholambans, wird die Expression von Parvalbumin, einem cytosolischen Calcium-puffernden Protein, das nur in schnellen Fasern vorkommt, bei der schnell  $\rightarrow$  langsam Transformation vollständig reprimiert (45,55).

Die Veränderungen im Enzymapparat des Energiestoffwechsels sind qualitativer und quantitativer Art. Wie auch bei anderen Proteinen ändert sich das Muster der Isoformen, z.B. der Laktat-Dehydrogenase- und Creatin-Kinase-Isozyme (86,87,89). Wichtig sind die durch CNS

ausgelösten quantitativen Änderungen der Enzymgehalte. Als Folge dieser tiefgreifenden Veränderungen werden Muskelfasern mit einem anaerob-glykolytischen Stoffwechsel in Mitochondrienreiche Fasern mit einem vorwiegend aerob-oxidativen Stoffwechsel umgewandelt. In Kaninchenmuskeln nehmen die glykolytischen und glykogenolytischen Enzymaktivitäten auf etwa 40% ihrer Normalwerte ab, während es zu mehrfachen Anstiegen aller am aerob-oxidativen Stoffwechsel beteiligten extra- und intramitochondrialen Enzymaktivitäten kommt (Abb. 4), z.B. (38,43,68,76). Das sind die Enzyme der Fettsäure-, Aminosäure- und Ketonkörperoxidation sowie der Enzymapparat von Citrat-Cyclus und Atmungskette. Dem Anstieg dieser zumeist mitochondrial lokalisierten Enzyme entspricht eine proportionale Zunahme des mitochondrialen Volumenanteils am Faservolumen (76).

Mitochondrienarme Muskelfasern (FG) erfahren größere relative Steigerungen (7-8fach) ihres Mitochondriengehaltes und entsprechender Enzymaktivitäten (Abb. 5) als Mitochondrienreiche (FOG) Fasern (76).

Dabei überrascht es nicht, daß CNS im Falle des langsamen m. soleus praktisch keinen Einfluß auf die Enzymaktivitäten des aerob-oxidativen

Stoffwechsel hat, während dasselbe Stimulationsprotokoll im m. tibialis anterior zu erhebliche Zunahmen dieser Enzymaktivitäten führt (Abb. 6) (67). Auf Grund seiner Faserzusammensetzung (im Kaninchen nahezu 100% Typ I-Fasern) steht der Soleus am „Ende“ der schnell  $\rightarrow$  langsam Reihe der Fasertypübergänge. Die Typ I-Fasern entsprechen metabolisch dem SO-Fasertyp, d.h. Enzyme des aerob-oxidativen Stoffwechsels sind von vornherein maximal exprimiert. Auch bewirkt CNS in diesem Muskel keine Änderung der Myosinzusammensetzung. Im Gegensatz dazu

kommt es im Soleus bei reduzierter Aktivität (z.B. bei Schwerelosigkeit oder Entlastung durch „hindlimb suspension“) zu ausgeprägten langsam  $\rightarrow$  schnell Übergängen von Fasertypzusammensetzung und Myosinisoformen (3,14,62,96,100).

Tatsächlich scheinen die Anstiege mitochondrialer Enzymaktivitäten, die in schnellen Muskeln durch CNS induziert werden, von den jeweiligen Ausgangsniveaus abzuhängen. Das folgt aus vergleichenden Untersuchungen am schnellen m. tibialis von Maus, Ratte, Meerschweinchen und Kaninchen: Identische Stimulationsprogramme induzieren bei der Maus die geringsten Enzymaktivitätsanstiege, größere bei Meerschweinchen und Ratte und die größten beim Kaninchen. Spezies-spezifische Unterschiede im Ausmaß der durch CNS induzierbaren Änderungen des

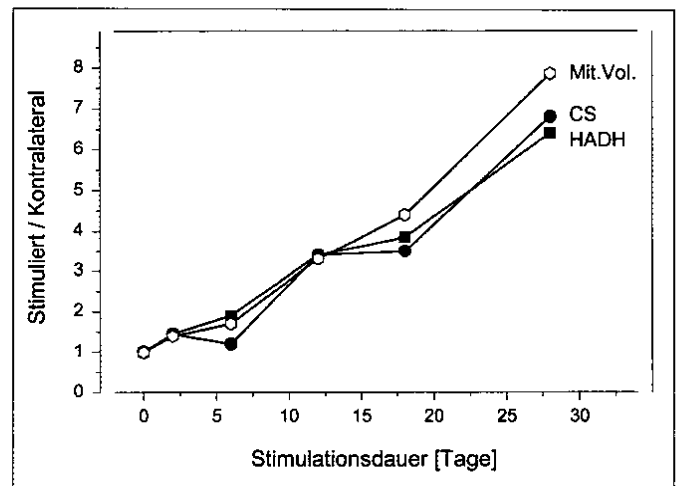


Abbildung 5: Zeitverlauf der durch niederfrequente Stimulation (10 Hz, 12 Std. täglich) im m. tibialis anterior des Kaninchens induzierten relativen Anstiege des mitochondrialen Volumenanteils bzw. der Aktivitäten von Citrat-Synthase (CS, Bezugsenzym des Citrat-Cyclus) und 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase (HADH, Bezugsenzym der Fettsäureoxidation). Die Werte im stimulierten Muskel wurden auf die entsprechenden Werte im kontralateralen Kontrollmuskel bezogen. Modifiziert nach (76).

Enzymaktivitätsmusters werden so verständlich (88).

Die Veränderungen des Enzymapparates in Richtung auf einen aerob-oxidativen Energiestoffwechsel werden von Anstiegen sarkolemmaler Vehikelpoteine für Glucose- (21,42,51), Fettsäure- (6,49,78) und Laktat-Transport (60,61) begleitet. Für den bei gesteigerter Stoffwechsellistung erhöhten Gas- und Metabolit-austausch ist schließlich eine massive Zunahme der Kapillardichte bedeutsam (46,47). Zeitverlaufsstudien lassen erkennen, daß die Zunahme der Kapillarisation im sti-

mulierten Kaninchenmuskel dem Anstieg mitochondrialer Enzymaktivitäten deut-

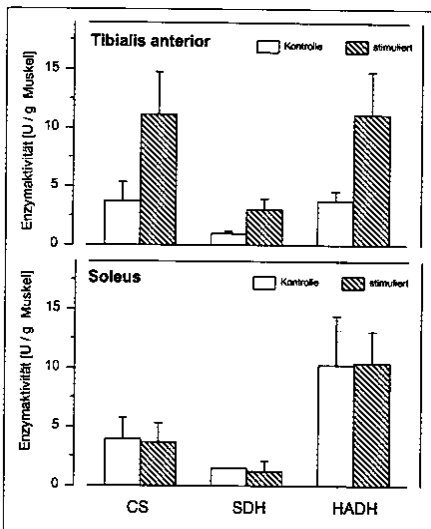


Abbildung 6: Durch niederfrequente Stimulation (10 Hz, 8 Std. täglich, 3 Wochen) im *m. tibialis anterior* (n=6) und *m. soleus* (n=8) des Kaninchens induzierte Änderungen der mitochondrialen Aktivitäten von Citrat-Synthase (CS), Succinat-Dehydrogenase (SDH) und 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HADH). Aufgetragen sind Durchschnittswerte  $\pm$  SD. Daten von (67). Als Folge der kürzeren Stimulationszeiten (8 Std. täglich) sind die Anstiege der Enzymaktivitäten geringer als die in Abb. 5 gezeigten Werte.

lich vorausseilt (Abb. 7) (91). Die Veränderungen bleiben nicht auf das Kapillarnetz beschränkt, denn in länger stimulierten Muskeln finden sich auch erweiterte Arteriolen, Arterien und Venen (1).

## Funktionelle Aspekte

Die CNS transformiert nicht nur schnelle in langsamere Muskeln, sondern wandelt ermüdbare in ermüdungsresistente Muskeln um. Die schnell  $\rightarrow$  langsam-Transformation wird im wesentlichen durch die verstärkte Expression langsamer Proteinisofomern des Myofibrillenapparates erklärt. Bedeutung kommt dabei aber auch Veränderungen im Isoformenspektrum von Membranproteinen des Sarkolemms und sarkoplasmatischem Retikulum zu, die an der Calciumfreisetzung und Calciumwiederaufnahme beteiligt sind (35,39,64).

Die geringere Ermüdbarkeit des transformierten Muskels läßt sich auf mehrere Faktoren zurückführen. An erster Stelle steht die erhöhte aerob-oxidative Kapazität des Energiestoffwechsels infolge er-

höhten Mitochondriengehalts, erhöhter Kapillarisation und gesteigerter Durchblutung. Zu den wichtigen metabolischen Veränderungen zählen neben gesteigerter Glucoseaufnahme und -phosphorylierung die erhöhten Kapazitäten der Fettsäure-Oxidation. Eine wichtige Rolle spielt weiterhin der durch CNS erhöhte Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase-Gehalt des Sarkolemms. Die Aktivität der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase steigt bereits nach wenigen Tagen CNS stark an, was dem durch die erhöhte kontraktile Aktivität bedingten Kaliumverlust des Muskels entgegenwirkt. Zwischen dem Anstieg der Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase-Aktivität und der abnehmenden Ermüdbarkeit des Muskels wird eine direkte Beziehung vermutet (29,39).

## Reversibilität der induzierten Veränderungen

Nach Beendigung der Stimulation empfangen die Muskeln nur noch das ihnen von ihrem Nerven übermittelte Impulsmuster. Infolgedessen kommt es zu rückläufigen Veränderungen aller durch CNS induzierten „langsamen“ Eigenschaften. Die nun einsetzenden langsam  $\rightarrow$  schnell-Fasertypübergänge erstrecken sich auf Veränderungen im Expressionsmuster von Proteinisofomern und rückläufige Umwandlungen der metabolischen Eigenschaften. Die Zeitverläufe dieser rückläufigen Veränderungen sind für verschiedene Funktionselemente und Strukturen unterschiedlich, doch wurde am Kaninchenmuskel gezeigt, daß die Wiederherstellung der ursprünglichen Fasereigenschaften bezüglich struktureller und funktioneller Merkmale nach etwa 12 Wochen abgeschlossen ist (12,18).

Ebenso wie für die schnell  $\rightarrow$  langsam Transformation gilt für deren Umkehr nach Beendigung der Stimulation, daß den Veränderungen auf Proteinebene solche auf mRNA-Ebene vorausseilen. Ein-drucksvoll sind dabei die raschen Wieder-

anstiege von Transkripten jener Gene, die durch CNS praktisch vollständig abgeschaltet wurden. Beispiele sind die im Rattenmuskel nach Beendigung der Stimulation steil ansteigenden Spiegel der für die schnelle MHCIIb kodierenden mRNA (50) oder der mRNA für Parvalbumin (Abb. 8) (45). Diese Anstiege zeigen, daß Gene, deren Expression durch CNS reprimiert wird, mit einer Latenz von nur wenigen Stunden nach Beendigung der Stimulation wieder angeschaltet werden.

## Mögliche Auslösermechanismen der Fasertransformation

Durch Messung der isometrischen Kraft und quantitative Bestimmung der myofibrillären ATPase-Aktivität in gehäuteten Typ IIB-, Typ IID(X)-, Typ IIA- und Typ I-Fasern des Rattenmuskels haben *Bottinelli* und Mitarbeiter den ATP-Bedarf der Spannungsentwicklung („tension cost“) ermittelt (8). Demnach haben Typ IIB-Fasern den höchsten und Typ I-Fasern den geringsten ATP-Bedarf. Langsame Fasern arbeiten ökonomischer als schnelle Fasern, deren Schnelligkeit durch hohen ATP-Bedarf erkauft wird. Die Abnahme des ATP-Bedarfs in der Sequenz Typ IIB, Typ IID (X), Typ IIA, Typ I entspricht genau der bei schnell  $\rightarrow$  langsam Transformation induzierten Sequenz der Fasertypübergänge.

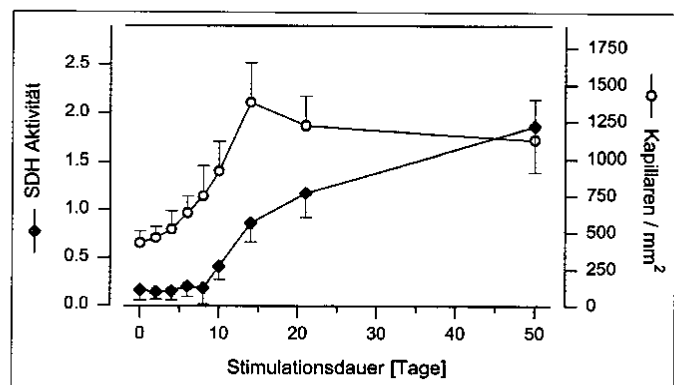


Abbildung 7: Zeitverlauf der durch niederfrequente Stimulation (10 Hz, 12 Std. täglich) im *m. tibialis anterior* des Kaninchens induzierten Zunahme von Kapillardichte und Aktivität der mitochondrialen Succinat-Dehydrogenase (SDH). Daten (Mittelwerte  $\pm$  SD) von (91).

Das könnte bedeuten, daß die durch CNS erzwungene Steigerung der kontraktile Aktivität Änderungen der Genexpression auslöst, die nicht nur zu Myosin-Isoformen mit geringeren Spannungskosten führen, sondern auch Voraussetzungen für einen

auf Ausdauerleistung programmierten Energiestoffwechsel schaffen. Im Hinblick auf mögliche Zusammenhänge dieser Art haben wir vor einigen Jahren die Arbeits-

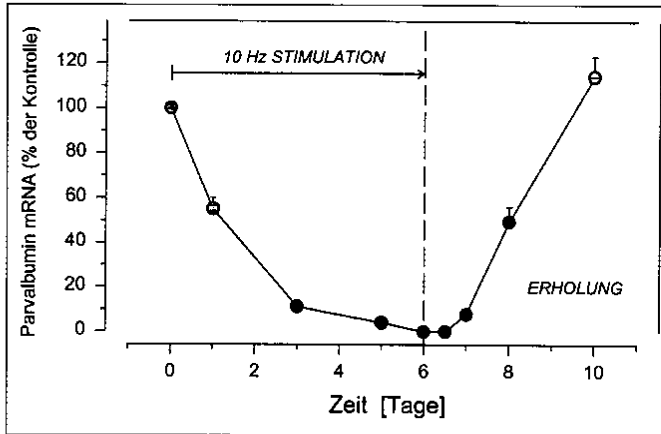


Abbildung 8: Reversibilität des durch chronisch-niederfrequente Stimulation (10 Hz, 24 Std. täglich) im *m. tibialis anterior* der Ratte induzierten Abfalls der für Parvalbumin kodierenden mRNA. Daten von (45).

hypothese aufgestellt, daß die Expression der verschiedenen Myosinisoformen in Beziehung zum ATP-Phosphorylierungspotential der Muskelfaser steht (17, 28,72).

Zur Überprüfung unserer Hypothese wurden mit mikrobiokemischer Analytik Messungen des ATP-Phosphorylierungspotentials, ausgedrückt als das Verhältnis von ATP zu freiem, d.h. nicht gebundenem, ADP in mikrodissoziierten und typisierten Einzelfasern aus Kaninchenmuskeln durchgeführt. Die Fasertypisierung erfolgte mikroelektrophoretisch durch Bestimmung der MHC-Isoformen. Die Ergebnisse sind in Abb. 9 dargestellt. Es zeigt sich ein Spektrum von reinen und Hybridfasern, das der sowohl der funktionellen Zuordnung als auch der Sequenz der schnell->langsam Faserübergänge entspricht. Demnach zeigen Typ IIB-Fasern die höchsten und Typ I-Fasern die niedrigsten Werte des ATP-Phosphorylierungspotentials (17).

Messungen von Schlüsselmetaboliten des Energiestoffwechsels stützen die Annahme, daß ein Zusammenhang zwischen der Größe des ATP-Phosphorylierungspotentials und der Expression der verschiedenen Myosinisoformen besteht. Im niederfrequent stimulierten Kaninchenmuskeln kommt es bereits nach wenigen Minuten zu einer dramatischen Absenkung des ATP-Phosphorylierungspotentials. Nach einer kurzdauernden, teilweisen Erholung bleibt das ATP-Phosphorylie-

rungspotential bei fortgesetzter Stimulation jedoch dauerhaft erniedrigt (Abb. 10) (28). Bestimmungen dieser Größe auf Einzelfaserebene erbrachten gleichartige Befunde (17), was die Hypothese von der Beziehung der Myosinexpression zur Größe des ATP-Phosphorylierungspotentials untermauert.

Im Zusammenhang mit der schnell->langsam-Transformation sind möglicherweise auch Änderungen der freien  $Ca^{2+}$ -Konzentration im Muskel von Bedeutung (37). Messungen in Einzelfasern

von niederfrequent stimulierten EDL-Muskeln der Ratte zeigen bereits nach 2 Stunden 2-3fache Erhöhungen der freien  $Ca^{2+}$ -Konzentration, die auch bei längeren Stimulationszeiten (10 Tage) weiterhin bestehen (15). Der Anstieg der freien  $Ca^{2+}$ -Konzentration könnte eine direkte Folge des stark erniedrigten ATP-Phosphorylierungspotentials sein, denn die Pumpleistung der  $Ca^{2+}$ -ATPase des sarkoplasmatischen Retikulums hängt maßgeblich von der Höhe des ATP-Phosphorylierungspotentials ab (53,101).

Die Bedeutung einer erhöhten Konzentration des freien  $Ca^{2+}$  im Cytosol als mögliches Signal für die Zunahme des Mitochondriengehaltes folgt aus Untersuchungen an Muskelzellkulturen. Myotubenkulturen aus Muskeln neugeborener Kaninchen entwickeln den Phänotyp adulter Typ I Fasern, wenn ihre intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration durch Zugabe eines  $Ca^{2+}$ -Ionophors zum Kulturmedium etwa 10fach erhöht wird. Sie enthalten dann langsame Isoformen der schweren und leichten Myosinketten und zeigen bei re-

duzierter Aktivität der Laktat-Dehydrogenase eine erhöhte Aktivität der Citrat-Synthase (52). An einem ähnlichen Zellkulturmodell konnten Hood und Mitarbeiter kürzlich zeigen, daß die durch Erhöhung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration gesteigerte Expression von Cytochrom c über eine Signalkette reguliert wird, an der eine  $Ca^{2+}$ -abhängige Protein-Kinase C beteiligt ist (22). Die Bedeutung der freien  $Ca^{2+}$ -Konzentration für die Kontrolle der Genexpression in schnellen und langsamen Muskelfasern wurde kürzlich durch Befunde erhärtet, die auf eine Rolle von Calcineurin, einer  $Ca^{2+}$ -regulierten, Cyclosporin-hemmbareren Serin/Threonin-Phosphatase, bei der Fasertransformation hinweisen (16).

## Muskelfasertypen und adaptatives Potential

Kein anderes experimentelles Modell hat die molekulare und funktionelle Plastizität des Skelettmuskels eindrucksvoller demonstriert als die indirekte, chronisch-niederfrequente Stimulation. Dieses experimentelle Modell übertrifft in seinen Wir-

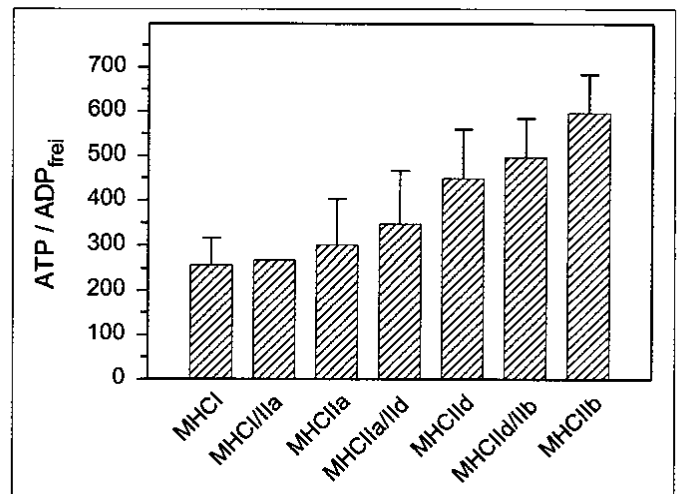


Abbildung 9: ATP-Phosphorylierungspotential, ausgedrückt als  $[ATP]/[ADP_{frei}]$ , in reinen Fasertypen und in Hybridfasern des Kaninchenmuskels. Aufgetragen sind Mittelwerte  $\pm$  SD. Modifiziert nach (17).

kungen jedes auf Willkürmotorik gegründete Trainingsprotokoll, dies allein schon aus dem Grunde, daß eine Steigerung der neuromuskulären Aktivität durch Willkürmotorik, wie im Falle einer 12- oder 24-stündigen niederfrequenten Stimulation



unmöglich ist. Das Modell der CNS produziert damit maximale Effekte.

Unter dem Einfluß der niederfrequenten Stimulation gelingt es, einen schnellen, rasch ermüdbaren Muskel in einen langsamen, ermüdungsresistenten Muskel umzuwandeln. Aus Zeitverlaufsstudien

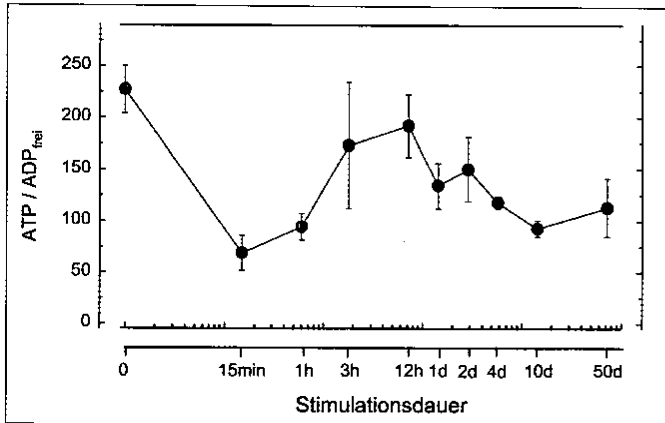


Abbildung 10: Zeitverlauf von Änderungen des ATP-Phosphorylierungspotentials im niederfrequent stimulierten (1.0 Hz, 12 Std. täglich) m. tibialis anterior des Kaninchens. Modifiziert nach (28).

folgt, daß dieser Prozess Dosis- und Zeitabhängig ist, d.h. sein Ausmaß hängt von der täglichen Stimulationszeit und der Gesamtdauer der Stimulation ab. Die durch langfristige Stimulation erzielte schnell- $\rightarrow$ langsam-Umwandlung zeigt ebenso wie die nach Aussetzen der Stimulation erfolgende Umkehr der induzierten Veränderungen, daß es möglich ist, eine schnelle in eine langsame bzw. eine langsame in eine schnelle Faser zu transformieren. Auf diese Weise wird das adaptive Potential der terminal differenzierten Skelettmuskelfaser in seinem ganzen Ausmaß offenkundig. Diese erstaunliche Fähigkeit, sich durch Änderung phänotypischer Eigenschaften funktionellen Erfordernissen optimal anzupassen, erscheint unter evolutionärem und organischem Aspekt als wichtiges Element einer Überlebensstrategie.

Die am Modell der CNS gewonnenen Einblicke lassen erkennen, daß die induzierten Veränderungen der phänotypischen Eigenschaften nicht sprunghaft, sondern schrittweise und abgestuft erfolgen. Auf Einzelfaserebene besteht so eine eindeutige Beziehung zwischen dem Fasertyp und seinem adaptativen Potential. Die Fasertypübergänge erfolgen sequentiell in definierter Reihenfolge. Da die Übergänge reversibel sind, ergibt sich folgende Sequenz: Typ IIB  $\leftrightarrow$  Typ IID(X)  $\leftrightarrow$  Typ

IIA  $\leftrightarrow$  Typ I. Daraus folgt, daß Typ IIB-Fasern bei der schnell- $\rightarrow$ langsam-Transformation das größte adaptive Potential besitzen, während Typ IID(X)- und Typ IIA-Fasern aufgrund ihrer Stellung im Spektrum der Fasertypen entsprechend kleinere Potentiale aufweisen. Im Falle der langsam- $\rightarrow$ schnell-

Transformation besitzen Typ I-Fasern das größte und Typ IID(X) das kleinste Potential zur Fasertypumwandlung. Mit anderen Worten, die Größe des adaptativen Potentials einer Muskelfaser hängt von ihrer Position im Spektrum der Fasertypen ab. Die Richtung der Fasertypumwandlung wird durch exogene Fakto-

ren bestimmt: schnell- $\rightarrow$ langsam als Folge erhöhter, langsam- $\rightarrow$ schnell als Folge reduzierter neuromuskulärer Aktivität.

## Danksagung

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für jahrzehntelange Förderung meiner Arbeiten.

## Literatur

1. Adair TH, Hang J, Wells ML, Mcgee FD, Montani JP: Long-term electrical stimulation of rabbit skeletal muscle increases growth of paired arteries and veins. *Am J Physiol* 38 (1995) H717-H724.
2. Andersen JL, Gruschy-Knuksen T, Sandri C, Larsson L, Schiaffino S: Bed rest increases the amount of mismatched fibers in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 86 (1999) 455-460.
3. Baldwin KM: Effect of spaceflight on the functional, biochemical, and metabolic properties of skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 28 (1996) 983-987.
4. Barnard RJ, Edgerton VR, Furukawa T, Peter JB: Histochemical, biochemical and contractile properties of red, white, and intermediate fibers. *Am J Physiol* 220 (1971) 410-414.
5. Barton PJR, Buckingham ME: The myosin alkali light chain proteins and their genes. *Biochem J* 231 (1985) 249-261.
6. Bonen A, Dyck DJ, Ibrahim! A, Abumrad NA: Muscle contractile activity increases fatty acid metabolism and transport and FAT/CD36. *Am J Physiol* 276 (1999) E642-E649.

7. Bottinelli R, Belto R, Schiaffino S, Reggiani C: Unloaded shortening velocity and myosin heavy chain and alkali light chain isoform composition in rat skeletal muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 478 (1994) 341-349.
8. Bottinelli R, Canepari M, Reggiani C, Stienen GJM: Myofibrillar ATPase activity during isometric contraction and isomyosin composition in rat single skinned muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 481 (1994) 663-675.
9. Bottinelli R, Schiaffino S, Reggiani C: Force-velocity relationship and myosin heavy chain isoform compositions of skinned fibres from rat skeletal muscle. *J Physiol (Lond)* 437 (1991) 655-672.
10. Brooke MH, Kaiser KK: Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch Neurol* 23 (1970b) 369-379.
11. Brooke MH, Kaiser KK: Three „myosin-adenosine triphosphatase“ systems: the nature of their pH lability and sulfhydryl dependence. *J Histochem Cytochem* 18 (1970a) 670-672.
12. Brown JMC, Henriksson J, Salmons S: Restoration of fast muscle characteristics following cessation of chronic stimulation: physiological, histochemical and metabolic changes during slow-to-fast transformation. *Proc R Soc Lond B235* (1989) 321-346.
13. Buller AJ, Eccles JC, Eccles RM: Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speed of their responses. *J Physiol (Lond)* 150 (1960) 417-439.
14. Caiozzo VJ, Haddad F, Baker MJ, Herrick RE, Prietto N, Baldwin KM: Microgravity-induced transformations of myosin isoforms and contractile properties of skeletal muscle. *J Appl Physiol* 81 (1996) 123-132.
15. Carroll S, Nicotera P, Pette D: Calcium transients in single fibers of low frequency stimulated fast-twitch muscle of rat. *Am J Physiol (im Druck)*
16. Chin ER, Olson EN, Richardson JA, Yano Q, Humphries C, Shelton JM, Wu H, Zhu WG, Basselduby R, Williams RS: A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. *Gene Develop* 12 (1998) 2499-2509.
17. Conyard A, Peuker H, Pette D: Energy state and myosin isoforms in single fibers of normal and transforming rabbit muscles. *Pflügers Arch* 436 (1998) 962-969.
18. Eisenberg BR, Brown JMC, Salmons S: Restoration of fast muscle characteristics following cessation of chronic stimulation. The ultrastructure of slow-to-fast transformation. *Cell Tissue Res* 238 (1984) 221-230.
19. Eken T, Gundersen K: Chronic electrical stimulation resembling normal motorunit activity: Effects on denervated fast and slow rat muscles. *J Physiol (Lond)* 402 (1988) 651-669.
20. Ennion S, Sant'ana Pereira J, Sargeant AJ, Young A, Goldspink G: Characterization of human skeletal muscle fibres according to the myosin heavy chains they express. *J Muscle Res Cell Motil* 16 (1995) 35-43.
21. Etgen GJ, Farrar RP, Ivy JE: Effect of chronic electrical stimulation on GLUT-4 protein content in fast-twitch muscle. *Am J Physiol* 264 (1993) R816-R819.
22. Freyssenet D, DiCarlo M, Hood DA: Calcium-dependent regulation of cytochrome c gene expression in skeletal muscle cells - Identification



- of a protein kinase C-dependent pathway. *J Biol Chem* 274 (1999) 9305-9311.
23. *Galler S, Hilber K, Gohlsch B, Pette D*: Two functionally distinct myosin heavy chain isoforms in slow skeletal muscle fibres. *FEBS Lett* 410 (1997) 150-152.
  24. *Galler S, Hilber K, Pette D*: Force responses following stepwise length changes of rat skeletal muscle fibre types. *J Physiol (Lond)* 493 (1996) 219-227.
  25. *Galler S, Schmitt T, Pette D*: Stretch activation, unloaded shortening velocity, and myosin heavy chain isoforms of rat skeletal muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 478 (1994) 257-265.
  26. *Gorza L*: Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J Histochem Cytochem* 38 (1990) 257-265.
  27. *Gorza L, Gundersen K, Lömo T, Schiaffino S, Westgaard RH*: Slow-to-fast transformation of denervated soleus muscles by chronic high-frequency stimulation in the rat. *J Physiol (Lond)* 402 (1988) 627-649.
  28. *Green HJ, Düsterhöft S, Dux L, Pette D*: Metabolite patterns related to exhaustion, recovery, and transformation of chronically stimulated rabbit fast-twitch muscle. *Pflügers Arch* 420 (1992) 359-366.
  29. *Green HJ, Pette D*: Early metabolic adaptations of rabbit fast-twitch muscle to chronic low-frequency stimulation. *Eur J Appl Physiol* 75 (1997) 418-424.
  30. *Gundersen K, Leberer E, Lömo T, Pette D, Staron RS*: Fibre types, calcium-sequestering proteins and metabolic enzymes in denervated and chronically stimulated muscles of the rat. *J Physiol (Lond)* 398 (1988) 177-189.
  31. *Guth L, Samaha FF*: Qualitative differences between actomyosin ATPase of slow and fast mammalian muscle. *Exp Neurol* 25 (1969) 138-152.
  32. *Guth L, Samaha FF*: Procedure for the histochemical demonstration of actomyosin ATPase. *Exp Neurol* 28 (1970) 365-367.
  33. *Hämäläinen N, Pette D*: Patterns of myosin isoforms in mammalian skeletal muscle fibres. *Microsc Res Tech* 30 (1995) 381-389.
  34. *Hämäläinen N, Pette D*: Slow-to-fast transitions in myosin expression of rat soleus muscle by phasic high-frequency stimulation. *FEBS Lett* 399 (1996) 220-222.
  35. *Hämäläinen N, Pette D*: Coordinated fast-to-slow transitions of myosin and SERCA isoforms in chronically stimulated fast-twitch muscles of euthyroid and hyperthyroid rabbits. *J Muscle Res Cell Motil* 18 (1997b) 545-554.
  36. *Hämäläinen N, Pette D*: Expression of an  $\alpha$ -cardiac like myosin heavy chain in diaphragm, chronically stimulated, and denervated fast-twitch muscles of rabbit. *J Muscle Res Cell Motil* 18 (1997a) 401-411.
  37. *Heilmann C, Pette D*: Molecular transformations in sarcoplasmic reticulum of fast-twitch muscle by electro-stimulation. *Eur J Biochem* 93 (1979) 437-446.
  38. *Henriksson J, Chi MMY, Hintz CS, Young DA, Kaiser KK, Salmons S, Lowry OH*: Chronic stimulation of mammalian muscle: changes in enzymes of six metabolic pathways. *Am J Physiol* 251 (1986) C614-C632.
  39. *Hicks A, Ohlendieck K, Göpel SO, Pette D*: Early functional and biochemical adaptations to low-frequency stimulation of rabbit fast-twitch muscle. *Am J Physiol* 273 (1997) C297-C305.
  40. *Hilber K, Galler S, Gohlsch B, Pette D*: Kinetic properties of myosin heavy chain isoforms in single fibers from human skeletal muscle. *FEBS Lett* 455 (1999) 267-270.
  41. *Hintz CS, Coyle EF, Kaiser KK, Chi MMY, Lowry OH*: Comparison of muscle fiber typing by quantitative enzyme assays and by myosin ATPase staining. *J Histochem Cytochem* 32 (1984) 655-660.
  42. *Hofmann S, Pette D*: Low-frequency stimulation of rat fast-twitch muscle enhances the expression of hexokinase II and both the translocation and expression of glucose transporter 4 (GLUT-4). *Eur J Biochem* 219 (1994) 307-315.
  43. *Hood DA, Pette D*: Chronic long-term stimulation creates a unique metabolic enzyme profile in rabbit fast-twitch muscle. *FEBS Lett* 247 (1989) 471-474.
  44. *Hu P, Yin C, Zhang KM, Wright LD, Nixon TE, Wechsler AS, Spratt JA, Briggs N*: Transcriptional regulation of phospholamban gene and translational regulation of SERCA2 gene produce coordinate expression of these two sarcoplasmic reticulum proteins during skeletal muscle phenotype switching. *J Biol Chem* 270 (1995) 11619-11622.
  45. *Huber B, Pette D*: Dynamics of parvalbumin expression in low-frequency stimulated fast-twitch rat muscle. *Eur J Biochem* 236 (1996) 814-819.
  46. *Hudlická O, Brown M, Cotter M, Smith M, Vrbová G*: The effect of long-term stimulation of fast muscles on their blood flow, metabolism and ability to withstand fatigue. *Pflügers Arch* 369 (1977) 141-149.
  47. *Hudlická O, Tyler KR, Aitman TJ*: The effect of long-term electrical stimulation on fuel uptake and performance in fast skeletal muscles, in: Pette D (ed): *Plasticity of muscle*. de Gruyter, Berlin New York, 401-408.
  48. *Jostardt K, Puntschart A, Hoppeler H, Billeter R*: Fiber type-specific expression of essential (alkali) myosin light chains in human skeletal muscles. *J Histochem Cytochem* 44 (1996) 1141-1152.
  49. *Kaufmann M, Simoneau J-A, Veerkamp JH, Pette D*: Electrostimulation-induced increases in fatty acid-binding protein and myoglobin in rat fast-twitch muscle and comparison with tissue levels in heart. *FEBS Lett* 245 (1989) 181-184.
  50. *Kirschbaum BJ, Schneider S, Izumo S, Mahdavi V, Nadal-Ginard B, Pette D*: Rapid and reversible changes in myosin heavy chain expression in response to increased neuromuscular activity of rat fast-twitch muscle. *FEBS Lett* 268 (1990) 75-78.
  51. *Kong XM, Manchester J, Salmons S, Lawrence JC*: Glucose transporters in single skeletal muscle fibers - Relationship to hexokinase and regulation by contractile activity. *J Biol Chem* 269 (1994) 12963-12967.
  52. *Kubis HP, Haller EA, Wetzel P, Gros G*: Adult fast myosin pattern and  $Ca^{2+}$ -induced slow myosin pattern in primary skeletal muscle culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 94 (1997) 4205-4210.
  53. *Läuger P*: *Electrogenic ion pumps*, Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, USA, 1991.
  54. *Leberer E, Härtner K-T, Brandl CJ, Fujii J, Tada M, MacLennan DH, Pette D*: Slow/cardiac sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase and phospholamban mRNAs are expressed in chronically stimulated rabbit fast-twitch muscle. *Eur J Biochem* 185 (1989) 51-54.
  55. *Leberer E, Pette D*: Neural regulation of parvalbumin expression in mammalian skeletal muscle. *Biochem J* 235 (1986) 67-73.
  56. *Leeuw T, Pette D*: Coordinate changes in the expression of troponin subunit and myosin heavy chain isoforms during fast-to-slow transition of low-frequency stimulated rabbit muscle. *Eur J Biochem* 213 (1993) 1039-1046.
  57. *Lowry C, Kimmey JS, Felder S, Chi MMY, Kaiser KK, Passonneau PN, Kirk KA, Lowry OH*: Enzyme patterns in single human muscle fibers. *J Biol Chem* 253 (1978) 8269-8277.
  58. *Lömo T, Westgaard RH, Dahl HA*: Contractile properties of muscle: control by pattern of muscle activity in the rat. *Proc R Soc Lond B* 187 (1974) 99-103.
  59. *Maier A, McEwan JC, Dodds KG, Fischman DA, Fitzsimons RB, Harris AJ*: Myosin heavy chain composition of single fibres and their origins and distribution in developing fascicles of sheep tibialis cranialis muscles. *J Muscle Res Cell Motil* 13 (1992) 551-572.
  60. *McCullagh KJA, Juel C, O'Brien M, Bonen A*: Chronic muscle stimulation increases lactate transport in rat skeletal muscle. *Mol Cell Biochem* 156 (1996) 51-57.
  61. *McCullagh KJA, Poole RC, Halestrap AP, Tipton KF, O'Brien M, Bonen A*: Chronic electrical stimulation increases MCT1 and lactate uptake in red and white skeletal muscle. *Am J Physiol* 36 (1997) E239-E246.
  62. *McDonald KS, Fitts RH*: Effect of hindlimb unweighting on single soleus fiber maximal shortening velocity and ATPase activity. *J Appl Physiol* 74 (1993) 2949-2957.
  63. *Nemeth PM, Hofer HW, Pette D*: Metabolic heterogeneity of muscle fibres classified by myosin ATPase. *Histochemistry* 63 (1979) 191-201.
  64. *Ohlendieck K, Murray BE, Froemming GR, Maguire PB, Leisner E, Traub I, Pette D*: Effects of chronic low-frequency stimulation on  $Ca^{2+}$ -regulatory membrane proteins in rabbit fast muscle. *Pflügers Arch (im Druck)*
  65. *Peter JB, Barnard RJ, Edgerton VR, Gillespie CA, Stempel KE*: Metabolic profiles of three fiber types of skeletal muscle in guinea pigs and rabbits. *Biochemistry* 11 (1972) 2627-2633.
  66. *Pette D, Peuker H, Staron RS*: The impact of biochemical methods for single muscle fibre analysis. *Acta Physiol Scand* 166 (1999) 261-278.
  67. *Pette D, Ramirez BU, Müller W, Simon R, Exner GU, Hildebrand R*: Influence of intermittent long-term stimulation on contractile, histochemical and metabolic properties of fibre populations in fast and slow rabbit muscles. *Pflügers Arch* 361 (1975) 1-7.
  68. *Pette D, Smith ME, Staudte HW, Vrbová G*: Effects of long-term electrical stimulation on some contractile and metabolic characteristics of fast rabbit muscles. *Pflügers Arch* 338 (1973) 257-272.
  69. *Pette D, Spamer C*: Metabolic properties of muscle fibers. *Fed Proc* 45 (1986) 2910-2914.
  70. *Pette D, Staron RS*: Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 116 (1990) 1-76.

71. *Pette D, Staron RS*: The molecular diversity of mammalian muscle fibers. *News Physiol Sci* 8 (1993) 153-157.
72. *Pette D, Staron RS*: Mammalian skeletal muscle fiber type transitions. *Int Rev Cytol* 170 (1997) 143-223.
73. *Pette D, Vrbová G*: Adaptation of mammalian skeletal muscle fibers to chronic electrical stimulation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 120 (1992) 116-202.
74. *Pette D, Vrbová G*: What does chronic electrical stimulation teach us about muscle plasticity? *Muscle Nerve* 22 (1999) 666-677.
75. *Peuker H, Conjard A, Pette D*: ct-Cardiac-like myosin heavy chain as an intermediate between MHCIIa and MHCIIb in transforming rabbit muscle. *Am J Physiol* 274 (1998) C595-C602.
76. *Reichmann H, Hoppeler H, Mathieu-Costello O, von Bergen F, Pette D*: Biochemical and ultrastructural changes of skeletal muscle mitochondria after chronic electrical stimulation in rabbits. *Pflügers Arch* 404 (1985) 1-9.
77. *Reichmann H, Pette D*: A comparative microphotometric study of succinate dehydrogenase activity levels in type I, IIA and IIB fibres of mammalian and human muscles. *Histochemistry* 74 (1982) 27-41.
78. *Reichmann H, Wasl R, Simoneau J-A, Pette D*: Enzyme activities of fatty acid oxidation and the respiratory chain in chronically stimulated fast-twitch muscle of the rabbit. *Pflügers Arch* 418 (1991) 572-574.
79. *Rivero JLL, Talmadge RJ, Edgerton VR*: Myosin heavy chain isoforms in adult equine skeletal muscle: An immunohistochemical and electrophoretic study. *Anat Rec* 246 (1996) 185-194.
80. *Rivero JLL, Talmadge RJ, Edgerton VR*: Interrelationships of myofibrillar ATPase activity and metabolic properties of myosin heavy chain-based fibre types in rat skeletal muscle. *Histochemistry Cell Biol* 111 (1999) 277-287.
81. *Salmons S, Sréter FA*: Significance of impulse activity in the transformation of skeletal muscle type. *Nature (Lond)* 263 (1976) 30-34.
82. *Salmons S, Vrbová G*: The influence of activity on some contractile characteristics of mammalian fast and slow muscles. *J Physiol (Lond)* 201 (1969) 535-549.
83. *Schiaffino S, Gorza L, Sartore S, Saggin L, Ausoni S, Vianello M, Gundersen K, Lomo T*: Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 10 (1989) 197-205.
84. *Schiaffino S, Reggiani C*: Myosin isoforms in mammalian skeletal muscle. *J Appl Physiol* 77 (1994) 493-501.
85. *Schiaffino S, Reggiani C*: Molecular diversity of myofibrillar proteins: Gene regulation and functional significance. *Physiol Rev* 76 (1996) 371-423.
86. *Schmitt T, Pette D*: Increased mitochondrial creatine kinase in chronically stimulated fast-twitch rabbit muscle. *FEBS Lett* 188 (1985) 341-344.
87. *Seedorf U, Leberer E, Kirschbaum BJ, Pette D*: Neural control of gene expression in skeletal muscle. Effects of chronic stimulation on lactate dehydrogenase isoenzymes and citrate synthase. *Biochem J* 239 (1986) 115-120.
88. *Simoneau J-A, Pette D*: Species-specific effects of chronic nerve stimulation upon tibialis anterior muscle in mouse, rat, guinea pig, and rabbit. *Pflügers Arch* 412 (1988) 86-92.
89. *Simoneau J-A, Pette D*: Species-specific responses of muscle lactate dehydrogenase isozymes to increased contractile activity. *Pflügers Arch* 413 (1989) 679-681.
90. *Skorjanc D, Heine G, Pette D*: Time-dependent increase in succinate dehydrogenase activity of low-frequency stimulated rabbit muscle. A comparison between microphotometric and biochemical enzyme activity determination. *Histochem Cell Biol* 107 (1997) 47-55.
91. *Skorjanc D, Jaschinski F, Heine G, Pette D*: Sequential increases in capillarization and mitochondrial enzymes in low-frequency stimulated rabbit muscle. *Am J Physiol* 274 (1998) C810-C818.
92. *Smerdu V, Karsch-Mizrachi I, Campione M, Leinwand L, Schiaffino S*: Type IIX myosin heavy chain transcripts are expressed in type IIB fibers of human skeletal muscle. *Am J Physiol* 267 (1994) C1723-C1728.
93. *Snow DH, Billeter R, Mascarello F, Carpena E, Rowlerson A, Jenny E*: No classical type IIB fibres in dog skeletal muscle. *Histochemistry* 75 (1982) 53-65.
94. *Staron RS*: Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in single human muscle fibers. *Histochemistry* 96 (1991) 21-24.
95. *Staron RS, Pette D*: Correlation between myofibrillar ATPase activity and myosin heavy chain composition in rabbit muscle fibers. *Histochemistry* 86 (1986) 19-23.
96. *Stevens L, Sultan KR, Peuker H, Gohlsch B, Mounier Y, Pette D*: Time dependent changes in myosin heavy chain mRNA and protein isoforms in unloaded soleus muscle of rat. *Am J Physiol (Im Druck)*
97. *Stienen GJM, Kiers JL, Bottinelli R, Reggiani C*: Myofibrillar ATPase activity in skinned human skeletal muscle fibres: Fibre type and temperature dependence. *J Physiol (Lond)* 493 (1996) 299-307.
98. *Termin A, Staron RS, Pette D*: Changes in myosin heavy chain isoforms during chronic low-frequency stimulation of rat fast hindlimb muscles - A single fiber study. *Eur J Biochem* 186 (1989b) 749-754.
99. *Termin A, Staron RS, Pette D*: Myosin heavy chain isoforms in histochemically defined fiber types of rat muscle. *Histochemistry* 92 (1989a) 453-457.
100. *Thomason DB, Booth FW*: Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. *J Appl Physiol* 68 (1990) 1-12.
101. *Zweier JL, Jacobus WE, Korecky B, Brandeys-Barry Y*: Bioenergetic consequences of cardiac phosphocreatine depletion induced by creatine analogue feeding. *J Biol Chem* 266 (1991) 20296-20304.

## Anschrift des Verfassers:

**Prof. Dr. Dirk Pette**  
**Fakultät für Biologie,**  
**Universität Konstanz**  
**78457 Konstanz**  
**Tel.: 07531/88-2262 Fax: 88-3940**