

Fabian Dettwiler¹, Ivo A. Telley², Jachen Denoth¹

¹ ETH Zürich, Institut für Biomechanik, HCI E 365.1, CH-8093 Zürich

² EMBL, Meyerhofstrasse 1, D-69117 Heidelberg

Einfluss der Temperatur und Kontraktionsform auf das Ermüdungsverhalten von isolierten Muskelzellen

Zusammenfassung

Die Ätiologie der muskulären Ermüdung ist ein wichtiges Thema mit weitreichenden Konsequenzen im Alltag und im klinischen Umfeld. Anhand eines biomechanischen Experiments wird der Einfluss der Temperatur (15-25-35 °C) und der Kontraktionsform (konzentrisch-isometrisch-exzentrisch) auf die Ermüdung von isolierten Muskelzellen der Ratte untersucht. Ermüdung wird als Abnahme der Kraftentwicklung aufgrund wiederholter Aktivierung verstanden. Der charakteristische Verlauf der Kraftentwicklung während Ermüdung ist Temperatur-typisch. Es zeigt sich, dass mit zunehmender Temperatur Ermüdung vor allem schneller abläuft. Der Einfluss der Kontraktionsform hingegen ist im Vergleich zur Temperatur geringer. Es manifestiert sich der Trend, dass Ermüdung von exzentrisch nach konzentrisch schneller und/oder stärker abläuft. Beide Beobachtungen sind konsistent mit aktuellen Modellen des Aktin-Myosin-Querbrückenzyklus und der muskulären Ermüdung.

Abstract

The etiology of muscle fatigue is an important field of research, as fatigue can lead to serious limitations in muscle and whole body performance, and in clinical situations. Here, the influence of temperature (15-25-35 °C) and mode of contraction (concentric-isometric-eccentric) on fatigue is explored by means of a biomechanical experiment on isolated muscle cells. Fatigue is measured as decrease in force development during repeated activation. During fatigue the force development shows a characteristic temperature-typical behavior: Increasing temperature accelerates fatigue. The effect of mode of contraction is much smaller. It is apparent that fatigue primarily develops faster and/or superior from eccentric to concentric. Both influences can virtually be explained by the actual conception of crossbridge kinetics and muscle fatigue.

Schweizerische Zeitschrift für «Sportmedizin und Sporttraumatologie» 56 (2), 82–87, 2008

Einleitung

Muskeln sind kontraktile Organe mit vielfältigen Aufgaben. Im Kollektiv ermöglichen sie dem Individuum aufrechte Haltung, aktive Fortbewegung und die Aufrechterhaltung innerer Körperfunktionen (z.B. Herzschlag, Atmung). Ein Muskel besteht aus hunderten biologisch autonomer Einheiten, den Muskelzellen, auch Muskelfasern genannt. Die Fähigkeit, auf elektrische Nervensignale in mechanische Kraft, chemische Energie oder Arbeit sowie Wärme umzuwandeln, ist eine intrinsische Funktion dieser Zellen. Sie sind die kleinste lebende Einheit, an der das muskuläre Ermüdungsverhalten untersucht werden kann.

Ermüdung ist ein komplexes und universelles Phänomen. Das Spektrum reicht von Materialermüdung bis hin zur Ermüdung von komplizierten Systemen wie z.B. dem menschlichen Körper. Der Ursprung körperlicher Ermüdung kann, je nach Umstand, eher im zentralen Nervensystem (Gandevia, 2001) oder in den Muskelzellen (Allen et al., 1995; Westerblad et al., 1998) liegen. Im Folgenden wird der Begriff der Ermüdung mit der reversiblen Abnahme der isometrischen Kraft oder der Leistung des Muskels bei konstanten äusseren Bedingungen während wiederholter Aktivierung und mechanischer Beanspruchung definiert. Eine gängige Methode, um Ermüdung auf der Ebene der Muskelzelle zu untersuchen, ist ein biomechanisches Experiment, bei dem der zeitliche Verlauf der Kraftantwort (sog. «Transiente») aufgrund einer Reihe kurzer, submaximaler isometrischer Kontraktionen gemessen wird. Wenn

nicht anders erwähnt, beziehen sich die folgenden Aussagen auf Resultate und Erkenntnisse solcher Versuchsanordnungen.

Theoretisch kann Ermüdung als Ungleichgewicht zwischen der mittels Aktivierung und Beanspruchung induzierten Kinetik der Erregungs-Kontraktions-Kopplung, sowie des Aktin-Myosin-Querbrückenzyklus und der Kinetik aller damit in Wechselwirkung stehenden, zellulären Prozesse verstanden werden. Dieses Ungleichgewicht führt zu Veränderungen von Konzentrationspotenzialen, was wiederum einen Einfluss auf das Kraft- und Leistungspotenzial der Muskelzelle hat.

In der Literatur wird eine Vielzahl zellulärer Veränderungen mit Ermüdung in Verbindung gebracht. Das ausführliche Review von R.H. Fitts aus dem Jahre 1994 (Fitts, 1994) liefert eine gute Übersicht und ist ein Klassiker. Eine Diskussion neuer Erkenntnisse findet man in zwei kürzlich publizierten Reviews (Fitts, 2007; Allen et al., 2008). Grob zusammengefasst, gibt es während Ermüdung zwei charakteristische Phasen: Eine frühe, mit einem initialen Abfall der isometrischen Kraft assoziierte Phase, wird mit einer Hemmung auf Ebene der Querbrücken durch die Metaboliten inorganisches Phosphat (P_i) und Protonen (H^+) in Verbindung gebracht. Gleichzeitig führt die Akkumulation von P_i , H^+ und Radikalen zu einer Abnahme der myofibrillären Ca^{2+} -Sensitivität. Dies hat jedoch aufgrund der zu dem Zeitpunkt nahezu maximalen Amplitude des intrazellulären Ca^{2+} -Signals einen geringen Effekt. Eine spätere, mit einem zweiten Abfall der Kraft assoziierte Phase, wird mit einer Veränderung des Ca^{2+} -Signals in Verbin-

dung mit der reduzierten Ca^{2+} -Sensitivität interpretiert. Mögliche Ursachen für ersteres sind die Ausfällung von Calciumphosphat im sarkoplasmatischen Retikulum (SR) und die Hemmung der SR Pumpen-ATPasen. Zentral ist, dass alle im Ermüdungsprozess wichtigen zellulären Veränderungen mit einer Akkumulation der Metaboliten (P_i , H^+ und andere) in Verbindung gebracht werden. Die exakte Ursache von Ermüdung und die relative Bedeutung einzelner Faktoren bleiben kontrovers.

Im Alltag wird der Muskel nicht nur isometrisch, sondern vor allem konzentrisch und exzentrisch und dies bei verschiedenen Temperaturen beansprucht. Die Kontraktionsform hat einen Einfluss auf die Querbrückenkinetik. Verschiedene Autoren haben gezeigt, dass bei aktiver Dehnung die freigesetzte Enthalpie von Muskeln kleiner als bei isometrischer Kontraktion, bei aktiver Verkürzung aber grösser ist (Fenn, 1924; Curtin & Woledge, 1978; Barclay, 1996). Dasselbe Verhalten wurde beim zellulären ATP-Umsatz anhand biochemischer Messungen nachgewiesen (Curtin & Davies, 1975). Eine direkte Methode, um den ATP-Umsatz der Querbrücken in Abhängigkeit von der Verkürzungsgeschwindigkeit zu untersuchen, entwickelten Brune und Kollegen (Brune et al., 1994) anhand eines fluoreszierenden Proteins mit hoher Affinität für P_i . Diese Methode ist sensitiv und hat eine zeitliche Auflösung von der Grössenordnung eines Querbrückenzyklus. Es konnte gezeigt werden, dass der ATP-Umsatz von aktiver Verkürzung nach aktiver Dehnung abnimmt (He et al., 1998).

Die Thermodynamik lehrt uns, dass die Temperatur einen massgeblichen Einfluss auf biochemische Reaktionen hat. Der Muskel als System zeigt diverse charakteristische Temperaturabhängigkeiten. Wird die Temperatur im Muskel erhöht, so nimmt bis zu ca. 25 °C die isometrische Kraft zu (Coupland & Ranatunga, 2003). Die Leistung und die Anstiegsrate der isometrischen Kraftentwicklung verdoppelt sich ungefähr bei einer Temperaturzunahme um 10 °C, $Q_{10} \sim 2$ (Bennett, 1985). Der Einfluss der Temperatur auf die Kinetik der Querbrücken wurde mit einer enzymatischen Methode abgeschätzt (Stienen et al., 1996). Der ATP-Umsatz nimmt mit zunehmender Temperatur zu ($Q_{10} = 2.8$).

Der Einfluss dynamischer Kontraktionsformen (Cummins et al., 1989; Vedsted et al., 2003) wie auch der Temperatur (Barclay, 1992; Wineinger et al., 1998; Inamura et al., 2000; Moopnar & Allen, 2005) auf das Ermüdungsverhalten von Muskelzellen ist bis anhin nicht systematisch untersucht worden.

Weil im Alltag Muskelkontraktionen oft dynamisch sind und die Temperatur im Muskel nicht konstant ist, wurde ein systematisches Experiment an intakten Muskelfaserbündeln durchgeführt, um die Grössenordnung der Ermüdungseffekte abzuschätzen. Die Hypothese der Arbeit war:

Weil der ATP-Umsatz der Aktin-Myosin-Querbrücken von aktiver Dehnung nach aktiver Verkürzung und mit zunehmender Temperatur zunimmt, nimmt Ermüdung aufgrund einer schnelleren Akkumulation der Metaboliten zu.

Methoden

Die Messungen wurden mit intakten Muskelfaserbündeln (ca. 10 Zellen pro Bündel; Abb. 1 oben) vom Flexor Digitorum Brevis Muskel der Ratte durchgeführt. Diese wurden über die Sehnenvorsätze mittels Aluminium-T-Clips zwischen zwei Miniaturhaken befestigt, die mit einem Schrittmotor für isokinetische Längenänderungen und einem Kraftsensor mechanisch verbunden sind (Abb. 1, Mitte). Temperatur, pH und Flussgeschwindigkeit der physiologischen Lösung in der Messkammer wurden konstant gehalten.

Ermüdung wurde durch 30 schnell aufeinanderfolgende Kontraktionen bei nahezu maximaler Aktivierung pro Versuchsbedingung erzeugt. Die Aktivierung erfolgte durch einen elektrischen Strom, welcher alle zwei Sekunden für eine Dauer von 0.4 Sekunden eingeschaltet war. Die erste Hälfte der Kontraktion während einer Ermüdungsreihe (Abb. 1 unten) war isometrisch, die zweite war entweder konzentrisch-isokinetisch oder exzentrisch-isoki-

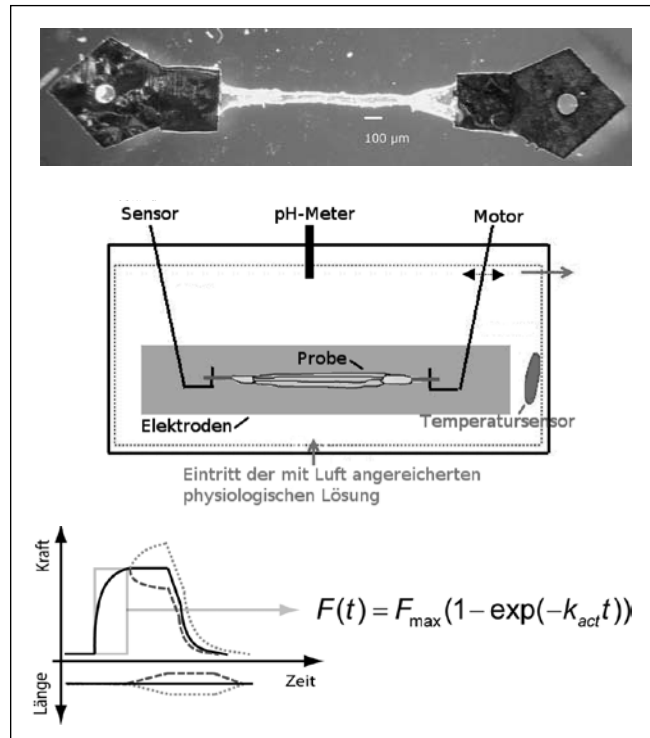


Abbildung 1: Muskelfaserbündel zwischen Aluminium-T-Clips fixiert (oben). Schematische Darstellung der Messkammer (Mitte). Schematische Darstellung der Kraftantwort und Motorposition bei unterschiedlichen Kontraktionsformen (unten; ausgezogene Linie = isometrisch, gepunktete Linie = exzentrisch, gestrichelte Linie = konzentrisch).

netisch bei einer Geschwindigkeit von ± 0.1 Muskellängen pro Sekunde. Die Messungen wurden bei 15 °C, 25 °C und 35 °C durchgeführt. Bei jeder Temperatur wurden zur Kontrolle Ermüdungsreihen mit isometrischen Kontraktionen durchgeführt. Jede Probe wurde unter jeder der neun Versuchsbedingungen einmal ermüdet. Die Transiente jeder Kontraktion wurde von einem PC aufgezeichnet. Die Zeit zwischen den Ermüdungsreihen betrug 30 Minuten und wurde als minimal notwendige Erholungsdauer in Voruntersuchungen bestimmt.

Der Kraftanstieg bei einer nahezu maximalen, isometrischen Kontraktion kann mit einer Summe von Exponentialfunktionen $F(t) = \sum_k A_k (1 - e^{-k \cdot t})$ beschrieben werden (Sleep et al., 2005).

Der einfachste Fall ist gegeben durch: $F(t) = F_{max} (1 - \exp(-k_{act} t))$.

Die ersten 0.2 Sekunden jeder der gemessenen Transienten beschreiben die Kraftantwort aufgrund isometrischer Kontraktion und sind daher direkt miteinander vergleichbar (Abb. 1, unten). Aus diesem Grund wird für eine erste quantitative Analyse der Kraftwert bei 0.2 Sekunden (= F) verwendet. Aus den Daten werden zusätzlich mit einem Fittalalgorithmus (Formel Abb. 1 unten) für jede Kontraktion die isometrischen Parameter maximale Kraft (F_{max}) und Anstiegsrate (k_{act}) bestimmt. Die gemessenen und daraus berechneten Daten ermöglichen es, den Einfluss der Versuchsbedingungen auf die Ermüdung abzuschätzen. Dieser Schritt wird mittels einfaktorierter Varianzanalyse (ANOVA) durchgeführt, um den Einfluss der Kontraktionsform, der Temperatur sowie der Probe auf den Ermüdungsverlauf statistisch auszuwerten.

Zwei zusätzlich Werte, die unbelastete oder maximale Verkürzungsgeschwindigkeit (V_0) und die Halbwertszeit der Relaxation (τ_{relax}), wurden bestimmt. V_0 wird mit dem sog. Slacktest nach Edman (Edman, 1979) bei vier unterschiedlichen Schrittlängen ermittelt. τ_{relax} ist die Zeit, welche nach der Deaktivierung vergeht, bis die Kraft unter 50% von F fällt.

Resultate

Charakterisierung der Muskelfaserbündel

Die Mittelwerte und Standardabweichung von 5 Proben für die Größen isometrische Kraft bei 0.2 Sekunden (= F), Kraftanstiegsrate (= k_{act}), die Halbwertszeit der Relaxation (= τ) und die unbelastete Verkürzungsgeschwindigkeit (= V_0) im nicht ermüdeten Zustand sind in *Tabelle 1* zusammengefasst. Der Q_{10} -Wert gibt die relative Änderung eines Wertes bei einer Temperaturerhöhung um 10 °C an.

Die Werte für F in kPa (Coupland & Ranatunga, 2003) unter Berücksichtigung des Querschnittes, die daraus abgeleiteten Q_{10} -Werte, sowie der Wert für V_0 (25 °C) (Westerblad et al., 1998) und τ (25 °C) (Lunde et al., 2001) entsprechen den Literaturwerten zum gleichen Muskel. Damit ist die Qualität der verwendeten Methoden zur Herstellung der Proben und Bestimmung der mechanischen Größen valid.

Der Verlauf von F und k_{act} während Ermüdung und der Einfluss der Temperatur

Der Vergleich von F und F_{max} hat gezeigt, dass Ersterer zuverlässiger ist und sich besser für den Vergleich der isometrischen Kraft zwischen Transienten eignet. F und k_{act} zeigen bereits nach einer einzigen Kontraktion eine Veränderung (*Abb. 2*). Der Verlauf beider Größen weist eine deutliche Temperaturabhängigkeit auf. F nimmt bei 15 °C stetig ab. Bei 35 °C hingegen fällt der Wert während weniger Kontraktionen zuerst schnell (erste Ermüdungsphase), dann langsamer, wieder schnell (zweite Ermüdungsphase) und wieder langsam. Der charakteristische Verlauf bei 25 °C (nicht dargestellt) und 35 °C ist konsistent mit dem in der Literatur beschriebenen Ermüdungsverhalten.

Die Kraftanstiegsrate k_{act} nimmt bei 15 °C stetig zu. Bei 35 °C hingegen nimmt der Wert während der ersten Ermüdungsphase zu, erreicht ein Maximum, nimmt dann innerhalb weniger Kontraktionen wieder ab, verharrt für ein paar Kontraktionen auf diesem Niveau, um danach wieder langsam abzunehmen. Das Verhalten bei 25 °C (nicht dargestellt) ist ähnlich wie bei 35 °C. Das Maximum wird jedoch später erreicht und der Rückgang ist weniger ausgeprägt. Die Beobachtung, dass k_{act} während Ermüdung zunehmen kann, wurde bereits von anderen Autoren bei 25 °C gemacht (Barclay, 1992; Vedsted et al., 2003).

Nimmt man an, dass der beobachtete Verlauf von F und k_{act} bei 15 °C der ersten Ermüdungsphase entspricht, kann diese zwischen den drei Temperaturen ungefähr verglichen werden. Bei 15 °C fällt F innerhalb von 75 Sekunden, bei 25 °C (nicht dargestellt) innerhalb von 30 Sekunden und bei 35 °C innerhalb von 12 Sekunden um 30%, 20% und 10% des initialen Wertes. Bei k_{act} nehmen, innerhalb derselben Zeiten, die Werte um etwa die Hälfte zu. Der Vergleich der Verhältnisse von F und k_{act} am Ende der ersten Ermüdungsphase zum entsprechenden nicht ermüdeten Wert, zwischen den Temperaturen, entspricht einem Q_{10} von 1.1 respektive 1.0 (keine Änderung). Der Q_{10} für die Dauer der ersten Ermüdungsphase beträgt 0.4.

Nicht ermüdeten Zustand		F [mN]	k_{act} [1/s]	τ [s]	V_0 [Muskel-längen/s]
15 °C	Mittelwert	6.15	12.57	0.38	-3.82
	Std.-Abw.	0.56	0.51	0.02	0.16
25 °C	Minimum	8.18	35.78	0.15	-8.45
	Maximum	0.84	1.07	0.01	0.55
35 °C	Mittelwert	7.56	44.93	0.05	-11.10
	Std.-Abw.	0.77	1.36	0.01	1.06
$Q_{10;15 \leftrightarrow 25}^{\circ C}$		1.33	2.85	0.39	2.21
$Q_{10;25 \leftrightarrow 35}^{\circ C}$		0.92	1.26	0.33	1.31

Tabelle 1: F, k_{act} , τ und V_0 im nicht ermüdeten Zustand. Die mittleren Werte und Standardabweichung von 5 Proben sind dargestellt. Q_{10} -Werte sind dimensionslos.

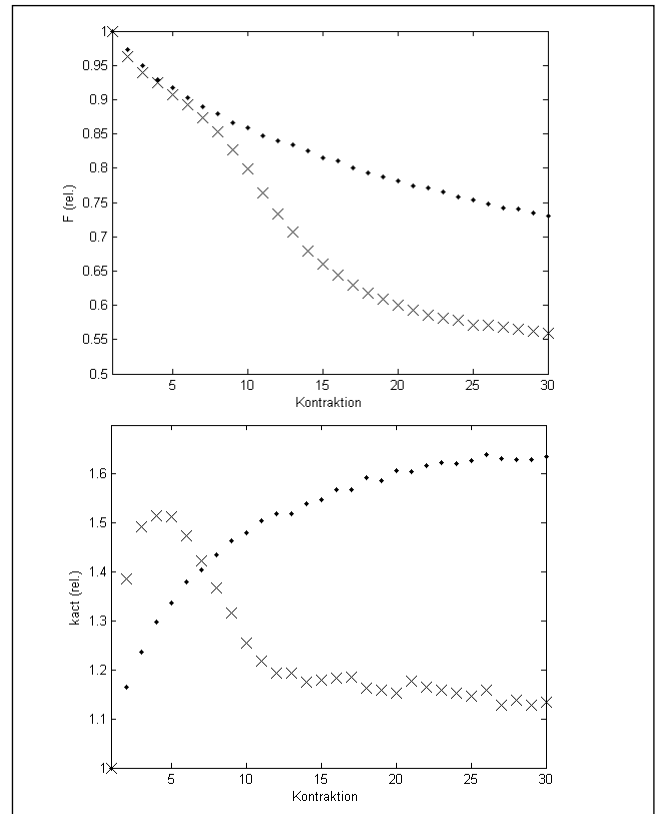


Abbildung 2: Der Verlauf (gemittelt, SE < 0.02) von F und k_{act} , relativ zum nicht ermüdeten Wert, während Ermüdung bei 15 °C (Punkte) und 35 °C (Kreuze).

Transiente während Ermüdung

Der zeitliche Verlauf der Kraftantwort, d.h. die Form der Kraft-Zeit-Kurve verändert sich während der Ermüdung. Diese Eigenschaft wird am Beispiel einer isometrischen Kontrolle bei 35 °C dargestellt. Diese Temperatur liegt nahe der Körpertemperatur von Säugetieren und ist deshalb von besonderer Bedeutung.

Während der ersten und nach der zweiten Ermüdungsphase (*Abb. 3*; Transiente 1–9, 17–29, grau), verändert sich die Form der Transiente kaum. Neben der Abnahme der maximalen Kraft und der initialen Zunahme der Geschwindigkeit des Kraftanstiegs

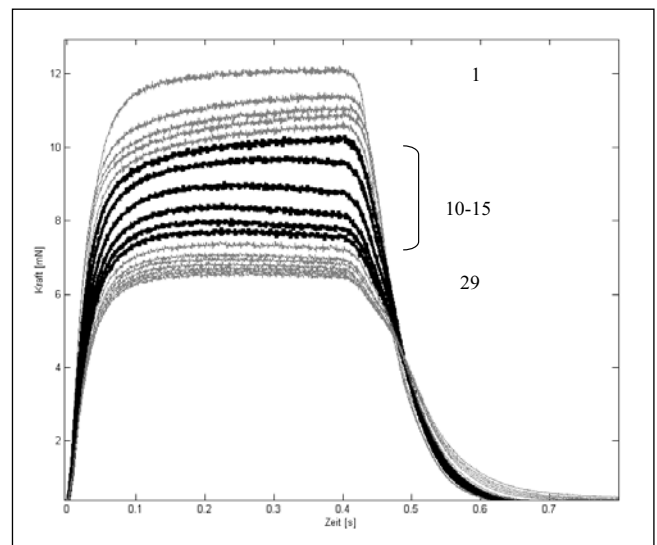


Abbildung 3: Zeitlicher Verlauf der isometrischen Kraftantwort während einer Ermüdungsreihe bei 35 °C. Dargestellt sind die Transienten 1, 3, 5, 7, 9 (alle grau), 10–15 (schwarz), 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29 (alle grau).

ist die auffälligste Veränderung eine Abflachung des Kraftverlaufs vor der Deaktivierung während der zweiten Ermüdungsphase (Abb. 3, Transiente 10–15, schwarz).

Einfluss der Kontraktionsform auf die mittlere Ermüdung von F und k_{act}

Der Einfluss der Kontraktionsform (konzentrisch – isometrisch – exzentrisch) auf F während Ermüdung zeigt folgenden Trend: Aktive Verkürzung reduziert die relative maximale Kraft am meisten und aktive Dehnung am wenigsten. Die isometrische Kontraktion liegt dazwischen.

Der Einfluss der Kontraktionsform auf k_{act} zeigt folgenden Trend: Bei 15 °C nimmt die Kraftanstiegsrate während Ermüdung von aktiver Verkürzung nach aktiver Dehnung ab. Bei 35 °C ist es genau umgekehrt.

Größenordnung der Effekte

Der Einfluss der Kontraktionsform auf den mittleren F- und k_{act} -Wert während Ermüdung hat in etwa die gleiche Größenordnung wie eine Veränderung der Temperatur um ein Grad. Weil sich die Kraft oberhalb von 25 °C nur noch wenig ändert, hat der Einfluss hier eine Größenordnung von ein paar Grad. Der Einfluss der Variabilität in den Proben ist in einer ähnlichen und mit steigender Temperatur zunehmenden Größenordnung.

Diskussion

Krafttransiente während Ermüdung

Das verwendete Modell der Muskelkontraktion kann Veränderungen während einer und zwischen zwei Kontraktionen erfassen. Das «Abflachen des Kraftverlaufes vor Deaktivierung» könnte die Manifestation von kritischen Ermüdungsvorgängen sein. Damit würde diese Beobachtung die Forderung nach einem mechanistischen Ermüdungsmodell stärken. Ein solches könnte dazu beitragen, einen näheren Bezug zwischen der zeitlichen Änderung der Transiente und intrinsischen Ermüdungsvorgängen herzustellen.

Der Einfluss der Temperatur auf Ermüdung

Der Verlauf von F und k_{act} während Ermüdung ist temperaturtypisch und könnte wie folgt interpretiert werden: Der erste und zweite Kraftabfall sowie der initiale Anstieg und die anschließende Reduktion von k_{act} sind charakteristische Symptome der Ermüdung. Diese treten mit zunehmender Temperatur schneller und somit früher auf. Diese Beobachtung ist konsistent mit der Vorstellung einer erhöhten Kinetik, der für die Muskelkontraktion wichtigsten zellulären Prozesse, insbesondere des Querbrückenzyklus.

Der initiale Kraftabfall, die erste Ermüdungsphase, wird gemäss dem aktuellen Ermüdungsmodell primär dem direkten inhibitorischen Effekt von P_i auf die Querbrücken zugeschrieben. Dieser verhält sich bei maximaler Aktivierung invers zur Temperatur. Bei höheren Temperaturen ist der reduzierende Effekt von P_i auf F_{max} geringer (Debold et al., 2006). Hingegen ist zu erwarten, dass die Rate der P_i -Akkumulation mit der Temperatur zunimmt, da die Zyklusrate erhöht ist. Vergleicht man den Verlauf von k_{act} mit dem von F, dann stellt man fest, dass der Anstieg von k_{act} mit der ersten Ermüdungsphase zeitlich gut übereinstimmt. Dies lässt einen ähnlichen Schluss zu: Eine schnellere Akkumulation von P_i könnte für ein schnelleres Erreichen des Plateaus verantwortlich sein.

Experimente an gehäuteten Präparationen haben gezeigt, dass k_{act} mit zunehmender P_i -Konzentration zu- und F_{max} abnimmt. Dieses Verhalten kann mit einem Querbrückenmodell erklärt werden (Metzger & Moss, 1990; Tallini et al., 2006): Bei hohen Phosphatkonzentrationen ist die freie Energie für die ATP-Hydrolyse reduziert. Dies könnte eine netto Verschiebung der Querbrückenpopulationen in den «schwach gebundenen» Zustand bewirken,

was F_{max} reduziert. Gleichzeitig könnte die, mit der Kraftanstiegsrate korrelierende Übergangsrate vom «schwach gebundenen» in den «stark gebundenen» Zustand zunehmen, indem die Rate der $AM \cdot ADP + P_i \rightarrow AM \cdot ADP \cdot P_i$ -Reaktion zunimmt (AM: Aktomyosin Komplex).

Insgesamt liefern die Befunde eine mögliche Erklärung für die Beobachtung, dass die erste Ermüdungsphase mit zunehmender Temperatur schneller ($Q_{10} = 0.4$) zu Ende geht, der relative Kraftwert am Schluss jedoch zunimmt ($Q_{10} = 1.1$).

Der Einfluss der Kontraktionsform auf Ermüdung

Die Varianzanalysen zeigen, dass die Kontraktionsform einen signifikanten Einfluss auf die Zielvariablen F und k_{act} hat. Aktive Verkürzung reduziert den mittleren Wert von F während Ermüdung stärker als aktive Dehnung. Der Einfluss rein isometrischer Kontraktionen liegt dazwischen. Dieser Trend manifestiert sich bei allen drei Temperaturen. k_{act} nimmt bei 15 °C während der ersten Ermüdungsphase zu. Die mittlere Zunahme ist bei aktiver Verkürzung grösser als bei rein isometrischen Kontraktionen, und bei aktiver Dehnung ist sie am geringsten. Bei 25 °C und 35 °C hingegen wird bei k_{act} ein umgekehrter Trend beobachtet. Weil der Verlauf von k_{act} hier einen initialen Anstieg und einen anschliessenden Abfall zeigt, ist die Interpretation dieses Trends weniger klar.

Die Ergebnisse bezüglich des Einflusses der Kontraktionsform und der Temperatur auf Ermüdung sind mit der aufgestellten Hypothese konsistent. Diese besagt, basierend auf dem aktuellen Verständnis der chemo-mechanischen Kopplung, dass von aktiver Dehnung nach aktiver Verkürzung und mit zunehmender Temperatur der ATP-Umsatz in den Querbrücken und damit die metabolischen Kosten für die Kontraktion zunehmen. Dies führt zu einer schnelleren Akkumulation von Stoffwechselprodukten, wie P_i , H^+ und Radikalen, und damit zu schnellerer und oder stärkerer Ermüdung.

Größenordnung der Effekte

Dieses Experiment hat gezeigt, dass bereits sehr langsame Bewegungen den Ermüdungsverlauf im Vergleich zu isometrischen Kontraktionen verändern können. Der Einfluss der Temperatur ist jedoch etwa 10-mal grösser. Damit wird zum einen die Wichtigkeit von Messungen bei Körpertemperatur und unter dynamischen Bedingungen betont, und zum anderen die Forderung nach einer rigorosen Kontrolle der Temperatur bei Ermüdungsexperimenten bestärkt.

Der Grund, warum wenige Experimente bei > 25° durchgeführt werden, ist, dass die Stabilität von intakten Muskelpräparationen deutlich geringer ist. Dies äussert sich in erster Linie in einer schlechteren Reproduzierbarkeit. Das hier beschriebene Experiment hat gezeigt, dass Messungen mit Muskelfaserbündel bei 35 °C auch über längere Zeit möglich sind. Die Stabilität der Proben ist jedoch geringer als bei tieferen Temperaturen, was sich in einem grösseren Einfluss der «Variabilität der Proben» und der zeitlichen Position der Messung innerhalb den 9 Ermüdungsreihen ausdrückt. Beide haben bei 35 °C die gleiche Größenordnung wie der Einfluss der Kontraktionsform. Die statistische Aussagekraft kann jedoch erhöht werden, indem weitere Proben gemessen werden.

Ein kritischer Punkt ist, dass die von aussen festgelegte Verkürzungsgeschwindigkeit bei den dynamischen Protokollen, absolut betrachtet, zwar immer dieselbe ist, die relative Geschwindigkeit, bezogen auf die maximale Kapazität des Systems (i.e. V_0) bei der entsprechenden Temperatur, jedoch nicht.

Bezug zum Alltag und Sport

Welche Bedeutung das zelluläre Ermüdungsverhalten der Muskeln im Kontext körperlicher Ermüdung hat, hängt von vielen Faktoren ab und wird kontrovers diskutiert. Demnach können die Resultate dieses Experiments nicht ohne Weiteres auf in vivo Situationen übertragen werden. Ein wichtiger Unterschied ist z.B. die Aktivierung. In vivo wird diese während Belastung modu-

liert (Bigland-Ritchie et al., 1979). Man könnte spekulieren, dass die diskutierten zellulären Veränderungen, zumindest bei hohen Belastungen, kritische Faktoren sind, die das Verhalten des kompletten Systems, also des menschlichen Körpers, massgeblich beeinflussen. Demnach könnte aus der Beobachtung, dass sich die isometrische Leistungsfähigkeit bei einem Intervall von 2 Sekunden bereits nach einer Kontraktion verändert, folgende Essenz gewonnen werden: In alltäglichen sowie klinischen Situationen, bei denen die Kraft- und Leistungsfähigkeit kritisch sind, ist eine gute zeitliche Abstimmung von Be- und Entlastung wichtig.

Möglicherweise ist es eine gute Strategie, nach jeder Bewegungsausführung so lange zu pausieren, dass keine Ermüdung auftritt. Studien über Krafttraining haben z.B. gezeigt dass bei gleichem Widerstand und gleicher Pausendichte, mit zunehmender Pausenfrequenz, die Anzahl möglicher Wiederholungen zunimmt (Denton & Cronin, 2006). Eine solche Strategie könnte z.B. für an Muskelschwäche leidende Personen beim Treppensteigen interessant sein. Eine andere Strategie ist erforderlich, wenn die Zeit des Leistungseinsatzes limitiert ist. Dies ist bei vielen Sportarten der Fall. In diesem Fall geht es darum, mit der richtigen Taktik den optimalen Kompromiss zwischen Leistung und Ermüdung zu finden.

Schlussfolgerung

Trotz des heutigen Wissensstands ist man weit davon entfernt, das Ermüdungsverhalten der Muskelzelle zu verstehen. Ein Problem ist, dass die Messung von Parametern zur Quantifizierung der Ermüdung den Ermüdungsverlauf beeinflusst. Zudem gibt es methodische Grenzen, weil die isolierte Muskelprobe über lange Zeit am Leben bleiben muss und kaum geeignete Marker existieren, die eine genügend hohe räumliche und zeitliche Auflösung zulassen, um lokale Konzentrationspotenziale zu untersuchen. Die Konstruktion genetisch kodierter endogener Molekülsensoren (Rudolf et al., 2006; Tallini et al., 2006) und die wachsende Methodenvielfalt auf dem Gebiet der Metabolomik (Weckwerth & Morgenthal, 2005) sind Beispiele für vielversprechende Technologien, mit denen in naher Zukunft tiefere Einblicke in zelluläre Ermüdungsprozesse gewonnen werden könnten.

Aufgrund der hier erhaltenen Resultate werden am Institut für Biomechanik, ETH Zürich, weitere Experimente durchgeführt, um den Einfluss der Kontraktionsform und der Temperatur auf die Ermüdung besser zu verstehen. Am Institut (Telley et al., 2003; Telley et al., 2006a; Telley et al., 2006b; Telley & Denoth, 2007) ist ferner die Entwicklung eines segmentalen Myofibrillenmodells sowie die Erforschung von Inhomogenitäten in der Ultrastruktur des Myofibrillenensembles und deren Beziehung zur inter- und intramyofibrillären Dynamik ein aktuelles Forschungsthema. Dies kann für die zukünftige Erforschung und Modellierung von muskulärer Ermüdung von Bedeutung sein, denn die Beziehung zwischen interner Dynamik und der Kraft-/Leistungszerzeugung der Muskelzelle ist nicht geklärt.

Danksagung

Die Autoren bedanken sich beim Schweizerischen Nationalfond (SNF 315200-116611/1) für die partielle Finanzierung.

Korrespondenzadresse:

Jachen Denoth, Institut für Biomechanik, ETH Zürich, HCI 357.1, CH-8093 Zürich, E-Mail: jdenoth@ethz.ch

Literaturverzeichnis

- Allen D.G., Lamb G.D., Westerblad H. (2008): Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological reviews* 88, 287–332.
- Allen D.G., Lannergren J., Westerblad H. (1995): Muscle cell function during prolonged activity: cellular mechanisms of fatigue. *Exp. Physiol.* 80, 497–527.
- Barclay C.J. (1992): Effect of fatigue on rate of isometric force development in mouse fast- and slow-twitch muscles. *Am. J. Physiol.* 263, C1065–1072.
- Barclay C.J. (1996): Mechanical efficiency and fatigue of fast and slow muscles of the mouse. *J. Physiol.* 497 (Pt. 3), 781–794.
- Bennett A.F. (1985): Temperature and muscle. *The Journal of experimental biology* 115, 333–344.
- Bigland-Ritchie B., Jones D.A., Woods J.J. (1979): Excitation frequency and muscle fatigue: electrical responses during human voluntary and stimulated contractions. *Experimental neurology* 64, 414–427.
- Brune M., Hunter J.L., Corrie J.E., Webb M.R. (1994): Direct, real-time measurement of rapid inorganic phosphate release using a novel fluorescent probe and its application to actomyosin subfragment 1 ATPase. *Biochemistry* 33, 8262–8271.
- Coupland M.E., Ranatunga K.W. (2003): Force generation induced by rapid temperature jumps in intact mammalian (rat) skeletal muscle fibres. *J. Physiol.* 548, 439–449.
- Cummins M.E., Soomal R.S., Curtin N.A. (1989): Fatigue of isolated mouse muscle due to isometric tetani and tetani with high power output. *Quarterly journal of experimental physiology (Cambridge, England)* 74, 951–953.
- Curtin N.A., Davies R.E. (1975): Very high tension with very little ATP breakdown by active skeletal muscle. *J. Mechanochem Cell Motil.* 3, 147–154.
- Curtin N.A., Woledge R.C. (1978): Energy changes and muscular contraction. *Physiol. Rev.* 58, 690–761.
- Debold E.P., Romatowski J., Fitts R.H. (2006): The depressive effect of P_i on the force-pCa relationship in skinned single muscle fibers is temperature dependent. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 290, C1041–1050.
- Denton J., Cronin J.B. (2006): Kinematic, kinetic, and blood lactate profiles of continuous and intraset rest loading schemes. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association* 20, 528–534.
- Edman K.A. (1979): The velocity of unloaded shortening and its relation to sarcomere length and isometric force in vertebrate muscle fibres. *J. Physiol.* 291, 143–159.
- Fenn W.O. (1924): The relation between the work performed and the energy liberated in muscular contraction. *J. Physiol.* 58, 373–395.
- Fitts R.H. (1994): Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol. Rev.* 74, 49–94.
- Fitts R.H. (2007): The Cross-Bridge Cycle and Skeletal Muscle Fatigue. *J. Appl. Physiol.*
- Gandevia S.C. (2001): Spinal and supraspinal factors in human muscle fatigue. *Physiological reviews* 81, 1725–1789.
- He Z.H., Chillingworth R.K., Ferenczi M.A. (1998): The ATPase activity in isometric and shortening skeletal muscle fibres. *Advances in experimental medicine and biology* 453, 331–341.
- Inamura N., Fujisige A., Miyake S., Ono A., Tsuchiya T. (2000): The effects of temperature on the mechanical performance in fatigued single muscle fibers of the frog induced by twitch and tetanus. *The Japanese journal of physiology* 50, 49–57.
- Lunde P.K., Dahlstedt A.J., Bruton J.D., Lannergren J., Thoren P., Sejersted O.M., Westerblad H. (2001): Contraction and intracellular Ca(2+) handling in isolated skeletal muscle of rats with congestive heart failure. *Circ. Res.* 88, 1299–1305.
- Metzger J.M., Moss R.L. (1990): pH modulation of the kinetics of a Ca2(+)-sensitive cross-bridge state transition in mammalian single skeletal muscle fibres. *J. Physiol.* 428, 751–764.
- Moopanar T.R., Allen D.G. (2005): Reactive oxygen species reduce myofibrillar Ca2+ sensitivity in fatiguing mouse skeletal muscle at 37 degrees C. *J. Physiol.* 564, 189–199.
- Rudolf R., Magalhaes P.J., Pozzan T. (2006): Direct in vivo monitoring of sarcoplasmic reticulum Ca2+ and cytosolic cAMP dynamics in mouse skeletal muscle. *The Journal of cell biology* 173, 187–193.
- Sleep J., Irving M., Burton K. (2005): The ATP hydrolysis and phosphate release steps control the time course of force development in rabbit skeletal muscle. *The Journal of physiology* 563, 671–687.
- Stienen G.J., Kiers J.L., Bottinelli R., Reggiani C. (1996): Myofibrillar ATPase activity in skinned human skeletal muscle fibres: fibre type and temperature dependence. *The Journal of physiology* 493 (Pt. 2), 299–307.

- Tallini Y.N., Ohkura M., Choi B.R., Ji G., Imoto K., Doran R., Lee J., Plan P., Wilson J., Xin H.B., Sanbe A., Gulick J., Mathai J., Robbins J., Salama G., Nakai J., Kotlikoff M.I. (2006): Imaging cellular signals in the heart in vivo: Cardiac expression of the high-signal Ca²⁺ indicator GCaMP2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103, 4753–4758.
- Telley I.A., Denoth J. (2007): Sarcomere dynamics during muscular contraction and their implications to muscle function. *Journal of muscle research and cell motility* 28, 89–104.
- Telley I.A., Denoth J., Ranatunga K.W. (2003): Inter-sarcomere dynamics in muscle fibres. A neglected subject? *Advances in experimental medicine and biology* 538, 481–500; discussion 500.
- Telley I.A., Denoth J., Stussi E., Pfitzer G., Stehle R. (2006a): Half-sarcomere dynamics in myofibrils during activation and relaxation studied by tracking fluorescent markers. *Biophysical journal* 90, 514–530.
- Telley I.A., Stehle R., Ranatunga K.W., Pfitzer G., Stussi E., Denoth J. (2006b): Dynamic behaviour of half-sarcomeres during and after stretch in activated rabbit psoas myofibrils: sarcomere asymmetry but no «sarcomere popping». *The Journal of physiology* 573, 173–185.
- Vedsted P., Larsen A.H., Madsen K., Sjogaard G. (2003): Muscle performance following fatigue induced by isotonic and quasi-isometric contractions of rat extensor digitorum longus and soleus muscles in vitro. *Acta Physiol. Scand.* 178, 175–186.
- Weckwerth W., Morgenthal K. (2005): Metabolomics: from pattern recognition to biological interpretation. *Drug discovery today* 10, 1551–1558.
- Westerblad H., Dahlstedt A.J., Lannergren J. (1998): Mechanisms underlying reduced maximum shortening velocity during fatigue of intact, single fibres of mouse muscle. *The Journal of physiology* 510 (Pt. 1), 269–277.
- Wineinger M.A., Walsh S.A., Abresch R.T. (1998): The effect of age and temperature on mdx muscle fatigue. *Muscle Nerve* 21, 1075–1077.