

A. M. Niess, E. Fehrenbach*, H. Northoff*, H.-H. Dickhuth

Freie Radikale und oxidativer Stress bei körperlicher Belastung und Trainingsanpassung – Eine aktuelle Übersicht

Reactive species and oxidative stress in exercise and training adaptation – An update

Medizinische Universitätsklinik Freiburg, Abteilung Rehabilitative und Präventive Sportmedizin

*Abteilung Transfusionsmedizin, Universität Tübingen

Zusammenfassung

Hohe körperliche Belastung geht mit einer gesteigerten Generierung freier Radikale (reactive oxygen and nitrogen species, RONS) einher. Zu den potenziellen Mechanismen, die zu einer belastungsinduzierten Produktion von RONS beitragen, zählen die mitochondriale Atmungskette, die Xanthinoxidase, die Fentonreaktion, der oxidative Burst neutrophiler Granulozyten und die induzierbare Stickoxid (NO) - Synthese. Wurde in der Vergangenheit die Bedeutung von RONS in erster Linie in der Induktion von oxidativem Stress gesehen, so rückte in den letzten Jahren vermehrt auch ihre Rolle als Signal- und Modulatormoleküle in den Vordergrund. Im Zusammenhang mit körperlicher Belastung ist dabei ihr modulierender Einfluss auf die kontraktile Funktion des Skelettmuskels und ihre Signalfunktion bei der Regulation redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren von besonderer Bedeutung. Regelmäßiges Training führt zu einer Anpassung gegenüber RONS protektiven Mechanismen wie antioxidativen Enzymen und Stressproteinen. Diese Adaptationsprozesse führen zu einer Verringerung von belastungsinduziertem oxidativen Stress und reflektieren Mechanismen, die zu einer trainingsbedingt gesteigerten Belastungstoleranz beitragen können. Die vorliegende Arbeit gibt eine aktuelle Übersicht zur Rolle von RONS bei körperlicher Belastung und Trainingsanpassung mit spezieller Berücksichtigung der Aspekte Adaptation antioxidativer Systeme und der Signal- und Modulatorfunktion von RONS.

Schlüsselwörter: Freie Radikale, oxidativer Stress, körperliche Belastung, Trainingsanpassung, kontraktile Funktion, Genexpression

Einleitung

Hohe körperliche Belastung stellt eine komplexe Stresssituation dar, die sich auf verschiedenen, vielfach miteinander interagierenden Ebenen manifestiert. Ein Teilaspekt umfasst dabei die Generierung freier Radikale, ein Prozess, dem in der Vergangenheit in erster Linie Bedeutung als Auslöser von oxidativem Stress zugemessen wurde. Die neu gewonnenen Einblicke in ihre Rolle als Signal- und Modulatormoleküle verhalf freien Radikalen in den letzten Jahren zu einer differenzierteren Betrachtungsweise, wobei insbesondere auch ihre wichtige Bedeutung als Vermittler der Toleranzentwicklung gegenüber der Einwirkung verschiedener Stressoren auf die Zelle in

Summary

Exercise has been shown to induce an augmented generation of reactive oxygen and nitrogen species (RONS) via different mechanisms such as mitochondrial respiration, xanthine oxidase, Fenton reaction, the oxidative burst of neutrophils and by the inducible nitric oxide synthase. Further evidence exists that RONS formation in response to vigorous physical exertion can result in oxidative stress. However, recent research has also revealed the important role of RONS as signaling molecules. In this context, RONS can modulate contractile function of skeletal muscle. In addition, involvement of RONS in modulation of gene expression via redox-sensitive transcription factors represents an important regulatory mechanism involved in the process of training adaptation. Adaptation of antioxidative systems in response to regular training may lead to a limitation of exercise-induced oxidative stress and reflects a mechanism responsible for an augmented tolerance to exercise.

This review article provides an overview on the role of exercise-related RONS formation by focussing on three major topics: 1) the processes whereby RONS affect contractility in unfatigued and fatigued muscle 2) the capacity of endogenous antioxidant systems to adapt to chronic exercise and, 3) the regulatory mechanisms by which RONS may modulate training adaptation.

Keywords: reactive species, oxidative stress, exercise, adaptation, contractile force, gene expression

den Vordergrund trat. Im vorliegenden Beitrag soll die Rolle freier Radikale bei körperlicher Belastung und Trainingsanpassung unter besonderer Berücksichtigung dieser neueren Aspekte dargestellt werden.

Einführende Grundlagen

Reaktive Sauerstoff- und Stickstoffderivate

Als freie Radikale gelten Atome oder Moleküle, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen aufweisen und infolgedessen eine ausgeprägte chemische Reaktivität besitzen. Wichtige Vertreter sind das Superoxid- (O_2^-), Hydroxyl (OH) oder Stickoxidradikal (NO). In Abhängigkeit ihres zentralen Atoms er-

fahren freie Radikale (RONS) per definitionem eine Zuordnung in reaktive Sauerstoff- (reactive oxygen species, ROS) oder Stickstoffverbindungen (reactive nitrogen species, RNS) (36).

Typische Generierungsmechanismen von RONS umfassen die mitochondriale oxidative Phosphorylierung, die Xanthinoxidase, die Konversion von H_2O_2 zu $\cdot OH$ unter Anwesenheit freien Eisens via Fentonreaktion, die Generierungskaskade von ROS in neutrophilen Granulozyten und Monozyten sowie Störungen der zellulären Kalziumhomöostase (13, 14, 27, 64, 79). Diese Mechanismen werden auch als potenzielle Quellen von ROS unter körperlicher Belastung angesehen (9, 41, 46, 64, 70). Hinzu kommt die Bildung von $\cdot NO$ durch drei $\cdot NO$ -Synthasen (NOS). Dabei ist zu beachten, dass im Gegensatz zur neuronalen (nNOS) und endothelialen NOS (eNOS), die Regulation der $\cdot NO$ -Generierung via induzierbarer NOS (iNOS) weitgehend auf transkriptioneller Ebene lokalisiert ist und infolgedessen das einmal exprimierte iNOS-Protein weitgehend kalziumunabhängig größere Mengen an $\cdot NO$ bilden kann. Neben Zellen des Immunsystems lässt sich auch in Muskelzellen eine Expression der iNOS nachweisen (1) und möglicherweise dürfte ein belastungsinduzierter Anstieg der iNOS-mRNA in Leukozyten und Muskelgewebe (75, 99) zu höheren $\cdot NO$ -Konzentrationen beitragen (50, 92).

RONS weisen eine zwar unterschiedliche, im allgemeinen jedoch recht hohe chemische Reaktivität auf (36). Reaktionen von RONS führen zur Oxidation und Nitrosylierung anderer Atome oder Moleküle. Die dadurch bedingte Veränderung des zellulären Redoxstatus bietet die Grundlage für ihre wichtige Rolle als Signal- und Mediatormoleküle (36). Laufen derartige Prozesse in unkontrollierter Weise ab, so resultieren daraus allerdings auch zellschädigende Effekte. So stellt der Abzug von Wasserstoffatomen aus Seitenketten mehrfach ungesättigter Fettsäuren die Startreaktion der Lipidperoxidation dar, deren wesentliche Bedeutung in ihrer destrukturierenden Wirkung auf die zelluläre Membranintegrität liegt (32). Die oxidative Modifikation von Proteinen führt sowohl zu einer beschleunigten Proteindegradation als auch zu einer Störung der Enzymfunktion (91). Durch ROS induzierte Oxidationsvorgänge an der DNA verursachen Einzel- und Doppelstrangbrüche, Läsionen von Basen- oder Zuckerresten sowie die Bildung sogenannter DNA-Protein-Crosslinks (39, 84).

Alimentäre und endogene Antioxidanzien

Der Einwirkung von RONS stehen einerseits alimentäre und endogen produzierte Antioxidanzien sowie zum anderen körpereigene, teils enzymatisch wirksame antioxidative Schutzsysteme gegenüber (85). Bei der Beurteilung der Wirksamkeit der einzelnen antioxidativen Faktoren sind deren Kompartimentierung, Löslichkeit, Konzentration, Regenerierbarkeit und auch deren gegenseitige Interaktion zu beachten (85).

Die in ihrer antioxidativen Wirkung hoch potenten Tocopherole gelten in der Lipidphase biologischer Systeme als die wichtigsten Antioxidanzien (65). Demgegenüber agiert die wasserlösliche Ascorbinsäure als dominanter alimentärer Radikalfänger im Plasma und Interstitium (31) und kann ebenso wie α -Tocopherol einem Recyclingprozess zugeführt werden. Von den endogen produzierten Antioxidanzien liegt die Harn-

säure in hoher Konzentration im Plasma vor (12). Coeruloplasmin, Ferritin, Transferrin, Laktoferrin, Katecholamine, Bilirubin sowie lipidlösliche Quinonderivate in reduzierter Form sind weitere Beispiele körpereigener Antioxidanzien (9). Nach alimentärer Zufuhr wird das in nur geringer Konzentration im Körper vorkommende endogene Thiol α -Liponsäure zu Dihydroliponsäure reduziert und dann als potentes Antioxidans gegen alle wesentlichen Oxyradikale wirksam. Ebenso spielt es eine bedeutende Rolle beim Recycling von Ascorbinsäure und als Precursor von reduziertem Glutathion (GSH) (103).

Endogene antioxidative Schutzsysteme

Das in Mitochondrien und Zytosol lokalisierte Metalloprotein Superoxiddismutase (SOD) stellt die primäre Abwehr gegenüber $\cdot O_2^-$ dar (48). Im Gegensatz dazu detoxifiziert die Katalase (KAT) H_2O_2 zu Sauerstoff und Wasser. Die KAT ist in verschiedenen Zellkompartimenten mit der höchsten Anreicherung in den Mitochondrien und Peroxisomen lokalisiert (48). Die selenabhängige Glutathionperoxidase (GPx) katalysiert die Reduktion von H_2O_2 und weiteren komplexen organischen Hydroperoxiden zu Wasser beziehungsweise Alkohol. Reduziertes Glutathion (GSH) dient hierbei als Elektronendonator und wird dabei in seine oxidierte Form (GSSG) überführt (29). Im Rahmen eines Recyclingprozesses kann GSSG wiederum in GSH zurückgeführt werden, wobei NADPH als reduzierendes Agens dient. Entsprechend gelten Verschiebungen der Relation zwischen GSH und GSSG als sensitives Kriterium für Änderungen des zellulären Redoxstatus (102).

Neben diesen enzymatischen antioxidativen Schutzsystemen entfalten auch eine Reihe von Stressproteinen protektive Effekte gegenüber dem Einfluss von RONS. Hitzeschockproteine (HSP) lassen sich in Untergruppen mit Molekulargewichten von 8-32, 40-60, 70, 90 und 100 kDa einteilen (25, 52). HSP erfüllen wichtige zellprotektive Funktionen. HSP üben Chaperonfunktion aus und helfen dabei bei der korrekten Faltung von Proteinen, bei der Einschleusung von wichtigen Proteinen in die Mitochondrien, beim Transport im Zytoplasma und an den Ribosomen. Sie sind in die Degradierung von abnormalen Proteinen involviert, eliminieren phagozytirtes Material und spielen eine Rolle als Regulatorproteine (25, 52, 68). Zudem stellen sie einen wichtigen Faktor im Rahmen der Antigenpräsentation dar (7, 67).

Neben Hitzeschock können pH-Veränderungen, ATP-Depletion und der Einfluss von Zytokinen die Expression von Stressproteinen induzieren (25, 118). Auch Änderungen des zellulären Redoxstatus unter dem Einfluss von ROS stimulieren die HSP-Synthese (61, 111, 124), was in Hinblick auf ihren protektiven Effekt gegenüber oxidativem Stress zu spezieller Bedeutung gelangt. So erhöht eine gesteigerte Expression von HSP25 und HSP27 die zelluläre Verfügbarkeit von GSH (87). HSP32, ein auch Hämoxxygenase-1 (HO-1) genanntes antioxidatives Stressprotein, induziert die Synthese von Ferritin und reduziert dadurch den zellulären Pool prooxidanten freien Eisens (113). Zudem katalysiert die HO-1 den Abbau von Häm zu Bilirubin, einem potenten wasserlöslichen Antioxidans (60). Im Rahmen von Ischämie-Reperfusionen im Myokard führt eine vorherige Hochre-

gulierung von HSP72 zu einer Verringerung von oxidativem Stress (58). Obwohl die genaue Bedeutung der HSP als antioxidative Schutzfaktoren derzeit nur im Ansatz geklärt ist, existieren doch Hinweise dafür, dass sie insbesondere bei Limitierung der genannten enzymatischen Schutzsysteme, eine wichtige zellprotektive Rolle übernehmen (22, 104).

RONS und körperliche Belastung

Der direkte Nachweis einer durch körperliche Belastung induzierten Generierung von RONS gelang erstmals vor etwa 20 Jahren mit Hilfe der Elektronenspinresonanzspektroskopie (ESR) im Muskel von Nagern (19, 45). In ESR-Untersuchungen am Menschen detektierten *Asthan et al.* (10) nach einer erschöpfenden Laufbelastung eine vermehrte Formation von ROS im Serum und *Radak et al.* (92) ein 24 Stunden nach exzentrischer Belastung gesteigertes NO-Signal im Muskel.

Zelluläre Effekte von RONS

Die Effekte von RONS auf die Zelle sind vielfältig (Abb. 1). In Abhängigkeit von Bildungsrate, dem Ort ihrer Generierung und der Kapazität antioxidativer Mechanismen führen sie zu mehr oder weniger ausgeprägten Veränderungen des zellulären Redoxstatus. Vereinfacht formuliert führen unkontrollierte Oxidationsvorgänge zu oxidativem Stress, einem Szenario, dem in zunehmendem Maße eine wichtige Rolle beim Alterungsprozess und der Pathogenese vieler Erkrankungen zugerechnet wird (siehe Übersicht, 36). Dabei erscheint es jedoch vielfach unklar, inwieweit oxidativer Stress am Entstehungsprozess der jeweiligen Erkrankung beteiligt ist oder nur ein Epiphänomen darstellt (37). Bei geringeren Veränderungen des zellulären Redoxstatus stehen demgegenüber vor allem modulierende Eigenschaften der RONS im Vordergrund, die für eine intakte Zellfunktion unentbehrlich sind.

Zelluläre Effekte von RONS:

Dr Jekyll oder Mr Hyde ?

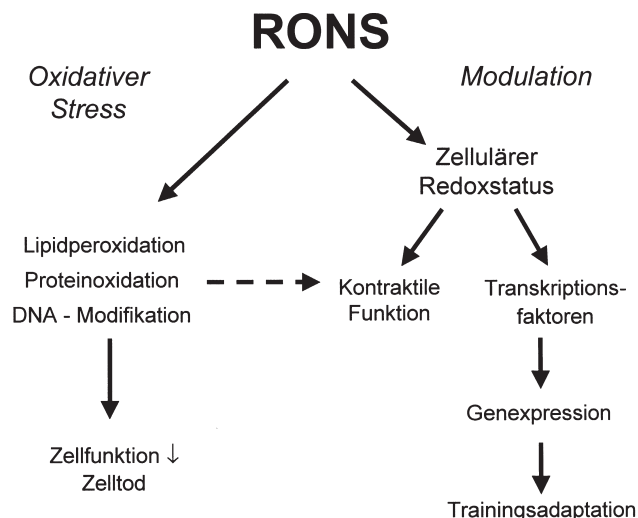


Abbildung 1: Schematische Darstellung ausgewählter Effekte von RONS auf zellulärer Ebene, nähere Erläuterungen siehe Text.

Belastungsinduzierter oxidativer Stress

Hinweise auf eine belastungsinduzierte oxidative Modifikation von Proteinen konnten durch die Bestimmung reaktiver Carbonylgruppen im Muskel- und Lungengewebe von Ratten beobachtet werden (91, 122). Neben einer möglichen Beeinträchtigung von Enzymfunktionen, können entsprechende Belastungseffekte auch Einfluss auf den zellulären Proteinturnover (90) nehmen und darüberhinaus auch einen induzierenden Effekt auf die Expression von HSP ausüben (22).

Durch körperliche Belastung hervorgerufene oxidative Modifikationen der DNA wurden erstmals von *Alessio und Cutler* (3) beschrieben, die eine erhöhte Ausscheidung von 8-Hydroxydeoxyguanosin (8-OHdG) bei Läufern nach einem Marathonwettkampf ermitteln konnten. Wiederholt hohe Umfänge an körperlicher Aktivität induzieren ebenfalls eine transiente Zunahme der renalen Exkretion (78) oder dem muskulären Gehalt an 8-OHdG (93). Allerdings gehen belastungsinduzierte DNA-Strangbrüche, wie sie mit Hilfe des comet-Assays nachweisbar sind (40, 73), nicht mit chromosomalen Veränderungen einher (39), was auf eine fehlerfreie Reparatur dieser DNA-Modifikation hindeutet.

Die Bedeutung einer durch Belastung hervorgerufenen Oxidation von Lipiden (4, 63, 105) liegt in der Induktion einer Integritätsstörung der Zellmembran. In diesem Zusammenhang wird RONS eine mögliche, in ihrem Ausmaß jedoch kontrovers diskutierte Mitbeteiligung am Ablauf des durch Belastung induzierten Muskelschadens zugerechnet (44, 59). Neben einer direkten myozellulären Generierung gelten in den Muskel einwandernde neutrophile Granulozyten und Monozyten als potenzielle Quellen von RONS (20, 23). Bei zusammenfassender Betrachtung der Resultate zahlreicher Studien, welche den Effekt einer höherdosierten Verabreichung von Antioxidanzien auf das Verhalten der Kreatinkinase im Plasma oder Serum nach muskulären Belastung untersuchten, zeigt sich allerdings ein sehr inhomogenes Bild (16, 44, 72, 109, 110), welches eine zentrale kausale Rolle von RONS beim belastungsinduzierten Muskelschaden in Frage stellt. Bestätigung erfährt diese Einschätzung durch Untersuchungen, welche unter Einnahme von α -Tocopherol oder Ascorbinsäure weder einen Effekt auf die belastungsinduzierte Beschwerdesymptomatik (107) noch auf ultrastrukturelle Veränderungen (116) des Muskels nachweisen konnten.

Die Rolle von RONS als Signal- und Modulatormoleküle

RONS als Determinanten der kontraktile Funktion

RONS üben wichtige modulierende Effekte auf die kontraktile Funktion des Skelettmuskels aus. Im Modell von *Reid et al.* (96) führt ausgehend von Ruhebedingungen eine moderate Zunahme des myozellulären ROS-Gehaltes zu einer Optimierung der Kontraktilität des Muskels (Abb. 2). Kommt es demgegenüber zu einer stärkeren Zunahme generierter ROS wie z.B. im Rahmen höherer körperlicher Belastung, so kehrt sich dieser pro-kontraktile Effekt von ROS in eine suppressive Wirkung um (94). In umgekehrter Richtung führt die Zu-

gabe reduzierender Komponenten, wie Antioxidanzien, zu einer Abnahme der muskulären Kraftentwicklung. Für die kontraktilitätsupprimierenden Effekte von ROS existieren verschiedene Erklärungsansätze. Zum einen scheinen ROS strukturelle Modifikationen von Actin, Myosin und anderen myofibrillären Proteinen hervorzurufen (96). Andererseits reduzieren ROS die Kalziumsensitivität der Myofilamente (5) und führen zu einer Störung der myozellulären Kalziumregulation (120).

In Bestätigung des Modells von Reid konnten Coombes *et al.* (17) zeigen, dass die kombinierte Gabe der Antioxidanzien α -Tocopherol und α -Liponsäure im erholten M. tibialis der Ratte bei niedrigen und mittleren Stimulationsfrequenzen zu einer verringerten Kraftentwicklung führt, während sich unter Ermüdung dieser Effekt aufhebt. Bei in-situ und in-vivo Experimenten am Diaphragma der Ratte führte die hochdosierte Gabe von Antioxidanzien sogar zu einer Verzögerung der muskulären Ermüdung (95), was ROS eine Mitbeteiligung am Ermüdungsprozess des Muskels zuschreibt. Eine partielle Übertragung dieser Ergebnisse auf das Humansystem gelang Reid *et al.* (97) durch intravenöse Gabe hoher Dosen des Antioxidans N-Azetylcystein (NAC), welche zu einer Verzögerung der Ermüdung im M. tibialis anterior unter niedrigfrequenter externer Stimulation (10 Hz) führte.

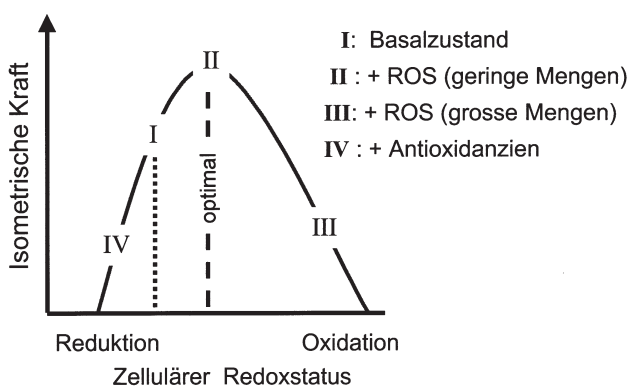


Abbildung 2: Einfluss des zellulären Redoxstatus auf die kontraktile Funktion des Skelettmuskels, Modell nach Reid (96), nähere Erläuterungen siehe Text.

Allerdings blieb sowohl die Ermüdung unter höheren Stimulationsfrequenzen als auch die Erholung der kontraktilen Funktion nach Belastung durch die Gabe von NAC unbeeinflusst. Zudem führten die hohen Dosen an verabreichtem NAC in dieser Studie zu teils deutlichen Nebenwirkungen bei den Probanden. Verträglichere Interventionsstudien mit Antioxidanzien zeigten demgegenüber weder einen Effekt auf die Ermüdung, noch auf den muskulären Energiestoffwechsel (2, 69).

Im Gegensatz zur ROS übt $\cdot\text{NO}$ bereits im erholten Muskel eine suppressive Wirkung auf die Kontraktilität aus (96). Zum einen unterliegt ein Teil solcher Effekte einer $\cdot\text{NO}$ -vermittelten Induktion des cGMP-Signalweges (95). Andererseits besitzt $\cdot\text{NO}$ eine suppressive Wirkung auf mitochondriale Enzyme und die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase der Glykolyse (35, 55). Es führt zu einer Abschwächung

von Kalziumsensitivität, ATPase-Aktivität (82) und α -Adrenorezeptor-Signaltransduktion (38) und verringert in direkter Weise die Myofilamentfunktion (6). Untersuchung an Diaphragma und peripheren Muskeln von Maus und Ratte konnten eine kontraktionsinduzierte Generierung von $\cdot\text{NO}$ aufzeigen (95). Mittels ESR gelang auch der Nachweis einer gesteigerten Bildung von $\cdot\text{NO}$ im humanen Skelettmuskel 24 Stunden nach exzentrischer Kraftbelastung (92). Vermutlich spielt dabei neben der nNOS und eNOS auch eine myozelluläre Expression der iNOS eine Rolle (99), gleichwohl dies nach bisherigen Erkenntnissen einen inflammatorischen Stimulus zur Voraussetzung hat (108). Relevanz besitzt eine via iNOS gesteigerte myozelluläre Generierung von $\cdot\text{NO}$ bei der chronischen Herzinsuffizienz, in deren Rahmen eine 5 bis 9-fach erhöhte iNOS-Expression im Skelettmuskel nachgewiesen werden konnte (1). Voraussichtlich trägt dies mit zur Entwicklung der kontraktilen Dysfunktion bei den betroffenen Patienten bei (1). Eine im Kaninchenmuskel bis zu 48 Stunden nach exzentrischer Belastung ermittelte Expressionszunahme des iNOS-Proteins (99) deutet im weiteren darauf hin, dass lokal-muskuläre inflammatorische Mechanismen möglicherweise über die Generierung von $\cdot\text{NO}$ mit zu einer transienten Kontraktilitätsverringerng beim belastungsinduzierten Muskel-schaden beitragen.

Trainingsadaptation und Toleranzentwicklung

Die Reaktion des Organismus auf regelmäßiges Training umfasst eine Vielzahl an Adaptationsprozessen, die letztendlich ein höheres Niveau an körperlicher Belastung ermöglichen. Beispiele wie ein verändertes Expressionsmuster myofibrillärer Proteine, eine Änderung der Aktivität von Enzymen des Energiestoffwechsels, eine Zunahme von Kapillardichte und muskulärer Substratspeicher reflektieren Anpassungsvorgänge, welche die körperliche Leistungsfähigkeit in eher direkter Weise verbessern. Weitere wichtige Faktoren ergänzen diesen Prozess, indem sie durch Hochregulierung verschiedener protektiver Mechanismen zur Toleranzentwicklung gegenüber Einflüssen von physischem Stress führen. Entsprechend wurde gezeigt, dass regelmäßiges Training zu einer verbesserten Toleranz gegenüber einer belastungsinduzierten Generierung von RONS führen kann. So konnten in Anpassung an regelmäßiges Training sowohl geringere Anstiege von Lipidperoxidationsprodukten als auch von DNA-Schäden unter Belastung beobachtet werden (48, 51, 66, 73, 114).

Diesem geringeren Ausmaß an belastungsinduziertem Stress liegen aller Wahrscheinlichkeit nach verschiedene Anpassungseffekte zugrunde. Zum einen gibt es Hinweise dafür, dass Training zumindest in einzelnen Systemen die Generierung von RONS nach unten regulieren kann. So zeigen sich suppressive Trainingseffekte auf die Generierung von $\cdot\text{O}_2^-$ in neutrophilen Granulozyten (66, 89) oder die basale Expression der iNOS in Leukozyten (71). In Hinblick auf belastungsinduzierte DNA-Modifikationen könnte auch eine trainingsbedingt gesteigerte Kapazität spezifischer En-

donukleasen zu einer suffizienteren Reparatur oxidativer DNA-Läsionen beitragen (77).

Anpassung antioxidativer Schutzsysteme

Eine wesentliche Rolle dürften jedoch vor allem trainingsbedingte Anpassungsprozesse im Bereich der antioxidativen Schutzsysteme spielen. Von den klassischen enzymatischen Schutzsystemen zeigen die SOD und GPx eine trainingsbedingte Aktivitätszunahme, während sich für die KAT entsprechende Trainingseffekte in weniger einheitlicher Weise beobachten lassen (18, 43, 47, 86, 104). Im Skelettmuskel ist dieses Anpassungsvermögen abhängig vom Fasertyp. So lassen sich deutlichere Trainingseffekte in den oxidativen Muskelfasern beobachten, weisen sie doch auch eine ausgeprägtere Kapazität zur Generierung von ROS auf (86). Interessanterweise korreliert die enzymatische Aktivität von SOD, GPx und KAT nur schwach mit der Menge an vorliegendem Enzymprotein, was auf eine betont posttranslational lokalisierte Regulation der enzymatischen Schutzsysteme hindeutet (49).

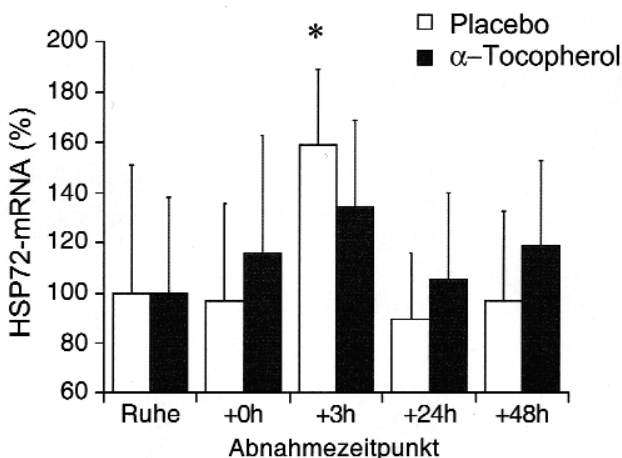


Abbildung 3: Supprimierender Effekt von RRR- α -tocopherol (500 I.U./Tag) auf die belastungsinduzierte Expression der HSP72-mRNA in humanen Leukozyten (72). Untersucht wurden 9 untrainierte Probanden, die einer erschöpfenden Doppelbelastung auf dem Laufband (Mehrstufentest mit anschließender Dauerbelastung, Gesamtbelastungszeit im Mittel 30 min) unter Gabe von Verum und Placebo (cross-over Design, randomisiert, washout-Phase 28 Tage) unterzogen wurden. Darstellung der auf β -Actin adjustierten Ergebnisse der RT-PCR in Prozent der Ausgangswerte vor Belastung. * signifikanter Anstieg gegenüber den Ruhewerten (5% Niveau).

Komplettiert werden diese enzymatischen Schutzsysteme durch die Expression von Stressproteinen. Akute körperliche Belastung führt zu einer gesteigerten muskulären Expression der HO-1 und von HSP der 70-kD - Familie (21, 57, 83, 88, 100). Ein vergleichbares Verhalten dieser Stressproteine konnte auch in zirkulierenden humanen Leukozyten aufgezeigt werden (24, 26, 74, 98). Regelmäßige Trainingsbelastungen führen auf muskulärer Ebene zu ähnlichen Anpassungsprozessen, wie sie für die enzymatischen Schutzsysteme beschrieben sind. Sowohl auf RNA- als auch auf Proteinebene konnte eine trainingsbedingte Hochregulierung von HSP der 70-kD - Familie im Skelettmuskel beobachtet werden (56, 104, 115). Ähnliche Anpassungseffekte finden sich im Myokard der Ratte (76). Nach bisherigen Er-

kenntnissen induziert ein intensiveres Training eine deutlichere Anpassung der HSP im Muskel (76, 115). Entsprechend führt im bereits angepassten Zustand eine Intensivierung der Trainingsbelastung zu einer nochmaligen Zunahme der muskulären Expression von HSP70 (56).

Im Kontrast zu den beschriebenen Befunden im Muskel, ließ sich in peripheren Leukozyten ausdauertrainierter Probanden im Vergleich zu untrainierten Kontrollpersonen eine Down-Regulation der Expression von HSP70 und HO-1 ermitteln (24, 74). Dies deutet auf zellspezies-abhängige Unterschiede in der Regulation der Stressproteinexpression unter dem Einfluss von Training hin. Nach dem von *Essig und Nosek* (22) postulierten Modell, könnte diese Beobachtung dadurch erklärt werden, dass eine Stimulation der HSP-Expression mit von der vorhandenen Kapazität anderer antioxidativ wirksamer Mechanismen abhängt. In der Tat zeigt der nicht-trainierte Skelettmuskel im Vergleich zu anderen Geweben eine relativ geringe Kapazität antioxidativer Schutzsysteme (49), die er jedoch infolge seines hohen Potenzials zur Adaptation unter dem Einfluss entsprechender Stressoren rasch nach oben zu regulieren vermag.

Redoxensitive Transkriptionsfaktoren

Über welche Mechanismen wiederkehrende Belastungsreize zu den dargestellten Anpassungsprozessen antioxidativer Schutzmechanismen führen, ist nur im Ansatz geklärt. Ausgehend vom klassischen Paradigma der „hormesis“, welches einen vorangehenden Kontakt als Voraussetzung zur Toleranzentwicklung gegenüber einem schädigenden Agens sieht, gilt bei der Anpassung antioxidativer Systeme die Generierung von RONS als wesentlicher Stimulus (49, 61). Redoxensitive Transkriptionsfaktoren stellen einen fundamentalen zellulären Signalweg dar (62), über den auch die Induktion trainingsassoziiierter Anpassungsprozesse Vermittlung erfährt.

Zu Vertretern redoxregulierter Transkriptionsfaktoren zählen der nuclear factor- κ B (NF- κ B), das activator protein-1 (AP-1) (11) und die mitogen-activated kinases (MAPKs) (62, 121). Darüberhinaus unterliegen auch weitere Transkriptionsfaktoren wie der heat shock transcriptional factor-1 (HSF-1) (62, 124) oder der hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) (33) einer Beeinflussbarkeit durch RONS (Tab. 1).

Nuclear factor - κ B (NF- κ B)

Das Heterodimer NF- κ B wird über eine dritte Komponente, dem sogenannten inhibitory subunit- κ B (I- κ B), im Zytoplasma verankert und somit in inaktivem Zustand gehalten. Zahlreiche Stimuli wie Zytokine, Mitogene, Bakterien, Viren und RONS induzieren eine transiente intrazelluläre Generierung von ROS, die über eine Änderung des Phosphorylierungsstatus eine Inaktivierung von I- κ B einleiten. Dies ermöglicht NF- κ B eine Translokation in den Zellkern, um dort via Bindung an regulatorische DNA-Sequenzen die Expression von Zielgenen in Gang zu setzen. NF- κ B-assoziierte Zielgene kodieren für eine Vielzahl an Proteinen zu denen auch die SOD zu zählen ist (11, 42) (Tab. 1). Dabei ist NF- κ B einerseits an der Vermittlung zellprotektiver Mechanismen beteiligt, entfaltet andererseits jedoch auch pro-inflammato-

Tabelle 1: Beispiele redoxsensitiver Transkriptionsfaktoren und exemplarische Zielgene/Effektorproteine und Zielgrößen

Transkriptionsfaktor	Exemplarische Zielgene/Effektorproteine	Exemplarische Zielgrößen
Nuclear factor- κ B (NF- κ B)	Superoxiddismutase (SOD) Pro-inflammatorische Zytokine, induzierbare NO-Synthase (iNOS) Apoptosegene (z.B. Fas-Ligand, p53)	Antioxidative Wirkung Pro-inflammatorische Wirkung Sarkopenischer Effekt Pro-apoptotischer Effekt
Heat shock transcriptional factor-1 (HSF-1)	Hitzeschockproteine	Zellprotektion Zelluläre Proteinstruktur Antigenpräsentation
Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)	Zytoplasmatische Effektorproteine Transkriptionsfaktoren (z.B. AP-1, c-jun, p53)	Zellproliferation, -differenzierung Zellprotektion Pro- und anti-apoptotische Effekte
Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1)	Vaskulär-endothelialer Wachstumsfaktor (VEGF) Hämoxigenase-1 (HO-1) Induzierbare NO-Synthase (iNOS) Erythropoietin Glukosetransporter-4 (GLUT-4)	Angiogenese Antioxidative Funktion Gefäßregulation Erythropoese Glukose-/Energistoffwechsel

Skelettmuskel beobachtet (28). Allerdings ist auch hier nicht geklärt, ob ROS zu einer direkten Stimulation des HSF-1 führen. So ermittelten *Parroo et al.* (80) in Untersuchungen am Myokard der Ratte während einer belastungsinduzierten Aktivierung von HSF-1 keine parallelen Veränderungen des

rische und pro-apoptotische Effekte (62). Verschiedene *in vitro* Modelle unterstreichen durch Nachweis einer unter Antioxidanzengabe verringerten Bindungsaktivität von NF- κ B die zentrale Rolle der intrazellulären Redoxhomöostase für die Induktion dieses Transkriptionsfaktors (11, 15, 103).

Erste Untersuchungen konnten unter jeweils einstündiger Dauerbelastung sowohl bei 60% als auch 80% der VO_2 max eine Zunahme der Bindungsaktivität von NF- κ B im Kernextrakt humaner Lymphozyten aufzeigen, die bis 6 Stunden nach Belastung anhielt (112, 117). Parallel erhöhte Lipidperoxidationsprodukte und ein Abfall des Verhältnisses GSH/GSSH deuteten in diesen Arbeiten auf eine durch ROS vermittelte Aktivierung dieses Transkriptionsfaktors unter Belastung hin. Entsprechende Befunde im Muskel der Ratte zeigten neben einer Aktivierung des NF- κ B - Signalweges auch eine kurzzeitige Zunahme der Bindungskapazität von AP-1 (43). Interessanterweise kam es dabei auch zu einer transienten Erhöhung der SOD-mRNA im Muskel. Allerdings blieb ein begleitender Anstiegs des korrespondierenden Proteins aus, was vermuten lässt, dass erst wiederholte Belastungen auch zu einer funktionell relevanten Anpassung der SOD im Muskel führen.

Heat shock transcriptional factor - 1 (HSF-1)

Ein vermehrt pro-oxidanter zellulärer Redoxstatus führt zu einer Aktivierung der Expression von HSP (30, 61, 80). Ob dabei ROS durch eine direkte Aktivierung von HSF-1 oder über sekundäre Mechanismen Signale zur HSP-Synthese setzen, ist jedoch unklar (62). Nahe liegt, dass auch die Expression von HSP im Rahmen körperlicher Belastung zumindest teilweise einer Stimulation durch ROS unterliegt. So werden geschlechtsabhängige Unterschiede wie eine bei weiblichen Ratten deutlich geringere belastungsinduzierte Zunahme der HSP72-Expression mit antioxidativen Effekten des Östrogens erklärt (81). Weiterhin konnte kürzlich gezeigt werden, dass in Leukozyten untrainierter Probanden die Gabe von α -Tocopherol sowohl auf RNA- (Abb. 3) als auch auf Proteinebene zu einer Abschwächung der belastungsinduzierten Expressionszunahme von HSP72 führt (72). Ähnliche Effekte von Antioxidanzien wurden auch kürzlich unter einer Kombination von α -Tocopherol und Ascorbinsäure im humanen

Glutathionstatus. Möglicherweise üben RONS in diesem Zusammenhang ihre induzierenden Effekte auf die HSP-Expression eher über eine oxidative Modifikation von Proteinen oder Membranlipiden aus (62).

Mitogen-activated protein kinases (MAPKs)

Die über eine duale Phosphorylierungsreaktion induzierte Aktivierung der MAPKs greift in verschiedenartiger Weise in zelluläre Transkriptions- und Translationsprozesse ein (121). MAPKs vermitteln ihre Effekte durch Phosphorylierung eines breiten Spektrums von Effektorproteinen, bei denen es sich zumeist um in der Signalkaskade weiter abwärts gelegene Transkriptionsfaktoren handelt (Tab. 1). Wie neuere Untersuchungen zeigen konnten, übernehmen MAPKs dabei eine wichtige modulierende Funktion bei der Differenzierung von Muskelzellen (34). Als Trigger des initialen Phosphorylierungsvorgangs der MAPKs agieren Hormone, Wachstumsfaktoren, Azidose, mechanischer Stress und ROS. Von den 4 bekannten Isoformen erfahren die extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 (MAPKerk1/2) und die stress-activated protein kinase p38 (MAPKp38) im menschlichen Skelettmuskel eine Aktivierung unter körperlicher Belastung (8, 53), was eine potenzielle Mitbeteiligung am Prozess der Trainingsanpassung nahelegt (54). Untersuchungen am isolierten Rattenmuskel zeigten im weiteren eine Aktivierung der MAPKerk1/2 unter wiederholten konzentrischen und exzentrischen Belastungen (123). Durch die Gabe von NAC wurde die unter konzentrischer Belastung um das fünffache angestiegene Phosphorylierung der MAPKerk1/2 nahezu aufgehoben, womit als ein Trigger der Aktivierung eine kontraktionsinduzierte Generierung von ROS identifiziert werden konnte.

Hypoxia-inducible factor - 1 (HIF-1)

HIF-1 nimmt eine zentrale Stellung bei der durch Hypoxie induzierten Genexpression ein (101, 119). Dabei wird die biologische Aktivität von HIF-1 im wesentlichen durch seine Untereinheit HIF-1 α determiniert. In Normoxie wird das HIF-1 α Protein einer kontinuierlichen proteosomalen Degradation unterzogen, infolgedessen es unter diesen Bedingungen im Zytoplasma nicht nachweisbar ist. Unter auftretender Hypoxie

kommt es jedoch unter Vermittlung eines in seiner Funktion und Regulation noch nicht näher charakterisierten Sauerstoffsensors zu einer Inhibierung dieses Degradationsprozesses, was innerhalb weniger Minuten zu einer Akkumulation von HIF-1 α im Zytoplasma führt (101). In der Folge wandert HIF-1 α in den Zellkern dimerisiert dort mit einer weiteren Untereinheit von HIF-1, um dann gemeinsam mit diesem an regulatorische DNA-Sequenzen HIF-1 assoziierter Zielgene zu binden. Beobachtungen, dass z.B. Eisenchelatligner und einzelne antioxidativ wirksame Substanzen auch in Normoxie zu einer Akkumulation von HIF-1 α führen (106, 119), lassen vermuten, dass HIF-1 und seine Zielgene modulierenden Effekten des zellulären Redoxstatus unterliegen. Andererseits führen jedoch, wie im glatten Gefäßmuskel gezeigt, auch geringe Dosen an ROS zu einer Stimulation von HIF-1 α (33), was die Regulation von HIF-1 komplex erscheinen lässt.

HIF-1 - assoziierte Zielgene kodieren für eine Reihe von Proteinen, die auch speziell unter leistungsphysiologischen Gesichtspunkten große Bedeutung besitzen. Neben dem Erythropoietin sind dies VEGF und VEGF-Rezeptor-1, glykolytische Enzyme, der Glukosetransporter-4 (GLUT-4) sowie das antioxidative Stressprotein HO-1. Naheliegender ist die Vermutung, dass HIF-1 gerade bei der Vermittlung von Adaptationsprozessen im Höhenttraining eine zentrale Stellung einnehmen dürfte. In einer ersten Arbeit, zeigten *Vogt et al.* (115), dass intensives Training in normobarer Hypoxie im Gegensatz zu identischen Belastungen in Normoxie zu deutlicheren Anpassungseffekten HIF-1 - assoziierter Zielgene im humanen Muskel führt. So induzierte nur Training in Hypoxie einen Anstieg der VEGF-mRNA und Kapillardichte. Die Zunahme der PFK-mRNA war unter Hypoxie deutlicher ausgeprägt, während die Expression des nicht über HIF-1 regulierten HSP70 unter beiden Bedingungen in gleichem Ausmaß zunahm.

Schlussfolgerungen

Die dargestellten Zusammenhänge unterstreichen die Notwendigkeit einer differenzierteren Betrachtungsweise der Bedeutung von RONS im Zusammenhang mit körperlicher Belastung. So weist ihnen der beginnende Einblick in ihre Beteiligung an zelluläre Steuerungsmechanismen eine relevante Rolle als Signal- und Modulatormoleküle zu. Als mitbestimmende Determinanten üben RONS in Abhängigkeit des Ermüdungszustandes sowohl optimierende als auch limitierende Effekte auf die kontraktile Funktion des Skelettmuskels aus. Weitere Erkenntnisse deuten darauf hin, dass zumindest Teile trainingsinduzierter Anpassungsprozesse der vermittelnden Rolle von RONS unterliegen. Der Adaptation antioxidativer Schutzmechanismen an wiederkehrende Belastungsreize ist dabei eine zentrale Bedeutung bei der Toleranzentwicklung gegenüber oxidativem Stress zuzurechnen.

Danksagung

Dem Bundesinstitut für Sportwissenschaft (Bonn) danken wir für die Förderung unserer Arbeiten.

Literatur

1. Adams V, Yu JT, MobiusWinkler S, Linke A, Weigl C, Hilbrich L, Schuler G, Hambrecht R: Increased inducible nitric oxide synthase in skeletal muscle biopsies from patients with chronic heart failure. *Biochem Mol Med* 61 (1997) 152-160.
2. Akova B, Sürmen-Gür E, Gür H, Dirican M, Sarandöl E, Kückoğlu S: Exercise-induced oxidative stress and muscle performance in healthy women: role of vitamin E supplementation and endogenous oestradiol. *Eur J Appl Physiol* 84 (2001) 141-147.
3. Alessio HM, Cutler RG: Evidence that DNA damage-and-repair cycle activity increases following a marathon race (abstract). *Med Sci Sports Exerc* 22 (1990) 751.
4. Alessio HM, Goldfarb AH, Cutler RG: MDA content increases in fast- and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. *Am J Physiol* 24 (1988) C874-C877.
5. Andrade FH, Reid MB, Allen DG, Westerblad H: Effect of hydrogen peroxide and dithiothreitol on contractile function of single skeletal muscle fibres from mouse. *J Physiol (Lond.)* 509 (1998) 565-577.
6. Andrade FH, Reid MB, Allen DG, Westerblad H: Effect of nitric oxide on single skeletal muscle fibres from mouse. *J Physiol (Lond.)* 509 (1998) 577-586.
7. Arnold-Schild D, Hanau D, Spehner D, Schmid C, Rammensee HG, de la Salle H, Schild H: Cutting edge: receptor-mediated endocytosis of heat shock proteins by professional antigen-presenting cells. *J Immunol* 162 (1999) 3757-3760.
8. Aronson D, Violas MA, Dufresne SD, Zangen D, Fielding RA, Goddard LJ: Exercise stimulates the mitogen-activated protein-kinase pathway in human skeletal muscle. *J Clin Invest* 99 (1997) 1251-1257.
9. Aruoma OI: Free radicals and antioxidant strategies in sports (review). *J Nutr Biochem* 5 (1994) 370-381.
10. Ashton T, Rowlands CC, Jones E, Young IS, Jackson SK, Davies B, Peters JR: Electron spin resonance spectrometric detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol* 77 (1998) 498-502.
11. Baeuerle PA, Henkel T: Function and activation of NF-kappaB. *Annu Rev Immunol* 12 (1994) 141-179.
12. Becker BF: Towards the physiological function of uric acid. *Free Radic Biol Med* 14 (1993) 615-631.
13. Bellavite P: The superoxide-forming enzymatic system of phagocytes. *Free Rad Biol Med* 4 (1988) 225-261.
14. Benzi G: Aerobic performance and oxygen free radicals. *J Sports Med Phys Fitness* 33 (1993) 205-222.
15. Bowie A, O'Neill LA: Vitamin C inhibits NF kappaB in endothelial cells. *Biochem Soc Trans* 25 (1997) 131S.
16. Cannon JG, Orencole SF, Fielding RA, Meydani M, Meydani SN, Fiatarone MA, Blumberg JB, Evans WJ: Acute phase response in exercise: interaction of age and vitamin E on neutrophils and muscle enzyme release. *Am J Physiol* 259 (1990) R1214-R1219.
17. Coombes JS, Powers SK, Rowell B, Hamilton KL, Dodd SL, Shanely RA, Sen CK, Packer L: Effects of vitamin E and α -lipoic acid on skeletal muscle contractile properties. *J Appl Physiol* 90 (2001) 1424-1430.
18. Criswell D, Powers S, Dodd S, Lawler J, Edwards W, Renshler K, Grinton S: High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med Sci Exerc Sports* 25 (10) (1993) 1135-40.
19. Davies KJA, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L: Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 107 (1982) 1198-1205.
20. Duarte JA, Carvalho F, Bastos ML, Soares JMC, Appell H-J: Do invading leucocytes contribute to the decrease in glutathione concentrations indicating oxidative stress in exercised muscle, or are they important for its recovery? *Eur J Appl Physiol* 68 (1994) 48-53.
21. Essig DA, Borger DR: Induction of heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA in skeletal muscle following contractions. *Am J Physiol* 272 (1997) C59-67.
22. Essig DA, Nosek TM: Muscle fatigue and induction of stress protein genes: a dual function of reactive oxygen species? *Can J Appl Physiol* 22 (1997) 409-428.
23. Fantone JC, Ward PA: Polymorphonuclear leukocyte-mediated cell and tissue injury: oxygen metabolites and their relation to human disease. *Human Pathol* 16 (1985) 973-978.

24. Fehrenbach E, Niess AM, Schlotz E, Passek F, Dickhuth H-H, Northoff H: Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *J Appl Physiol* 89 (2000) 704-710.
25. Fehrenbach E, Niess AM: The role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev* 5 (1999) 57-77.
26. Fehrenbach E, Passek F, Niess AM, Pohla H, Weinstock C, Dickhuth H-H, Northoff H: HSP expression in human leukocytes is modulated by endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 32 (2000) 592-600.
27. Fenton HJH: Oxidation of tartaric acid in the presence of iron. *J Chem Soc* 65 (1894) 899-910.
28. Fischer CP, Hiscock NJ, Febbraio MA, Pedersen BK: Effects of antioxidant treatment on HSP72 and IL-6 gene expression in human contracting skeletal muscle (Abstract). *Pflügers Arch* 443 (2002) S336.
29. Flohe L: Glutathione peroxidase brought into focus., in: Pryor W (Hrsg): *Free Radical in Biology and Medicine*. Academic Press, New York, 1982, 223-253.
30. Freeman ML, Sierra-Rivera E, Voorhees GJ, Eisert DR, Meredith MJ: Synthesis of hsp-70 is enhanced in glutathione-depleted Hep G2 cells. *Radiat Res* 135 (1993) 387-393.
31. Frei B, England I, Ames BN: Ascorbate is an outstanding antioxidant in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci* 86 (1989) 6377-6381.
32. Girotti AW: Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems - Review. *J Lipid Res* 39 (1998) 1529-1542.
33. Görlach A, Diebold I, Schini-Kerth VB, Berchner-Pfannschmidt U, Roth U, Brandes RP, Kietzmann T, Busse R: Thrombin activates the hypoxia-inducible factor-1 signaling pathway in vascular smooth muscle cells - role of the p22phox-containing NADPH oxidase. *Circ Res* 89 (2001) 47-54.
34. Gredinger E, Gerber AN, Tamir Y, Tapscott SJ, Bengal E: Mitogen-activated protein kinase pathway is involved in the differentiation of muscle cells. *J Biol Chem* 271 (1998) 4138-4142.
35. Gross SS, Wolin MS: Nitric oxide: pathophysiological mechanisms. *Annu Rev Physiol* 57 (1995) 737-769.
36. Halliwell B: Free radicals and oxidative damage in biology and medicine: An introduction., in: (eds.) Rea (Hrsg): *Oxidative stress in skeletal muscle*. Birkhaeuser Verlag, Basel/Switzerland, 1998.
37. Halliwell B: Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet* 344 (1994) 721-724.
38. Hare JM, Loh E, Creager MA, Colucci WS: Nitric oxide inhibits the positive inotropic response to beta-adrenergic stimulation in humans with left ventricular dysfunction. *Circulation* 92 (1995) 2198-2203.
39. Hartmann A, Niess AM: DNA damage in exercise. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O (Hrsg): *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Elsevier, Amsterdam, 2000, 195-217.
40. Hartmann A, Plappert U, Raddatz K, Grünert-Fuchs M, Speit G: Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis* 9 (3) (1994) 269-272.
41. Hellsten-Westling Y, Sollevi A, Sjödin B: Plasma accumulation of hypoxanthine, uric acid and creatine kinase following exhaustive runs of differing durations in man. *Eur J Appl Physiol* 62 (1991) 380-384.
42. Ho YS, Howard AJ, Crapo JD: Molecular structure of a functional rat gene for manganese-containing superoxide dismutase. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4 (1991) 278-286.
43. Hollander J, Fiebig R, Gore M, Ookawara T, Ohno H, Ji LL: Superoxide dismutase gene expression is activated by a single bout of exercise in rat skeletal muscle. *Pflügers Arch* 442 (2001) 426-434.
44. Jackson MJ: Free radical mechanisms in exercise-related muscle damage. In: (eds.) Rea (Hrsg): *Oxidative stress in skeletal muscle*. Birkhaeuser Verlag, Basel/Switzerland, 1998, 75-86.
45. Jackson MJ, Edwards RHT, Symons MCR: Electron spin resonance of intact mammalian skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta* 847 (1985) 185-190.
46. Jenkins RR, Krause K, Schofield LS: Influence of exercise on clearance of oxidant stress products and loosely bound iron. *Med Sci Sports Exerc* 25 (1993) 213-217.
47. Ji LL: Antioxidant enzyme response to exercise and training in the skeletal muscle. In: Rea (Hrsg): *Oxidative stress in skeletal muscle*. Birkhaeuser Verlag, Basel/Switzerland, 1998, 103-125.
48. Ji LL: Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. In: Holloszy JO (Hrsg): *Exercise and Sport Sciences Reviews*. Williams&Wilkins, Baltimore, 1995, 135-166.
49. Ji LL: Exercise-induced modulation of antioxidant defense. *Ann NY Acad Sci* 959 (2002) 82-92.
50. Jungersten L, Ambring A, Wall B, Wennmalm A: Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *J Appl Physiol* 82 (1997) 760-764.
51. Kim JD, Yu BP, McCarter RJM, Lee SY, Herlihy JT: Exercise and diet modulate cardiac lipidperoxidation and antioxidant defenses. *Free Radic Biol Med* 22 (1996) 83-88.
52. Knowlton A: An overview of the heat shock proteins, their regulation, and function. In: Knowlton A (Hrsg): *Heat Shock Proteins and the Cardiovascular System*. Kluwer, Academic Publishers, Boston, 1997, 1-24.
53. Krook A, Widergren U, Jiang XJ, Henrickson J, Wallberg-Henrickson H, Alessi D, Zierath JR: Effects of exercise on mitogen-activated kinase signal transduction in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 279 (2000) R1716-R1721.
54. Lee JS, Bruce CR, Spurrell BE, Hawley JA: Effect of training on activation of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase pathways in rat soleus muscle. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 29 (2002) 655-660.
55. Lincoln J, Hoyle CHV, Burnstock G: *Nitric oxide in Health and Disease*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1997.
56. Liu Y, Mayr S, Opitz-Gress A, Zeller C, Lormes W, Baur S, Lehmann M, Steinacker JM: Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol* 86 (1999) 101-104.
57. Locke M, Noble EG, Atkinson BG: Exercising mammals synthesize stress proteins. *Am J Physiol* 258 (1990) C723-729.
58. Locke M, Tanguay RM, Klabunde RE, Ianuzzo CD: Enhanced postischemic myocardial recovery following exercise induction of HSP72. *Am J Physiol* 269 (1995) H320-H325.
59. MacIntyre D, Reid WD, McKenzie DC: The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med* 20 (1995) 24-40.
60. Maines MD: The heme oxygenase system: A regulator of second messenger gases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 37 (1997) 517-554.
61. Marini M, Frabetti F, Musiani D, Franceschi C: Oxygen radicals induce stress proteins and tolerance to oxidative stress in human lymphocytes. *Int J Radiat Biol* 70 (1996) 337-350.
62. Martindale JL, Holbrook NJ: Cellular response to oxidative stress: Signal for suicide and survival. *J Cell Physiol* 192 (2002) 1-15.
63. Maughan RJ, Donnelly AE, Gleeson M, Whiting PH, Walker KA, Clough PJ: Delayed-onset muscle damage and lipid peroxidation in man after a downhill run. *Muscle Nerve* 12 (1989) 332-336.
64. McArdle A, Jackson MJ: Intracellular mechanisms involved in damage to skeletal muscle. *Basic Appl Myol* 4 (1994) 43-50.
65. Meydani M: Vitamin E. *Lancet* 345 (1995) 170-175.
66. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, Haga S, Ji LL, Ohno H: Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol* 84 (2001) 1-6.
67. Moseley PL: Exercise, stress, and the immune conversation. *Exerc Sports Sci Rev* 28 (2000) 128-132.
68. Moseley PL: Heat shock proteins and the inflammatory response. *Ann NY Acad Sci* 856 (1998) 206-213.
69. Nielsen AN, Mizuno M, Ratkevicius A, Mohr T, Rohde M, Mortensen SA, Quistorff B: No effect of antioxidant supplementation in triathletes on maximal oxygen uptake, 31P-NMRS detected muscle energy metabolism and muscle fatigue. *Int J Sports Med* 20 (1999) 154-158.
70. Niess AM, Dickhuth H-H, Northoff H, Fehrenbach E: Free radicals and oxidative stress in exercise - immunological aspects. *Exerc Immunol Rev* 5 (1999) 22-56.
71. Niess AM, Fehrenbach E, Schlotz E, Northoff H, Dickhuth H-H: Basal expression of leukocyte iNOS-mRNA is attenuated in moderately endurance trained subjects. *Eur J Appl Physiol* 87 (2002) 93-95.
72. Niess AM, Fehrenbach E, Schlotz E, Sommer M, Angres C, Tschositsch K, Battenfeld N, Golly IC, Biesalski HK, Northoff H, Dickhuth H-H: Effects of RRR- α -tocopherol on leukocyte expression of HSP72 in response to exhaustive treadmill exercise. *Int J Sports Med* 23 (2002) 445-452.
73. Niess AM, Hartmann A, Grünert-Fuchs M, Poch B, Speit G: DNA damage after exhaustive treadmill running in trained and untrained men. *Int J Sports Med* 17 (1996) 397-403.
74. Niess AM, Passek F, Lorenz I, Schneider EM, Dickhuth H-H, Northoff H, Fehrenbach E: Expression of the antioxidant stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) in human leukocytes - Acute and adaptional responses to endurance exercise. *Free Rad Biol Med* 26 (1999) 184-192.
75. Niess AM, Sommer M, Schlotz E, Northoff H, Dickhuth H-H, Fehrenbach E: Expression of the inducible NO-synthase (iNOS) in human leukocytes - Responses to running exercise. *Med Sci Sports Exerc* 32 (2000) 1220-1225.

76. Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS, Roth DA, Olsson MC, Moore RL, Flesher M: Differential expression of stress proteins in rat myocardium after wheel or treadmill run training. *J Appl Physiol* 86 (1999) 1696-1701.
77. Ogonovszky H, Goto S, Kaneko T, Sasvari M, Makara G, Levai G, Radak Z: Overtraining and oxidative stress (Abstract). *Acta Physiol Hung* 89 (2002) 298.
78. Okamura K, Doi T, Hamada K, Sakurai M, Yoshioka Y, Mitsuzono R, Migita T, Sumida S, Sugawa-Katayama Y: Effect of repeated exercise on urinary 8-hydroxy-deoxyguanosine excretion in humans. *Free Rad Res* 26 (1997) 507-514.
79. Parks DA, Granger DN: Xanthine oxidase: biochemistry, distribution and physiology. *Acta Physiol Scand Suppl* 548 (1986) 87-99.
80. Paroo Z, Meredith MJ, Locke M, Haist JV, Karmazyn M, Noble E: Redox signaling of cardiac HSF1 binding. *Am J Physiol* 283 (2002) C404-C411.
81. Paroo Z, Tiidus PM, Noble EG: Estrogen attenuates HSP72 expression in acutely exercised male rodents. *Eur J Appl Physiol* 80 (1999) 180-184.
82. Perkins WJ, Han YS, Sieck GC: Skeletal muscle force and actomyosin ATPase activity reduced by nitric oxide donor. *J Appl Physiol* 83 (1997) 1326-1332.
83. Pilegaard H, Ordway GA, Saltin B, Neufer PD: Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *Am J Physiol* 279 (2000) E806-E814.
84. Poulsen HE, Loft S, K. V: Extreme Exercise and Oxidative DNA Modification. *J Sports Sci* 14 (1996) 343-346.
85. Powers SK, Hamilton K: Antioxidants and Exercise. *Clin Sports Med* 18 (1999) 525-536.
86. Powers SK, Lennon SL: Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc* 58 (1999) 1025-1033.
87. Preville X, Salvemini S, Giraud S, Chaufour S, Paul C, Stepien G, Ursini MV, Arrigo AP: Mammalian small stress proteins protect against oxidative stress through their ability to increase glucose-6-phosphatase dehydrogenase activity and by maintaining optimal cellular detoxifying machinery. *Exp Cell Res* 247 (1999) 61-78.
88. Puntschart A, Vogt M, Widmer HR, Hoppeler H, Billeter R: Hsp70 expression in human skeletal muscle after exercise. *Acta Physiol Scand* 157 (1996) 411-417.
89. Pyne DB, Baker MS, Fricker PA, McDonald WA, Telford RD, Weidemann MJ: Effects of an intensive 12-wk training program by elite swimmers on neutrophil oxidative activity. *Med Sci Sports Exerc* 27 (1995) 536-542.
90. Radak Z, Goto S: The effects of exercise, aging and caloric restriction on protein oxidation and DNA damage in skeletal muscle. In: Rea (Hrsg): Oxidative stress in skeletal muscle. Birkhaeuser, Basel 1998, 87-102.
91. Radak Z, Nakamura A, Nakamoto H, Asano K, Ohno H, Goto S: A period of anaerobic exercise increases the accumulation of reactive carbonyl derivatives in the lungs of rats. *Pflüg Arch* 435 (1998) 439-441.
92. Radak Z, Pucsek J, Mecsek S, Csont T, Ferdinandy P: Muscle soreness-induced reduction in force generation is accompanied by increased nitric oxide content and DNA damage in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 26 (1999) 1059-1063.
93. Radak Z, Pucsek J, Boros S, Jospai L, Taylor AW: Changes in urine 8-hydroxydeoxyguanosine levels of super-marathon runners during a four-day race period. *Life Sciences* 66 (2000) 1763-1767.
94. Reid MB: Muscle fatigue: mechanisms and regulation. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O (Hrsg): Exercise and Oxygen Toxicity. Elsevier, Amsterdam, 1998, 599-630.
95. Reid MB: Nitric oxide, reactive oxygen species, and skeletal muscle contraction. *Med Sci Sports Exerc* 33 (2001) 371-376.
96. Reid MB: Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *J Appl Physiol* 90 (2001) 724-731.
97. Reid MB, Dobrovoje S, Stokic S, Koch SM, Khawli FA, Leis AA: N-Acetylcysteine inhibits muscle fatigue in humans. *J Clin Invest* 94 (1994) 2468-2474.
98. Ryan AJ, Gisolfi CV, Moseley PL: Synthesis of 70K stress protein by human leukocytes: effects of exercise in the heat. *J Appl Physiol* 70 (1991) 466-471.
99. Sakurai T, Hollander J, Izawa T, Ohno H, Ji LL, Best T: Inducible nitric oxide synthase content following acute muscle stretch injury in rabbits (Abstract). *Med Sci Sports Exerc* 33 (2001) S41.
100. Salo DC, Donovan CM, Davies KJ: HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart, and liver during exercise. *Free Radic Biol Med* 11 (1991) 239-246.
101. Semenza GL: Surviving ischemia: adaptive responses mediated by hypoxia-inducible factor 1. *J Clin Invest* 106 (2001) 809-812.
102. Sen CK: Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol Cell Biochem* 196 (1999) 31-42.
103. Sen CK, Tirosh O, Roy S, Kobayashi MS, Packer L: A positively charged alpha-lipoic acid analogue with increased cellular uptake and more potent immunomodulatory activity. *Biochem Biophys Res Comm* 247 (1998) 223-228.
104. Smolka MB, Zoppi CC, Alves AA, Silveira LR, Marangoni S, Pereira-Da-Silva L, Novello JC, Macedo DV: HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. *Am J Physiol* 279 (2000) R1539-R1545.
105. Sumida S, Tanaka K, Kitao H, Nakadomo F: Exercise-induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after vitamin E supplementation. *Int J Biochem* 21 (1988) 835-838.
106. Tacchini L, Fusar-Poli D, Bernelli-Zazzera A: Activation of transcription factors by drugs inducing oxidative stress. *Biochem Pharmacol* 63 (2002) 139-148.
107. Thompson D, Williams C, Kingsley M, Nicholas CW, Lakomy HK, McArdle F, Jackson MJ: Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int J Sports Med* 22 (2001) 68-75.
108. Thompson M, Becker L, Bryant D, Williams G, Levin D, Margraf L, Girior BP: Expression of the inducible nitric oxide synthase in diaphragm and skeletal muscle. *J Appl Physiol* 81 (1996) 2415-2420.
109. Tiidus PM: Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharmacol* 76 (1998) 533-538.
110. Tiidus PM, Houston ME: Vitamin E status and response to exercise training. *Sports Med* 20 (1) (1995) 12-23.
111. Vesely MJ, Exon DJ, Clark JE, Foresti R, Green CJ, Motterlini R: Heme oxygenase-1 induction in skeletal muscle cells: hemein and sodium nitroprusside are regulators in vitro. *Am J Physiol* 275 (1998) C1087-C1094.
112. Vider J, Laaksonen DE, Kilk A, Atalay M, Lehtmaa J, Zilmer M, Sen CK: Physical exercise induced activation of NF-kappaB in human peripheral blood lymphocytes. *Antioxid Redox Signal* 3 (2001) 1131-1137.
113. Vile GF, Tyrell RM: Oxidative stress resulting from ultraviolet A irradiation of human skin fibroblasts leads to a heme oxygenase-dependent increase in ferritin. *J Biol Chem* 268 (1993) 14678-14681.
114. Vincent KR, Vincent HK, Braith RW, Lennon SL, Lowenthal DT: Resistance exercise training attenuates exercise-induced lipid peroxidation in the elderly. *Eur J Appl Physiol* 87 (2002) 416-423.
115. Vogt M, Puntschart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H: Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 91 (2001) 173-182.
116. Warren JA, Jenkins RR, Packer L, Witt EH, Armstrong RB: Elevated muscle vitamin E does not attenuate eccentric exercise-induced muscle injury. *J Appl Physiol* 72 (1992) 2168-2175.
117. Weiss C, Bierhaus A, Kinscherf R, Hack V, Luther T, Nawroth PP, Bartsch P: Tissue factor-dependent pathway is not involved in exercise-induced formation of thrombin and fibrin. *J Appl Physiol* 92 (2002) 211-218.
118. Welch WJ, Kang HS, Beckmann RP, Mizzen LA: Response of mammalian cells to metabolic stress, changes in cell physiology and structure/function of stress proteins. *Curr Top Microbiol Immunol* 167 (1991) 31-55.
119. Wenger RH: Mammalian oxygen sensing, signalling and gene regulation. *J Exp Biol* 203 (2000) 1253-1263.
120. Westerblad H, Allen D: changes of myoplasmic calcium concentration during fatigue in single mouse muscle fibers. *J Gen Physiol* 98 (1991) 615-635.
121. Widmann C, Gibson S, Jarpe MB, Johnson GL: Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol Rev* 79 (1999) 143-180.
122. Witt EH, Reznick AZ, Viguie CA, Starke-Reed P, Packer L: Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J Nutr* 122 (1992) 766-773.
123. Wretman C, Lionikas A, Widegren U, Lännergren J, Westerblad H, Henriksson J: Effects of concentric and eccentric contractions on phosphorylation of MAPKerk1/2 and MAPKp38 in isolated rat skeletal muscle. *J Physiol* 535 (2001) 155-164.
124. Zuo J, Rungger D, Voellmy R: Multiple layers of regulation of human heat shock transcription factor 1. *Mol Cell Biol* 15 (1995) 4319-4330.

Korrespondenzadresse

PD Dr.med. Andreas M. Nieß

Medizinische Universitätsklinik Freiburg

Abteilung Rehabilitative & Präventive Sportmedizin

Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg

Fax: 0761-2707470, e-mail: niess@msm1.ukl.uni-freiburg.de