

F. Ch. Mooren

Belastungsabhängige Modulation intrazellulärer kalziumabhängiger Signalübertragungswege

Exercise-dependent modulation of intracellular calcium signalling pathways

Institut für Sportmedizin, Universitätsklinikum Münster

Zusammenfassung

Sportliche Belastung induziert auf molekularer und zellulärer Ebene Adaptationsreaktionen, die zu veränderten Eigenschaften und funktionellen Leistungen der Zellen führen. Diese Vermittlung findet unter anderem auf Ebene der intrazellulären Signalübertragung statt. Intrazelluläre Signalübertragung umfasst alle Prozesse von der Bindung eines Liganden an den zellmembranständigen Rezeptor bis zur induzierten Funktion der Zelle, wie z. B. der Sekretion bestimmter Zellprodukte oder der Zell-Proliferation. Von den vielfältigen Komponenten intrazellulärer Signalübertragungsprozesse fokussiert die vorliegende Arbeit auf die intrazelluläre Kalziumkonzentration. Die Rolle des Kalziums als intrazellulärer Botenstoff wird ermöglicht durch die Einstellung der freien Konzentration im nanomolaren Bereich als Folge aktiver Transportprozesse. Die vielfältigen Mechanismen, die an der Regulation der intrazellulären Kalziumkonzentration beteiligt sind, resultieren in differenzierten und komplexen Kalziumsignalmustern. Akute und chronische sportliche Belastungen sind in der Lage intrazelluläre Kalziumsignale zu beeinflussen und damit die zellulären Funktionen und Leistungen zu verändern. Obwohl die genauen mechanistischen Zusammenhänge zur Zeit noch unklar sind, gibt es Hinweise darauf, dass dem belastungsassoziierten mechanischen Stress sowie Alterationen im Stoffwechsel und Redoxhaushalt eine wesentliche Rolle in der Modulation der Kalzium-abhängigen Signalübertragung zukommt.

Schlüsselwörter: Zelle; Signalübertragung; Belastung; Kalzium; Regulation; Stressfaktoren

Einleitung

Kommunikation zwischen Zellen und Signalübertragung innerhalb der Zellen eines Organismus ist von fundamentaler Bedeutung für dessen Funktionalität und Überleben. Interzelluläre Signalübertragung umfasst dabei die Signale zwischen den einzelnen Zellen. Dazu gehören direkte Verbindungen zwischen Zellen, wie z.B. Gap-Junctions, sowie Kommunikation über zellständige Ligand-Rezeptor-Interaktionen als auch die Freisetzung von neuroendokrinen Transmittern, die unter Umständen größere Distanzen auf dem Weg zur Zielzelle überwinden müssen (24). Gemeinsam ist den interzellulären Signalübertragungswegen, die Funktion

Summary

Exercise is able to induce adaptations at the molecular and cellular level, which result in altered cellular functions and properties. Targets for this modulation are the intracellular signal transduction pathways. Intracellular signal transduction covers all processes from ligand-receptor interaction to cellular function, e.g. secretion of cellular products or cell proliferation. This review focuses on the role of intracellular calcium concentration as an important component of intracellular signalling pathways. The role of calcium as an intracellular second messenger depends on an intracellular concentration in the nanomolar range which is adjusted by different active transport processes. Various mechanisms are responsible for the regulation of intracellular calcium concentration resulting in differentiated and complex calcium signalling patterns. Acute and chronic exercise alters intracellular calcium signals followed by altered cellular functions and properties. While the exact mechanisms remain to be elucidated, there is evidence that exercise-associated mechanical stress as well as alterations in metabolism and redox state play an important role in the modulation of calcium-dependent signal transduction.

Key words: cell, signal transduction, exercise, calcium, regulation, stress factors

der Zielzellen zu integrieren und zu orchestrieren. Letztes Glied in der Kette der interzellulären Signalübertragung ist die Stimulation bzw. die Aktivierung der Zielzelle mit Auslösung einer zellspezifischen Funktion. Dieser Mechanismus, die Ligand-Funktions-Kopplung (Synonym: Stimulus-Sekretions-Kopplung) wird auch als intrazelluläre Signalübertragung bezeichnet und umfasst alle Prozesse innerhalb einer Zelle von der Bindung des stimulierenden Transmitters bis zur Auslösung der zellspezifischen Funktion. Abbildung 1 zeigt beispielhaft die zugrundeliegenden Mechanismen. Nach Ligand-Rezeptor-Kopplung kommt es zu einer Interaktion und Assoziation von Signalproteinen über Adapterproteine, die nachfolgend zwei prinzipielle Reaktionswege in-

duzieren können. Einerseits können intrazellulär diffusible Botenstoffe, wie z.B. Kalzium, zyklisches AMP oder Inositol-1,4,5-Trisphosphat freigesetzt werden. Andererseits besteht die Möglichkeit, intrazelluläre Phosphorylierungskaskaden zu aktivieren. Zwischen beiden Übertragungswegen gibt es vielfältige Interaktionen, auch „Cross-Talk“ genannt (5). Schließlich kommt es entweder unter Einschaltung der Transkription zur Induktion zellulärer Funktionen wie Zellproliferation oder Expression bestimmter Antigenepitope. Alternativ können die Signalwege aber auch direkt Ionenkanäle und -transporter aktivieren sowie Fusionen zwischen Vesikeln und Plasmamembran auslösen und damit zelluläre Sekretionsvorgänge induzieren.

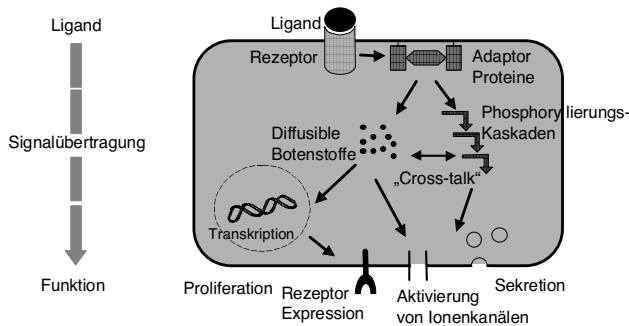


Abbildung 1: Schematische Übersicht intrazellulärer Signalübertragungsvorgänge

Ziel des vorliegenden Übersichtsartikels ist es zunächst, die Komponenten der Signalübertragung mittels des diffusiblen Botenstoffes Kalzium näher zu charakterisieren, um sodann die bisherigen Erkenntnisse über die Modulation dieser kalziumabhängigen Signalübertragungswege durch akute und chronische Belastungen zu referieren.

Intrazelluläre Calciumhomöostase

Die intrazelluläre, freie Kalziumkonzentration liegt im Bereich zwischen 100 und 200 nmol/l. Damit besteht ein starker Gradient gegenüber der extrazellulären, freien Kalziumkonzentration, die im Bereich von ca. 1 mmol/l liegt (8). Zusätzlich besteht ein weiterer Gradient gegenüber intrazellulären Kalziumspeichern (Abb. 2a+b). Diese wurden bisher vor allem im Bereich des endoplasmatischen Retikulums sowie in kontraktilen Zellen innerhalb des sarkoplasmatischen Retikulums lokalisiert. Diese Kalziumspeicherorganellen zeichnen sich durch eine hohe Konzentration von kalziumbindenden und -speichernden Proteinen aus, wie Calsequestrin, Calretikulin etc. (36). Die Kalziumgradienten sind das Resultat aktiver Transportprozesse des Kalziums entweder ins extrazelluläre Kompartiment oder in intrazelluläre Speicher. Hierzu gehört die Plasmamembran-Kalzium-ATPase (PMCA), von der bisher, auch aufgrund alternativen „RNA-Splittings,“ mehrere Isoformen beschrieben wurden. Sie gehört zu den Phosphatgruppen-übertragenden Ionenpumpen (P-Typ-Ionenpumpen) und ist in nahezu allen Zellen exprimiert (27). Sarkoendoplasmatische Kalzium-ATPa-

sen (SERCA), für die drei verschiedene Gene codieren und von denen bisher 5 verschiedene Isoformen beschrieben wurden, sind für die Sequestrierung des Kalziums in die intrazellulären Speicher verantwortlich (31). Darüber hinaus ist in einer Reihe von Zellen ein elektrogener Natrium-Kalzium-Austausch beschrieben worden, dessen kalziumexportierende Funktion an den durch die Natrium-Kalium-Pumpe aufrecht erhaltenen Natriumgradienten gekoppelt ist. Er ist elektrogen, da für drei einwärts strömende Natriumionen nur ein zweiwertiges Kalziumion exportiert wird. Dieser Transporter ist vor allen Dingen in Kardiomyozyten aktiv, wo er auch im „reversed mode“ in einer kalziumimportierenden Funktion arbeiten kann (Abb. 2b)(40).

Ein Anstieg der intrazellulären Kalziumkonzentration erfolgt entweder durch Einstrom von Kalzium über Kalziumkanäle in der Plasmamembran und/oder durch Freisetzung von Kalzium aus intrazellulären Speichern, z.B. dem endoplasmatischen Retikulum. Bislang wurden zwei verschiedene Typen von intrazellulären Kalziumkanälen charakterisiert, der Inositol-1,4,5-Trisphosphat-Rezeptor (IP3-Rezeptor) assoziierte sowie der Ryanodin-Rezeptor assoziierte Kalziumkanal (46). Bei beiden handelt es sich um tetramere Strukturen mit Molekulargewichten von 320 bzw. 560 KD. Der natürliche Ligand für den IP3-Rezeptor ist das Inositol-

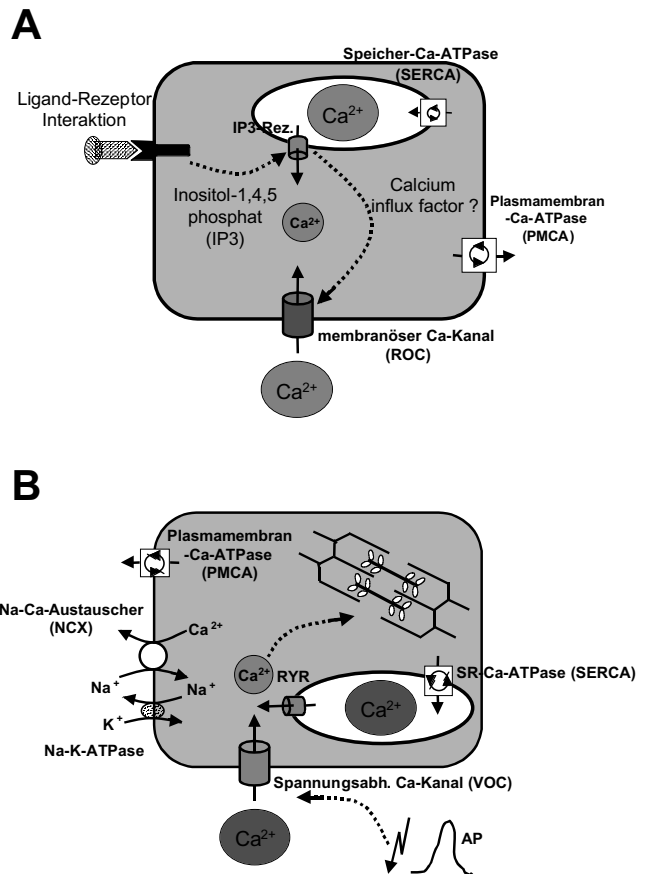


Abbildung 2: Regulation der intrazellulären Calciumhomöostase. Exemplarisch dargestellt sind die Abläufe in einer Zelle epi-/endothelialer Herkunft (a) sowie einer Zelle aus kontraktilen Gewebe (b). (Ryr - Ryanodin-Rezeptor; IP3-Rez. - Inositol-1,4,5-Trisphosphat-Rezeptor; AP - Aktionspotential)

1,4,5-Trisphosphat, welches in einer Vielzahl von Zellen nach Rezeptorbindung und nachfolgender G-Protein gekoppelter Aktivierung der Phospholipase-C gebildet wird (Abb. 2a). Drei verschiedene Rezeptortypen, I-III, mit einer Homologie zwischen 60 und 70% werden unterschieden (49). Wesentlicher Trigger für die Öffnung des Ryanodin-Rezeptorkanals ist die freie Kalziumkonzentration. Konzentrationen von 10 nmol/l bis 1 µmol/l führen zu einer Öffnung des Kanals und bilden damit die Basis der sogenannten Kalzium-induzierten Kalziumfreisetzung. Im Kardiomyozyten liegen Ryanodin-Rezeptoren in enger räumlicher Kopplung zum spannungsabhängigen, membranösen Kalziumkanal (Abb. 2b) vor. Ein alternativer, intrazellulär diffusibler Botenstoff,

lare Kalziumliganden. Die Ablagerung intrazellulärer Kalziumsalze spielt eine Rolle überwiegend unter pathologischen Bedingungen. Unter Entzündungsbedingungen kann es durch Veränderungen von pH-Wert und Ionenstärken zu einer Formation von Mikropräzipitaten kommen. Ziträt, Glutamat sowie Adenosintrisphosphat (ATP) sind Beispiele für kleine organische Kalziumliganden.

Eine wichtige Rolle in der intrazellulären Signalübertragung spielen makromolekulare Liganden, wie z.B. Calmodulin. Dieses Molekül verfügt über mehrere kalziumbindende Gruppen, sogenannte EF-Hände, die nach Kalziumbindung Konformationsänderungen des Moleküls induzieren und so Interaktionen mit einer Vielzahl von Ionenkanälen oder

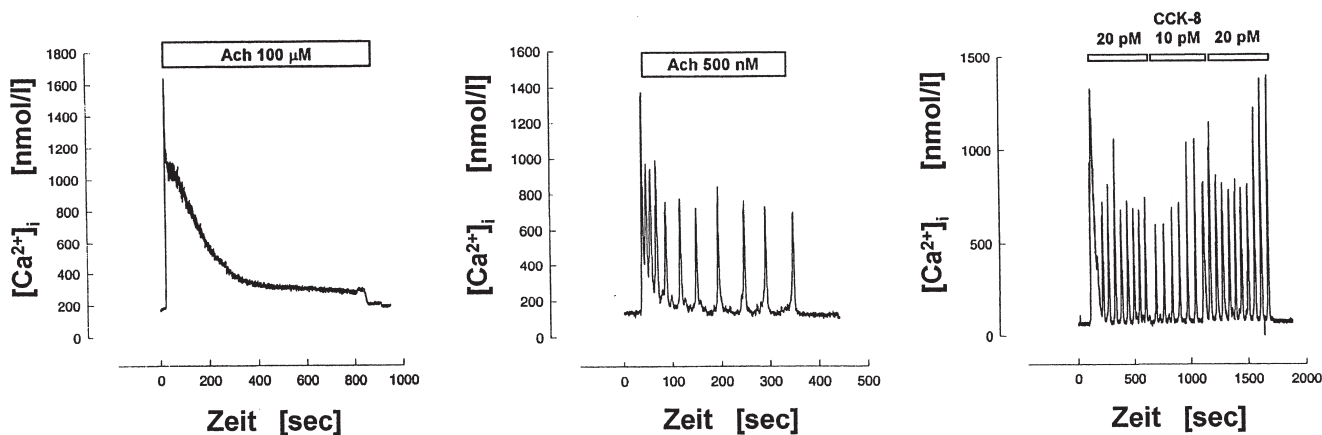


Abbildung 3: Variabilität intrazellulärer Kalziumsignale in Abhängigkeit der Konzentration und Art des stimulierenden Agens. Dargestellt sind entweder eine Peak-Plateau-Sequenz (links) oder Oszillationen (mitte, rechts) der Kalziumkonzentration in polar aufgebauten epithelialen Zellen. Die Signale wurden bestimmt über die Mikrospektrofluorometrie von Einzelzellen, die mit einem kalziumsensitiven Fluoreszenzfarbstoff beladen waren. (Ach – Acetylcholin; CCK – Cholezystokinin; verändert nach (34))

der die Öffnung des Ryanodin-Kanals triggert, ist zyklisches ADP-Ribose. Für seine Wirksamkeit fanden sich Hinweise in Lymphozyten sowie in Pankreas-Azinus-Zellen (15). Da die Menge des im intrazellulären Speichers befindlichen Kalziums begrenzt ist, insbesondere bei längerfristigen Stimulationen und Kalziumtransienten, ist ein Einstrom von Kalzium über die Plasmamembran notwendig. Hierzu stehen eine Vielzahl von unterschiedlichen Ionenkanälen zur Verfügung, die sich durch die Art ihrer Aktivierung sowie ihrer Ionen-selektivität und Leitfähigkeit unterscheiden. In Abhängigkeit vom Modus der Aktivierung unterscheidet man dehnungs-abhängige (MOC), rezeptor-operierende (ROC), „second messenger“-operierende Kanäle (SOC) sowie spannungsabhängige Kanäle (VOC)(37).

Die Form und die Natur eines intrazellulären Kalziumanstieges ist jedoch nicht nur bestimmt vom Gleichgewicht zwischen Einstrom bzw. Freisetzung und Austransport nach extrazellulär bzw. in intrazelluläre Speicher. Die freie Kalziumkonzentration hängt weiterhin bedeutend ab von der Pufferkapazität der Zelle für Kalzium (25). Diese wiederum ist vor allen Dingen abhängig von der Konzentration kalziumbindender Proteine sowie Kalzium-puffernder Organellen. Die molekularen Kalziumpuffer können unterschieden werden in anorganische, kleine organische sowie makromoleku-

laren Kalziumpuffernden Komponenten einer Zelle ermöglichen in ihrem Zusammenspiel eine Fülle unterschiedlicher intrazellulärer Kalziumsignale. Man kann daher auch von verschiedenen „kalzium codes“ sprechen (Abb. 3). Neben den uniformen Kalziumsignalen in Form einer Peak-Plateau-Sequenz gibt es repetitive Kalziumanstiege, sogenannte Kalziumoszillationen (34). Die Amplitude und Frequenz dieser Kalziumoszillationen ist modulierbar durch Konzentration und Art des Stimulus sowie weiterer intra- und extrazellulärer Modulatoren, z.B. der Konzentration des natürlichen Kalziumantagonisten Magnesium. Darüber hinaus zeigen die Kalziumsignale, insbesondere in polar organisierten Zellen, eine deutliche räumliche Heterogenität. Diese wenigen Beispiele machen deutlich, wie differenziert Veränderungen der

Kinasen sowie dem Zytoskelett vollziehen können (19). Oben ist bereits neben den molekularen Kalziumpuffern die Bedeutung der intrazellulären Organellen als Kalziumspeicher und damit auch als Kalziumpuffer angesprochen worden. Neben dem endosarkoplasmatischen Retikulum spielen auch die Mitochondrien eine wesentliche Rolle in der Pufferung intrazellulärer Kalziumsignale. Dies konnte kürzlich eindrucksvoll an polarisierten Epithelzellen nachgewiesen werden (48).

intrazellulären Kalziumkonzentration Informationen innerhalb der Zelle verschlüsseln und weitergeben können (18,38).

Veränderungen der intrazellulären Kalziumregulation im Rahmen sportlicher und körperlicher Belastungen wurden bisher verständlicherweise überwiegend in Muskelgewebe untersucht, da Kalzium der wesentliche Trigger im kontraktilem Apparat ist. Darüber hinaus finden sich jedoch zunehmend auch in anderen Gewebetypen Hinweise für belastungsassoziierte Veränderungen der zellulären Kalzium-abhängigen Signalübertragung. Die nachfolgende Darstellung unterscheidet vorrangig hinsichtlich der Dauer des Belastungsreizes – zwischen akut und chronisch. Weitere Unterscheidungsmerkmale, wie Trainingszustand des Organismus oder Intensität der Belastung, finden sekundär Berücksichtigung.

Calciumabhängige Signalübertragung nach akuten Belastungen

Anstiege der basalen, freien, intrazellulären Kalziumkonzentrationen nach akuten Belastungen konnten in verschiedenen Zelltypen detektiert werden. Ursachen hierfür finden sich z.B. in belastungsassoziierten Veränderungen der Zellmembran-Integrität (23). Dies führt zu einem erhöhten, einwärtsgerichteten Kalziumleckstrom. Beispiele hierfür fanden sich in einer Studie von *Caimi et al.* über Belastungseffekte an Granulozyten sowie in unseren eigenen Untersuchungen in Lymphozyten nach erschöpfender Laufbandbelastung (7,32). Ähnliche Ergebnisse fanden sich auch in der Nachbelastungsphase von isolierten Skelettmuskelzellen. Nach Ende einer 120-minütigen Stimulationsphase kam es in der darauffolgenden Ruhephase zu einer ca. 7-fach erhöhten Kalziumaufnahme gegenüber unstimulierten Kontrollzellen (12). Dieser deutliche Anstieg reflektierte am ehesten einen Plasmamembranschaden des Sarkolems. Darüber hinaus zeigte sich ebenfalls in Skelettmuskelzellen, dass Kalzium neben den unspezifischen Wegen auch andere, spezifische Transportsysteme, wie z. B. Natriumkanäle, als Einstrombahn nutzen kann (13). Während der elektrischen Erregung der Skelettmuskelfibrillen kommt es zu einem Einstrom von Natriumionen. Arbeiten von *Gissel und Claussen* konnten belegen, dass es parallel zu dem unter elektrischer Stimulation auftretenden Einstrom von Natrium zu einer Aufnahme von Kalzium und damit auch zu erhöhten basalen Kalziumspiegeln kommt (12,13,14). Der Kalziumanstieg konnte verhindert werden nach Gabe von Tetrodotoxin, einem spezifischen Natriumkanalhemmer. Der Stimulus assoziierte Anstieg der basalen Kalziumkonzentration ist deutlich ausgeprägter in „fast-twitch“ als in „slow-

twitch“ Muskelfasern, was in der deutlich höheren Konzentration an Natriumkanälen in den „fast-twitch“ Muskelfasern begründet liegt (12). Ausgeprägte Anstiege des basalen Kalziums nach exzentrischer Belastung fanden *Lynch et al.* in langsamen und schnellen Muskelfasern der Maus. Diese Veränderungen waren erst nach einem zeitlichen Verzug von 48 Stunden nach dem Lauf signifikant und korrelierten mit deutlichen Einschränkungen der Kraftentwicklung der beteiligten Muskeln (28). Die Veränderungen der basalen Kalziumkonzentrationen nach einer Belastung beruhen aber nicht nur auf einem vermehrten Einstrom von Kalzium, sondern auch auf veränderten Kalzium-Extrusionsmechanismen. Belastungsassoziierte Veränderungen im Redox- und Energiehaushalt sowie der pH- und Temperaturregulation sind in der Lage die Aktivität der kalziumtransportierenden Ionenpumpen zu verändern (Abb. 4)(6). So konnte gezeigt werden, dass oxidiertes LDL in der Lage ist, die Plasmamembran-Kalzium-ATPase in humanen Thrombozyten zu inhibieren, was zu einer erhöhten intrazellulären basalen Kalziumkonzentration führte (54). Nach hochintensiver körperlicher Belastung kam es zu einer vermehrten Oxidation der sarkoplasmatischen Kalzium-ATPasen mit der Bildung von Carbonylgruppen, wie *Matsunogo et al.* kürzlich dokumentieren konnten (30). Die Aufnahme von Kalzium in das sarkoplasmatische Retikulum war um so ausgeprägter gehemmt, je länger die Belastungsdauer war (39). Dieser Effekt war wiederum ausgeprägter in „slow-twitch“-Fasern, während die „fast-twitch“-Fasern in der Lage waren eine normale Rate der Kalziumaufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum nach Belastung aufrechtzuerhalten.

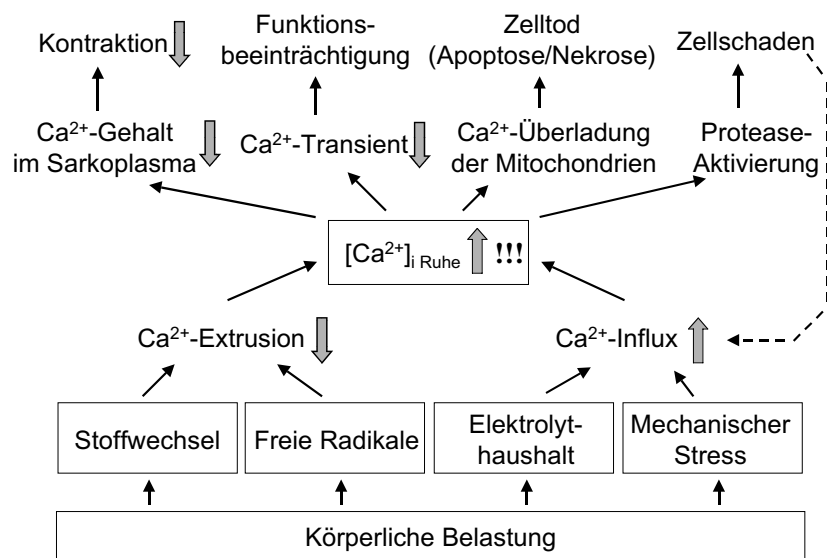


Abbildung 4: Belastungs-assoziierte Faktoren, die zu einem Anstieg der basalen, freien, intrazellulären Kalziumkonzentration ($[Ca^{2+}]_i$ Ruhe) führen können. Der Anstieg des basalen Kalziums wiederum hat Auswirkungen auf Funktionen und Vitalität der Zellen.

Erhöhte intrazelluläre basale Kalziumspiegel können jedoch nicht nur zu einer kurzfristigen Funktionseinschränkung der Zellen führen, sondern können darüberhinaus zur

Veränderung der Zellstruktur bis hin zum Zelltod führen. Wichtige pathophysiologische Abläufe in diesem Zusammenhang betreffen die Aktivierung von intrazellulären Proteasen und Phospholipasen, die in der Lage sind, zytoskeletale Strukturen zu verändern bzw. abzubauen. Hierzu gehören Enzyme, wie Calpain oder Phospholipase A2. Für Calpain konnte eine erhöhte Aktivität in der Rattenmuskulatur nach einem 60-Minuten-Lauf nachgewiesen werden (1,2). Die zur Aktivierung dieser Enzyme teilweise hohen intrazellulären Kalziumkonzentrationen werden unter physiologischen Bedingungen nur transient im Millisekunden- bzw. Sekundenbereich erreicht. Unter pathophysiologischen Gesichtspunkten kann es dagegen zu zeitlich protrahiert verlaufenden intrazellulären Kalziumanstiegen kommen. Dies wie auch regional in der Zelle unterschiedlich hohe Kalziumkonzentrationen sind als pathophysiologische Mechanismen für eine intrazelluläre Aktivierung dieser degradierenden Enzyme denkbar (34). Darüber hinaus spielen intrazelluläre Kalziumspiegel eine wichtige Rolle in der Induktion des programmierten Zelltodes (Apoptose). Hierzu gehören auch Anstiege der Kalziumkonzentration in Mitochondrien, die nach langfristigen Bergabläufen nachgewiesen werden konnten (10,42).

Akute Belastungen führen aber nicht nur zu Veränderungen der basalen Konzentration, sondern auch der stimulusinduzierten Kalziumtransienten. So fanden wir nach einer erschöpfenden Belastung deutliche Veränderungen der stimulusinduzierten Kalziumtransienten in Lymphozyten (32). Unmittelbar nach Belastung waren die über den CD3-Rezeptor induzierten Kalziumsignale signifikant verringert, während sie schon eine Stunde bzw. 24 Stunden nach der Belastung deutlich gegenüber den Ausgangswerten gesteigert waren. Diese Veränderungen sprechen für eine Aktivierung der Lymphozyten durch die akute Belastung, welche auch anhand von veränderten Oberflächenrezeptoren schon gezeigt werden konnte (11). Darüberhinaus ließen sich diese intrazellulären Kalziumsignale zu bereits bekannten belastungsinduzierten Veränderungen der lymphozytären Funktion, wie z.B. Proliferation oder Interleukin-Sekretion, korrelieren. Damit wird deutlich, dass die intrazelluläre kalziumabhängige Signalübertragung als ein wesentlicher Faktor angesehen werden muss, der belastungsassoziierte zelluläre Funktionsveränderungen vermittelt. Ähnliche Resultate ergaben sich auch für Granulozyten. Die nach der Belastung erhöhten induzierten Kalziumtransienten ließen sich zu Funktionen wie der Zellmigration korrelieren, nicht jedoch zu Zellfunktionen wie Phagozytose oder oxidativer Burst (33). Dies macht deutlich, dass auch andere intrazelluläre Signalwege, wie z. B. zyklische AMP, durch die akute Belastung moduliert werden.

Veränderungen der intrazellulären Kalziumsignalübertragung nach akuten Belastungen konnten auch in Endothel-

zellen nachgewiesen werden. Der Acetylcholin(Ach)-induzierte Kalziumanstieg war nach der Belastung deutlich vermehrt. Es konnte gezeigt werden, dass hierfür ein vermehrter Kalziumeinstrom verantwortlich war. Zusätzlich involviert war die endotheliale Stickstoffmonoxid-(NO)-Synthase, da deren Hemmung zu einer Herabsetzung der nach Belastung, erhöhten, Ach-induzierten Kalziumanstiege führte (21). Die nach der Belastung erhöhten intrazellulären Kalziumtransienten führten zu einer deutlich verbesserten Va-

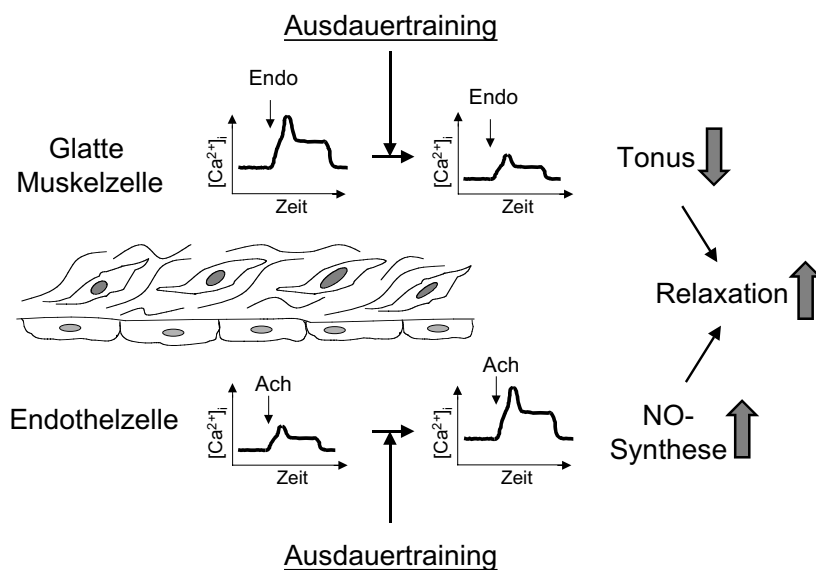


Abbildung 5: Effekt von Ausdauertraining auf kalziumabhängige Signalübertragung und Funktionen verschiedener Zelltypen (Endothelzellen; Glatte Muskelzellen) innerhalb eines Blutgefäßes. (Endo – Endothelin; Ach – Acetylcholin; NO – Stickstoffmonoxid)

sorelaxation. Dieses Beispiel belegt, wie belastungsinduzierte Veränderungen zellulärer Funktionen eine Folge der Veränderungen auf Ebene der intrazellulären, kalziumabhängigen Signaltransduktionen sein können.

Calciumabhängige Signalübertragung nach chronischen Belastungen

Vereinzelte gibt es in der Literatur Hinweise darauf, dass chronische Trainingsbelastungen zu einem Anstieg der basalen intrazellulären Kalziumkonzentration führen (20). Die zugrunde liegenden Mechanismen hierfür sind bislang jedoch nicht untersucht worden. Die überwiegende Anzahl der verfügbaren Untersuchungen belegt demgegenüber, dass der Haupteffekt chronischer Belastung auf der Modulation der stimulusinduzierten Kalziumtransienten liegt. Die Reaktionen der Zellen auf einen uniformen Trainingsreiz sind keineswegs einheitlich, sondern zeigen eine Abhängigkeit vom Zelltyp (3,9). Selbst innerhalb eines Organs kann es bei den verschiedenen Zelltypen zu unterschiedlichen Reaktionen kommen. Dies wird deutlich an Untersuchungen zum Kontraktions- und Relaxationsverhalten der Blutgefäße. In aortalen Endothelzellen der Ratte zeigten sich nach einem zehn-

wöchigen moderaten Laufbandtraining deutliche Anstiege der Azetylcholin- und ATP-induzierten Kalziumtransienten (Abb.5). Diese waren wiederum Folge eines vermehrten Einstromes von Kalzium über die Plasmamembran. Die Ergebnisse wurden in einer Nachfolgestudie bestätigt, in der gezeigt wurde, dass die nach einer cholesterinreichen Nahrung aufgetretene Beeinträchtigung der stimulusinduzierten Kalziumtransienten sowie der Vasorelaxation nach Ausdauertraining reversibel waren (22). Andererseits zeigten Untersuchungen der Kalziumtransienten in glatten Gefäßmuskelzellen ausdauertrainierter Tiere eine Dämpfung der Endothelin-induzierten Kalziumantworten (3). Dies ist umso überraschender, da elektrophysiologische Messungen zeigen konnten, dass der spannungsabhängige Kalziumeinstrom in Gefäßmuskelzellen der trainierten Tiere deutlich größer war als in Zellen von untrainierten Tieren (16). Der vermehrte Kalziumeinstrom in Zellen trainierter Tiere führte aber nicht zu einer effektiven Erhöhung der intrazellulären Kalziumkonzentration wie Fluoreszenzmessungen zeigen konnten. Dies bedeutet, dass der vermehrte Influx von Kalzium entweder direkt in intrazelluläre Speicher sequestriert wird oder unmittelbar über die Plasmamembran rezirkuliert wurde. Für die erste Annahme fanden *Sturek und Mitarbeiter* dahingehend Hinweise, dass sie zeigen konnten, dass das sarkoplasmatische Retikulum in glatten Gefäßmuskelzellen trainierter Tiere eine geringere Kalziumbelastung zeigt, vermutlich aufgrund vermehrter Kalziumleckströme durch intrazelluläre Kalziumkanäle (41). Dies induziert wiederum einen verstärkten Kalziuminflux. Eine alternative Erklärungsmöglichkeit für diese Effekte wären auch veränderte Kalziumpufferkapazitäten der Zellen, wobei hierzu jedoch noch keine Daten verfügbar sind. Auch wenn die genauen Mechanismen zur Zeit noch unklar sind, macht dieses Beispiel jedoch deutlich, wie chronische, moderate Trainingsbelastungen, Zellen innerhalb eines Organs, hier in den Blutgefäßen, unterschiedlich beeinflussen. Die erhöhten Kalziumtransienten im Endothel sind in der Lage vermehrt vasodilatierende Substanzen wie Stickstoffmonoxyd (NO) freizusetzen, während die verminderten Kalziumtransienten in der glatten Gefäßmuskulatur einen verminderten Vasotonus ermöglichen. Die Zielrichtung beider zellulärer Funktionen, die Vasorelaxation, ist dieselbe, wobei sie über gegensätzliche intrazelluläre Kalziumsignale getriggert werden (Abb. 5). Die Kopplung bzw. die Vermittlung des Reizes „chronische Belastung/Ausdauertraining“ an die unterschiedlichen, zellspezifischen Kalziumsignale aufzuklären, ist eine Herausforderung für kommende Untersuchungen.

Seit seiner Erstbeschreibung durch *Henschen* im Jahre 1899 hat das durch Ausdauersport vergrößerte Herz Physiologen und Mediziner beschäftigt (17). In den letzten Jahren konzentrierten sich die Untersuchungen auf die zellulären und molekularen Anpassungsreaktionen im Sportherz. Es kristallisiert sich zunehmend heraus, dass die Ursachen für die makrophysiologischen Veränderungen, wie die Verbesserung der Kontraktilität sowie die Hypertrophie, auf Ebene der zellulären Signaltransduktion zu finden sind. Eine wichtige Rolle hierbei spielt die Regulation der intrazellulären Kalzi-

umkonzentrationen. So konnten bereits erste Studien zu Beginn der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts Veränderungen niedrig-affiner Kalziumbindungsstellen im Bereich des Kardiomyozyten nach Laufbandtraining feststellen (47). Die bisher verfügbaren Daten ergeben jedoch noch ein recht heterogenes Bild. *Laughlin und Mitarbeiter* fanden keinen Einfluss von Ausdauertraining auf elektrisch induzierte Kalziumtransienten in isolierten Kardiomyozyten (26). Demgegenüber zeigten die Ergebnisse einer norwegischen Untersuchungsgruppe reduzierte intrazelluläre Kalziumtransienten nach elektrischer Stimulation während unsere eigenen bisher unveröffentlichten Daten eine signifikante Steigerung der zellulären Kalziumtransienten ergab (50). Letzterer Befund wird durch Studien von *Zhang et al.* gestützt, die den Einfluss von Sprinttraining auf die myokardiale Anpassung nach Induktion eines Myokardinfarktes untersuchten. Sie konnten zeigen, dass die eingeschränkte Kontraktilität in Kardiomyozyten nach Induktion eines Infarktes durch die Trainingsmaßnahme wiederhergestellt werden konnte. Parallel dazu kam es auch zu einer Normalisierung der elektrisch induzierten Kalziumtransienten, die in den Zellen nach Myokardinfarkt deutlich suprimiert waren (51,52,53). Für eine trainingsinduzierte Steigerung der elektrisch induzierten Kalziumtransienten sprechen auch Untersuchungen zur Funktionalität der intrazellulären Kalziumspeicher sowie ihrer Ausstattung mit kalziumtransportierenden Proteinen (4,46). So kam es nach Ausdauertraining zu einer verbesserten Kalziumaufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum, was vermutlich die Folge der, in mehreren Studien nachgewiesenen, vermehrten Expression der sarkoplasmatischen Kalzium-ATPase ist (29,45). *Palmer et al.* konnten in ihrer Studie eine vermehrte Freisetzung von Kalzium aus den intrazellulären Speichern trainierter Tiere nach Koffeingabe feststellen (35). Allerdings finden sich in der Literatur auch Studien, in denen keine Veränderungen der Funktionalität und Ausstattung des sarkoplasmatischen Retikulums beschrieben werden (43). Dies hat möglicherweise mit unterschiedlichen, methodischen Ansätzen zu tun. Die Verfeinerung der molekularbiologischen Methoden im Verlauf der letzten 10 Jahre hat zu einer deutlich erhöhten Sensitivität und Spezifität der Untersuchungsmethoden geführt. Darüber hinaus sind die verwendeten Trainingsprotokolle bezüglich Intensität, Dauer und Durchführung unterschiedlich. So ist davon auszugehen, dass die molekulare Anpassungsreaktionen unterschiedlich ausfallen sollten, je nachdem ob das Training freiwillig oder unter Zwang bzw. Stress durchgeführt wird. Weitere Untersuchungen sind daher notwendig um die molekularen Grundlagen des Sportherzens weiter aufzuklären.

Abschließend sei noch auf eine japanische Studie hingewiesen, in der deutlich wird, dass Belastungseffekte nicht nur in den Geweben nachweisbar sind, die mechanisch in die Bewegung involviert sind, sei es direkt im kontraktilen Gewebe oder indirekt durch die Scherkräfte der Blutbewegungen. Hierbei handelte es sich um eine Untersuchung in Adipozyten, bei denen man nach Ausdauertraining eine vermehrte Lipolyse festgestellt hatte. Bislang ging man lediglich von

einer Regulation der Lipolyse durch die cAMP-abhängige Protein-Kinase-Aktivität aus. *Izawa* konnte jedoch in seiner Studie zeigen, dass Ausdauertraining auch die Kalziumsignalübertragung in Adipozyten beeinflusst. Während die basalen Kalziumkonzentrationen in Adipozyten trainierter Tiere erhöht waren, kam es bei den Phenylephrin- oder ACTH-induzierten Kalziumtransienten zu einer Inhibition. Darüber hinaus wurde die Lipolyse in trainierten Tieren weitaus stärker durch die Gabe des Inhibitors des kalziumbindenden Signalmoleküls Calmodulin gehemmt als in untrainierten Tieren (20). Ein möglicher Erklärungsansatz besteht daher in einer vermehrten Abhängigkeit der Protein-Kinase-Aktivität vom Kalzium-Calmodulin-Komplex und einer erhöhten Sensitivität gegenüber Veränderungen der intrazellulären Kalziumkonzentration.

Ausblick

Das Ziel der vorliegenden Übersicht war die Darstellung der Adaptation der intrazellulären kalziumabhängigen Signalübertragung an körperliche Belastung. Die Darstellung macht deutlich, dass es zum jetzigen Zeitpunkt noch zu früh ist, allgemeine und eindeutige Regulationsprinzipien zu formulieren. Erschwert wird dies vor allem durch die oben beschriebene Abhängigkeit der belastungsinduzierten und -assoziierten Effekte vom jeweils untersuchten Zelltyp. Deutlich wird aus der Übersicht jedoch, dass die Ursachen für eine Reihe von belastungsinduzierten und -abhängigen Veränderungen von Zellfunktionen und -leistungen offensichtlich im Bereich der intrazellulären Signalübertragung zu finden sind. Dies betrifft im Besonderen die hier dargestellte Regulation der intrazellulären Kalziumkonzentration als einem wesentlichen intrazellulären Transmitter. Akute und chronische Belastungen sind in der Lage die kalziumvermittelte Kopplung zwischen hormoneller Stimulation und funktioneller Leistung einer Zelle zu verstärken oder abzuschwächen.

Darüber hinaus darf aber nicht vergessen werden, dass es eine Vielzahl von kalziumunabhängigen Signaltransduktionswegen innerhalb der Zelle gibt. Erst die Integration dieser Signalwege und die Darstellung der Interaktionen zwischen den Wegen kann ein vollständiges und mechanistisches Bild dessen liefern, wie Sport und körperliche Belastung zelluläre Funktionen beeinflussen und modulieren.

Literatur

1. *Arthur GD, Booker TS, Belcastro AN*: Exercise promotes a subcellular distribution of calcium-stimulated protease activity in striated muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 77 (1999) 42-47.
2. *Belcastro AN*: Skeletal muscle calcium-activated neutral protease (calpain) with exercise. *J Appl Physiol* 74 (1993) 1381-1386.
3. *Bowles DK, Laughlin MH, Sturek M*: Exercise training alters the Ca²⁺ and contractile responses of coronary arteries to endothelin. *J Appl Physiol* 78 (1995) 1079-1087.
4. *Buttrick PM, Kaplan M, Leinwand LA, Scheuer J*: Alterations in gene expression in the rat heart after chronic pathological and physiological loads. *J Mol Cell Cardiol* 26 (1994) 61-67.
5. *Bygrave FL, Roberts HR*: Regulation of cellular calcium through signaling cross-talk involves an intricate interplay between the actions of receptors, G-proteins, and second messengers. *FASEB J* 9 (1995) 1297-1303.
6. *Byrd SK*: Alterations in the sarcoplasmic reticulum: a possible link to exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sports Exerc* 24 (1992) 531-536.
7. *Caimi G, Assennato P, Canino B, Montana M, Ventimiglia G, Lo Presti R*: Exercise test: trend of the leukocyte flow properties, polymorphonuclear membrane fluidity and cytosolic Ca²⁺ content in normals, in subjects with previous acute myocardial infarction and in subjects with aorto-coronary by-pass. *Clin Hemorheol Microcirc* 17 (1997) 127-135. 1997.
8. *Carafoli E*: Intracellular calcium homeostasis. *Ann Rev Biochem* 56 (1987) 395-433.
9. *Chu TF, Huang TY, Jen CJ, Chen HI*: Effects of chronic exercise on calcium signaling in rat vascular endothelium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 279 (2000) H1441-1446.
10. *Duan C, Delp MD, Hayes DA, Delp PD, Armstrong RB*: Rat skeletal muscle mitochondrial [Ca²⁺] and injury from downhill walking. *J Appl Physiol* 68 (1990) 1241-1251.
11. *Gabriel H, Schmitt B, Urhausen A, Kindermann W*: Increased CD45RA+CD45RO+ cells indicate activated T cells after endurance exercise. *Med Sci Sports Exerc* 25 (1993) 1352-1357.
12. *Gissel H, Clausen T*: Excitation-induced Ca(2+) influx in rat soleus and EDL muscle: mechanisms and effects on cellular integrity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 279 (2000) R917-24.
13. *Gissel H, Clausen T*: Excitation-induced Ca²⁺ uptake in rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 276 (1999) R331-339.
14. *Gissel H, Clausen T*: Excitation-induced Ca²⁺ influx and skeletal muscle cell damage. *Acta Physiol Scand* 171 (2001) 327-334.
15. *Guse AH, da Silva CP, Berg I, Skapenko AL, Weber K, Heyer P, Hohenegger M, Ashamu GA, Schulze-Koops H, Potter BV, Mayr GW*: Regulation of calcium signalling in T lymphocytes by the second messenger cyclic ADP-ribose. *Nature* 398 (1999) 70-73.
16. *Heaps CL, Bowles DK, Sturek M, Laughlin MH, Parker JL*: Enhanced L-type Ca²⁺ channel current density in coronary smooth muscle of exercise-trained pigs is compensated to limit myoplasmic free Ca²⁺ accumulation. *J Physiol* 528 (2000) 435-445.
17. *Henschen S*: Skilanglauf und Skiwettkampf. Eine medizinische Sportstudie. *Mitt Med Klein Upsala Jena* (1899) 74.
18. *Iino M*: Dynamic regulation of intracellular calcium signals through calcium release channels. *Mol Cell Biochem* 190 (1999) 185-190.
19. *Ikura M, Osawa M, Ames JB*: The role of calcium-binding proteins in the control of transcription: structure to function. *Bioessays* 24 (2002) 625-636.
20. *Izawa T, Komabayashi T*: Ca²⁺ and lipolysis in adipocytes from exercise-trained rats. *J Appl Physiol* 77 (1994) 2618-2624.
21. *Jen CJ, Chan HP, Chen HI*: Acute exercise enhances vasorelaxation by modulating endothelial calcium signaling in rat aortas. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 282 (2002) H977-982.
22. *Jen CJ, Chan HP, Chen HI*: Chronic exercise improves endothelial calcium signaling and vasodilatation in hypercholesterolemic rabbit femoral artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22 (2002) 1219-1224.
23. *Jordan J, Kiernan W, Merker HJ, Wenzel M, Beneke R*: Red cell membrane skeletal changes in marathon runners. *Int J Sports Med* 19 (1998) 16-19.
24. *Kanno T*: Intra- and intercellular Ca²⁺ signaling in paraneurons and other secretory cells. *Jpn J Physiol* 48 (1998) 219-227.
25. *Koopman WJ, Scheenen WJ, Schoolderman LF, Crujisen PM, Roubos EW, Jenks BG*: Intracellular calcium buffering shapes calcium oscillations in *Xenopus melanotropes*. *Pflugers Arch* 443 (2001) 250-256.
26. *Laughlin MH, Schaefer ME, Sturek M*: Effect of exercise training on intracellular free Ca²⁺ transients in ventricular myocytes of rats. *J Appl Physiol* 73 (1992) 1441-1448.
27. *Lehotsky J, Kaplan P, Murin R, Raeymaekers L*: The role of plasma membrane Ca²⁺ pumps (PMCA) in pathologies of mammalian cells. *Front Biosci* 7 (2002) 53-84.
28. *Lynch GS, Fary CJ, Williams DA*: Quantitative measurement of resting skeletal muscle [Ca²⁺]_i following acute and long-term downhill running exercise in mice. *Cell Calcium* 22 (1997) 373-383.
29. *Malhotra A, Penpargkul S, Schaible T, Scheuer J*: Contractile proteins and sarcoplasmic reticulum in physiologic cardiac hypertrophy. *Am J Physiol* 241 (1981) H263-267.
30. *Matsunaga S, Inashima S, Yamada T, Watanabe H, Hazama T, Wada M*:

- High-intensity exercise induces protein oxidation of SR Ca^{2+} -ATPase of rat muscle, in: Koskolou M, Geladas N, Klissouras V (Hrsg): Proceedings of the 7th Annual Congress of the European College of Sports Science, Athen, 2002, P305.
31. Misquitta CM, Mack DP, Grover AK: Sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} (SERCA)-pumps: link to heart beats and calcium waves. *Cell Calcium* 25 (1999) 277-290.
 32. Mooren FC, Lechtermann A, Fromme A, Thorwesten L, Volker K: Alterations in intracellular calcium signaling of lymphocytes after exhaustive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 33 (2001) 242-248.
 33. Mooren FC, Lechtermann A, Pospiech S, Fromme A, Thorwesten L, Volker K: Decoupling of intracellular calcium signaling in granulocytes after exhaustive exercise. *Int J Sports Med* 22 (2001) 323-328.
 34. Mooren FC, Kinne RK: Cellular calcium in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 1406 (1998) 127-151.
 35. Palmer BM, Thayer AM, Snyder SM, Moore RL: Shortening and $[\text{Ca}^{2+}]$ dynamics of left ventricular myocytes isolated from exercise-trained rats. *J Appl Physiol* 85 (1998) 2159-2168.
 36. Pozzan T, Rizzuto R, Volpe P, Meldolesi J: Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol Rev* 74 (1994) 595-636.
 37. Putney JW Jr, Broad LM, Braun FJ, Lievreumont JP, Bird GS: Mechanisms of capacitative calcium entry. *J Cell Sci* 114 (2001) 2223-2229.
 38. Schuster S, Marhl M, Hofer T: Modelling of simple and complex calcium oscillations. From single-cell responses to intercellular signalling. *Eur J Biochem* 269 (2002) 1333-1355.
 39. Sembrowich WL, Gollnick PD: Calcium uptake by heart and skeletal muscle sarcoplasmic reticulum from exercised rats (Abstract). *Med. Sci. Sport.* 9 (1977) 64.
 40. Shigekawa M, Iwamoto T: Cardiac Na^{+} - Ca^{2+} exchange: molecular and pharmacological aspects. *Circ Res* 88 (2001) 864-876.
 41. Stehno-Bittel L, Laughlin MH, Sturek M: Exercise training depletes sarcoplasmic reticulum calcium in coronary smooth muscle. *J Appl Physiol* 71 (1991) 1764-1773.
 42. Tate CA, Bonner HW, Leslie SW: Calcium uptake in skeletal muscle mitochondria. II. The effects of long-term chronic and acute exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 39 (1978) 117-122.
 43. Tate C, Hamra M, Shin G, Taffet G, McBride P, Entman M: Canine cardiac sarcoplasmic reticulum is not altered with endurance exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 25 (1993) 1246-1257.
 44. Tate CA, Helgason T, Hyek MF, McBride RP, Chen M, Richardson MA, Taffet GE: SERCA2a and mitochondrial cytochrome oxidase expression are increased in hearts of exercise-trained old rats. *Am J Physiol* 271 (1996) H68-72.
 45. Tate CA, Taffet GE, Hudson EK, Blaylock SL, McBride RP, Michael LH: Enhanced calcium uptake of cardiac sarcoplasmic reticulum in exercise-trained old rats. *Am J Physiol* 258 (1990) H431-435.
 46. Thrower EC, Hagar RE, Ehrlich BE: Regulation of $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ receptor isoforms by endogenous modulators. *Trends Pharmacol Sci* 22 (2001) 580-586.
 47. Tibbitts GF, Nagatomo T, Sasaki M, Barnard RJ: Cardiac sarcolemma: compositional adaptation to exercise. *Science* 213 (1981) 1271-1273.
 48. Tinel H, Cancela JM, Mogami H, Gerasimenko JV, Gerasimenko OV, Tepikin AV, Petersen OH: Active mitochondria surrounding the pancreatic acinar granule region prevent spreading of inositol trisphosphate-evoked local cytosolic Ca^{2+} signals. *EMBO J* 18 (1999) 4999-5008.
 49. Wagenknecht T, Radermacher M: Ryanodine receptors: structure and macromolecular interactions. *Curr Opin Struct Biol* 7 (1997) 258-265.
 50. Wisloff U, Loennechen JP, Falck G, Beisvag V, Currie S, Smith G, Ellingsen O: Increased contractility and calcium sensitivity in cardiac myocytes isolated from endurance trained rats. *Cardiovasc Res* 50 (2001) 495-508.
 51. Zhang LQ, Zhang XQ, Musch TI, Moore RL, Cheung JY: Sprint training restores normal contractility in postinfarction rat myocytes. *J Appl Physiol* 89 (2000) 1099-1105.
 52. Zhang LQ, Zhang XQ, Ng YC, Rothblum LI, Musch TI, Moore RL, Cheung JY: Sprint training normalizes Ca^{2+} transients and SR function in postinfarction rat myocytes. *J Appl Physiol* 89 (2000) 38-46.
 53. Zhang XQ, Ng YC, Musch TI, Moore RL, Zelis R, Cheung JY: Sprint training attenuates myocyte hypertrophy and improves Ca^{2+} homeostasis in postinfarction myocytes. *J Appl Physiol* 84 (1998) 544-552.
 54. Zhao B, Dierichs R, Miller FN, Dean WL: Oxidized density lipoprotein inhibits platelet plasma membrane Ca^{2+} -ATPase. *Cell Calcium* 19 (1996) 453-458.

Korrespondenzadresse:

PD Dr. Frank Ch. Mooren
 Institut für Sportmedizin
 Universitätsklinikum Münster
 Horstmarer Landweg 39
 48129 Münster
 Fax: 49-251-8335387
 e-mail: mooren@uni-muenster.de

Erratum

In Tabelle 1 des Artikels "Bärtsch P, Schneider M: Evaluation der universitären sportmedizinischen Einrichtungen in Deutschland (Dtsch Z Sportmed 53 (2002) 307-311)" wurden in Tabelle 1 versehentlich nur 26 der 27 Institutionen aufgeführt, die an der Evaluation teilgenommen hatten. In der Zusammenstellung fehlt die Sportmedizinische Abteilung der Universität Frankfurt (Leitung Prof. W. Banzer), die als Institution, welche in der Sportwissenschaft angesiedelt ist, in der Auswertung erfasst wurde. Die Autoren entschuldigen sich für dieses Versehen, das sie außerordentlich bedauern.