

# **Der Einfluss einer simulierten Orthostase auf den Energiestoffwechsel des menschlichen Skelettmuskels**

**INAUGURAL DISSERTATION**

**zur**

**Erlangung des Doktorgrades**

**der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät**

**der Universität zu Köln**

**vorgelegt von**

**Sven Olaf Baerwalde**

**aus Hannover**

**Köln, den 21. Februar 2001**

**Berichterstatter:**            **PD Dr. Stephan Frings**  
   **Prof. Dr. Walter Kleinow**

**Tag der letzten mündlichen Prüfung: 14.02.2001**

Impressum: Gefördert und veröffentlicht durch das Deutsche Zentrum für Luft- und Raumfahrt

Sämtliche im Rahmen dieses Forschungsvorhabens durchgeführten Untersuchungen wurden in Übereinstimmung mit den ethischen, rechtlichen und wissenschaftlichen Anforderungen gemäß den Prinzipien des Weltärztebundes (Deklaration von Helsinki/Hongkong) vorgenommen. Begrifflichkeiten, die eine geschlechtsspezifische Zuordnung zugelassen hätten (z. B. Probandinnen/Probanden), werden im Rahmen dieser Arbeit geschlechtsneutral verwandt, wobei dennoch explizit beide Geschlechter mit eingeschlossen sind. Weiterhin möchte ich darauf hinweisen, dass diese Arbeit nach den Regeln der neuen Rechtschreibreform angefertigt wurde.

Ich möchte die Gelegenheit wahrnehmen, mich bei all denjenigen herzlich zu bedanken, die mir im Verlauf dieser Arbeit mit Rat und Tat und gelegentlich mit einer Portion Humor zur Seite gestanden haben:

- bei meinen Eltern, die mir diesen Werdegang ermöglicht haben
- bei Herrn PD Dr. Stephan Frings, der diese Dissertation betreute und mit wertvollen Anregungen begleitete
- bei meinen Arbeitskollegen des Microgravity User Support Centers, insbesondere den Herren Dr. rer. nat. Jochen Zange und Klaus Müller, für ihren fachkundlichen Rat und ihre stete Hilfsbereitschaft
- bei Herrn Dr. rer. nat. Norbert Maassen, für all die fruchtbaren Diskussionen, die wir miteinander geführt haben
- bei Jutta, für ihre nie endende Geduld, mich bei meinen Vorhaben zu unterstützen und ihre erstklassige Überarbeitung des Manuskripts
- bei meinen Probanden, die ungewohnten Situationen während der Versuche ausgesetzt waren, aber dennoch voller Elan weiter mitgemacht haben
- bei den Mitarbeitern der Abteilung Sport- und Arbeitsphysiologie des Zentrums Physiologie der Medizinischen Hochschule Hannover – insbesondere den Damen Kirsten Bruns, Hannelore Konrad und Karin Schäfer – für Ihre Bereitschaft, mich in meinem Vorhaben zu unterstützen
- bei meinem Arbeitskollegen Armin deGreiff, der mir freundlicherweise das Software-Programm *Showspec for Windows*® zur Verfügung stellte.

---

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	1
<b>2</b>	<b>Methodik</b> .....	10
<b>2.1</b>	<b>Studie I<sub>31P-MRS</sub></b>	
2.1.1	<sup>31</sup> P-MRS .....	13
2.1.2	LBNP.....	16
2.1.3	Elektromyographie .....	20
2.1.4	Versuchsaufbau .....	21
	2.1.4.1 Versuchsaufbau .....	22
	2.1.4.2 Arbeitsprotokoll .....	25
	2.1.4.3 Methodenkontroll-Studie .....	26
	2.1.4.4 LBNP <sub>kurz</sub> -Studie .....	27
	2.1.4.5 Auswertungsprozesse und Berechnungen	
	2.1.4.5.1 <sup>31</sup> P-MRS .....	27
	2.1.4.5.2 EMG.....	31
<b>2.2</b>	<b>Studie II<sub>Q</sub></b>	
2.2.1	Versuchsaufbau .....	33
2.2.2	Ventilation.....	34
2.2.3	Durchblutungsmessung .....	35
2.2.4	Elektromyographie .....	36
<b>2.3</b>	<b>Studie III<sub>UENP</sub></b>	
2.3.1	Versuchsaufbau .....	37
2.3.2	Arbeitsprotokoll.....	39
2.3.3	Blutanalyse und Messmethoden .....	40
<b>2.4</b>	<b>Statistik</b> .....	43
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	
<b>3.1</b>	<b>Studie I<sub>31P-MRS</sub></b>	
3.1.1	LBNP-RUHE <sub>prä</sub> .....	45
	3.1.1.1 PCr, P <sub>i</sub> , ATP, pH <sub>i</sub> .....	45
	3.1.1.2 ATP/ADP-Quotient, ΔG <sub>ATP</sub> .....	46
3.1.2	Kontraktions- und Regenerationsphasen	
	3.1.2.1 Kraftentwicklung.....	46
	3.1.2.2 PCr.....	47
	3.1.2.3 PCr-Verbrauch vs. Arbeit.....	48
	3.1.2.4 P <sub>i</sub> .....	50
	3.1.2.5 pH <sub>i</sub> .....	51
	3.1.2.6 ADP.....	52
	3.1.2.7 PME.....	53
	3.1.2.8 ΔG <sub>ATP</sub> .....	54
	3.1.2.9 V/V <sub>max</sub> .....	55
	3.1.2.10 H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> .....	56
	3.1.2.11 rmsEMG .....	56
	3.1.2.12 Medianfrequenz.....	58

3.1.3	Methodenkontroll-Versuch: PCr .....	59
3.1.4	LBNP <sub>kurz</sub> -Versuch	
3.1.4.1	PCr-Verbrauch vs. Kraft .....	60
3.1.4.2	pH <sub>i</sub> .....	61
<b>3.2</b>	<b>Studie II<sub>Q</sub></b>	
3.2.1	Kraft .....	61
3.2.2	Durchblutung .....	63
<b>3.3</b>	<b>Studie III<sub>UENP</sub></b>	
3.3.1	Kraft (KON-H) .....	66
3.3.2	Laktat .....	67
3.3.3	PO <sub>2</sub> .....	68
3.3.4	PCO <sub>2</sub> .....	69
3.3.5	pH .....	70
3.3.6	Hämatokrit .....	71
<b>3.4</b>	<b>Zusammenfassung aller Studien</b> .....	72
<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	
4.1	<b>Methodendiskussion</b> .....	74
4.2	<b>Studie I<sub>31P-MRS</sub> und Studie II<sub>Q</sub></b>	
4.2.1	Metabolische und kardio-vaskuläre Veränderungen	
4.2.1.1	Die RUHE <sub>prä</sub> -Phase .....	90
4.2.1.2	Die Kontraktionsphasen .....	96
4.2.1.3	Die Regenerationsphasen .....	104
4.2.2	Neuro-muskuläre Veränderungen .....	111
4.2.3	Ermüdung .....	114
4.3	<b>Studie III<sub>UENP</sub></b> .....	117
4.4	<b>Gesamtdiskussion</b> .....	119
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	123
<b>6</b>	<b>Literatur</b> .....	125
<b>7</b>	<b>Anhang</b>	
A	Anthropometrische Probandendaten .....	147
B	Auswertung des MRS-Signals .....	148
C	Ergänzende statistische Auswertung .....	150
D	Zusätzliche Messparameter der Studien I <sub>31P-MRS</sub> , II <sub>Q</sub> und III <sub>UENP</sub> .....	157
E	Oxidative Phosphorylierung und Glykolyse .....	163
F	Publikation von Teilergebnissen .....	168
G	Abstract .....	170

## Abkürzung

---

#	Kennzeichen für LBNP-Versuche oder LBNP-spezifische Arbeitsschritte
“	Sekundenangaben
‘	Minutenangaben
$\Delta$	Differenzen zum Ausgangswert
$\Delta \psi$	elektrische Potenzialdifferenz über der inneren Mitochondrienmembran
$\Delta p$	Protonenmotorische Kraft
$\Delta G_{\text{ATP}}$	Freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse
[X]	Konzentration der Substanz X
1g	Erdanziehungskraft der Erde
0g	Schwerelosigkeit
ADP	Adenosin-5'-Diphosphat
Adr	Adrenalin
Aldo	Aldosteron
AMP	Adenosin-5'-Monophosphat
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
$B_0$	äußeres, konstantes Magnetfeld
$B_1$	äußeres, hochfrequentes, magnetisches Wechselfeld
Cr	Creatin
CPK	Creatinphosphokinase
EMG	Elektromyogramm bzw. -graphie
FFS	Freie Fettsäuren
FFT	Fast-Fourier-Transformation
FID	Free Induction Decay, Freier Induktionszerfall
G-6-P	Glukose-6-Phosphat
Hkt	Hämatokrit
HMV	Herzminutenvolumen
Kat	Katecholamine
KON 1/1 <sup>#</sup>	Kontraktion 1 im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch der Studien I <sub>31P-MRS</sub> und II <sub>Q</sub>
KON 2/ 2 <sup>#</sup>	Kontraktion 2 im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch der Studien I <sub>31P-MRS</sub> und II <sub>Q</sub>
KON-H/H <sup>#</sup>	Kontraktion der Hand im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch der Studie III <sub>UENP</sub>
Lak	Laktat
LBNP	Lower Body Negative Pressure – Versuch, der in den Studien I <sub>31P-MRS</sub> und II <sub>Q</sub> unter subatmosphärischen Umgebungsbedingungen durchgeführt wird
MAP	Mittlerer Arterieller Blutdruck
MF	Medianfrequenz
ME	Motorische Einheit
MVC	Maximal Voluntary Contraction, Maximalkraftkontraktion
MSNA	Skeletal Muscle Sympathetic Nerve Activity

## Abkürzung

---

20 % MVC	Versuch, der bei 20 % der Maximalkraft in der UENP-Studie durchgeführt wird
40 % MVC	Versuch, der bei 40 % der Maximalkraft in der UENP-Studie durchgeführt wird
N	Newton
Nadr	Noradrenalin
NO	Stickoxid
<sup>31</sup> P-MRS	<sup>31</sup> P-Magnetresonanzspektroskopie
PCr	Creatinphosphat
P <sub>i</sub>	anorganisches Phosphat
PDE	Phosphodiester
PCO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
pH <sub>i</sub>	intrazellulärer pH-Wert
PO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
PFK	Phosphofruktokinase
PME	Phosphomonoester
ppm	parts per million (1:10 <sup>6</sup> )
Q	Durchblutung
REFERENZ	Versuch, der in allen Studien unter normalen atmosphärischen Bedingungen durchgeführt wird
REG 1/1 <sup>#</sup>	Regeneration 1 im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch (Studien I <sub>31P-MRS</sub> und II <sub>Q</sub> )
REG 2/ 2 <sup>#</sup>	Regeneration 2 im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch (Studien I <sub>31P-MRS</sub> und II <sub>Q</sub> )
REG-H/H <sup>#</sup>	Regeneration im REFERENZ- bzw. LBNP-Versuch (Studie III <sub>UENP</sub> )
rms	root mean square
SBS	Säure-Basen-Status
SNR	Signal-Noise-Ratio, Signal-Rausch-Verhältnis
τ	PCr-Resynthesegeschwindigkeitszeitkonstante tau (in sec)
T	Absolute Temperatur (in Kelvin)
T <sub>1</sub>	longitudinale Relaxationszeit
T <sub>r</sub>	Repetitionenzeit zwischen zwei Sendeimpulsen
UENP	Upper Extremity Negative Pressure – Versuch, der in der Studie III <sub>UENP</sub> unter subatmosphärischen Bedingungen durchgeführt wird
ZVD	Zentralvenöser Druck

## 1 Einleitung

Mit dem Beginn bemannter Raumfahrtprojekte in der Mitte des 20. Jahrhunderts werden Astronauten im Weltraum mit veränderten Umgebungsbedingungen konfrontiert. Neben einer zunehmenden Strahlungseinwirkung handelt es sich dabei in erster Linie um die auftretende Schwerelosigkeit (0g) beim Verlassen des Gravitationsfeldes der Erde. Im Rahmen dieser 0g-Bedingungen kommt es bei Astronauten zu einer Vielzahl physiologischer Veränderungen. Zu den markantesten Veränderungen beim Verlassen der Erdanziehungskraft zählt die unmittelbare Umverteilung des Flüssigkeits- und Blutvolumens innerhalb des Körpers in Richtung Thorax, was in den Extremitäten zu einer Hypo- und im Thorax zu einer Hypervolämie führt. In Abhängigkeit von der Dauer des Weltraumaufenthaltes treten unterschiedlich stark ausgeprägte Adaptationsprozesse in den Bereichen des Elektrolythaushaltes, des Immunsystems, des Herz-Kreislauf-Systems, der Ventilation und des aktiven und passiven Bewegungsapparates auf (MOORE ET AL. 1996). Diese physiologischen Veränderungen werden durch neurosensorische Veränderungen komplettiert, die aus einer fehlerhaften Verarbeitung afferenter Informationen der Gleichgewichtsorgane und des Lichtsinns resultieren und in der sogenannten „Space Motion Sickness“ enden können. Die physiologischen Anpassungen sind in erster Linie auf folgende Faktoren zurückzuführen:

- a. *den Verlust des gravitationsbedingten hydrostatischen Drucks der Blutsäule in der Schwerelosigkeit, durch den das kardio-vaskuläre System beeinflusst wird*
- b. *den Informationsverlust der gravitationsabhängigen Sinnesorgane für die räumliche Orientierung und den Verlust an physikalisch-physiologischen Stimuli des Lokomotionssystems*

Von besonderer Bedeutung bei der Betrachtung physiologischer Weltraumadaptationen ist die mit zunehmender Aufenthaltsdauer im Weltraum (Wochen bis Monate) abnehmende Funktionalität des Muskels. Dabei entwickeln sich neuro-muskuläre Veränderungen (BACHL ET AL. 1993), die sich in einer Reduktion der muskulären Leistungsfähigkeit manifestieren (ANTONUTTO ET AL. 1999). Ein wichtiges Ziel der Weltraumforschung ist es, die Physio- bzw. Pathophysiologie dieser Leistungsverminderung zu erarbeiten, um anschließend mit Hilfe gezielter Maßnahmen dieser Leistungsreduktion entgegen zu wirken. Die Aufrechterhaltung der Muskelfunktion hat insbesondere aus Sicherheitsgründen für die Astronauten eine zentrale Bedeutung (BACHL ET AL. 1993), was anhand des nachfolgenden Photos erläutert werden kann.



Zu sehen ist die Rückkehr des ESA-Astronauten Jean-Pierre Haigneré am 28.08.1999 nach Beendigung eines 6-monatigen Weltraumaufenthaltes auf der Raumstation Mir. Charakteristisch bei der Rückkehr ins Gravitationsfeld der Erde nach mehrmonatigen Raum-aufenthalten ist die Unfähigkeit der Astronauten, selbstständig die Weltraumkapsel zu verlassen, was sich aus der angesprochenen Leistungsverminderung erklärt. Die Ursachen dieser Leistungsreduktion der Muskulatur scheinen primär zellulärer Natur zu sein, werden aber möglicherweise sekundär durch eine erhöhte orthostatische Intoleranz verstärkt. Somit ist die Mobilität der Astronauten bei der Rückkehr zur Erde eingeschränkt, was ein großes Sicherheitsproblem der bemannten Raumfahrt in Notfall-Situationen während der Landeprozedur darstellt.



### Stand der Forschung

Im Verlauf von Weltraumaufenthalten kommt es zu einer Abschwächung vaskulärer, axonaler und kardiopulmonaler Reflexmechanismen (GUELL ET AL. 1993), die in der Schwerelosigkeit zunächst keine größere Bedeutung für die Astronauten haben. Unmittelbar bei der Rückkehr zur Erde weisen die Astronauten eine orthostatische Intoleranz auf (GÜELL ET AL. 1993, LATHERS UND CHARLES 1993), die zwar mit einem erhöhten Vagustonus in Verbindung gebracht wird, wobei jedoch der exakte Triggermechanismus nicht bekannt ist (GÜELL ET AL. 1993). Aufgrund eingeschränkter vasoaktiver Reflexmechanismen kommt es zu einer gravitationsbedingten Hypovolämie und -tonie (SANDLER UND VERNIKOS 1986, GÜELL ET AL. 1993). Um einem „Versacken“ des Blutes in die unteren Extremitäten entgegen zu wirken, tragen die Astronauten bei der Rückkehr Anti-G-Anzüge, durch die ein externer Druck auf die Extremitäten erzeugt werden kann. Dieser Druck sorgt für eine Kompression der Blutgefäße und wirkt einer venösen Blutansammlung in den unteren Extremitäten entgegen. Eine weitere Maßnahme, um der erhöhten orthostatischen Intoleranz entgegenzuwirken, ist die Erhöhung des Plasmavolumens durch Flüssigkeitsapplikationen (isotone Salzlösungen, Plasmaexpander) wenige Stunden vor dem Wiedereintritt in das Gravitationsfeld der Erde (GÜELL ET AL. 1993).

Das Fehlen der Gravitation hat insbesondere auf die Muskeln eine Auswirkung, die für die Lokomotion und die vertikale Körperhaltung des Menschen verantwortlich sind (BUCHANAN UND CONVERTINO 1989, CONVERTINO ET AL. 1989a). Durch die Nichtinanspruchnahme dieser Muskeln aufgrund des fehlenden Gravitationsimpulses kommt es zu einer Verminderung des Muskeltonus (KAKURIN ET AL. 1990), zu einer Kraftabnahme der Beuge- und Streckmuskulatur in den oberen und unteren Extremitäten, zu einer Muskelatrophie (THORNTON UND RUMMEL 1977) und einem ausgeprägten Proteinkatabolismus (JOHNSTON UND DIETLEIN 1977, LEACH 1981, GRIGORIEV UND KOZLOVSKAYA 1987). Außerdem nimmt die neuro-muskuläre Effizienz (LAFEVERS ET AL. 1976) ab, die anhand der neuro-muskulären Aktivität und Kraft ermittelt wird.

Die Weltraumforschung wird mit dem Problem konfrontiert, dass sie lediglich über ein relativ geringes und zudem unterschiedliches Probandenkollektiv (Mensch und Tier) verfügt. Dieses Handicap versucht man dadurch zu kompensieren, dass Versuchsbedingungen auf der Erde geschaffen werden, die ähnliche physiologische Veränderungen hervorrufen, wie sie in der Schwerelosigkeit zu beobachten sind. Zu diesen Simulationsexperimenten gehören beispielsweise sogenannte „Head-Down-Tilt“-Studien, bei denen sich die Probanden während einer mehrwöchigen „Bed-Rest“-Phase in einer Kopftieflage von  $-6^\circ$  befinden. Durch die Kopftief-

lage kommt es zu einer vergleichbaren Flüssigkeitsverschiebung wie in der Schwerelosigkeit und zusätzlich werden durch die Bettruhe auch die Antigravitationsmuskeln entlastet. Ergänzend dazu werden „Hindlimb-Suspension“-Versuche durchgeführt, in denen die hinteren Extremitäten von Ratten durch das Anheben des Hinterleibes mit Hilfe einer am Schwanz befestigten Hebekonstruktion entlastet werden. Am Menschen werden diese Suspension-Versuche unter Anwendung von Gehhilfen durchgeführt, so dass der Unterschenkel eines Beines absolut entlastet wird (BERG UND TESCH 1993 und 1996).

Die Analyse von „Inflight“- und „Ground-Based-Simulation“-Experimenten zeigt, dass es infolge muskulärer Inaktivität zu einer Reduktion der Proteinsynthese und zu einer Abnahme der Proteinmenge kommt (GRIGORIEV 1987), die sich in einer erhöhten Exkretion stickstoffhaltiger Metabolite im Urin niederschlägt. Die Reduktion der Proteinsynthese kann anhand einer Abnahme der mRNA beobachtet werden (MUSACCHIA ET AL. 1983). Die Reduzierung der Muskelmasse (Muskelatrophie) geht einher mit einer verminderten Expression von Myosin-Heavy-Chain-Isoformen (CAIOZZO ET AL. 1992, DIFFEE ET AL. 1993). Die Muskelatrophie ist dabei sowohl nach Weltraumaufenthalten (GAZENKO ET AL. 1981) als auch im Verlauf von Bed-Rest-Studien (SALTIN ET AL. 1968, HIKIDA ET AL. 1989) festzustellen und betrifft vornehmlich ST-Fasern (BALDWIN ET AL. 1984, OHIRA ET AL. 1992, RILEY ET AL. 1992). Der Vergleich von „Inflight“- und „Simulations“-Ergebnissen zeigt, dass die Atrophie während der Bed-Rest-Studien sogar etwas ausgeprägter zu sein scheint. Trotz der beschriebenen metabolischen und histologischen Veränderungen gibt es Untersuchungsbefunde, aus denen hervorgeht, dass die Ermüdbarkeit der ST-Fasern während muskulärer Arbeit dadurch nicht erhöht wird (HERBERT ET AL. 1988, WINIARSKI 1987). Dies bedeutet nicht zwangsläufig einen Widerspruch zu den Befunden, wonach die Muskelatrophie verstärkt bei Muskeln mit einem hohen ST-Faseranteil auftritt, wenn neuro-muskuläre Ursachen in Erwägung gezogen werden.

Untersuchungen des Energiestoffwechselsverhaltens der Muskeln lassen keine Veränderungen erkennen. Dies konnte beispielsweise im Rahmen eines 5 – 11-tägigen Weltraumaufenthalts nachgewiesen werden, wo es zu keiner nennenswerten Beeinflussung der oxidativen Enzymkapazität des M. vastus lateralis gekommen ist (EDGERTON ET AL. 1995). Im Gegensatz dazu konnte ein Anstieg glykolytischer Enzyme in ST-Fasern festgestellt werden, der jedoch nicht in FT-Fasern vorhanden war (EDGERTON ET AL. 1995). BERG ET AL. 1993 kommen in einer „Lower-Limb-Suspension“-Studie zu dem Ergebnis, dass es weder zu Veränderungen des Muskelfaser-Kapillar-Verhältnisses noch der glykolytischen Kapazität kommt, wobei hier das Enzym Phosphofruktokinase als Indikator dient. Lediglich eine Abnahme der oxidativen Kapazität, dokumentiert anhand eines repräsentativen oxidativen Enzyms des Citratzyklus, der

Citratsynthase (E.C. 4.1.3.7), konnte beschrieben werden. In einer jüngeren Studie konnte dieselbe Arbeitsgruppe (BERG ET AL. 1997) zeigen, dass im Verlauf einer 6-wöchigen Bed-Rest-Studie keine nennenswerten Veränderungen der MHC-Isoformen und der Muskelfaserzusammensetzung auftreten.

In einer der wenigen Studien, die sich mit der Analyse des muskulären Energiemetabolismus befassen, konnten ZANGE ET AL. 1997 mittels  $^{31}\text{P}$ -MRS zeigen, dass es infolge eines knapp 4-wöchigen bzw. eines 6-monatigen Raumaufenthalts weder zu Veränderungen der glykolytischen noch des oxidativen Energiestoffwechsels kommt, aber dennoch eine stoffwechselunabhängige Belastungsintoleranz nachzuweisen ist. Interessanterweise scheint es jedoch zu einer Verschlechterung des physiologischen Wirkungsgrads gekommen zu sein, was aus dem initialen PCr-Abfall während einer ischämischen Kontraktion abgeleitet wurde (ZANGE ET AL. 1997). Veränderungen der Muskelfaserzusammensetzung scheinen bei dieser physiologischen Reduktion des Wirkungsgrades jedoch keine Rolle zu spielen, was anhand parallel durchgeführter Muskelbiopsien desselben Probandenkollektivs gezeigt werden konnte (SHENKMAN ET AL. 1996).

Basierend auf den Untersuchungsergebnissen von ZANGE ET AL. 1997 stellt sich die Frage, warum Astronauten bei einer verhältnismäßig gering ausgeprägten Muskelatrophie von ca. 9 - 13 % der Muskelmasse (unabhängig von der Flugdauer) in der frühen Phase der Rückkehr zur Erde an einer ausgeprägten Reduktion der Leistungsfähigkeit leiden. So werden unterschiedlich starke Veränderungen der Muskelatrophie beobachtet, die alle mit einer Verringerung der Leistungsfähigkeit einhergehen. ANTONUTTO ET AL. 1999 konnten nachweisen, dass ein 31- bzw. 180-tägiger Raumaufenthalt mit einer Reduktion der „maximal explosive power“ von 67 % bzw. 45 % und einer Verringerung der „maximal cycling power“ um 75 % einhergeht. Jedoch waren diese Veränderungen der Leistungsfähigkeit unverhältnismäßig größer als die durch ZANGE ET AL. 1997 beobachtete Muskelatrophie am selben Probandenkollektiv. Anhand dieses Befundes vermuten ANTONUTTO ET AL. 1999 eine Veränderung der neuro-muskulären Rekrutierung. BERG ET AL. 1997 gewinnen in Simulationsversuchen am Menschen das Ergebnis, dass es zu keinen wichtigen Veränderungen der kontraktile Eigenschaften im Verlauf einer 4-wöchigen Bed-Rest-Studie kommt. Vielmehr soll der aufgetretene Kraftverlust auf neuro-physiologische Veränderungen zurückzuführen sein. Die Tatsache, dass dieselbe Arbeitsgruppe in einer vorangegangenen Lower-Limb-Suspension-Studie an einem männlichen Probandenkollektiv den Einfluss einer neuro-physiologischen Veränderung verneint, verdeutlicht die Schwierigkeit, weltraumrelevante physiologische Phänomene zu

untersuchen. Darüber hinaus stellen BERG ET AL. 1996 fest, dass es einen Gewebefaktor gibt (*unspecific tissue factor*), der die Muskelfunktion beeinträchtigt.

### Fragestellung

Versucht man die angeführten Daten zusammenzufassen, so wird schnell klar, dass es zum Teil widersprüchliche Aussagen über biochemische und histologische Veränderungen infolge der Og-Exposition gibt. Die teils kontroversen Untersuchungsbefunde werden ① durch das geringe und unterschiedliche Probandenkollektiv und ② durch den Vergleich unterschiedlicher Versuchsmodelle ausgelöst, wo begrenzt vorliegende Weltraumexperimente mit Simulationsexperimenten auf der Erde korreliert werden (CONVERTINO UND NORSK 1999, Diskussion anlässlich des 20<sup>th</sup> Annual Gravitational Physiology Meeting, Orlando, USA).

Gegenstand dieses Forschungsvorhabens ist es, an einem gesunden Probandenkollektiv zu untersuchen, inwieweit die Physiologie des Muskels in Ruhe und bei körperlicher Arbeit von der Körperlage bzw. der Flüssigkeitsverteilung beeinflusst wird. Im Rahmen dieser Fragestellung soll die Flüssigkeitsverteilung, wie sie in vertikaler Körperlage normalerweise gegeben ist, passiv durch ein in der Weltraumforschung eingesetztes Unterdruckverfahren (LBNP, vgl. 2.1.2) in supiner Körperlage simuliert werden. Durch diese LBNP-Technik kommt es zu einer Flüssigkeitsverschiebung in Richtung der unteren Extremitäten. Dabei kann die Flüssigkeitsverteilung innerhalb des sich in supiner Position befindlichen Körpers so manipuliert werden, dass sie mit der Flüssigkeitsverteilung des Menschen in der aufrechten Körperlage vergleichbar ist. Diese Art der Flüssigkeitsverschiebung ist ein alltäglich zu beobachtendes Phänomen, beispielsweise beim Lagewechsel des Körpers aus der liegenden in die aufrechte Position.

Zur Bedeutung von Flüssigkeitsverschiebungen auf die muskuläre Leistungsfähigkeit liegen bislang sehr wenige Arbeiten vor. Bei der Frage nach der Bedeutung der Körperlage und damit zusammenhängend der Flüssigkeitsverteilung sind mehrere Aspekte von Interesse. Die Arbeitsgruppe von RATKEVICIUS ET AL. 1998 untersuchte den Energiestoffwechsel der Mm. gastrocnemius und soleus im Verlauf definierter Arbeitsprotokolle mittels <sup>31</sup>P-MRS und Elektromyographie. Dabei kommen die Untersucher zu dem Ergebnis, dass die elektrische Aktivität gemessen u. a. am relativen rmsEMG, in der liegenden Körperlage höher ausfällt, als in der sitzenden Position. Aus diesem Grund äußern sie die Vermutung, dass die Körperlage einen Einfluss auf die Muskelfaserrekrutierung besitzt (RATKEVICIUS ET AL. 1998). Stark abhängig von der Körperlage ist u. a. das interstitielle Volumen. ESSFELD UND BAUM 1996 vermuten einen im Interstitium des Muskels lokalisierten, gravitationsabhängigen Mechanismus,

über den das Herz-Kreislauf-System via III- und IV-Afferenzen manipuliert wird. Dabei wurde die Flüssigkeitsverschiebung innerhalb des Körpers passiv mit Hilfe eines kippbaren Stuhls hervorgerufen. Daraus lässt sich der Anfangsverdacht ableiten, dass eben solch ein volumenabhängiger Sensor im Interstitium neben dem Einfluss auf das Herz-Kreislauf-System auch einen Einfluss auf neuro-muskuläre Ereignisse besitzen könnte. Dies könnte bedeuten, dass es sich bei dem von BERG ET AL. 1996 postulierten „*unspecific tissue factor*“ um diese interstitielle Volumenkomponente handelt.

In jüngster Zeit mehren sich die Indizien, wonach die Funktionsweise des Mineralcorticoids Aldosteron nicht ausschließlich auf einen langsamen (im Bereich von Stunden) Effekt hinsichtlich der Proteinsynthese beschränkt ist. Vielmehr konnte dem Aldosteron zusätzlich eine schnelle (Minuten), nicht-genomische Wirkungsweise zugewiesen werden. Untersuchungen von OBERLEITHNER ET AL. 1987 und von WEHLING ET AL. 1989, 1991, 1992 UND 1993 an amphibischen Zellen des Nierentubulus und an menschlichen, mononuklearen Leukozyten belegen, dass es zu einer schnellen Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiports durch Aldosteron kommt. Da bei der Rückkehr der Astronauten eine gravitationsbedingte Hypovolämie und -tonie eintreten, die durch eine Zunahme der venösen Compliance infolge des Allaufenthalts verstärkt wird (CONVERTINO ET AL. 1989b), ist zu vermuten, dass dadurch eine Erhöhung der [Aldo] eingeleitet wird. HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996 konnten in Versuchen mittels LBNP-Technik zeigen, dass es bei einer in supiner Körperlage simulierten Orthostase bereits nach 20 Minuten zu einer annähernden Verdopplung der [Aldo] kommt und diese Konzentrationserhöhung somit von physiologischer Bedeutung sein kann. Denkbar wäre, dass es durch die beschriebenen physiologischen Reaktionen der Astronauten bei der Rückkehr ins Gravitationsfeld der Erde, zu einer Aldosteronsekretion und infolgedessen zu einer Stimulation der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter kommt (WEHLING 1998). Dies könnte über den Anstieg der intrazellulären  $\text{Na}^+$ -Konzentration zu einer zellulären Ödembildung (BAROIN 1984) führen, da intrazelluläres  $\text{Na}^+$  osmotisch wirksam ist und Wasser bindet. So können Ödeme einen Einfluss auf den Energiestoffwechsel von Makrophagen haben (ROBIN UND THEODORE 1976, LEWISTON ET AL. 1976), wobei für den Skelettmuskel bislang noch keine Befunde vorliegen.

Durch die Aldosteron-induzierte Aktivitätserhöhung der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter würde sich die Protoneneliminationsrate erhöhen; dies würde zu einer Alkalinisierung der Muskelfasern führen und die glykolytische Stoffwechselrate während muskulärer Arbeit verbessern (SUTTON ET AL. 1981). Die erhöhte Protoneneliminationsrate könnte darüber hinaus die pH-abhängige negative Rückkopplung der Phosphofruktokinase reduzieren (WU UND DAVIS 1981), was den glykolytischen Energiestoffwechsel ebenfalls verbessern sollte. Da  $\text{P}_i$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und der  $\text{pH}_i$  mit-

einander in einem chemischen Gleichgewicht stehen, könnte die Alkalinisierung zusätzlich auf die muskuläre Ermüdung einwirken, denn das  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  wird derzeit von einigen Arbeitsgruppen (WILSON ET AL. 1988, MILLER 1988, DEGROOT ET AL. 1993), jedoch nicht von allen (COOKE AND PATE 1990, ADAMS ET AL. 1991, MAASSEN ET AL. 1993, SCHNEIDER ET AL. 1994) als Ursache muskulärer Ermüdung favorisiert.

Für die körperliche Verfassung der Astronauten bei der Rückkehr ins Gravitationsfeld der Erde könnten auch die Katecholamine von Bedeutung sein. Es ist zu vermuten, dass die Katecholamin-Konzentration ebenfalls erhöht ist, um den peripheren Widerstand zu erhöhen und um so eine Zentralisation des Blutes zu bewirken. Eine Erhöhung der Katecholamine würde die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase stimulieren, eine Erhöhung der intrazellulären  $\text{K}^+$ -Konzentration hervorrufen (BALANYI 1988, CLAUSEN 1996) und so für eine Hyperpolarisation der Muskelfasermembran sorgen. Dieser Befund könnte ebenso die muskuläre Leistungsfähigkeit beeinflussen, wenn es durch die Veränderung der neuro-muskulären Eigenschaften zu einem veränderten Innervationsmuster der Muskeln kommt.

Dem Calcium wird eine große Bedeutung im Rahmen muskulärer Ermüdungsprozesse zugewiesen (WESTERBLAD 1992, FITTS 1994, FAVERO 1999). WEHLING ET AL. 1998 weisen auf den Befund hin, wonach das Aldosteron auch für einen Anstieg der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  im Zytosol verantwortlich ist. Die Erhöhung der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  könnte eine Aktivierung von Phospholipasen, die Bildung von Eicosanoiden und möglicherweise die Freisetzung von Oxidantien hervorrufen (KRISTENSEN 1994). Dies kann zu Zellschädigungen führen, wodurch die Homöostase und die Leistungsfähigkeit der Muskelfaser beeinträchtigt wird. Auch im Rahmen neuro-muskulärer Ereignisse spielt  $\text{Ca}^{2+}$  eine große Rolle. Steigt die intrazelluläre  $[\text{Ca}^{2+}]$  an ohne dabei eine Kontraktion auszulösen, so kann dieser Vorgang sich maßgeblich auf das Membranpotenzial auswirken. Untersuchungen von HILLE 1992 verdeutlichen, dass ein Anstieg der  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  beispielsweise  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängige  $\text{K}^+$ -Kanäle aktiviert. Dies kann eine Hyperpolarisation des Membranpotenzials bewirken und somit die muskuläre Erregbarkeit des Sarkolemms herabsetzen. Somit könnte das Aldosteron indirekt über die Veränderung der intrazellulären Calciumkonzentration eine Einflussgröße darstellen, die an der muskulären Leistungsreduzierung der Astronauten beteiligt ist.

Erste Voruntersuchungen von BAERWALDE ET AL. 1999 (aus Gründen der Veröffentlichungspriorität wurden bereits Auszüge dieser Arbeit publiziert, vgl. Anhang F) deuten darauf hin, dass es infolge einer durch die LBNP-Technik induzierten Flüssigkeitsverschiebung zu einer Veränderung des Energiestoffwechsels und zu einer früher einsetzenden Muskelermüdung

kommt. Da die „muskuläre Ermüdung“ unterschiedlich definiert wird und die Ursachen dieser Ermüdung ohnehin nicht ausreichend geklärt sind (GANDEVIA, THOMAS UND MCCOMAS 1996), wird für diese Arbeit folgende Definition festgelegt: Muskuläre Ermüdung wird definiert als *das Unvermögen, eine im Vorfeld festgelegte Kraft während einer Kontraktion konstant aufrecht zu erhalten* (in Anlehnung an EDWARDS 1981 und BOTTERMAN 1995).

Alle bis dato aufgelisteten Befunde führen zu der Annahme, dass die bei Astronauten festzustellende muskuläre Leistungsreduktion unmittelbar bei der Rückkehr zur Erde maßgeblich durch die orthostatische Intoleranz und die muskulären Veränderungen beeinflusst wird, wobei eine exakte Differenzierung zwischen beiden Komponenten schwierig ist. Basierend auf den unterschiedlichen, zeitabhängigen Veränderungen, die durch eine Weltraumexposition hervorgerufen werden, scheinen weitere, bislang noch nicht näher zu spezifizierende Faktoren an der Leistungsreduktion beteiligt zu sein.

Aus den in der Einleitung vorgestellten und zum Teil kontroversen Befunden der physiologischen und histochemischen Veränderungen im Stoffwechsel der Astronauten nach einer Weltraumexposition und den ergänzend vorliegenden Befunden der Simulationsversuche ergibt sich folgende Arbeitshypothese:

**① Es ist zu erwarten, dass bei einem Vergleich zwischen aufrechter (orthostatischer) und liegender (supiner) Position eines Probanden ein Muskel der unteren Extremität im Verlauf einer definierten Arbeit in orthostatischer Lage früher ermüdet.**

Daraus ergeben sich die folgenden Fragestellungen: Es wird untersucht, **② inwieweit es infolge der Flüssigkeitsverschiebung zu einer Veränderung des Energiestoffwechsels kommt. Des Weiteren soll geklärt werden, ob ③ durch die Flüssigkeitsverschiebung neuro-muskuläre Veränderungen während einer Kontraktion auftreten. Abschließend wird der Frage nachgegangen, ob ④ das zu beobachtende Phänomen muskulärer Ermüdung in Abhängigkeit zu einer Veränderung des zentralen (thorakalen) Flüssigkeitsvolumens steht.**



## 2 Methodik

Dieses Forschungsvorhaben umfasst drei Studien, die nachfolgend als **Studie I<sub>31P-MRS</sub>**, **Studie II<sub>Q</sub>** und **Studie III<sub>UENP</sub>** bezeichnet werden, in denen Ergometrien mit kleinen Muskelgruppen durchgeführt werden. Das Ablaufprotokoll der **Studien I<sub>31P-MRS</sub>** und **II<sub>Q</sub>** ist identisch; es kommen allerdings unterschiedliche Untersuchungs- und Messmethoden zum Einsatz, um mess- und labortechnische Limitierungen einzelner Methoden zu kompensieren. Damit soll die Diskussion der Ergebnisse – insbesondere der **Studie I<sub>31P-MRS</sub>** – auf eine methodisch abgesicherte Basis gestellt werden. Aufgrund dieser Tatsache erfolgt die Diskussion dieser Studien zusammenhängend. Aus den Ergebnissen der **Studien I<sub>31P-MRS</sub>** und **II<sub>Q</sub>** ergibt sich eine weiterführende Fragestellung, die mit Hilfe der **Studie III<sub>UENP</sub>** beantwortet und auch getrennt von den **Studien I<sub>31P-MRS</sub>** und **II<sub>Q</sub>** diskutiert wird.

Die Untersuchungen zur **Studie I<sub>31P-MRS</sub>** wurden am Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt (DLR) in der Forschungsgruppe „Kernresonanztechnik“ des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin durchgeführt. Die weiterführenden, nicht-spektroskopischen Versuche zu den **Studien II<sub>Q</sub>** und **III<sub>UENP</sub>** hingegen wurden in der Abteilung Sport- und Arbeitsphysiologie des Zentrums Physiologie der Medizinischen Hochschule Hannover realisiert. Um Aussagen über den intrazellulären Energiestoffwechsel treffen zu können, wurde in **Studie I<sub>31P-MRS</sub>** ein Kernresonanzgerät eingesetzt. Mittels der nicht-invasiven <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie (<sup>31</sup>P-MRS, vgl. Kap. 2.1.1) ist es möglich, zentrale Parameter des Energiestoffwechsels – wie z. B. das Creatinphosphat (PCr), das Adenosintriphosphat (ATP), die Phosphomonoester (PME) und den intrazellulären pH-Wert (pH<sub>i</sub>) – zu untersuchen. Obwohl die <sup>31</sup>P-MR-Spektroskopie einen Einblick in die Energetik der Zelle in vivo bietet, ist es für eine spätere, integrative Diskussion der Ergebnisse von Bedeutung, zusätzliche Parameter zu akquirieren, da intrazelluläre Stoffwechselprozesse maßgeblich durch extrazelluläre Parameter, beispielsweise die Durchblutung, beeinflusst werden.

In **Studie I<sub>31P-MRS</sub>** wurde der Energiestoffwechsel des M. tibialis anterior von 21 gesunden Probanden mit Hilfe der <sup>31</sup>P-MRS während eines definierten Arbeits- und Erholungsprotokolls bei unterschiedlichen atmosphärischen Umgebungsbedingungen untersucht. Zur Beeinflussung der Umgebungsbedingungen wurde die Technik des „Lower Body Negative Pressure“ (LBNP) eingesetzt (vgl. Kap. 2.1.2). In dieser Studie wurden bei jedem Probanden je zwei Experimente (REFERENZ- und LBNP-Versuch) durchgeführt, die sich lediglich durch den äußeren Umgebungsdruck auf die unteren Extremitäten unterschieden. Als Zielgrößen dienten hierbei die rel. Konzentrationen des PCr, des ATP, der PME sowie des P<sub>i</sub>. Anhand dieser Parameter lassen

sich darüber hinaus die rel. [ADP], der  $\text{pH}_i$ , die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse sowie die relative mitochondriale ATP-Syntheserate berechnen. Um Aussagen über neuro-muskuläre Ereignisse treffen zu können, wurde der Muskel zusätzlich elektromyographisch (vgl. 2.1.3) untersucht. Diese Parameter im Rahmen der Fragestellung zu untersuchen bzw. die  $^{31}\text{P}$ -MRS als Methode heranzuziehen, liegt in der nicht-invasiven und mit sehr hoher zeitlicher Auflösung arbeitenden Messtechnik begründet, die Aussagen über intrazelluläre Energiestoffwechselprozesse zulässt. Optimal wäre eine Analyse des Energiestoffwechsels bei einer kombinierten Betrachtung von  $^{31}\text{P}$ -MRS und blutchemischen Parametern, da so ein wesentlich komplexeres Bild der Muskelphysiologie entstehen würde. Dies stellt jedoch insbesondere die MR-Spektroskopie vor methodische Probleme. Aufgrund des starken Magnetfeldes (4.7 Tesla) können nur begrenzt ferromagnetische Materialien bzw. Geräte im Untersuchungsraum eingesetzt werden, da sie ein großes Gefahrenpotenzial in sich bergen. Jeder ferromagnetische Gegenstand würde sich innerhalb des Magnetaumes – sofern er nicht fixiert wäre – zu einem fliegenden „Geschoss“ entwickeln. Dadurch wird der Einsatz zusätzlicher Messgeräte und die Aufzeichnung zusätzlicher Parameter eingeschränkt. Selbst die Installation von Messgeräten außerhalb des Magnetaumes bereitet Probleme, da in den Magnetaum führende Kabel als „Antennen“ fungieren würden, wodurch Hochfrequenzsignale nach innen geleitet und die Aufnahmequalität der  $^{31}\text{P}$ -MRS-Messung in erheblichem Maße gestört werden würde.

Aus Gründen der methodischen Klärung und zur Absicherung von Diskussionsinhalten wurden außerdem 2 Zusatzstudien durchgeführt (**Methodenkontroll-Studie** und **LBNP<sub>kurz</sub>-Studie**), die sich lediglich durch geringfügige Veränderungen im Arbeitsprotokoll von der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  unterscheiden. Da der in Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  angewandte Versuchsaufbau bis zum heutigen Tage in dieser Form noch nicht beschrieben wurde, war es notwendig, diesen auf methodische Fehler hin zu untersuchen. Hierzu dient die **Methodenkontroll-Studie**. Die **LBNP<sub>kurz</sub>-Studie** wurde konzipiert, um eine inhaltlich weiterführende Diskussion zu gewährleisten. Ihre Ergebnisse werden im Rahmen der Gesamtdiskussion der Studien  $I_{31\text{P-MRS}}$  und  $\text{II}_Q$  mit einfließen. Aufgrund der geringen Veränderungen werden die beiden Zusatzstudien im Rahmen der Präsentation von Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  ergänzend beschrieben. Die Intention und Aussagekraft der Zusatzstudien wird im Verlauf der Methodendiskussion (Kap. 4.1) und der Gesamtdiskussion (Kap. 4.3) eingehender erläutert.

Bei **Studie  $\text{II}_Q$**  handelt es sich um eine Simulation der **Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$**  außerhalb des Kernresonanzgerätes, an der sieben Probanden beteiligt waren. Studie  $\text{II}_Q$  wurde in einer faltbaren Unterdruck-Box durchgeführt (LBNP-Box, vgl. Kap. 2.2), wie sie bei Weltraumexperimenten eingesetzt wird. Durch diese Technik konnten Versuchsbedingungen geschaffen werden, die mit denen der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  vergleichbar sind. Somit ist ein direkter Vergleich der Studien

$I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  möglich. Studie  $II_Q$  lässt die Akquisition relevanter kardio-vaskulärer, ventilatorischer und neuro-physiologischer Parameter zu. Folgende Zielgrößen wurden in dieser Studie  $II_Q$  untersucht: die Durchblutung, die elektrische Aktivität der arbeitenden Muskulatur mittels EMG-Ableitung sowie die Ventilation. Die Auswahl dieser Parameter ergab sich aus den Befunden der Studie  $I_{31P-MRS}$ . Hieraus ließen sich die folgenden Fragen ableiten: Welche Bedeutung hat die Beindurchblutung während der bei Unterdruck durchgeführten Ergometrien und welche elektrophysiologischen Veränderungen können beim arbeitenden (kontrahierenden) Muskel beobachtet werden.

Der in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  erzeugte Unterdruck induziert eine verhältnismäßig große, das zentrale Blutvolumen reduzierende Flüssigkeitsverschiebung, da die unteren Extremitäten und der Pelvis-Bereich als Flüssigkeitsspeicher dienen (vgl. Kap. 2.1.2). Um zu untersuchen, ob und inwieweit das zentrale Blutvolumen einen Einfluss auf die in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  beschriebenen Ergebnisse hat, wurde **Studie III<sub>UENP</sub>** konzipiert. Abweichend zu den vorangegangenen Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  wurde in der **Studie III<sub>UENP</sub>** nicht der M. tibialis anterior, sondern die Finger-Flexoren-Gruppe des Unterarmes (Mm. flexor digitorum superficialis und profundus) von sieben Probanden untersucht (vgl. Kap. 2.3). Der Vorteil des Muskelwechsels liegt im wesentlich niedrigeren Unterarmvolumen begründet. Im Gegensatz dazu war ein auf den M. tibialis anterior lokal begrenztes Unterdruck-Manöver nicht möglich.

Die durch eine am Unterarm induzierte Flüssigkeitsverschiebung ist im Vergleich zu einer regulären LBNP der unteren Extremitäten um ein Vielfaches kleiner. Somit wird in **Studie III<sub>UENP</sub>** lediglich eine lokale, das Flüssigkeitsvolumen innerhalb des Thorax nicht weiter beeinflussende Flüssigkeitsverschiebung bewirkt. Eine Unterarmergometrie mittels  $^{31}P$ -MRS war jedoch aufgrund der geometrischen Abmessungen des zur Verfügung stehenden Kernresonanzgerätes nicht realisierbar; deshalb wurde in **Studie III<sub>UENP</sub>** eine blutchemische Analyse relevanter Energiestoffwechselfparameter durchgeführt. Im Einzelnen wurden bestimmt: Säure-Basen-Status, Laktat, Elektrolyte, Osmolalität, anorganischen Phosphate, Hämatokritwert, Hämoglobinkonzentration und Sauerstoffsättigung. Anhand dieser Parameter ist eine indirekte Analyse des Energiestoffwechsels möglich, denn Veränderungen im Bereich glykolytischer und oxidativer Energiestoffwechselprozesse – beispielsweise Veränderungen in der Protonenproduktion oder -elimination – spiegeln sich in zahlreichen blutchemischen Parametern (Laktat, pH,  $PO_2$ ,  $PCO_2$ ) wider.

Die Arbeit mit der Finger-Flexoren-Gruppe des Unterarmes verlangt ein angepasstes Arbeits- und Regenerationsprotokoll, um einem vorzeitigen Abbruch des Experiments durch den Probanden vorzubeugen. Auf diese Veränderungen wird im weiteren Verlauf der Arbeit detailliert eingegangen.

## 2.1 Studie I<sub>31P-MRS</sub>

Ziel dieser Studie ist es, den M. tibialis anterior mittels <sup>31</sup>P-MRS im Verlauf einer definierten Arbeit unter zwei verschiedenen Bedingungen zu untersuchen. Das dafür entworfene Versuchsdesign umfasste zwei Experimente (**A** und **B**), wobei Experiment **A** im Folgenden als „REFERENZ-Versuch“ und Experiment **B** als „LBNP-Versuch“ bezeichnet werden. Der REFERENZ-Versuch wurde bei einem normalen, äußeren, atmosphärischen Umgebungsdruck durchgeführt, während der LBNP-Versuch bei einem subatmosphärischen Druck von -40 mmHg stattfand. Der Unterdruck war lediglich auf die unteren Extremitäten beschränkt, weshalb diese Technik im medizinisch-naturwissenschaftlichen Arbeitsbereich auch als „Lower Body Negative Pressure“-Technik (LBNP) bezeichnet wird. Für ein besseres Verständnis des apparativen Versuchsaufbaus werden zunächst die methodischen Aspekte der Kernspinspektroskopie (<sup>31</sup>P-MRS), der LBNP und der Elektromyographie erläutert, bevor Versuchsaufbau und -ablauf beschrieben werden. Die Darstellung ausgewählter Arbeitsprozesse sowie die Berechnungsgrundlage relevanter Parameter erfolgen anschließend.

### 2.1.1 <sup>31</sup>P-MRS

Bei der Kernspinspektroskopie (MRS) handelt es sich um eine Technik, die im Gegensatz zur Kernspintomographie erst in jüngster Zeit für das medizinisch-biologische Arbeitsfeld entdeckt wurde, ihren Ursprung allerdings im Jahre 1945 besitzt (BLOCH ET AL. 1946; PURCELL ET AL. 1946). Die Kernspinspektroskopie ermöglicht einen nicht-invasiven Einblick in biochemische und physiologische Prozesse von Zellen und Geweben *in vivo*. Sie erlaubt sowohl eine Analytik in Bezug auf den Aufbau chemischer Strukturen sowie die zeitaufgelöste Betrachtung (Kinetik) ausgewählter Metabolite. Mit Hilfe der Kernspinspektroskopie können relative Konzentrationen von Substanzen (> 1 mmol/l) gemessen werden (HAUSSER UND KALBITZER 1989). Neben der Protonenspektroskopie mit Wasserstoffkernen ist die <sup>31</sup>P-MRS ein Hauptanwendungsgebiet der Kernspinspektroskopie. Dabei können die „energiereichen Phosphate“ (LIPPMANN 1941, VANDENBOURNE 1995) Adenosintriphosphat (ATP), Creatinphosphat (PCr), die Phosphomonoester und Phosphodiester (PME und PDE) sowie die anorganischen Phosphate (P<sub>i</sub>) untersucht werden. Zusammen mit dem Adenosindiphosphat (ADP) handelt es sich bei diesen Metaboliten und dem pH-Wert um die wichtigsten Parameter bei der nicht-invasiven Untersuchung des zellulären Energiestoffwechsels, insbesondere der Muskelzellen. Aufgrund der molekularen Zusammensetzung und der Wechselwirkung mit dem sie umgebenden Milieu bedient man sich bei der Analyse dieser Metabolite der <sup>31</sup>P-MRS. Die folgende Einführung in die Methodik der <sup>31</sup>P-MRS basiert auf den Werken von GADIAN (1984), HAUSSER UND KALBITZER (1989), RADDI (1992) und GÜNTHER (1992).

Das Prinzip der MR-Spektroskopie beruht auf der Eigenschaft einiger Atomkerne, einen Drehimpuls zu besitzen. Da Atomkerne Träger einer elektrischen Ladung sind, führt die Eigenrotation der Atomkerne (Kernspin  $J$ ) zu einem magnetischen Moment  $\mu_I$  und kann wie folgt beschrieben werden (Formel 2.1):

$$\mu_I = \gamma_I J = \hbar \gamma_I I \quad (2.1)$$

$J$  Drehimpuls,  $\gamma_I$  gyromagnetisches Verhältnis ( $^{31}\text{P}$ :  $1,08 \cdot 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ),  $\hbar$  Plancksches Wirkungsquantum  $6,6 \cdot 10^{-34} \text{ Js}^{-1}$ ,  $I$  Kernspin

Werden nun Atome mit einem Kernspin ungleich Null einem starken, homogenen äußeren Magnetfeld ( $B_0$ ) ausgesetzt – was in der Regel mit Hilfe eines Magneten mit supraleitenden Spulen (vgl. Abb. 1) erreicht wird – so nehmen sie aufgrund ihrer quantenmechanischen Eigenschaften unterschiedliche energetische Zustände ein. Kerne mit dem Spin  $\frac{1}{2}$  eignen sich besonders für die MR-Spektroskopie, da nur genau zwei Energieniveaus, parallel ( $+\frac{1}{2}$ ) oder antiparallel ( $-\frac{1}{2}$ ), zu den Feldlinien des Magnetfeldes ( $B_0$ ) eingenommen werden. Dazu zählen neben Wasserstoff ( $^1\text{H}$ ) z. B. Phosphor ( $^{31}\text{P}$ ), Fluor ( $^{19}\text{F}$ ) und das Kohlenstoff-Isotop ( $^{13}\text{C}$ ).

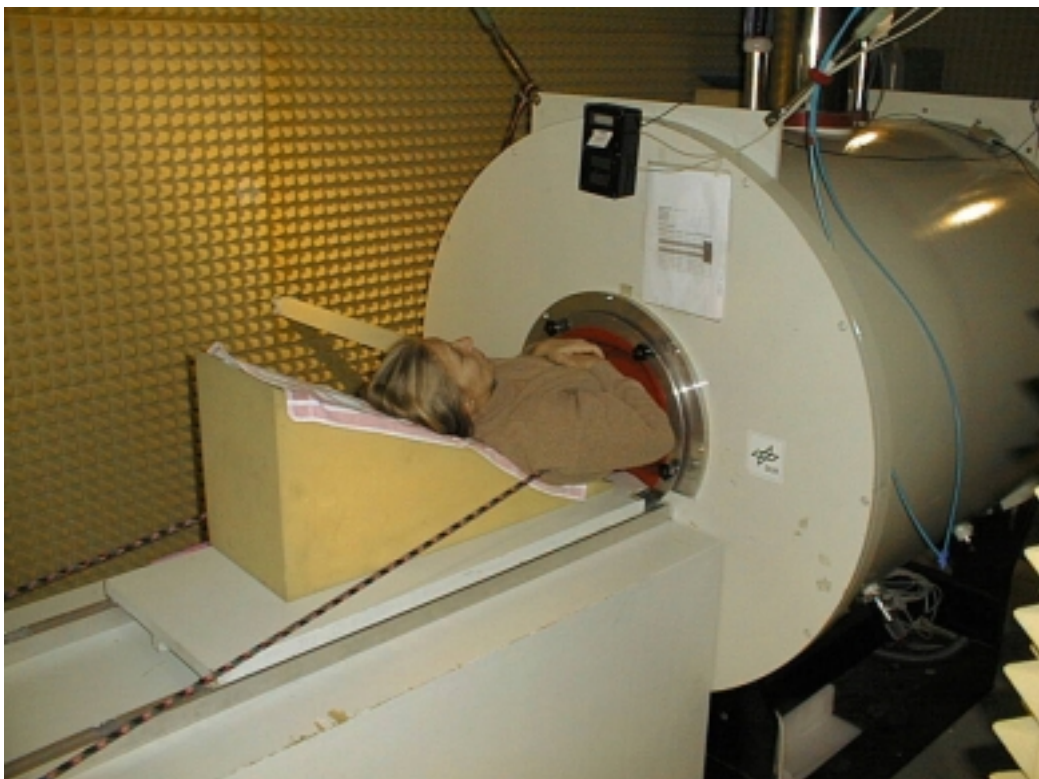


Abbildung 1: Kernresonanzgerät des DLR für die  $^{31}\text{P}$ -MRS-Messungen

Die magnetischen Momente aller Atomkerne summieren sich zu einer Gesamtmagnetisierung (Summenvektor  $M$ ), welcher parallel zur  $z$ -Achse ausgerichtet ist. Dabei führen die Atome, die man auch als magnetische Kreisel bezeichnen könnte, eine Lamorpräzession (Lamorfrequenz) mit der Kreisfrequenz  $\omega_l$  durch. Diese Kreisfrequenz hängt vom gyromagnetischen Verhältnis der Atomkerne ab und ist außerdem um so größer, je stärker das äußere Magnetfeld ( $B_0$ ) ist. Bei Raumtemperatur und unter physiologischen Gleichgewichtsbedingungen ist die Differenz zur Anzahl der besetzten Energieniveaus aufgrund der Boltzmannverteilung nur sehr klein. Bei 4,7 Tesla beträgt das Besetzungsverhältnis zwischen niedrigem ( $+1/2$ ) und höherem ( $-1/2$ ) Energieniveau ca. 1.000.018 zu 1.000.000.

Lässt man jetzt auf diese Atome mittels einer Hochfrequenzspule (in dieser Arbeit eine  $^1\text{H}/^{31}\text{P}$ -Oberflächenspule) ein äußeres, zu ( $B_0$ ) senkrecht stehendes magnetisches Wechselfeld ( $B_1$ ) im Bereich der Radiofrequenzen (MHz) wirken, so überführt man unter Resonanzbedingungen Kerne aus dem niedrigen auf das höhere Energieniveau. Resonanzbedingungen liegen vor, wenn die Anregungsfrequenz der Lamorfrequenz entspricht (Formel 2.2).

$$\omega = \omega_l = \gamma_l \cdot B_0 \quad (2.2)$$

$\omega$  Kreisfrequenz des magnetischen Wechselfeldes  $B_1$  ( $\text{s}^{-1}$ ),  $B_0$  Magnetfeldstärke des äußeren konstanten Magnetfeldes (T),  $\omega_l$  Kreisfrequenz des Atomkerns ( $\text{s}^{-1}$ ),  $\gamma_l$  gyromagnetisches Verhältnis ( $^{31}\text{P}$ :  $1,08 \cdot 10^8 \text{ T}^{-1} \text{ s}^{-1}$ )

Durch die von den Atomkernen absorbierte Energie verändert sich der Vektor der Summenmagnetisierung ( $M$ ) in Richtung  $x,y$ -Ebene. Der Winkel, um den die Magnetisierung gedreht wird (Flipwinkel), hängt von Pulsleistung und Pulsdauer ab. Nach dem Ende des Hochfrequenzpulses, der in der Regel zwischen 0.1 – 100 ms liegt, richten sich die Atomkerne wieder parallel zum äußeren Magnetfeld ( $B_0$ ) aus (Relaxation). Bei diesem Prozess kann die Rotation in der  $x,y$ -Ebene in Form von induzierten, hochfrequenten Spannungen mit Hilfe einer Empfängerspule registriert werden. Der zeitliche Signalverlauf dieser induzierten Spannungen wird als freier Induktionszerfall (FID) bezeichnet, wobei die Intensität des FIDs im Laufe der Zeit exponentiell abnimmt. Die größte Intensität des Messsignals wird bei einem  $90^\circ$ -Puls hervorgerufen, da der Feldvektor ( $M$ ) hierbei vollständig in die  $x,y$ -Ebene ausgelenkt wird. Mit Hilfe einer Fourier Transformation wird aus einem FID ein Amplitudenspektrum errechnet, wobei die Spannung gegen die Frequenz relativ zur Frequenz einer Standardsubstanz in parts per million (ppm) aufgetragen wird. In Abbildung 2 ist ein typisches  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektrum eines ruhenden Skelettmuskels dargestellt.

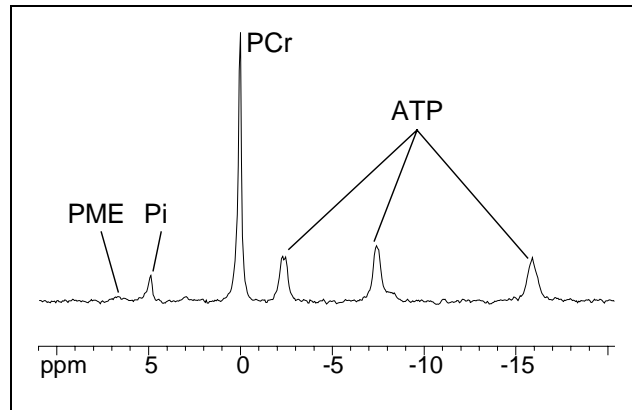


Abbildung 2: <sup>31</sup>P-MR-Spektrum

Die sechs Peaks repräsentieren unterschiedliche biochemische Substanzen, da die Resonanzfrequenz der jeweiligen <sup>31</sup>P-Atomkerne von ihren chemischen Umgebungen abhängen. Das äußere Magnetfeld wird von der chemischen Substanz in charakteristischer Weise abgeschirmt. Somit befindet sich der <sup>31</sup>P-Atomkern nicht mehr im Magnetfeld  $B_0$ , sondern im effektiven Magnetfeld  $B'$ . Daher erscheinen die ATP-,  $P_i$ - und PCr-Signale an unterschiedlichen Stellen im Spektrum. Das Integral der Peaks gibt die Konzentration des Stoffs im Probenvolumen wieder. Die bereits angesprochenen PME und PDE liegen bei einem gesunden Probanden in körperlicher Ruhe in zu geringer Konzentration vor, als dass sie im Spektrum zu detektieren wären. Erst bei muskulärer Arbeit kommt es durch eine Aktivierung der Glykogenolyse zu einer Anhäufung der PME. Eine Erhöhung der PDE ist lediglich bei einigen wenigen Erkrankungen des Muskelstoffwechsels zu beobachten.

### 2.1.2 Lower Body Negative Pressure

Mit dem Terminus des „Lower Body Negative Pressure“ (LBNP) wird ein Verfahren bezeichnet, bei dem die unteren Extremitäten des Körpers – im Humanversuch in der Regel von der Spina iliaca anterior superior caudalwärts – einem reduzierten atmosphärischen Druck ausgesetzt werden (vgl. Abb. 3). Bei diesem Manöver kommt es zu einer massiven Flüssigkeitsverschiebung in Richtung der unteren Extremitäten. Grund dieser Flüssigkeitsverschiebung ist die Veränderung des transmuralen Drucks zwischen Intravasalraum und dem umgebenden Gewebe im Bereich der unteren Extremitäten.

Im Ansatz wurde diese Technik erstmals von JUNOD 1840 (BIER 1905) beschrieben, der damals bereits erkannte, dass das Erzeugen eines Unterdrucks ein Mittel darstellt, um das Herz-Kreislaufsystem zu „stressen“. Das Anlegen eines Unterdrucks im Bereich der unteren Extremitäten kann für den Probanden oder Patienten eine sehr starke Belastung des Herz-Kreislauf-Systems

darstellen (WOLTHUIS ET AL. 1974). Im Extremfall kann sich während der LBNP eine vagovasale Syncope entwickeln, die jedoch maßgeblich von der Höhe des gewählten Unterdrucks abhängig ist. Wie intensiv das Herz-Kreislauf-System auf ein LBNP-Manöver reagiert, hängt des Weiteren vom Geschlecht, Alter sowie von der körperlichen Fitness bzw. der sportlichen Biographie ab (MONTGOMERY ET AL. 1977, RAVEN ET AL. 1984, BASSETT FREY ET AL. 1986, FORTNEY ET AL. 1992). Bereits JUNOD 1840 weist auf das Auftreten der Syncope hin, wodurch in der Folgezeit LBNP zeitlich begrenzt seinen Einsatz als „Anästhetikum“ bei Operationen fand. Sein Revival erlebte die Unterdruck-Technik in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts, da lokal applizierter Unterdruck als ein probates und zudem nichtinvasives Mittel angesehen wurde, die Reaktion der Blutgefäße zu beeinflussen und zu beobachten (COLES ET AL. 1957). Die Anwendung der LBNP-Technik wurde zunehmend in der Luft- und Raumfahrtmedizin intensiviert, da mit Hilfe dieses Verfahrens der Einfluss von Flüssigkeits- bzw. Blutvolumenverschiebungen – ohne Gravitationseinfluss – auf die Herz-Kreislauf-Regulation beobachtet werden kann. In diesem Zusammenhang wird die LBNP-Technik primär dazu verwendet, die orthostatische Intoleranz unterschiedlicher Probandenkollektive – wie beispielsweise von Piloten und Astronauten – zu untersuchen (FORTNEY ET AL. 1992, LAWLER ET AL. 1998, LÁZLÓ ET AL. 1998).



**Abbildung 3: allgemeiner LBNP-Versuchsaufbau**

Mittlerweile liegen umfangreiche Untersuchungen vor, aus denen hervorgeht, dass eine Vielzahl von Regulationsmechanismen im kardio-vaskulären und hormonellen Bereich durch eine LBNP ausgelöst werden, auf die in dieser Einführung kurz eingegangen werden soll. Das LBNP-Manöver ruft eine venöse Blutansammlung in den Kapazitätsgefäßen der unteren Extremitäten hervor. Diese Blutansammlung führt zu einer Flüssigkeitsverschiebung aus dem



vaskulären in das interstitielle Kompartiment (MUSGRAVE ET AL. 1969, ARATOW ET AL. 1993), was eine ca. 10 %-ige Hämokonzentration nach sich zieht (BLOMQUIST UND STONE 1983). Diese interstitielle Volumenerhöhung wird durch transmurale Druckveränderungen, d. h. durch eine Erhöhung des vaskulären transmuralen Druckes initiiert (WOLTHUIS ET AL. 1974 UND 1975, SMITH UND PORTH 1991, NORSEK ET AL. 1993, LÁZLÓ ET AL. 1998). Dabei stellt sich das Flüssigkeitsgleichgewicht zwischen Blutgefäß und Interstitium mit einer zweiphasigen Kinetik ein (HINGHOFFER-SZALKAY ET AL. 1992), wobei das Volumen des venösen Bluts schneller ein Gleichgewicht erreicht als das interstitielle Flüssigkeitsvolumen (BAISCH ET AL. 1991). Abbildung 4 zeigt diese zweiphasige Kinetik am Beispiel eines lokal am Unterarm erzeugten Unterdrucks, wie er in Studie III<sub>UNP</sub> zur Anwendung kam.

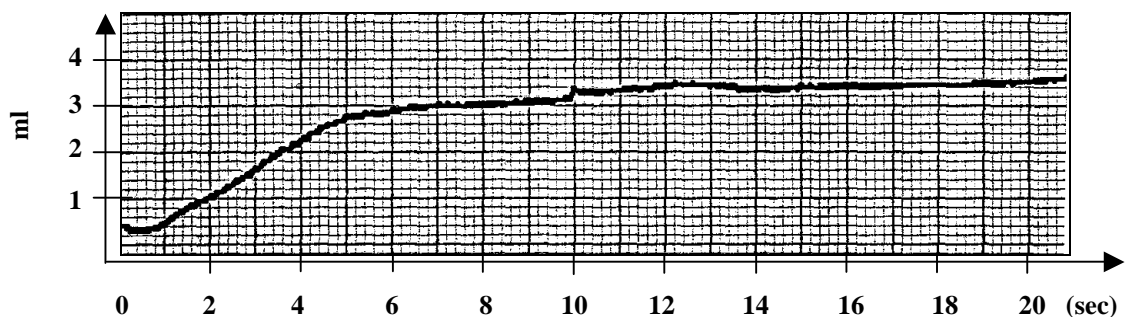


Abbildung 4: Volumenzunahme eines Unterarms im Unterdruck-Versuch über 21 Sekunden

Die Volumenzunahme bzw. die Umfangszunahme wurde mit Hilfe eines Venenverschlussplethysmographen und des dazugehörigen Dehnmessstreifens aufgezeichnet. Mit dem Erzeugen des Unterdrucks kommt es innerhalb von annähernd 6 Sekunden initial zu einem schnellen Flüssigkeitseinstrom in den Unterarm. Dies wird durch den anfänglichen schnellen Kurvenanstieg angezeigt, der die schnelle Füllung des venösen Gefäßbettes und damit die Umfangszunahme des Unterarms widerspiegelt. Anschließend ist ein konstanter und moderater Flüssigkeitseinstrom zu beobachten, welcher der langsamer stattfindenden Volumenzunahme des Interstitiums entspricht. Ein vollständiges steady-state der Flüssigkeitsverschiebung wird meist (in Abhängigkeit zur Höhe und der Dauer des gewählten Unterdrucks) nicht erreicht (LUNDVALL UND LÄNNE 1989, BAISCH ET AL. 1992).

Im Verlauf einer LBNP kommt es infolge einer Volumenverschiebung in die unteren Extremitäten zu einer Reduktion des zentralen (thorakalen) Blutvolumens. Hierdurch werden neurozirkulatorische und humorale Reflexe ausgelöst, die notwendig sind, um eine ausreichende Perfusion lebenswichtiger Organe zu gewährleisten. Der venöse Rückfluss, der kardiale „Output“ sowie die Perfusion lebensnotwendiger Organe müssen – trotz des

reduzierten zentralen Blutvolumens – aufrecht erhalten und stabilisiert werden (LÁZLÓ ET AL. 1998). In dieser Situation werden ähnliche Kompensationsmechanismen ausgelöst, wie sie vergleichsweise auch bei einem Schock oder einer hämorrhagischen Notfallsituation zu beobachten sind. Das Volumen dieser peripheren Blutansammlung ist im LBNP-Versuch direkt abhängig von der Höhe des gewählten Unterdrucks, wobei Volumina von 0.75 l bei -70 mmHg (BROWN ET AL. 1966), 0.5 – 0.6 l bei -40 mmHg (MUSGRAVE ET AL. 1969) und ca. 1.5 l bei -80 mmHg (BALAKHOVSKII ET AL. 1970) gemessen worden sind. WOLTHUIS ET AL. konstatierten 1974, dass es bei einem Unterdruck von -30 bis -50 mmHg zu einer Volumenverschiebung von etwa 0.5 – 1 Liter kommt. Ein subatmosphärischer Druck im Bereich von -40 bis -55 mmHg ist ausreichend, um ein passives Stehen zu simulieren und damit eine orthostatische Stresssituation für den Körper darzustellen (BROWN ET AL. 1966, SAMUELOFF ET AL. 1966, ARATOW ET AL. 1993). Aufgrund der beschriebenen Blutvolumenverschiebung kommt es bei Unterdrücken von -10 bis -60 mmHg zu einem um ca. 3 – 7 mmHg verminderten zentralvenösen Druck (ZVD) (MUSGRAVE ET AL. 1969, ROWELL 1972). Ein negativer ZVD (bezogen auf ambienten Umgebungsdruck) soll nach Angaben von WOLTHUIS ET AL. 1974 aber erst bei subatmosphärischen Drücken von mindestens -40 mmHg und größer auftreten.

Während des LBNP-Manövers kommt es zu einer Reduzierung des Herzminutenvolumens (HMV) von 30 – 45 %, was insbesondere aus der Abnahme des Schlagvolumens von bis zu 50 % resultiert (LÁZLÓ ET AL. 1998). Die Reduzierung des HMV ist trotz der Zunahme der Herzfrequenz von 20 – 45 % zu beobachten (SMITH UND PORTH 1991, NORSK ET AL. 1993, LÁZLÓ ET AL. 1998). Das Ausmaß dieser Veränderungen ist in erster Linie von der Höhe des gewählten Unterdrucks abhängig. Ein weiterer Mechanismus, der neben der Erhöhung der Herzfrequenz zur Stabilisierung des Herz-Kreislauf-Systems während einer LBNP mit beiträgt, ist die Veränderung des totalen peripheren Widerstandes sowohl in den unteren Extremitäten als auch den oberen Extremitäten (ESSANDOH ET AL. 1986, HALLIWILL ET AL. 1998). Hierbei soll insbesondere eine reflexbedingte Konstriktion der Widerstandsgefäße im Bereich der oberen Extremitäten (BROWN ET AL. 1966, ESSANDOH ET AL. 1988) gewährleisten, dass ein der Volumenverschiebung entgegenwirkender Mechanismus für eine Stabilisierung des zentralen Blutvolumens sorgt. Die reflexbedingte Konstriktion der Widerstandsgefäße soll jedoch ausschließlich auf Blutgefäße der Skelettmuskulatur zutreffen (EKLUND UND KAIJSER 1976).

Neben den kardio-vaskulären Adaptationen sind im Verlauf einer LBNP bzw. einer Orthostase hormonelle Reaktionen zu beobachten. Aus den Untersuchungsergebnissen von HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996 geht hervor, dass es – in Abhängigkeit zur Höhe des angelegten Unterdrucks – zu sehr starken Hormonausschüttungen kommt, wobei hier an erster Stelle Nor-

adrenalin und Aldosteron zu nennen sind. Bei einem Unterdruck von -35 mmHg konnte diese Arbeitsgruppe Konzentrationserhöhungen des Nordrenalins und des Aldosterons um nahezu 100 % respektive 85 % nachweisen.

In der Literatur werden allerdings auch unterschiedliche und sogar gegenläufige Reaktionen einiger kardio-vaskulärer Parameter bei identischen, subatmosphärischen Drücken beschrieben. Beispielsweise wurden sowohl unveränderte, aber auch steigende und fallende Werte des mittleren arteriellen Blutdrucks beobachtet (WOLTHUIS ET AL. 1974, ESSANDOH ET AL. 1988, ESCOURROU ET AL. 1993, NORSEK ET AL. 1986 UND 1993, LÁZLÓ ET AL. 1998).

### 2.1.3 Elektromyographie

Die Elektromyographie ist eine Untersuchungsdisziplin, die sich mit der Interpretation elektrischer Signale des Skelettmuskels befasst. Diese Signale werden primär durch physiologische Veränderungen der Muskelfasermembran hervorgerufen (BASMAJIAN UND DELUCA 1985). Aufgrund der elektrischen und physiologischen Eigenschaften des Sarkolemmes entsteht passiv zwischen Intra- und Extrazellularraum ein Ionenungleichgewicht (Donan-Verteilung). Dieses Ionenungleichgewicht wird, unterstützt durch aktive Ionentransportmechanismen (z. B. die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase) und Ionenkanäle, im Ruhezustand der Muskelzelle auch als Membranruhepotenzial bezeichnet. Das Membranruhepotenzial liegt im nicht-kontrahierten, menschlichen Skelettmuskel bei ca. -80 mV (TIBBITS 1990). Durch die Erregungsweiterleitung eines  $\alpha$ -Motoneurons werden an dessen motorischer Endplatte Transmitter freigesetzt. Diese Transmitterstoffe (z. B. Acetylcholin) sorgen für eine Veränderung der Ionenleitfähigkeit an der Muskelfasermembran. Es kommt zu einem kurzfristigen Einstrom von Natrium in die Muskelzelle und letztendlich zu einer Depolarisation der Membran. Diese Depolarisation breitet sich entlang des Sarkolemmes und der T-Tubuli aus. Im Bereich der T-Tubuli kommt es durch spannungsabhängige Dihydropyridin-Rezeptoren zu einer Signaltransduktion in Richtung sarkoplasmatisches Retikulum (MARX ET AL. 1998). Diese Signaltransduktion sorgt für eine Ausschüttung von  $\text{Ca}^{2+}$  aus dem sarkoplasmatischen Retikulum in das Cytoplasma. Im Cytoplasma bindet das  $\text{Ca}^{2+}$  an spezifischen Regulatorproteinen (Troponin), wodurch der initiale Kontraktionsmechanismus eingeleitet wird und es zu einer Aktivierung des Aktin-Myosin-Komplexes kommt. Der beschriebenen Depolarisation der Muskelfaser und der Ausbreitung von Aktionspotenzialen entlang der Muskelfaser folgen unmittelbar Repolarisationsprozesse, um die Muskelfaser erneut in einen erregbaren Zustand zu bringen.

Das der Elektromyographie zugrunde liegende Signal basiert auf den eben beschriebenen Polarisationsvorgängen der Muskelfasermembran während der Kontraktion. Zur Vereinfachung kann von einer Art Dipol ausgegangen werden, welcher sich mit einer Geschwindig-

keit von 2-6 m/s entlang der Muskelfaser(membran) ausbreitet. Da ein Muskel aus einer Vielzahl von Muskelfasern besteht, die stets in Gruppen innerviert werden, kommt es zu einer Überlagerung von Signalen verschiedener Fasern. Das so entstehende Summenpotenzial kann durch ein geeignetes Messsystem erfasst und auf seine Amplitude (root mean square oder iEMG) bzw. sein Frequenzspektrum (mean und median frequency, median power frequency) hin analysiert werden. Die an der Muskelfaseroberfläche ablaufenden Potenzienschwankungen bewegen sich je nach Intensität der Kontraktion in einem Spannungsbereich zwischen einigen Mikrovolt bis hin zu wenigen Millivolt. Die Erfassung dieser Spannungsschwankungen kann mithilfe an der Haut befestigter Elektroden – oder in den Muskel injizierter Nadelelektroden – erfolgen.

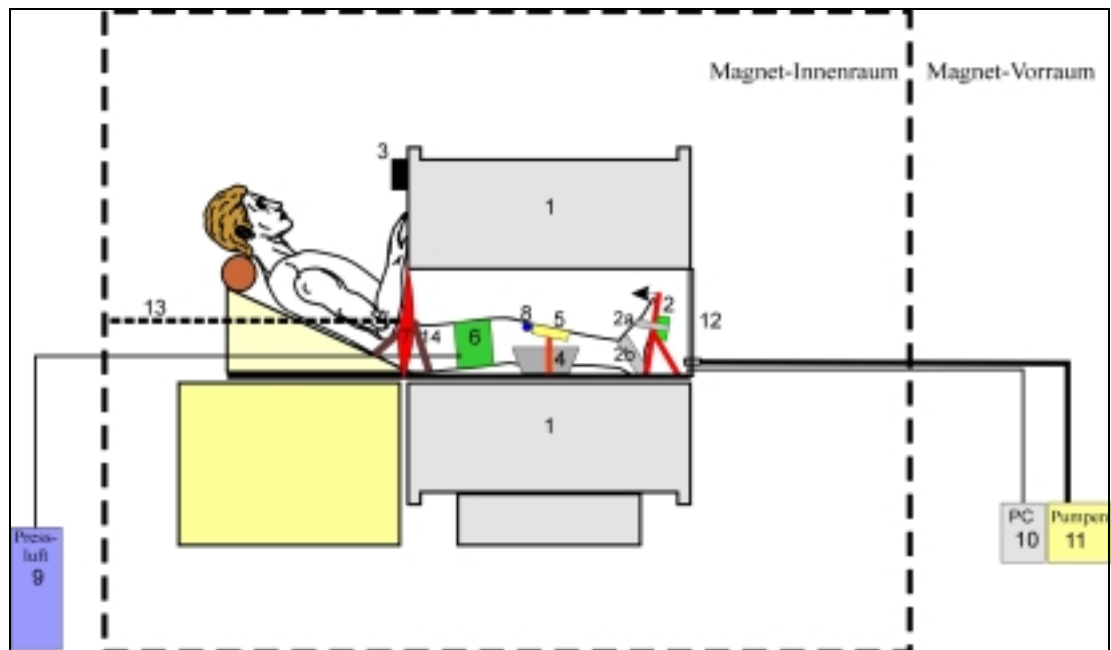
#### 2.1.4 Versuchsaufbau

An der Studie I<sub>31P-MRS</sub> nahmen 21 gesunde Probanden weiblichen (10) und männlichen (11) Geschlechts teil, die im Mittel eine Größe von 174 cm (SD ± 6.6), ein Gewicht von 66.2 kg (SD ± 6.7) und ein Alter von 28.2 Jahren (SD ± 4.8) aufwiesen (vgl. Anhang A, anthropometrische Daten, Tab. 10). Vor Beginn der Studie wurden die Probanden mit dem Versuchsablauf vertraut gemacht und über mögliche Gefahren informiert, ehe sie schriftlich in die Versuche einwilligten.

Die zu Studie I<sub>31P-MRS</sub> gehörenden Versuche wurden in einem Biospec 47/40-Magnet (Fa. BRUKER, Karlsruhe, Deutschland) durchgeführt, welcher eine horizontale Bohrung (Ø 40 cm) und eine Feldstärke von 4.7 Tesla aufweist, was einem Vielfachen des Erdmagnetfeldes von 60 µT entspricht (BRINDLE ET AL. 1995).

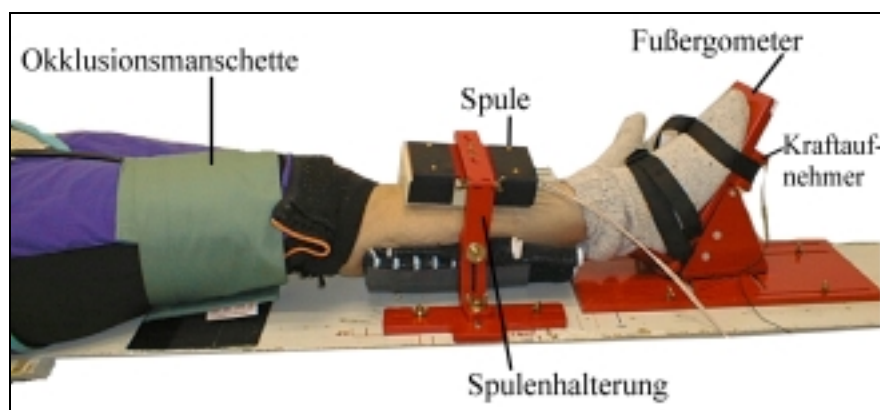
Die Versuche wurden in supiner Lage der Probanden durchgeführt. Der apparative Versuchsaufbau innerhalb des Kernresonanzgeräts ist in Abbildung 5 schematisch dargestellt. Auf einer Patientenliege befanden sich eine fest montierte Wadenhalterung (vgl. Abb. 5, (4)) sowie ein Fußergometer (2), welches eine Dorsalflexion des M. tibialis anterior ermöglicht (Pfeilrichtung, Abb. 5). Kernstück der eigentlichen <sup>31</sup>P-MRS-Messung war eine ebenfalls auf der Patientenliege befestigte Oberflächenspule (vgl. Abb. 5 und 6), die als Sende- und Empfangsspule diente (vgl. Kap. 2.1.1). Die Spule wurde mit Hilfe einer Haltevorrichtung direkt am M. tibialis anterior plaziert (Abb. 6). Bei dieser Anordnung befinden sich fast ausschließlich Anteile des M. tibialis anterior und Anteile subkutanen Fettgewebes im Messbereich, das bei einer Größe von annähernd 30 ml lag (WILSON ET AL. 1988). Um den für die LBNP-Versuche notwendigen Unterdruck aufzubauen, wurde der Magnet auf der dem Patienten gegenüberliegenden Seite durch eine Abdeckplatte (Abb. 5, (12)) verschlossen. Auf der Probanden-

seite wurde der Magnet durch eine vom Probanden (wie ein Minirock) getragene Neoprenmanschette versiegelt (Abb. 5, (7)).



(1) Magnet (2) Fußergometer (2a) oberer Fixierungsriemen mit linearem Kraftaufnehmer (2b) unterer Fixierungsriemen (3) Kraftdisplay (4) Wadenhalterung (5)  $^1\text{H-}^{31}\text{P}$ -Spule (6) Okklusionsmanschette (7) Neoprenmanschette (8) EMG-Ableitelektroden (9) Pressluftflasche für die Okklusionsmanschette (10) PC für die Pumpensteuerung und die Akquisition der Kraft (11) Pumpen (12) PVC-Abdeckplatte (13) Kletterseil (14) Hüft-Klettergurt

**Abbildung 5: schematischer Versuchsaufbau**



**Abbildung 6: Lage der Wade während der Experimente**

#### 2.1.4.1 Versuchsablauf

Die zeitliche Aufeinanderfolge des LBNP- und REFERENZ-Versuchs erfolgte in randomisierter Reihenfolge, wobei maximal 14 Tage zwischen den beiden Versuchen lagen. Vor den einzelnen Versuchen bestand ein 24-stündiges Sportverbot. Die Probanden ernährten sich im Vorfeld der Experimente normal und ohne spezifische Vorgaben. Die letzte Nahrungsauf-

nahme sollte spätestens 3 Stunden vor Beginn der Experimente erfolgen. Bei beiden Versuchen wurde darauf geachtet, dass sie annähernd zur selben Tageszeit durchgeführt wurden. Die aufgezählten Verhaltensmaßregeln und Vorgaben für die Probanden werden in der Methodendiskussion eingehender erläutert (vgl. Kap. 4.1).

Nach dem Eintreffen der Probanden im DLR, der Einweisung und Aufklärung in die Experimente, wurden die nachstehend beschriebenen und gekennzeichneten Arbeitsprozeduren (A – F) durchgeführt, bevor die eigentlichen Versuchsphasen begannen. Der chronologische Versuchsablauf kann der Abbildung 7 entnommen werden.

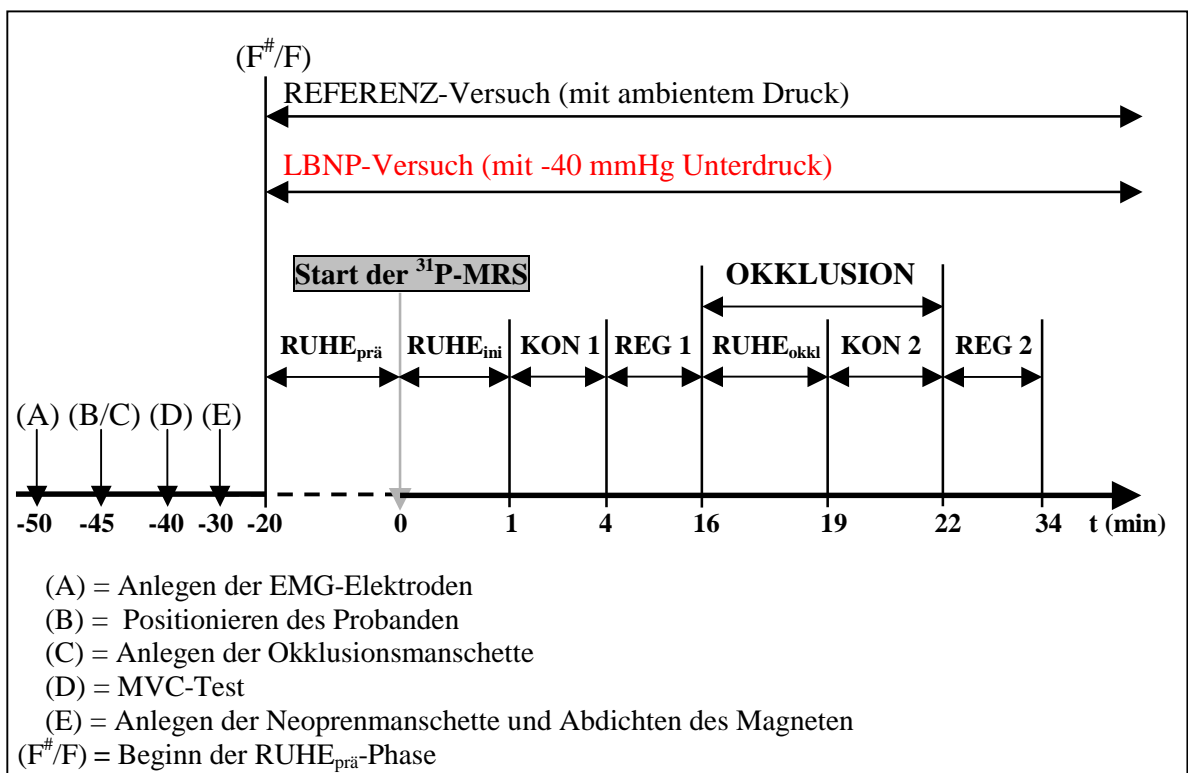


Abbildung 7: Chronologischer Versuchsablauf in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II

Bei beiden Versuchen identisch waren die vorbereitenden Arbeitsprozeduren (A), (B), (C), (D) und (F). Hinzu kamen die Punkte (E) und (F<sup>#</sup>) beim LBNP-Versuch. Die Arbeitsschritte (A) bis (D) wurden außerhalb des Kernresonanzgerätes vorgenommen, während die Maßnahmen (E) und (F/F<sup>#</sup>) erst innerhalb des Magneten durchgeführt wurden, d. h. während sich der Proband in der Versuchsposition befand.

(A) Nach Anlegen der Sportkleidung, bei der die rechte Wade unbedeckt blieb (alle Experimente wurden mit der rechten Wade der Probanden durchgeführt), wurde der M. tibialis anterior für die Aufzeichnung der Elektromyogramme (EMG) vorbereitet. Hierzu wurde der M. tibialis anterior im oberen Viertel distal der Patella mit 70 %-igem Alkohol gereinigt. An-

schließlich wurden die EMG-Ableitelektroden in diesem gereinigten Areal appliziert (vgl. Abb. 5 und 9). Die für die Ableitung wichtigen Referenzelektroden wurden am ebenfalls gereinigten M. vastus medialis angebracht.

**(B)** Anschließend nahmen die Probanden auf einer Liege eine supine Körperlage ein. Dabei wurde der rechte Unterschenkel in einer Wadenhalterung (vgl. Abb. 5, (4)) plaziert und der rechte Fuß mit Hilfe von Textilriemen auf einem Fußpedal (2) fixiert. Die Winkelstellung des starren Fußpedals betrug  $70^\circ$ . Auf der Rückseite des Pedals befand sich ein linearer Kraftaufnehmer (Fa. ERNST), so dass bei einer (isometrischen) Dorsalflexion (vgl. Abb. 5, Pfeilrichtung) des M. tibialis anterior die dabei entwickelte Kraft über den oberen Textilriemen (2a) auf den Kraftaufnehmer übertragen und aufgezeichnet werden konnte. Des Weiteren wurde die dabei entwickelte Kraft direkt auf ein Anzeigedisplay (3) übertragen, wodurch der Proband zu jedem Zeitpunkt der Kontraktionsphasen über seine aktuell aufgewendete Kraft informiert war und sie gegebenenfalls korrigieren konnte (Feedback-System). Die Kraft wurde mit einer Sample-Rate von 9 Hz aufgezeichnet und zur späteren Auswertung über eine A/D-Karte auf einen PC überspielt.

**(C)** Zusätzlich zum obigen Versuchsaufbau wurde am rechten Oberschenkel eine Okklusionsmanschette angelegt. Durch eine direkte Verbindung der Okklusionsmanschette zur Pressluftflasche (9), konnte während des Arbeitsprotokolls (vgl. Kap. 2.1.4.2) innerhalb von 3-4 Sekunden ein Manschettendruck von 300 mmHg erzeugt werden.

**(D)** Vor Beginn des eigentlichen Arbeitsprotokolls (vgl. Kap. 2.1.4.2) und noch außerhalb des Magneten wurde ein Maximalkrafttest (MVC) mit dem M. tibialis anterior durchgeführt. Dabei führte der Proband drei dorsalflexorische Maximalkraftkontraktionen à 5 Sekunden durch, die durch 1-minütige Erholungspausen getrennt waren (nach PARK ET AL. 1988). Anhand des größten Maximalkraftwertes (umgerechnet in Newton) der drei Kontraktionen, wurde die für das Arbeitsprotokoll relevante Arbeitsintensität von 30 % MVC berechnet. Danach wurde die Oberflächenspule am M. tibialis anterior befestigt und auf die unterschiedlichen, elektrischen Gewebeeigenschaften des Probanden eingestellt. Bei der Abstimmung handelte es sich um das Einstellen des „Tune“, bei dem eine Frequenzanpassung sowie eine Impedanzanpassung vorgenommen wurden. Dieser Vorgang trug wesentlich zur Verbesserung des Signal-Rausch-Verhältnisses (SNR) bei. Im Anschluss an diese einleitende Korrektur wurde der Proband in den Magneten geschoben, wodurch es zu einer Abnahme der Magnetfeldhomogenität kam. Um diese nachträglich wieder zu verbessern, wurde ein sogenannter „Shim“ durchgeführt. Hierbei wurden die Korrekturströme in den Shimspulen anhand eines fortlaufend aufgezeichneten  $^1\text{H}$ -Signals nachjustiert. Abschließend wurde die Qualität des  $^1\text{H}$ -Signals überprüft. Mit Hilfe

eines transformierten H<sub>2</sub>O-Spektrums wurde die Linienbreite des Wassersignals bestimmt. Lag diese bei < 70 Hz, konnte mit der nächsten Phase des Versuchs (20-minütige RUHE<sub>prä</sub>-Phase mit oder ohne Unterdruck, vgl. Abb. 7) begonnen werden.

**(E)** Um den für den LBNP-Versuch gewünschten Unterdruck zu erzielen, trugen die Probanden eine Neoprenmanschette (7) um das Abdomen, welche direkt an der Magnetaußenseite befestigt wurde und so den Innenraum des Magneten zur Probandenseite hin verschloss. Auf der dem Patienten gegenüberliegenden Seite des Magneten wurde eine PVC-Abdeckplatte (12) angebracht. In diese Abdeckplatte integriert war ein Schlauchsystem, welches das Erzeugen des Unterdrucks über außerhalb des Magneten angeschlossene Pumpen (11) ermöglichte. Mit Hilfe eines Steuerprogramms wurde die Pumpleistung der Motoren so geregelt, dass ein konstanter Unterdruck von -40 mmHg aufrecht erhalten werden konnte. Soll- und Istdruck wurden mit einer Frequenz von 9 Hz miteinander verglichen. Kam es (beispielsweise durch Bewegungen des Probanden) im Bereich der Neoprenmanschette zu einem Nachströmen von Luft und infolgedessen zu einer Verringerung des Unterdrucks, so wurde durch das Steuerprogramm die Pumpleistung der Motoren korrigiert bzw. erhöht, bis Soll- und Istwert wieder übereinstimmten. Die während der LBNP-Versuche herrschenden Druckbedingungen wurden für eine spätere Überprüfung des Drucks ebenfalls aufgezeichnet.

**(F<sup>#</sup>/F)** Nachdem der Proband seine versuchsspezifische Position im Magneten eingenommen hatte, sämtliche Anschlüsse überprüft und korrigierenden Maßnahmen („Tune und Shim“) durchgeführt waren, begann im LBNP-Experiment eine 20-minütige Unterdruckphase (RUHE<sub>prä</sub>, vgl. Abb. 7) bei -40 mmHg. Der Proband befand sich während dieser Zeit in absoluter Ruhe. Um eine Lageveränderung des Probanden durch den aufgebauten Unterdruck zu vermeiden (der Proband wird durch das LBNP-Manöver in die Magnetröhre „hineingesogen“), wurde der Körper mit Hilfe eines zuvor angelegten Hüft-Klettergurtes (14) und eines Kletterseils (13) in der Position fixiert, in der das spätere Arbeits- und Ruheprotokoll durchgeführt wurde. Beim sich an die RUHE<sub>prä</sub>-Phase unmittelbar anschließenden Arbeitsprotokoll (beginnend mit der RUHE<sub>ini</sub>-Phase) herrschten identische Unterdruckbedingungen. Die 20-minütige RUHE<sub>prä</sub>-Phase des REFERENZ-Versuchs fand im Unterschied zum LBNP-Experiment mit ambientem Druck statt.

#### 2.1.4.2 Arbeitsprotokoll

Nachdem alle Arbeitsschritte durchgeführt wurden, begann das noch näher zu spezifizierende Arbeits- und Erholungsprotokoll (vgl. Abb. 7). Das Arbeits- und Erholungsprotokoll bestand aus zwei – zeitlich voneinander isolierten – isometrischen Kontraktionen (KON 1 und KON 2) von je 3 Minuten Arbeitsdauer mit einer Zielintensität von 30 % MVC. Die Regenerations-



phase (REG 1 und REG 2) im Anschluss an jede Kontraktion betrug 12 Minuten. Die zweite Kontraktion wurde unter ischämischen Bedingungen durchgeführt, indem 3 Minuten vor Beginn der zweiten Kontraktion (KON 2) die am Oberschenkel angebrachte Okklusionsmanschette innerhalb weniger Sekunden auf 300 mmHg aufgepumpt wurde. Zeitgleich mit Beendigung der zweiten Kontraktion wurde die Druckmanschette gelöst. Während der 34-minütigen Gesamtdauer des Arbeits- und Erholungsprotokolls, beginnend mit der initialen Ruhephase (RUHE<sub>ini</sub>), wurde der Energiestoffwechsel, mit Hilfe der <sup>31</sup>P-MRS untersucht. Dieses Arbeitsprotokoll wurde in identischer Weise im REFERENZ- und LBNP-Versuch durchgeführt. Zur interexperimentellen Differenzierung (REFERENZ- vs. LBNP-Versuch) der Kontraktions- und Regenerationsphasen werden im weiteren Verlauf die nachstehenden Abkürzungen verwendet:

REFERENZ-Versuch: **KON 1** und **KON 2** bzw. **REG 1** und **REG 2**

LBNP-Versuch: **KON 1<sup>#</sup>** und **KON 2<sup>#</sup>** bzw. **REG 1<sup>#</sup>** und **REG 2<sup>#</sup>**

Aufgrund methodischer Aspekte (vgl. Kap. 4.1) wurden im zweiten Experiment (da die Experimente randomisiert waren, konnte es sich dabei sowohl um den LBNP- als auch um den REFERENZ-Versuch handeln) die Kontraktionen *nicht* bei 30 % der unmittelbar zuvor im MVC-Test erzielten Kraft, sondern mit der im **ersten** Experiment ermittelten absoluten Kraft durchgeführt.

#### 2.1.4.3 Methodenkontroll-Studie

Um die eingangs beschriebene Problematik zur Validierung der Versuchsanordnung abzuklären, wurde mit 4 Probanden zusätzlich folgender Versuch (Abb. 8) mit und ohne LBNP durchgeführt. Dazu fanden erneut ein LBNP- und REFERENZ-Versuch statt, wobei in beiden Versuchen nach einer 1-minütigen initialen Ruhephase zunächst eine 6-minütige Okklusion am Oberschenkel angelegt wurde. Eine Minute nach Anlegen der Okklusion wurde im LBNP-Versuch das bereits beschriebene LBNP-Manöver gestartet. Im REFERENZ-Versuch kam es entsprechend zu keiner Veränderung. 3 Minuten nach Anlegen der Okklusion begann eine 3-minütige Kontraktionsphase bei anhaltender Okklusion. Mit Ende der Kontraktion wurde die Okklusionsmanschette wieder entlüftet. Die <sup>31</sup>P-MRS-Aufzeichnung begann zeitgleich mit der 1-minütigen Ruhephase vor dem Anlegen der Okklusion und endete 10 Minuten nach Kontraktionsende. Der einzige Unterschied zum Versuchsablauf der Studie I<sub>31P-MRS</sub> bestand darin, dass der Unterdruck verspätet – eine Minute nach dem Anlegen der Okklusion (2 Minuten vor Beginn der Kontraktion) – erzeugt wurde und so der Flüssigkeitsgehalt des Unterschenkels in beiden Versuchen konstant blieb.

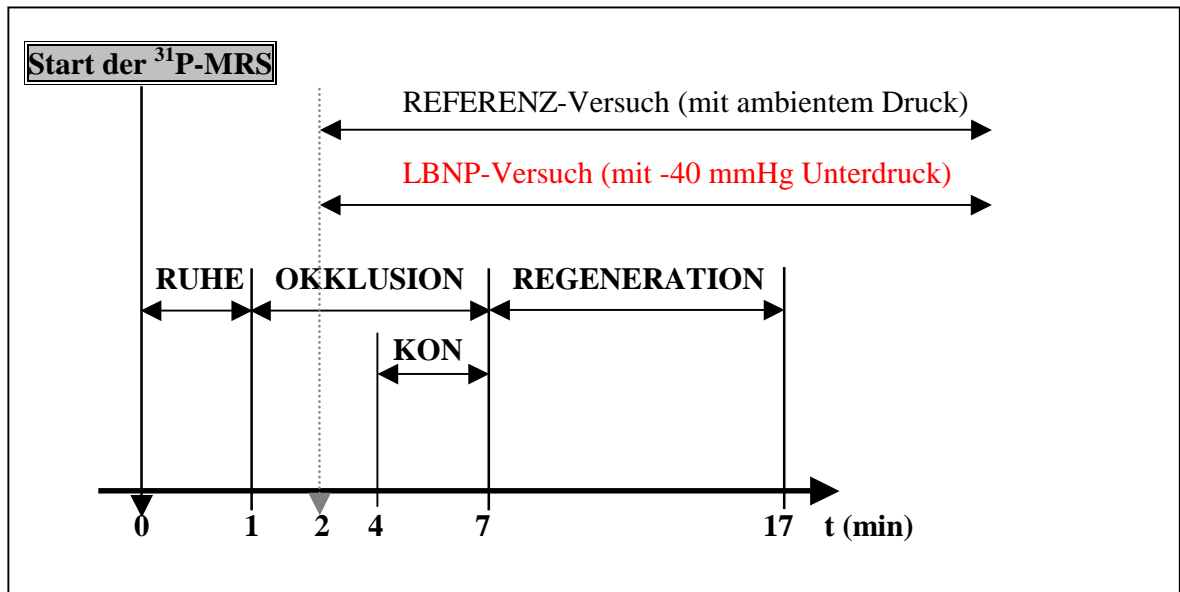


Abbildung 8: Arbeitsprotokoll des Methodenkontroll-Versuchs

#### 2.1.4.4 LBNP<sub>kurz</sub>-Studie

Dieser Versuch entsprach im wesentlichen der Studie I<sub>31P-MRS</sub>, jedoch erfolgte hier ein zusätzliches Experiment. In diesem zusätzlichen Experiment wurde die normalerweise 20-minütige RUHE<sub>prä</sub>-Phase vor Beginn der Kontraktion auf 1 Minute reduziert (nachfolgend als LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch, entsprechend KON 1<sup>#</sup>, bezeichnet). In dieser Zusatzstudie werden also 3 Experimente (REFERENZ, LBNP und LBNP<sub>kurz</sub>) miteinander verglichen, wobei lediglich die Ergebnisse der ersten Kontraktion (KON 1/1<sup>#</sup>/1<sup>#</sup>) vorgestellt werden.

#### 2.1.4.5 Auswertungsprozesse und Berechnungen

##### 2.1.4.5.1 <sup>31</sup>P-MRS

Mit Beginn der <sup>31</sup>P-MRS wurden 204 Spektren pro Versuch aufgezeichnet, wobei jedes Spektrum eine Summe aus mehreren Einzelscans darstellt, da so ein verbessertes Signal-Rausch-Verhältnis (SNR) zu erreichen ist. Um einen Kompromiss zwischen hohem SNR und hoher zeitlicher Auflösung zu erzielen, wurden je 32 Scans über einen Zeitraum von 10 Sekunden summiert und zu einem Spektrum zusammengefasst. Beim Aufsummieren der Scans nimmt das Signal-Rausch-Verhältnis mit der Quadratwurzel der Scananzahl zu. Die Sendefrequenz für die <sup>31</sup>P-Aufzeichnung betrug 81,09 MHz und für die Shim-Prozedur mittels <sup>1</sup>H-Spektroskopie 200,35 MHz. Die Sendeleistung der Spule lag bei 100 Watt. Bei der Spule handelt es sich um eine kombinierte <sup>1</sup>H/<sup>31</sup>P-Oberflächenspule (Ø 5 cm). Die Pulsdauer der HF-Signale von 100 µs entsprach einem Flipwinkel von 60° zur z-Achse im Zentrum der Spule. Nach jedem Sendeimpuls wurde ein freier Induktionszerfall (FID) aufgenommen. Die Repetitionszeit zwischen zwei Sendeimpulsen (T<sub>r</sub>) betrug 0,3 s. Die digitalisierten Spektren

bestanden aus je 2048 komplexen Datenpunkten. Gleichspannungsanteile wurden mit Hilfe eines CYCLOPS-Phasenzyklus unterdrückt (GÜNTHER 1992).

Nach Versuchsende wurden die Daten auf einen Computer überspielt und mit Hilfe des Programms *Showspec für Windows*® (DEGREIFF 1999) ausgewertet. Die für die weitere Auswertung notwendigen Arbeitsschritte werden nachfolgend näher beschrieben und sind im Anhang exemplarisch illustriert (vgl. Anhang B). Da das Signal während eines FIDs exponentiell abfällt, die Intensität des Rauschens jedoch konstant bleibt, nimmt das Signal-Rausch-Verhältnis im Laufe eines FIDs ab. Multipliziert man die einzelnen Datenpunkte mit einer negativen Exponentialfunktion  $F(t) = e^{-a \cdot t}$ , so kommt es zu einer Gewichtung der ersten Datenpunkte, welche ein hohes SNR besitzen.

Anschließend wurde eine Fast-Fourier-Transformation (FFT) des Summen-FIDs durchgeführt, um ein Frequenzspektrum zu erhalten. Im Anschluss an die FFT waren die Signale der  $^{31}\text{P}$ -Spektren phasenverschoben. Dieser Effekt resultiert aus den unterschiedlichen Rotationsfrequenzen in der x-y-Ebene und dem zeitlichen Abstand zwischen Anregung der Atomkerne und dem Auslesen des Signals (GÜNTHER 1992). Aus diesem Grund war eine Phasenkorrektur nullter und erster Ordnung des Spektrums notwendig, bis alle Signal-Peaks nach oben gerichtet waren. Durch die Phasenkorrektur des Spektrums wurde eine Korrektur der Basislinie notwendig. Als nächster Auswertungsschritt erfolgte eine Kalibrierung der Abszisse auf den internen PCr-Peak (0 ppm). Anschließend wurden für alle Peaks, die oberhalb der Basislinie zu erkennen waren, Lorentzkurven angepasst und integriert, wobei folgende Integrationsgrenzen verwendet wurden: **PME** 7,4 bis 5,9 ppm; **P<sub>i</sub>** 5,8 bis 3,3 ppm; **PCr** 1,02 bis -1,02; **β-ATP** -14,7 bis -17,2 ppm (vgl. Abb.2).

Bei einer relativ kurzen Repetitionsszeit der Sendeimpulse ( $T_r$  von 0,3 Sekunden) relaxieren die  $^{31}\text{P}$ -Kerne nicht vollständig. Ein wesentlicher Faktor, der die longitudinale Relaxationszeit ( $T_1$ ) beeinflusst, ist die chemische Umgebung des  $^{31}\text{P}$ -Kerns. Das bedeutet, dass  $^{31}\text{P}$ -Kerne, die in unterschiedlichen pH-Milieus gebunden sind, auch unterschiedlich schnell relaxieren. Bei einer kurzen  $T_r$  ist daher die Signalintensität eines schneller longitudinal relaxierenden Atomkerns größer als die eines langsam longitudinal relaxierenden Atomkerns. Bei einer langen  $T_r$  hängen die Signalintensitäten nicht mehr von der Relaxationszeit ab, da beide Spinensembles vollständig relaxieren können. Dieser Aspekt macht es notwendig, dass – um auf die Mengenverhältnisse schließen zu können, die mit einer kurzen  $T_r$  aufgenommen wurden – Relaxationskorrekturfaktoren ermittelt werden (MEYER ET AL. 1982). Diese Korrekturfaktoren wurden bestimmt, indem bei mehreren Probanden sowohl vollrelaxierte Spektren mit einer  $T_r$  von 10 Sekunden, als auch teilrelaxierte Spektren mit einer  $T_r$  von 0,3 Sekunden aufgezeichnet

wurden. Anschließend wurde das mittlere Integral des PCr-Signals bei den teil- und vollrelaxierten Spektren auf 1 gesetzt. Relativ zum PCr-Peak wurden die mittleren Integrale der PME-, P<sub>i</sub>-, β-ATP-Signale berechnet. Der Relaxations-Korrekturfaktor wurde aus dem Verhältnis der mittleren Integrale einer Substanz bestimmt. Bei diesem Arbeitsprozess wurden Korrekturfaktoren von  $1,94 \pm 0,36$  für das PME-Signal,  $1,23 \pm 0,13$  für das P<sub>i</sub>- und  $0,8 \pm 0,02$  für β-ATP-Signal errechnet. Mit diesen Faktoren wurden sämtliche Spektren aller Versuche korrigiert.

Anorganisches Phosphat (P<sub>i</sub>) besitzt eine definierte Resonanz im <sup>31</sup>P-MRS-Spektrum lebender Zellen und Gewebe (ELLINGTON 1989). Unter physiologischen pH-Bedingungen liegt P<sub>i</sub> bei einem pK-Wert von ca. 6,8 als H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> und HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> vor. Nimmt der pH-Wert zu, so steigt auch der relative Anteil von HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, während bei einer pH-Erniedrigung der Anteil des H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> ansteigt. In Lösung finden schnelle chemische Übergänge zwischen H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> und HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> statt. Im <sup>31</sup>P-MRS-Spektrum erkennt man daher nicht zwei streng voneinander getrennte Resonanzen, sondern lediglich einen einzigen P<sub>i</sub>-Peak, welcher durch die jeweiligen prozentualen Anteile der Einzelresonanzen bestimmt wird. Ändert sich der pH-Wert, so ist im <sup>31</sup>P-MRS-Spektrum eine Verschiebung des P<sub>i</sub>-Peaks zu erkennen. Dieses Phänomen kann durch die Formel (2.3) beschrieben werden:

$$\mathbf{pH_i = pK_{a'} + (\log \delta \text{ H}_2\text{PO}_4^- - \delta \text{ P}_i) / (\delta \text{ P}_i - \delta \text{ HPO}_4^{2-})} \quad \mathbf{(2.3)}$$

$pK_{a'}$  = pK<sub>a</sub> von P<sub>i</sub> unter physiologischen Bedingungen;  $\delta \text{ P}_i$  = gemessene chemische Verschiebung von P<sub>i</sub> im Spektrum;  $\delta \text{ H}_2\text{PO}_4^-$  = chemische Verschiebung von „reinem“ H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> (pH = 5);  $\delta \text{ HPO}_4^{2-}$  = chemische Verschiebung von „reinem“ HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (pH = 10)

Der pH-Wert wurde mit Hilfe des Abstands ( $\delta$  [ppm]) zwischen der P<sub>i</sub>- und der PCr- Resonanz wie folgt nach HAUSSER UND KALBITZER (1989) und CONNETT (1988) berechnet:

$$\mathbf{pH = 6,75 + \log ((\delta - 3,27) / (5,69 - \delta))} \quad \mathbf{(2.4)}$$

$\delta$  [ppm]: relative chemische Verschiebung zwischen den Peakmaxima der P<sub>i</sub> und PCr- Resonanz

Die freie, extramitochondriale ADP-Konzentration wurde mit Hilfe der von LAWSON UND VEECH (1979) gemessenen Gleichgewichtskonstanten für die Kreatin-Kinase-Reaktion von [ $K_{eq} = 1,66 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1}$ ] anhand der von KUSHMERICK ET AL. 1992 entwickelten Formel (2.5) berechnet. Als Gesamtkreatinkonzentration [TCr] wurden  $39 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  (CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997) und für die [ATP]  $7,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  (CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997) zugrundegelegt. Die [PCr] wurde anhand des prozentualen Anteils an der [TCr] von 70 % berechnet (CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997).

$$[ADP] = \frac{0,74 \cdot [ATP] \cdot ([TCr] - [PCr])}{1,66 \cdot 10^9 \cdot 10^{-pH} \cdot [PCr]} \quad (2.5)$$

Die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse ( $\Delta G_{ATP}$ ) wurde anhand der freien absoluten ATP-, ADP-,  $P_i$ -Konzentrationen sowie dem pH-Wert berechnet (Formel 2.6 nach KUSHMERICK ET AL. 1992). Grundlage dieser Berechnung ist die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse unter Standardbedingungen ( $\Delta G^{\circ'}_{ATP}$ ) nach GUYNN UND VEECH 1973:

$$\Delta G_{ATP} = \Delta G^{\circ'}_{ATP} + RT \ln \frac{[ADP][P_i]}{[ATP]} + RT \ln^{-}(pH-7) \quad (2.6)$$

$\Delta G_{ATP}$  die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse ( $\text{kJ mol}^{-1}$ ),  $\Delta G^{\circ'}_{ATP}$  die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse unter Standardbedingungen ( $-31,8 \text{ kJ mol}^{-1}$ ), R Gaskonstante ( $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ), T absolute Temperatur (310 K). Der Term „ $RT \ln (10^{-(pH-7)})$ “ berücksichtigt den variierenden pH-Wert, da  $\Delta G^{\circ'}_{ATP}$  lediglich für einen konstanten pH-Wert gilt (KUSHMERICK ET AL. 1992)

NIOKA ET AL. 1992 gehen davon aus, dass die Geschwindigkeit der mitochondrialen ATP-Synthese, der über die  $F_0F_1$ -Synthase läuft, durch die cytosolischen [ADP] und [ $P_i$ ] reguliert wird. Entsprechend ihrer Gleichung (2.7) wurde die relative Geschwindigkeit ( $V/V_{\max}$ ) der mitochondrialen ATP-Synthese – ausgenommen KON 2 und KON 2<sup>#</sup> – berechnet.

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{1}{1 + \frac{K_{m1}}{[ADP]} + \frac{K_{m2}}{[P_i]}} \quad (2.7)$$

$V/V_{\max}$  relative, mitochondriale ATP-Synthese (dimensionslos),  $K_{m1}$  Michaelis-Konstante für [ADP] ( $20 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$  nach CHANCE UND WILLIAMS 1955),  $K_{m2}$  Michaelis-Konstante für [ $P_i$ ] ( $1 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  nach CHANCE ET AL. 1986).

Dihydrogenphosphat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ), welches im Rahmen muskulärer Ermüdung eine wesentliche Rolle spielt, wurde basierend auf der pH-abhängigen Gleichgewichtsreaktion von  $\text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{HPO}_4^{2-}$  nach Formel 2.8 berechnet, wobei der Dissoziationskonstanten (pK) die Konstante  $1,78 \cdot 10^{-7}$  entspricht. Die relativ geringen Mengen an  $\text{H}_3\text{PO}_4$  und  $\text{PO}_4^{3-}$  konnten hierbei vernachlässigt werden (MIZUNO ET AL. 1994).

$$[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = [P_i] / (1 + (1,78 \cdot 10^{-7} / [\text{H}^+])) \quad (2.8)$$

Bei der Berechnung der Zeitkonstanten ( $\tau$ ), die als Maß für die PCr-Resynthesegeschwindigkeit im Anschluss an eine Kontraktion dient, wurde eine monoexponentielle Regressionsfunktion nach der folgenden Formel angepasst:

$$[\text{PCr}] (t) = [\text{PCr}]_{10\text{sec}} + \Delta [\text{PCr}] \cdot (1 - e^{-t/\tau})$$

$\tau$  Zeitkonstante der [PCr]-Regeneration in (sec),  $[\text{PCr}]_{10\text{sec}}$  [PCr] 10 sec nach Abbruch der Kontraktion,  $\Delta [\text{PCr}]$  Differenz zwischen der [PCr] 10 sec nach Ende der Kontraktion und der [PCr] im steady-state-Bereich der Regeneration

#### 2.1.4.5.2 Elektromyographie

Da die Möglichkeit zur routinemäßigen Ableitung von EMGs erst im späteren Verlauf der Studie I<sub>31P-MRS</sub> bestand, wurden parallel zur Studie I<sub>31P-MRS</sub> auch in den Versuchen der Studie II<sub>Q</sub> EMG-Ableitungen aufgezeichnet. Bei der Aufzeichnung der Oberflächen-EMGs in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> kamen zwei unterschiedliche Messsysteme zum Einsatz. Die in beiden Studien durchgeführten EMG-Ableitungen wurden mit einer bipolaren, oberflächlichen Elektrodenkonfiguration durchgeführt. Hierbei erfolgte die Messung der Potenzienschwankung gegen eine Referenzelektrode, die an einem während der Untersuchung unbeteiligten Körperareal (M. vastus medialis) lag. Durch das Messen der elektromyographischen Signale relativ zur Referenzelektrode wurde gewährleistet, dass sich das weiter zu verarbeitende Signal stets in einem Spannungsbereich bewegte, in dem der nachgeschaltete Verstärker optimal arbeiten konnte. Bei dem in Studie I<sub>31P-MRS</sub> angewendeten System handelte es sich um eine speziell entwickelte Akquisitionshardware der RWTH Aachen (Institut für Biomedizinische Technik). Dieses System bestand aus zwei 5-poligen Elektrodenarrays, zuzüglich einer Referenzelektrode (Klebelektrode Typ N-50-E der Fa. MEDICOTEST, Oelstykke, Dänemark), und einem Vorverstärker, der die elektrischen Signale des M. tibialis anterior 1000-fach verstärkte. Der Abstand zwischen der Mitte der beiden Elektrodenarrays betrug 1 cm. Aus Gründen des Patientenschutzes und der Qualitätssicherung der <sup>31</sup>P-MR-Signale, wurde die Spannungsversorgung des Vorverstärkers durch Batterien sichergestellt. Die Auskopplung der Signale wurde durch einen Hardware-Filter vorgenommen, welchen die Herstellerfirma des Kernresonanzgeräts zur Verfügung stellte. Durch die spezielle Konfiguration der Elektroden und Elektrodenkabel und des Vorverstärkers konnten zusätzlich zur <sup>31</sup>P-MRS elektrophysiologische Parameter aufgezeichnet werden, ohne die Aufnahmequalität der <sup>31</sup>P-MRS entscheidend zu beeinträchtigen. Bei diesem System wurden die myoelektrischen Signale mit einer Samplerate von 2000 Hz aufgezeichnet und direkt in einen PC zur späteren Auswertung und Aufarbeitung der EMGs überspielt und gespeichert. Der A/D-Wandler zur Erfassung der Myosignale arbeitete mit einer Genauigkeit von 12 bit. Die Aufzeichnung und Auswertung der EMGs in Studie I<sub>31P-MRS</sub> erfolgte mit Hilfe der Software „DaisyLab for Windows V.5.1®“.

Bei der EMG-Anwendung wurden Rohdaten aufgezeichnet, um die Signale für eine spätere Frequenz- und Amplitudenanalyse nutzbar zu machen. Soll das EMG-Signal einer Amplitudenanalyse unterzogen werden, so müssen zunächst diverse Manipulationen der Rohsignale durchgeführt werden. Hierbei handelt es sich im Wesentlichen um *die Gleichrichtung, die Glättung, die Mittelung* und *die Normalisierung* des Rohsignals.

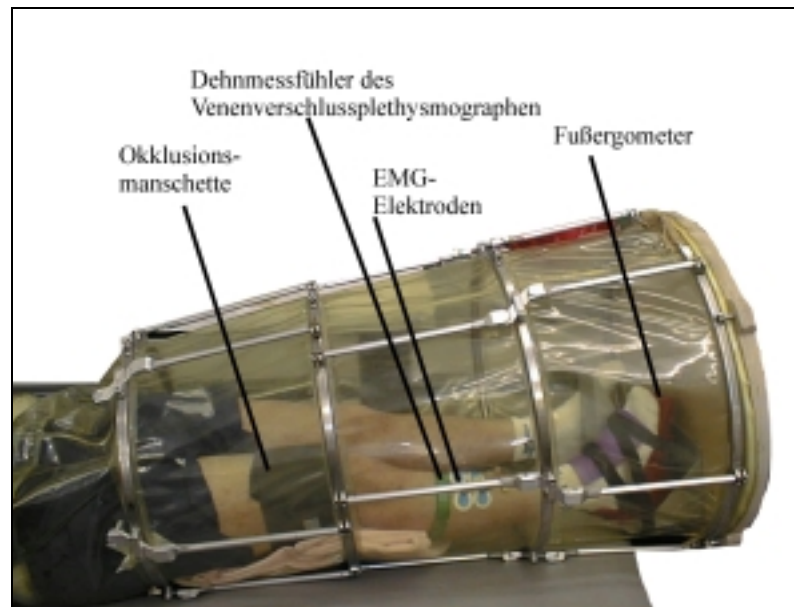
Das Gleichrichten beinhaltet eine Betragsbildung der Amplitudenwerte mit dem Effekt, dass alle negativen Ausschläge um die Nulllinie nach oben gerichtet werden (full wave rectification, WINTER 1987). Das so aufgearbeitete EMG enthält dieselbe Signalinformation wie das Roh-EMG, jedoch mit dem Vorteil der besseren Lesbarkeit auch hinsichtlich der qualitativen Abschätzung der Innervationshöhe; eine erhöhte Amplitude entspricht einer höheren Kontraktionsstärke (WINTER 1987). Das EMG besteht aus einem Interferenzmuster sich überlagernder Aktionspotenziale und ist seiner Natur nach ein Signal mit stochastischen Eigenschaften (LAURIG 1983). Einzelne Amplitudenspitzen sind kaum reproduzierbar und unterliegen der zufallsmäßigen Konstellation der Ableitelektroden und dem Überlagerungsschema der erfassten motorischen Einheiten. Um das gleichgerichtete Signal für den Betrachter besser interpretierbar zu machen, besteht die Möglichkeit, durch unterschiedliche Filter- und Glättungstechniken eine Hüllkurve („linear envelopes“ WINTER 1987) über das gleichgerichtete Signal zu legen. Die Hüllkurve bildet in Abhängigkeit zu bestimmten Glättungsfaktoren einen mehr oder weniger starken Trend des Signals heraus, wodurch qualitative Aussagen über das Frequenzmuster getroffen werden können. Die Hüllkurven können durch analoge oder digitale Tiefpassfilter erzeugt werden. Der gleiche Effekt kann jedoch auch durch mathematische Glättungsalgorithmen erzielt werden. Hier kommt insbesondere das Berechnen des gleitenden Mittelwertes („moving average“, KABADA 1985) oder des Root-Mean-Square (RMS, BASMAJIAN UND DELUCA 1985) zur Anwendung.

Aus den Rohdaten wurden die EMG-Amplitude (rms in  $\mu\text{V}$ ) und aus einem Frequenzspektrum (10 - 500 Hz) die Medianfrequenz berechnet (STULEN UND DELUCA 1981, BASMAJIAN AND DELUCA 1985, DELUCA ET AL. 1986), um quantitative und qualitative Aussagen über neuromuskuläre Veränderungen treffen zu können. Wie bereits angesprochen, konnten erst im späteren Verlauf der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  EMG-Aufzeichnungen routinemäßig mit in die Versuche implementiert werden. Da zu diesem Zeitpunkt Studie  $II_Q$  bereits abgeschlossen war, stand somit ein größerer Datensatz zur Analyse zur Verfügung. Im Ergebnisteil dieser Arbeit werden jedoch ausschließlich die EMG-Auswertungen der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  dargestellt ( $n = 8$ ), um die spektroskopischen und elektromyographischen Messdaten eines Probandenkollektivs korrelieren zu können. Die Ergebnisse der Studie  $II_Q$  sind mit denen der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  vergleichbar und unterstützen somit die Befunde der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$ .

## 2.2 Studie II<sub>Q</sub>

### 2.2.1 Versuchsaufbau

In dieser Studie II<sub>Q</sub> wurden 7 Probanden männlichen (5) und weiblichen (2) Geschlechts mit einem mittleren Gewicht von 72.1 kg (SD  $\pm$  7.4), einer Größe von 180.7 cm (SD  $\pm$  5.7) und einem Alter von 25.7 Jahren (SD  $\pm$  3.5) untersucht (vgl. Anhang A, anthropometrische Daten, Tab. 11). Das Ziel dieser Studie bestand darin, zusätzliche kardio-vaskuläre, spirometrische und elektrophysiologische Parameter zu akquirieren, um ein komplexes Analysieren der Ergebnisse aus Studie I<sub>31P-MRS</sub> zu gewährleisten. Da das Arbeits- und Erholungsprotokoll dieser Studie sich nicht von dem in Studie I<sub>31P-MRS</sub> unterscheidet, werden hier nähere Informationen zum Versuchsaufbau präsentiert und die unterschiedlichen Messmethoden einführend erläutert. Die Versuche wurden in einer sogenannten Lower-Body-Negative-Pressure-Box (LBNP-Box) durchgeführt, die in den Abbildungen 9 und 10 dargestellt ist.



**Abbildung 9: Seitenansicht der LBNP-Box mit Probanden-Position**

Die LBNP-Box besteht aus einem Aluminium-Titan-Gittergestell, über das eine robuste PVC-Folie gespannt wird. Am Boden der LBNP-Box wurde eine Abdeckplatte angebracht, auf der dasselbe Fußpedal montiert war, wie es bereits in Studie I<sub>31P-MRS</sub> zur Anwendung kam. Weiterhin befand sich in der Bodenplatte eine Anschlussbuchse, über welche ein Schlauchsystem mit einer Pumpe angeschlossen wurde (vgl. Kap. 2.1), um den Unterdruck von -40 mmHg zu erzeugen. Die PVC-Folie endete im Bereich des Abdomen, wo sie von einer Neoprenmanschette überspannt wurde, um damit ein Entweichen von Luft zu vermeiden und dadurch die LBNP-Box zur Probandenseite gegen nachströmende Luft zu versiegeln. Im oberen Viertel des M. tibialis anterior wurden EMG-Ableitelektroden (vgl. Abb. 9) angeklebt, um den Muskel



elektrophysiologisch zu untersuchen. Zwischen der Patella und den EMG-Elektroden wurde ein Dehnmessfühler zur Durchblutungsmessung des M. tibialis anterior angebracht.



**Abbildung 10: Diagonalansicht der LBNP-Box mit Probandenposition**

Sämtliche Kabel der EMG-Elektroden und des Dehnmessfühlers wurden über ein Loch in der Bodenplatte nach außen geführt. Diese Öffnung war in ihrem Querschnitt vernachlässigbar klein, so dass dieser Umstand keinen Einfluss auf die Konstanz des Unterdrucks hatte. Die angeschlossene Pumpe war in der Lage, dieses Defizit zu kompensieren, was im Vorfeld der Experimente mit einem Probe-LBNP-Manöver überprüft wurde. Des Weiteren wurde – wie bereits in der Studie I<sub>31P-MRS</sub> – am Oberschenkel eine Okklusionsmanschette angelegt, um KON 2/2<sup>#</sup> wieder unter ischämischen Bedingungen durchzuführen. Diese Okklusionsmanschette diente während der Durchblutungsmessungen gleichzeitig als Staumanschette zur Durchblutungsmessung. Weiterhin trugen die Probanden während der Versuche eine Gesichtsmaske, über die ausgewählte Ventilationsparameter erfasst wurden.

### 2.2.2 Ventilation

Mit dem geschlossenen Spirometersystem MAGNA 710 (Fa. MEDITRON, Buchholz /Nordheide, Deutschland) wurde die Ventilation der Probanden hinsichtlich der Sauerstoffaufnahme und der Atemfrequenz untersucht. Bei dieser Technik atmeten die Probanden in und aus einem geschlossenen Spirometersystem (vgl. Abb. 10). Eine Pumpe sorgte für ein Zirkulieren der Luftmassen im Spirometersystem, wobei die Luft durch einen Behälter mit Natronkalk geleitet wurde. Mit Hilfe des Natronkalks wurde das von den Probanden abgeatmete CO<sub>2</sub> absorbiert. Das Nachregulieren des verbrauchten Sauerstoffs wurde durch ein internes O<sub>2</sub>-Spirometer gewährleistet, welches mit reinem Sauerstoff aus einer Sauerstoffflasche versorgt wurde. Die Sauerstoffkonzentration der zirkulierenden Luftmassen wurde durch einen paramagnetisch arbeitenden Sauerstoffanalysator gemessen. Kam es zu einer Reduktion der O<sub>2</sub>-Konzentration

von < 21 %, so wurde über ein magnetisches Ventil so lange Sauerstoff nachgeregelt, bis die O<sub>2</sub>-Konzentration wieder 21 % betrug. Die aus dem Nachfüllspirometer nachgeregelte Menge an Sauerstoff entsprach dem Sauerstoffverbrauch der Probanden. Die Messung des Sauerstoffverbrauchs erfolgte jeweils über 30-Sekunden-Intervalle. Die Messdaten wurden über eine A/D-Karte in ein rechnergesteuertes Akquisitionsprogramm überspielt und zur späteren Auswertung aufgezeichnet.

### 2.2.3 Durchblutungsmessung

Die Durchblutung des M. tibialis anterior bzw. des Unterschenkels wurde mit Hilfe des Venenverschlussplethysmographen Periquant 3800 (Fa. GUTMANN, Eurasburg, Deutschland) gemessen. Mit diesem Messverfahren besteht die Möglichkeit, die Durchblutung bestimmter Körperteile und -areale, wie beispielsweise des Unterschenkels, des Unterarms oder der Haut zu untersuchen. Für die Durchblutungsmessung wurde den Probanden eine Staumanschette am rechten Oberschenkel angelegt (Abb. 9), die während der Durchblutungsmessung auf einen Druck zwischen dem Venendruck und dem diastolischen Blutdruck aufgeblasen wurde. Das Füllen und Entleeren der Staumanschette wurde durch ein internes Steuerprogramm des Venenverschlussplethysmographen geregelt. In der Phase des Druckaufbaus ging der arterielle Einstrom ungehindert weiter; lediglich der venöse Abstrom des Blutes wurde eingeschränkt. Aufgrund des behinderten venösen Abflusses kam es im distalen Bereich der Staumanschette zu einer Volumenzunahme des Unterschenkels. Diese Volumenzunahme wurde mit Hilfe eines mit Quecksilber gefüllten Dehnmessfühlers registriert (Abb. 9) und durch ein geräteinternes Computerprogramm ausgewertet, wobei die Höhe der Durchblutung aus der Volumenzunahme automatisch mitberechnet wurde. Eine Durchblutungsmessung vom Einsetzen der Stauung bis zum Entlüften der Staumanschette dauerte 5 Sekunden, bei maximal 4 Messungen pro Minute. In Abb. 11 ist eine Durchblutungsmessung schematisch vorgestellt.

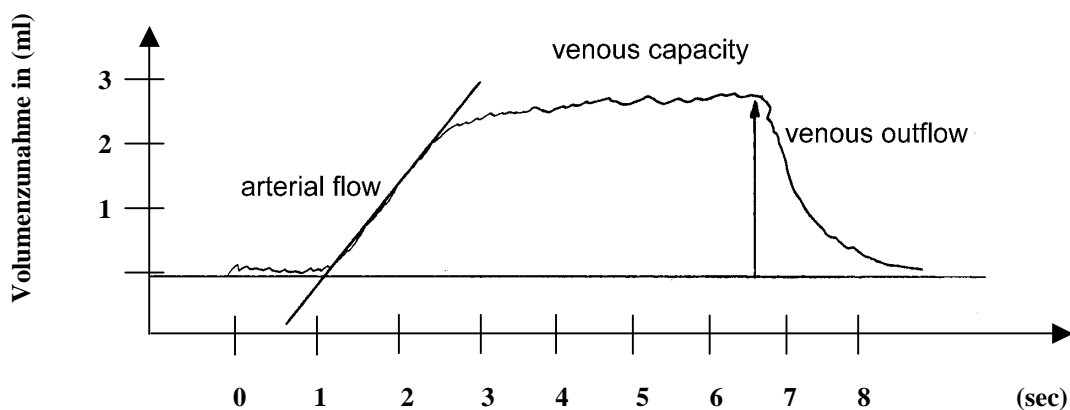


Abbildung 11: schematische Durchblutungsmessung

Bei dieser Darstellung handelt es sich um eine artefaktfreie Durchblutungsmessung. Der als „arterial flow“ gekennzeichnete Kurvenabschnitt charakterisiert die Phase, in der die Staumanschette aufgeblasen wurde. Da der venöse Abstrom des Blutes zunächst unterbrochen wird und es dadurch anfangs zu einem konstanten, arteriellen Einstrom kommt, erscheint der Kurvenanstieg nahezu linear. Im weiteren Verlauf der Volumenzunahme wird jedoch die Speicherkapazität des venösen Blutgefäßsystems überschritten. Infolgedessen steigt der venöse Druck über den angelegten Staudruck der Manschette. Dadurch kommt es zu einem moderaten venösen Ausstrom – die Volumenzunahme steigt nicht mehr linear an. Dieser Effekt wird in dem abflachenden Verlauf der Kurve („venous capacity“) sichtbar. Nach dem Ablassen des Staudrucks kommt es zu einer sofortigen Entleerung des venösen Blutgefäßsystems, so dass die Entleerungsgeschwindigkeit des venösen Gefäßabschnittes, entsprechend als „venous outflow“ bezeichnet, berechnet werden kann. Der für die Auswertung relevante Kurvenabschnitt zur Messung der Durchblutung ist der als „arterial flow“ gekennzeichnete Teil der Kurve. Da die Durchblutungsmessung mit Hilfe eines Venenverschlussplethysmographen eine absolute körperliche Ruhe des Probanden voraussetzt, wurden sämtliche Messungen auf Artefakte hin untersucht und gegebenenfalls nachkorrigiert. Die Höhe der Durchblutung wird in der Einheit  $ml \cdot 100 ml^{-1} Gewebe \cdot min^{-1}$  angegeben.

#### 2.2.4 Elektromyographie

In Studie II<sub>Q</sub> wurden die EMGs mit dem Akquisitionssystem ACQ<sup>®</sup> (Fa. BIOPAC, Aachen, Deutschland) aufgezeichnet und analysiert, wobei die vorbereitenden Maßnahmen zur Präparation der Haut mit denen der Studie I<sub>31P-MRS</sub> übereinstimmten (vgl. Kap. 2.1.4.1 Punkt (A)). In dieser Studie wurden Klebeelektroden des Typs 4050 (Fa. DAHLHAUSEN, Köln, Deutschland) verwendet. Auch bei diesem Messsystem wurden die EMGs mit einer Frequenz von 2000 Hz aufgezeichnet und zur späteren Auswertung direkt auf einen PC überspielt. Die Bearbeitung der EMGs erfolgte mit dem Programm „ACQ 3.2 for Windows<sup>®</sup>“.

### 2.3 Studie III<sub>UENP</sub>

Ziel dieser Studie war es, durch die Hinzunahme blutchemischer Parameter die Frage zu klären, ob und inwieweit sich die Ergebnisse der vorangegangenen Studien bestätigen lassen, wenn eine wesentlich geringere Flüssigkeitsverschiebung hervorgerufen wird. Darüber hinaus soll eine weiterführende Diskussion der Ergebnisse ermöglicht werden. Im Gegensatz zu den vorangegangenen Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub>, die sich lediglich in den angewandten Messmethoden unterscheiden, kam es in Studie III<sub>UENP</sub> zu Veränderungen des Versuchsablaufs.

#### 2.3.1 Versuchsaufbau

In Studie III<sub>UENP</sub> waren 7 Probanden männlichen Geschlechts involviert, die ein mittleres Gewicht von 74.3 kg (SD  $\pm$  7.7), eine Größe von 182.4 cm (SD  $\pm$  4.8) und ein Alter von 29.6 Jahren (SD  $\pm$  3.2) hatten (vgl. Anhang A, anthropometrische Daten, Tab. 12). Bei der in dieser Studie zu untersuchende Muskelgruppe handelte es sich um die Flexoren-Gruppe des Unterarmes. Auch hier wurden zwei Experimente mit unterschiedlichen atmosphärischen Umgebungsdrücken durchgeführt, die als **UENP-** (Upper **Extremity Negative Pressure**) und **REFERENZ-VERSUCH** bezeichnet werden. In der Abbildung 12 ist der Versuchsaufbau der Studie III<sub>UENP</sub> dargestellt.

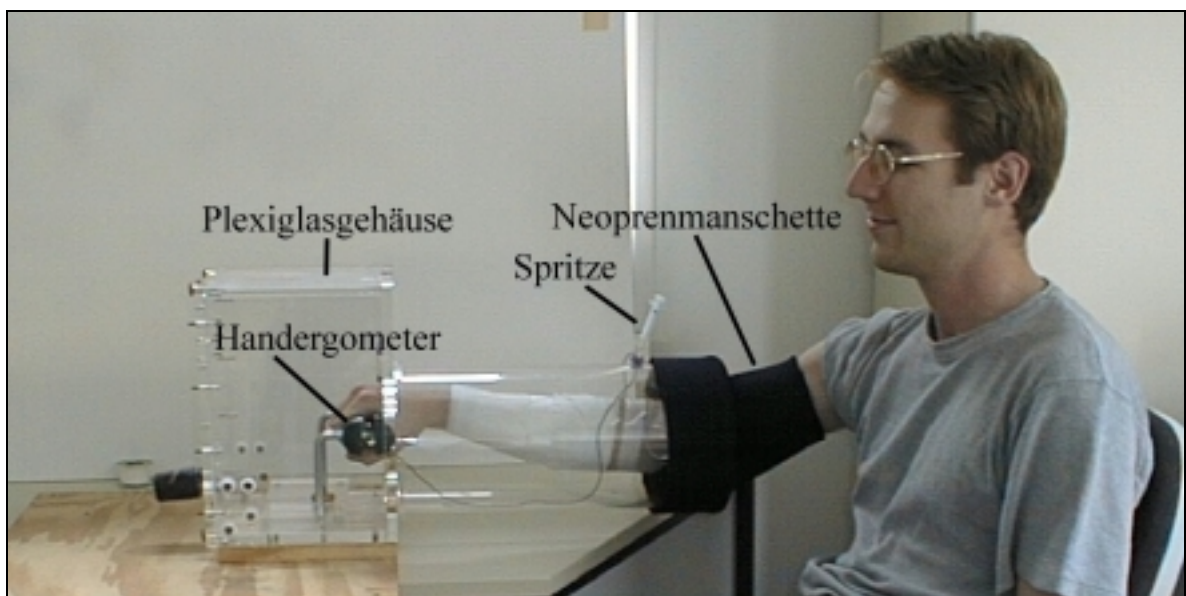


Abbildung 12: Versuchsaufbau – Studie III<sub>UENP</sub>

Wie zu erkennen ist, wurde analog zu den unteren Extremitäten in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> der gesamte Unterarm bis zur Mitte des corpus humeri dem Unterdruck ausgesetzt. Hierbei kam ein Plexiglas-Gehäuse zum Einsatz, indem ein Handergometer installiert war, um eine iso-

metrische Palmarflexion der Finger-Flexoren-Gruppe des Unterarms durchzuführen. Innerhalb des Handergometers war ein linearer Kraftaufnehmer angebracht (Fa. ERNST), über den die aufgebrachte Kraft aufgezeichnet wurde. An der dem Probanden gegenüberliegenden Seite wurde eine Pumpe angeschlossen. Mit Hilfe dieser Pumpe und eines dazugehörigen Steuerprogramms konnte, wie in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub>, ein Unterdruck von -40 mmHg erzeugt werden, welcher zur späteren Überprüfung ebenfalls mit aufgezeichnet wurde.

In beiden Experimenten (UENP und REFERENZ) wurden folgende vorbereitenden Arbeitsprozeduren (A), (B), (C), (D) und (E<sup>#</sup>/E) durchgeführt, die in Abbildung 13 wiederzufinden sind.

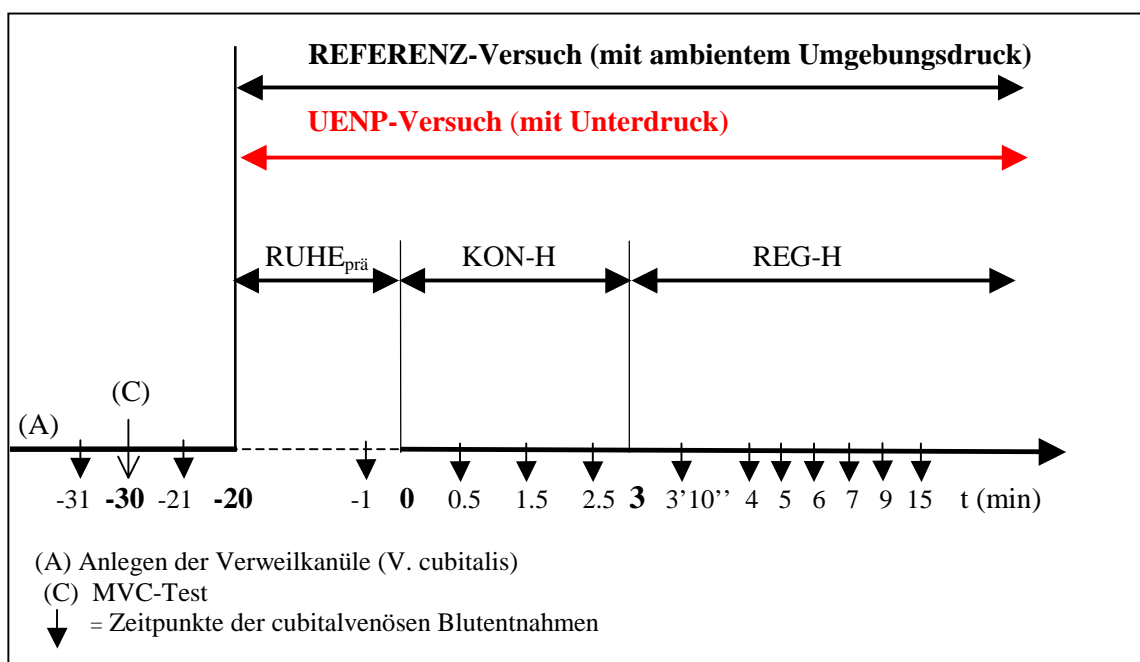


Abbildung 13: Flow-Diagramm zum chronologischen Versuchsablauf

(A) Zunächst wurde am Versuchsarm eine Teflon-Verweilkanüle (INTROCAN<sup>®</sup>, Fa. B.BRAUN, Melsungen, Deutschland) in die V. cubitalis anterior gelegt, um während des Arbeits- und Regenerationsprotokolls (vgl. Kap. 2.3.2) zu definierten Zeitpunkten cubitalvenöses Blut aus der arbeitenden Muskulatur entnehmen zu können. An die Kanüle wurde ein 10 cm langer Silikonschlauch (Ø1,2 x 2,2; DISCOFIX<sup>®</sup>; Fa. B.BRAUN, Melsungen, Deutschland) mit einem Dreiwegehahn als Endstück angeschlossen, um spätere Blutentnahmen durch das Plexiglasgehäuse hindurch nach außen zu ermöglichen. Anschließend wurde der Unterarm in das Gehäuse geführt und die Hand auf dem Handergometer abgelegt. Unter das Ellbogengelenk wurde ein Kissen gelegt, damit der Proband den Unterarm in horizontaler Position ablegen konnte. Das Ende des Dreiwegehahns wurde durch eine kleine Öffnung an der Oberseite des Gehäuses (vgl. Abb. 12) nach außen gelegt und fixiert. Des Weiteren wurde der

Unterarm mit angefeuchteten Mullbinden umwickelt, um durch die entstehende Verdunstungskälte die Hautdurchblutung zu reduzieren (vgl. Kap. 4.1).

**(B)** Am Oberarm des Versuchsarmes wurde eine Neoprenmanschette angebracht, die für ein Abdichten des Plexiglas-Gehäuses zur Probandenseite im UENP-Versuch konzipiert war. Diese Manschette wurde auch im REFERENZ-Versuch angelegt. Unterhalb der Neoprenmanschette war die Druckmanschette des Venenverschlussplethysmographen angebracht. Diese Manschette wurde für die Gesamtdauer der REFERENZ- und UENP-Versuche auf einen konstanten Druck von 20 mmHg aufgepumpt, um ein optimales Abdichten der Neoprenmanschette zu gewährleisten.

**(C)** Analog zu den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  wurde auch in dieser Studie ein MVC-Test in bereits beschriebenem Design durchgeführt (vgl. Kap. 2.1.4.1 Punkt (D)).

**(D)** Im Anschluss an den MVC-Test folgte eine 10-minütige Ruhephase.

**(E<sup>#</sup>/E)** Nach Beendigung dieser Ruhephase begann im UENP-Versuch eine 20-minütige Unterdruck-Ruhephase des Unterarms ( $RUHE_{prä}$ ) bei -40 mmHg (analog zur  $RUHE_{prä}$ -Phase der Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$ ), an die sich unmittelbar das Arbeits- und Regenerationsprotokoll anschloss (vgl. Kap. 2.3.2). Im REFERENZ-Versuch war während dieser 20-minütigen  $RUHE_{prä}$ -Phase ein ambienter Druck vorhanden, bevor das Arbeits- und Regenerationsprotokoll begann.

### 2.3.2 Arbeitsprotokoll

Nachdem alle unter 2.3.1 aufgezählten Arbeitsschritte durchgeführt wurden, begann das Arbeitsprotokoll (Abb. 13), welches im Gegensatz zu den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  aus nur einer Kontraktion (KON-H ; analog zu KON 1/1<sup>#</sup> in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$ ) bestand. Hierbei handelte es sich um eine 3-minütige, isometrische Palmarflexion der Hand. Die Experimente REFERENZ und UENP dieser Studie  $III_{UENP}$  wurden sowohl mit 20 % als auch mit 40 % der MVC durchgeführt, so dass jeder REFERENZ- und UENP-Versuch von jedem Probanden zweimal mit unterschiedlichen Intensitäten absolviert wurde (vgl. Kap. 4.1). Die sich anschließende Regenerationsphase (REG-H) hatte, wie in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$ , eine Länge von 12 Minuten.

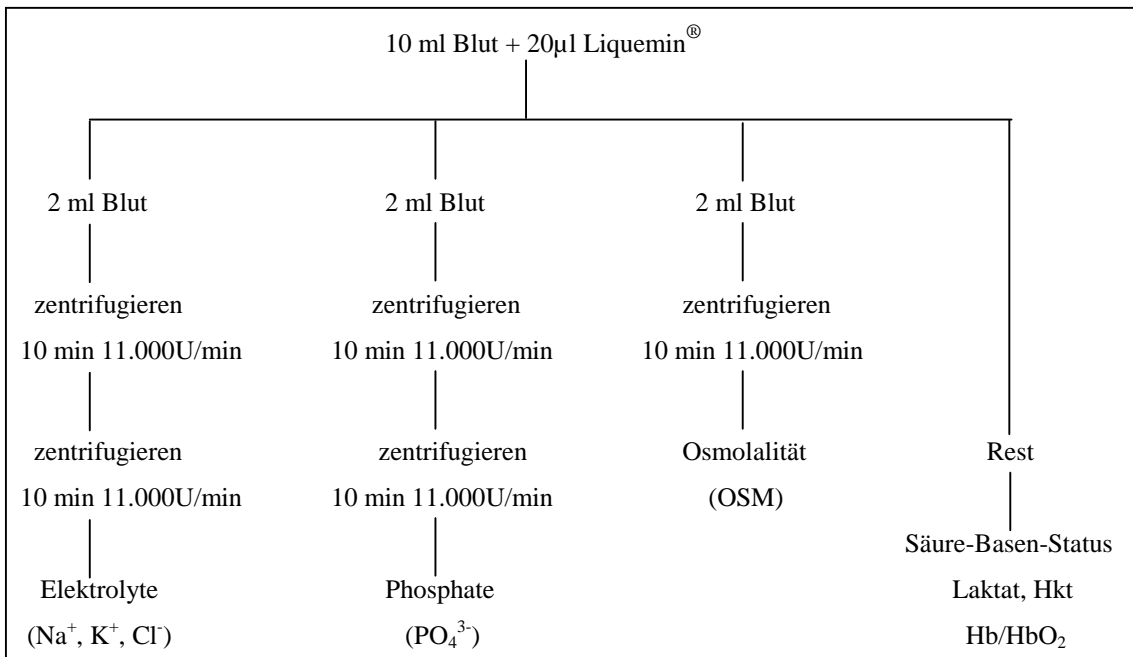
### 2.3.3 Blutanalyse und Messmethoden

Alle in dieser Studie  $III_{UENP}$  entnommenen Blutproben wurden in der Abteilung Sportphysiologie der Medizinischen Hochschule Hannover weiterbehandelt und analysiert.

Um zu den determinierten Zeitpunkten (Abb. 13) Blut zu entnehmen, war es notwendig, die leeren Spritzen im Vorfeld der Experimente zu heparinisieren, um ein Koagulieren des Blutes nach der Blutentnahme zu vermeiden. Zur Bestimmung der Blutparameter wurden 10 ml Blut pro Messpunkt mit einer 10 ml Spritze (LUER, Fa. B. BRAUN, Melsungen) entnommen, wobei jede Spritze mit 20  $\mu$ l Heparin (LIQUEMIN N 2500, Fa. HOFFMANN LA-ROCHE AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) versetzt war. Unmittelbar nach der Blutentnahme wurde das Blut auf eigens für die unterschiedlichen Parameterbestimmungen vorbereitete Safe-Lock-Probenbehälter (EPPENDORF) verteilt und in Eis gelagert. Nach jeder Blutentnahme wurde der Katheter mit einer sterilen, isotonischen 0,9 %-igen Kochsalzlösung gespült, um ein Koagulieren des Blutes in der Verweilkanüle zu vermeiden. Aus dem Vollblut wurden der Säure-Basen-Status (SBS), die Laktatkonzentration ([Lak]), der Hämatokritwert (Hkt), die Hämoglobinkonzentration ([Hb]), sowie die Sättigung (HbO<sub>2</sub>) bestimmt (Abb. 14). Bei dem SBS handelte es sich um die CO<sub>2</sub>- und O<sub>2</sub>-Partialdrücke (PCO<sub>2</sub> und PO<sub>2</sub>), die Bikarbonatkonzentration ([HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>]) sowie den pH-Wert. Im Blutplasma wurden die Elektrolytkonzentrationen ([Na<sup>+</sup>], [K<sup>+</sup>], [Cl<sup>-</sup>]), die Phosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) und die Osmolalität (OSM) ermittelt. Zur Gewinnung des Plasmas wurden die Proben zunächst für fünf Minuten bei 11.000 U/min zentrifugiert. Anschließend wurde das Blutplasma abpipettiert und in neue EPPENDORF-Probenbehälter gefüllt, wo sie ohne die OSM-Proben erneut zentrifugiert wurden. Mit Ausnahme der Phosphate und der Elektrolyte, die für eine spätere Analyse zunächst bei -40 Grad Celsius tiefgefroren wurden, konnten die Blutproben der restlichen Parameter nach Beendigung des jeweiligen Experiments sofort weiterverarbeitet und entsprechend den nachfolgend aufgeführten Bestimmungsmethoden analysiert werden.

### Laktat

Mit Hilfe einer 20  $\mu$ l end-to-end Kapillare wurde direkt aus der Entnahmespritze Vollblut in ein mit 1 ml Systemlösung gefülltes Safe-Lock-Reaktionsgefäß des Glukokapillar-Entnahmesystems (Fa. CARE DIAGNOSTICA, Voerde, Deutschland) überführt. Diese Systemlösung (Hämolyserlösung) sorgte für ein Auflösen der Erythrozytenmembran und für eine Unterbrechung sämtlicher Stoffwechselprozesse. Die Proben wurden anschließend mit einem BIOSEN 5030L Laktatmessgerät (Fa. ENVITEC, Wismar, Deutschland) analysiert. Bei dieser Technik wird das Laktat durch das Enzym Laktatoxidase in Pyruvat und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> überführt. Das Wasserstoffperoxid wird seinerseits an einer Platinelektrode oxidiert, wodurch ein Stromfluss entsteht. Dieser Stromfluss wird in ein Spannungssignal umgewandelt, welches direkt proportional zur [Lak] ist. Die [Lak] wird in *mmol/l* angegeben.



**Abbildung 14: Übersichtsschema der Blutprobenaufbereitung**

### Hämatokrit

Ebenfalls direkt aus der Entnahmespritze wurden vier 75 mm Kapillaren pro Probe (Fa. BRAND, Wertheim, Deutschland) mit Vollblut gefüllt, wobei die Kapillare beidseitig mit Knetmasse versiegelt wurde. Anschließend wurden die Kapillaren für 5 Minuten mit 20.900 g zentrifugiert (Fa. HERAEUS SEPATECH, Mikrofuge B, Deutschland). Anhand einer Standard-Tabelle konnte der Hkt abgelesen werden. Der Mittelwert aus vier Werten wurde als der aktuelle Hämatokrit pro Messzeitpunkt gewertet und in *Prozent (%)* angegeben.

### Säure-Basen-Status

Die Blutgase (PCO<sub>2</sub> und PO<sub>2</sub>), die [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] und der pH-Wert wurden mit dem ABL 330® (Fa. RADIOMETER, Kopenhagen, Dänemark) untersucht. Dabei wurden der pH-Wert und der PCO<sub>2</sub> mittels ionen-selektiver Elektroden bestimmt. Der O<sub>2</sub>-Partialdruck wurde polarographisch gemessen und – ebenso wie der PCO<sub>2</sub> – in *mmHg* angegeben. Die [HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>] wurde in *mmol/l* angegeben.

### Hämoglobin und Hämoglobin-Sättigung

Die [Hb] und die (HbO<sub>2</sub>) wurden spektrophotometrisch mit dem OSM 3 Hemoxymeter® (Fa. RADIOMETER, Kopenhagen, Dänemark) bestimmt. Die [Hb] wurde in *g/100 ml* und die HbO<sub>2</sub> in *Prozent (%)* angegeben.



### Phosphat

Die anorganischen Phosphate wurden mit Hilfe des Merckotests 3331<sup>®</sup> (Fa. MERCK, Darmstadt) gemessen. Bei diesem Analyseverfahren bilden die im Blutplasma vorliegenden anorganischen Phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) zusammen mit Natriummolybdat Phosphomolybdat. Durch die anschließende Reduktion mit p-Methylaminophenolsulfat wird Phosphomolybdat in das kolloidal vorliegende Molybdänblau überführt. Die gebildete Menge an Molybdänblau ist direkt proportional der vorhandenen Menge an anorganischem Phosphat. Mit Hilfe des SPECTROPHOTOMETER 150-20 (Fa. HITACHI) wurde die Extinktion des Lichts im Absorptionsmaximum von 750 nm bestimmt. Die Phosphatkonzentration wird durch die Extinktion des Lichts nach der folgenden Formel (2.7) berechnet und in *mmol/l* angegeben.

$$[\text{P}_i] = 1.6 \cdot E_{\text{Probe}} / E_{\text{Standard}} \text{ [mmol/l]} \quad (2.8)$$

$E_{\text{Probe}}$  – Extinktionskoeffizient der Probe,  $E_{\text{Standard}}$  – Extinktionskoeffizient des Standards

### Osmolalität

Die Osmolalität wurde kryoskopisch mit einem Osmometer (Fa. ROEBELING, Berlin, Deutschland) untersucht. Dabei wurden 100  $\mu\text{l}$  des einfach zentrifugierten Plasmas mit Hilfe des Osmometers gefroren. Die Veränderung des Plasmasgefrierpunktes – als Referenz wurde Aqua<sub>bidest</sub> verwendet – diente dabei als direktes Maß für die Konzentration wasserlöslicher, osmotisch wirksamer Substanzen im Plasma und damit der Osmolalität. Die Osmolalität wurde angegeben in *mosmol/kg H<sub>2</sub>O*.

### Elektrolyte

Die Elektrolytproben wurden nach dem Wiederauftauen erneut zentrifugiert, ehe sie mit dem Elektrolytanalysator NOVA 5 (Fa. NOVA BIOMEDICAL, Rödermark, Deutschland) untersucht wurden. Dieser Analysator ist mit einer ionen-selektiven Natrium-Glaselektrode und einer organischen Flüssigkeitsaustauschmembran zur Kaliumdetektion ausgerüstet, die lediglich für die entsprechenden Ionen permeabel sind. Mit Hilfe einer Referenzelektrode, welche ein konstantes Potenzial besitzt, wird eine Potenzialdifferenz zu den anderen Elektroden berechnet, die direkt proportional zu den Konzentrationen der jeweiligen Elektroden ist. Die Angabe der Ionen-Konzentrationen erfolgt in *mmol/kg H<sub>2</sub>O*.

## 2.4 Auswertung und Statistik

Alle statistischen Tests und Berechnungen wurden mit den Programmen STATISTICA für Windows 5.0<sup>®</sup> (Fa. STATSOFT INC., Tulsa, USA) oder PLOTIT 3.1<sup>®</sup> (Fa. SCIENTIFIC PROGRAMMING ENTERPRISES INC., Haslett, USA) durchgeführt. Sofern nicht anders kenntlich gemacht, werden für alle in dieser Arbeit vorgestellten Parameter die Mittelwerte ( $\pm$  Standardfehler, SE) berechnet. Der Standardfehler wird innerhalb der Ergebnisgraphiken in Form des Fehlerbalkens angegeben. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde der Standardfehlerbalken im Ergebnisteil jeweils nur in einer Richtung aufgetragen. Des Weiteren wurde in Studie I<sub>31P-MRS</sub> lediglich jeder fünfte Messwert mit einem Standardfehlerbalken versehen.

Zur statistischen Abklärung und Absicherung zwischen den Experimenten wurden zweifaktorielle Varianzanalysen durchgeführt, um auf signifikante Mittelwertsunterschiede zwischen abhängigen Parametern zu prüfen. Hierbei wurde die Varianzanalyse mehrfach gestuft, d. h. der erste Faktor (Experiment) wurde zweifach gestuft: LBNP-Versuch vs. REFERENZ-Versuch. Der zweite Faktor (Zeit) wurde in Studie I<sub>31P-MRS</sub> 8-fach und in den Studien II<sub>Q</sub> und III<sub>UENP</sub> 1-fach gestuft, entsprechend den Perioden P1 bis P8 der Abbildung 15:

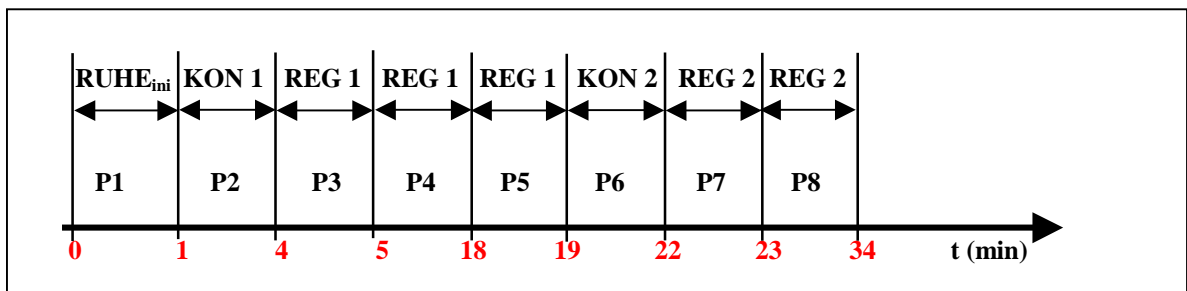


Abbildung 15: Flow-Diagramm zur Darstellung der Stufungsperioden

Anschließend wurde ein Scheffé-Test als Post-Hoc-Test durchgeführt. Die Nullhypothese wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\leq 5\%$  verworfen. Um Mittelwertsunterschiede zwischen den Experimenten (Faktor 1) aufzuzeigen, wird nachfolgend das Symbol (\*) benutzt. Für die Darstellung von intraexperimentellen signifikanten Unterschieden zum Ausgangswert wird folgendes Symbol (\*) verwendet. Zur übersichtlicheren Darstellung wurde in den Graphiken und Tabellen folgende Nomenklatur der Signifikanzniveaus verwendet:

- \* / \*<sup>2</sup> = entsprechend einer 5%-igen Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p < 0.05$ )
- \*\* / \*\*<sup>2</sup> = entsprechend einer 1%-igen Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p < 0.01$ )
- \*\*\* / \*\*\*<sup>2</sup> = entsprechend einer 0,1%-igen Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p < 0.001$ )
- n.s. = nicht signifikant

Sollten abweichend von der bereits vorgestellten Probandenkollektiven weniger Probanden in die statistische Auswertung bzw. die Präsentation der Ergebnisse einfließen (z. B. auf Grund von Datenverlusten oder durch den Versuchsabbruch eines Probanden), so wird dies explizit in der jeweiligen Graphik kenntlich gemacht. Ohne zusätzliche Legende wird immer vom Gesamtprobandenkollektiv der jeweiligen Studie ausgegangen.

Bei der Darstellung der relativen Konzentrationsangaben der Studie I<sub>31P-MRS</sub> ist folgendes zu beachten: Die mittlere [PCr], berechnet aus den sechs Spektren der RUHE<sub>ini</sub>-Phase, wurde auf 100 % gesetzt. Die [ATP], [P<sub>i</sub>] und die [PME] hingegen wurden relativ zur mittleren [PCr] der RUHE<sub>ini</sub>-Phase angegeben.

Mit einem STUDENT's t-Test für abhängige Stichproben wurde überprüft, ob sich die mittlere Zeitkonstante für die PCr-Regeneration zwischen den beiden Experimenten LBNP und REFERENZ unterscheidet.

Um die Abhängigkeit zwischen zwei Parametern zu untersuchen, wurde der Korrelationskoeffizient ( $r$ ) mit Hilfe einer linearen ( $y = bx + a$ ) Regression berechnet.

### 3 Ergebnisse

Im diesem Forschungsprojekt steht die Frage im Vordergrund, inwiefern sich eine veränderte Hydratation auf den Muskelstoffwechsel auswirkt. Im Mittelpunkt der Auswertung steht dabei der direkte Vergleich zwischen dem REFERENZ- und dem LBNP-Versuch. Parameter, die keine unmittelbaren Veränderungen aufgrund der unterschiedlichen Versuchsbedingungen erkennen lassen, werden im Anhang dargestellt.

#### 3.1 Studie I<sub>31P-MRS</sub>

##### 3.1.1 Die Wirkung des LBNP in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase

##### 3.1.1.1 Energiereiche Phosphate und pH-Wert

Wie aus Abb. 16 hervorgeht, kommt es in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase zu keinen signifikanten Veränderungen der energiereichen Phosphate. Die relative [PCr] bleibt ebenso unverändert wie auch die relativen [ATP] und [P<sub>i</sub>]. Allerdings ist ein sukzessiver, signifikanter Anstieg ( $p < 0.01$ ) des intrazellulären pH-Werts innerhalb dieser 20-minütigen RUHE<sub>prä</sub>-Phase von anfangs  $7.00 (\pm 0.01)$  bis auf  $7.04 (\pm 0.01)$  zum Ende der Phase zu beobachten.

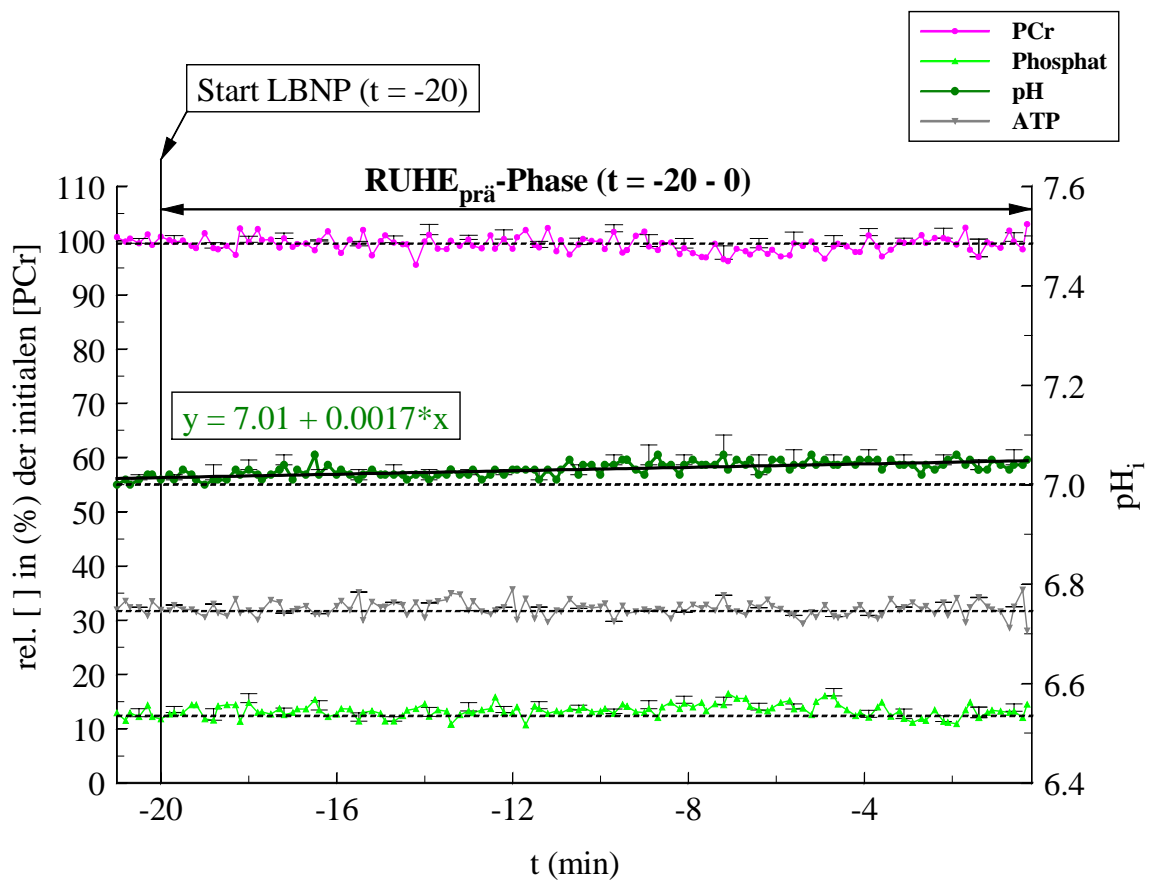


Abbildung 16: pH-Wert sowie die relativen [ATP], [P<sub>i</sub>] und [PCr] in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase (n = 8)

### 3.1.1.2 Kontrollfaktoren der oxidativen Phosphorylierung

Ebenso wie die energiereichen Phosphate lassen auch die potenziellen Kontrollfaktoren (vgl. Kap. 4.3) der oxidativen Phosphorylierung – beispielsweise der ATP/ADP-Quotient und die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse – innerhalb der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase keine Veränderung erkennen (Abb. 17).

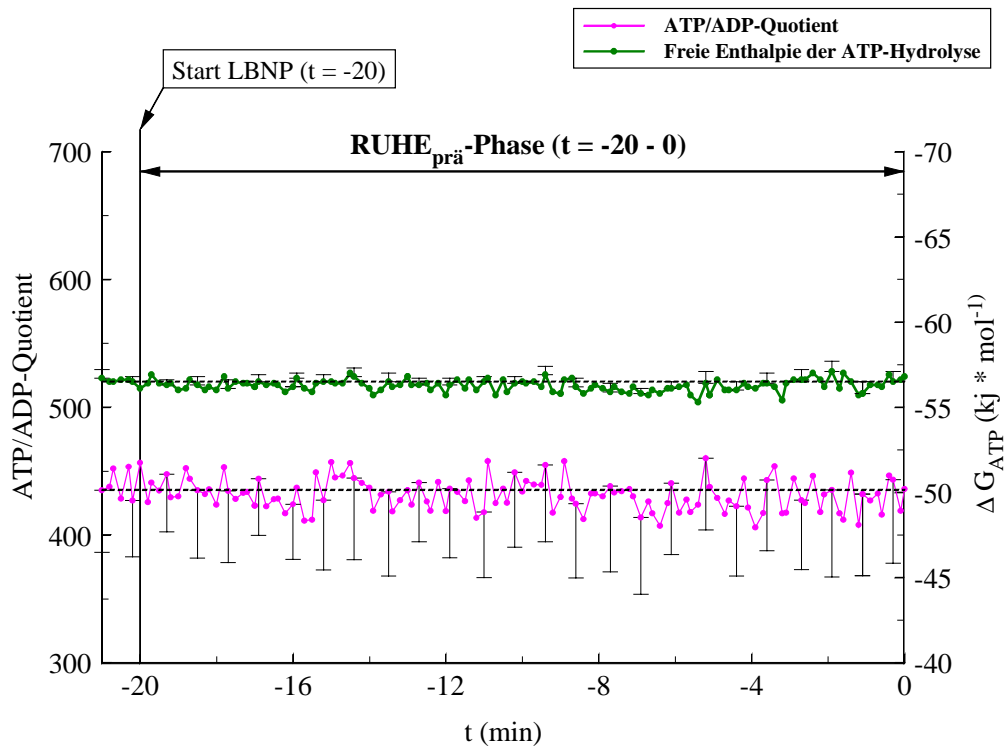
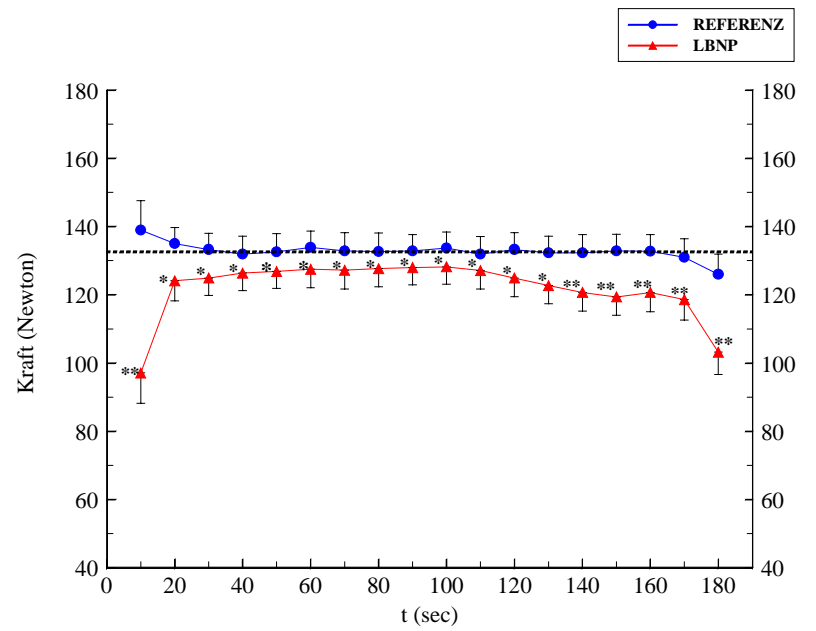


Abbildung 17:  $\Delta G_{\text{ATP}}$  und der ATP/ADP-Quotient (n = 8)

## 3.1.2 Kontraktions- und Regenerationsphasen

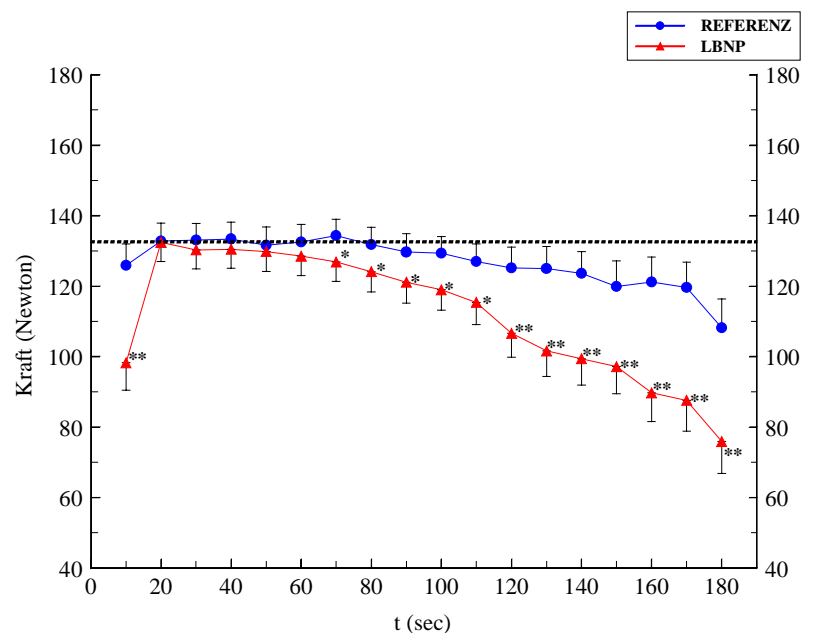
### 3.1.2.1 Kraftentwicklung

Die während der Ergometrien aufgezeichnete Kraft belegt, dass die Probanden während des LBNP-Versuchs im Gegensatz zum REFERENZ-Versuch nicht in der Lage sind, die Zielkraft von 30 % der MVC über die gesamte Arbeitsdauer von 3 Minuten aufrecht zu erhalten. Während in KON 1 kein Kraftverlust zu erkennen ist, erreichen die Probanden zu keinem Zeitpunkt von KON 1<sup>#</sup> die geforderte Zielkraft. Vielmehr kommt es nach ca. 110 Sekunden zu einem sukzessiven, signifikanten Abfall der Kraft (Abb. 18; vgl. Anhang C, Tab. 13). Ein ähnliches Verhalten zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch ist auch während KON 2 und KON 2<sup>#</sup> (mit angelegter Okklusion) zu beobachten. Hier ist auch im REFERENZ-Versuch ein Abfall der Kraft zu verzeichnen, der nach ca. 100 Sekunden einsetzt. Wesentlich früher – bereits nach ca. 70 Sekunden – setzt der Kraftverlust hingegen während KON 2<sup>#</sup> ein (Abb. 19).



**Abbildung 18: Kraftverlauf während der Kontraktionen KON 1/1<sup>#</sup>**

(horiz. Linie repräsentiert die Vorgabe der zu absolvierenden Kraft, Sollkraft)



**Abbildung 19: Kraftverlauf während der ischämischen Kontraktionen KON 2/2<sup>#</sup>**

### 3.1.2.2 Creatinphosphat

Im Verlauf des LBNP-Versuchs kommt es während der Kontraktionsphasen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> zu einem signifikant größeren Abfall der [PCr] als bei KON 1 und 2. Es sind Differenzen von annähernd 10 Prozent am Ende der Kontraktionen zu erkennen (Abb. 20; vgl. Anhang C, Tab. 14). Die sich unmittelbar an die Kontraktionsphasen anschließenden, schnellen Regenerationsphasen (P3 und P7) sind hingegen im interexperimentellen

Vergleich nicht unterschiedlich. Neben der stärkeren Reduktion der [PCr] im LBNP-Versuch kommt es im Verlauf der Regenerationsphasen (REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>) zu einem signifikanten Anstieg ( $p < 0.01$ ) der [PCr] über die relative Ausgangskonzentration von 100 % hinaus (Overshoot). Dieser PCr-Overshoot ist im REFERENZ-Versuch tendenziell auch zu beobachten, erreicht im Vergleich zum Ruhewert jedoch kein Signifikanzniveau. Die PCr-Overshoots des LBNP-Versuchs (REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>), die sich jeweils über die gesamte Regenerationsphase erstrecken, sind im interexperimentellen Vergleich signifikant höher ( $p < 0.01$ ) als die PCr-Erhöhungen des REFERENZ-Versuchs.

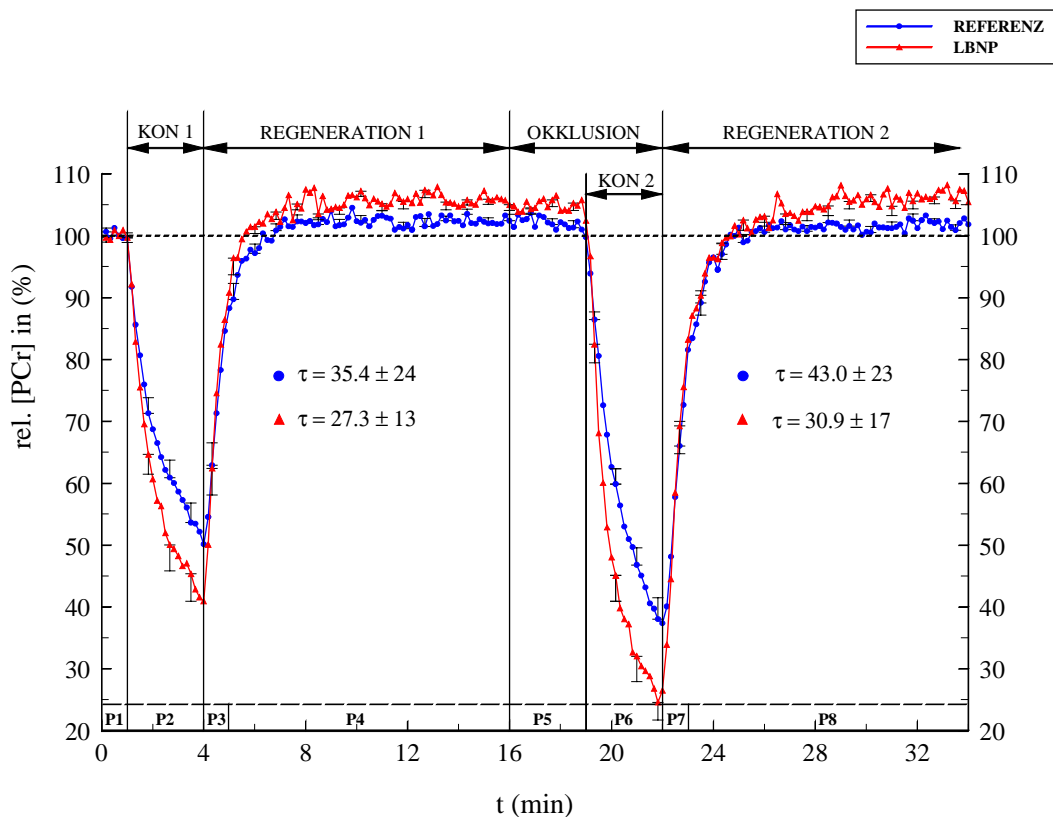


Abbildung 20: relative [PCr] während des gesamten Versuchs; ( $\tau$  in sec)

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
REFERENZ vs. LBNP	n.s.	**	n.s.	**	*	**	n.s.	**

Tabelle 1: Statistische Auswertung der rel. [PCr] für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 20

### 3.1.2.3 PCr-Verbrauch vs. Arbeit

Fasst man die Ergebnisse (PCr und Kraft) zusammen so zeigt sich, dass im LBNP-Versuch sowohl während der ersten als auch während der zweiten Kontraktion (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) – trotz einer im Vergleich zum REFERENZ-Versuch geringer ausfallenden Gesamtarbeit – die [PCr] stärker reduziert wird. Arbeit wird in diesem Zusammenhang definiert als das Produkt

aus Haltekraft und Haltezeit (Kraft-Zeit-Integral). Eine Berechnung des initialen PCr-Abfalls über die ersten 20 Sekunden der ersten Kontraktion mit Hilfe einer linearen Regression (in den Abb. 21 und 22 durch eine Regressionsgerade angedeutet) zeigt, dass die [PCr] während KON 1 lediglich um  $-19.6 \% (\pm 0.58) \cdot (100 \text{ N} \cdot \text{min})^{-1}$  reduziert wird, während es bei KON 1<sup>#</sup> zu einer Reduzierung der [PCr] um  $-26.8 \% (\pm 0.65) \cdot (100 \text{ N} \cdot \text{min})^{-1}$  kommt (vgl. Abb. 21). Ein vergleichbares Ergebnis ist auch zwischen KON 2 und KON 2<sup>#</sup> zu erkennen (Abb. 22). Dort kommt es im REFERENZ-Versuch zu einer Verringerung der [PCr] um  $-24.5 \% (\pm 0.46) \cdot (100 \text{ N} \cdot \text{min})^{-1}$ , wohingegen im LBNP-Versuch der Abfall der [PCr]  $-44.6 \% (\pm 0.91) \cdot (100 \text{ N} \cdot \text{min})^{-1}$  beträgt. Die beiden initialen PCr-Reduktionen sind im LBNP-Versuch signifikant größer ( $p < 0.05$ ) als im REFERENZ-Versuch.

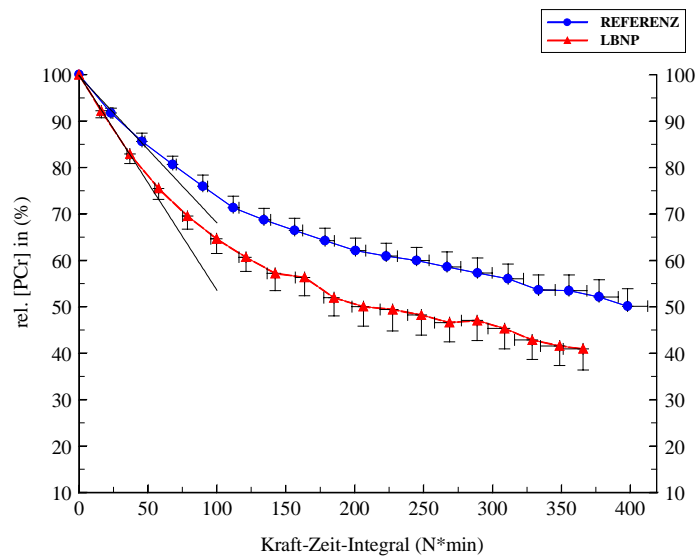


Abbildung 21: [PCr] vs. Arbeit während KON 1/1<sup>#</sup>

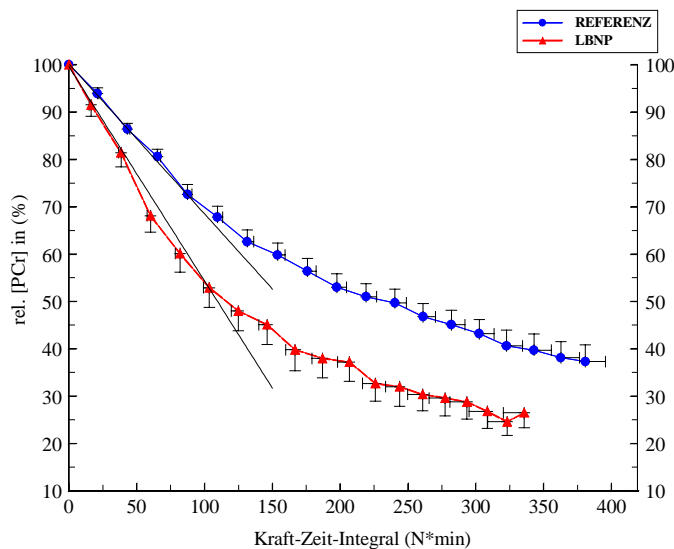


Abbildung 22: [PCr] vs. Arbeit während KON 2/2<sup>#</sup>



## 3.1.2.4 Anorganisches Phosphat

Aufgrund der Creatinkinase-Reaktion kann man bei den Ergebnissen der anorganischen Phosphate ein spiegelbildliches Verhalten der PCr-Kinetik feststellen. Daraus ergibt sich während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> ein signifikant höherer Anstieg der  $[P_i]$  im Vergleich zum REFERENZ-Versuch. Analog zu den in den Regenerationsphasen beobachteten PCr-Overshoots (Abb. 23; vgl. Anhang C, Tab. 15) kommt es hier zu einem  $P_i$ -Undershoot unter die Ausgangskonzentration. Jedoch bleibt dieser Undershoot nicht wie beim PCr-Overshoot nahezu konstant, sondern es kommt im Verlauf der Regeneration zu einer sukzessiven Erholung der  $[P_i]$  in Richtung Ausgangswerte. Weder am Ende der Regenerationsphasen REG 1/1<sup>#</sup>, noch am Ende von REG 2/2<sup>#</sup> erreichen die  $[P_i]$  wieder ihre Ausgangskonzentration. Die  $[P_i]$  im Verlauf der Regenerationen sind im interexperimentellen Vergleich vergleichbar.

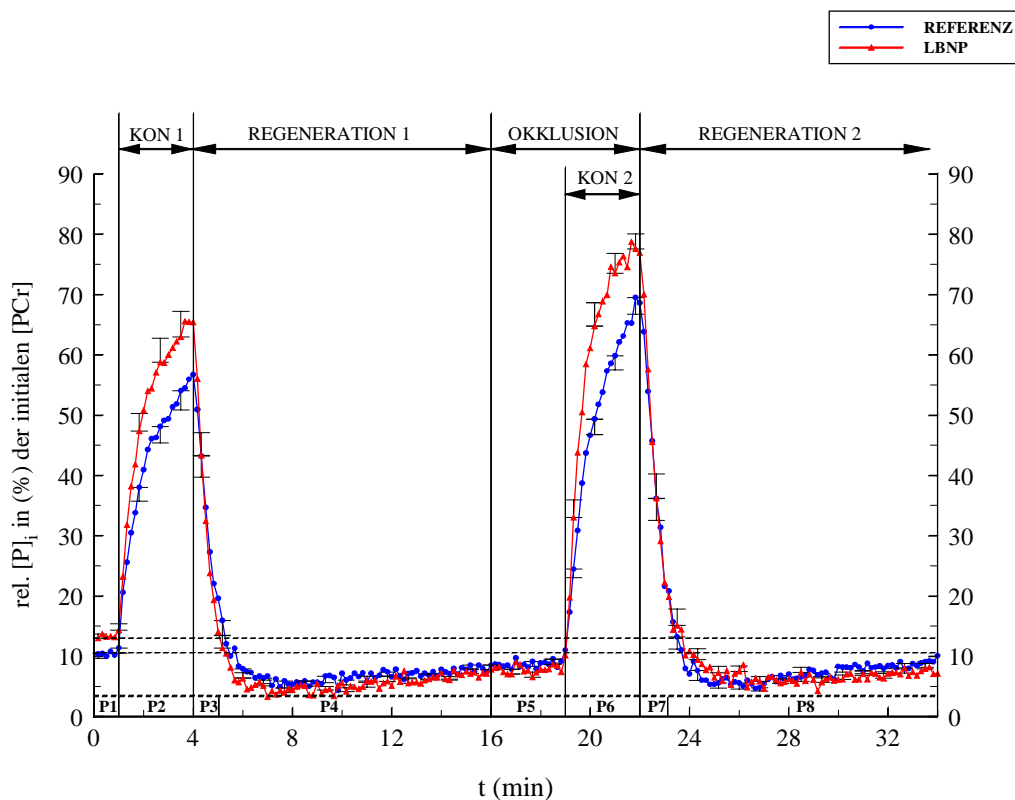


Abbildung 23: relative  $[P_i]$  während des gesamten Versuchs

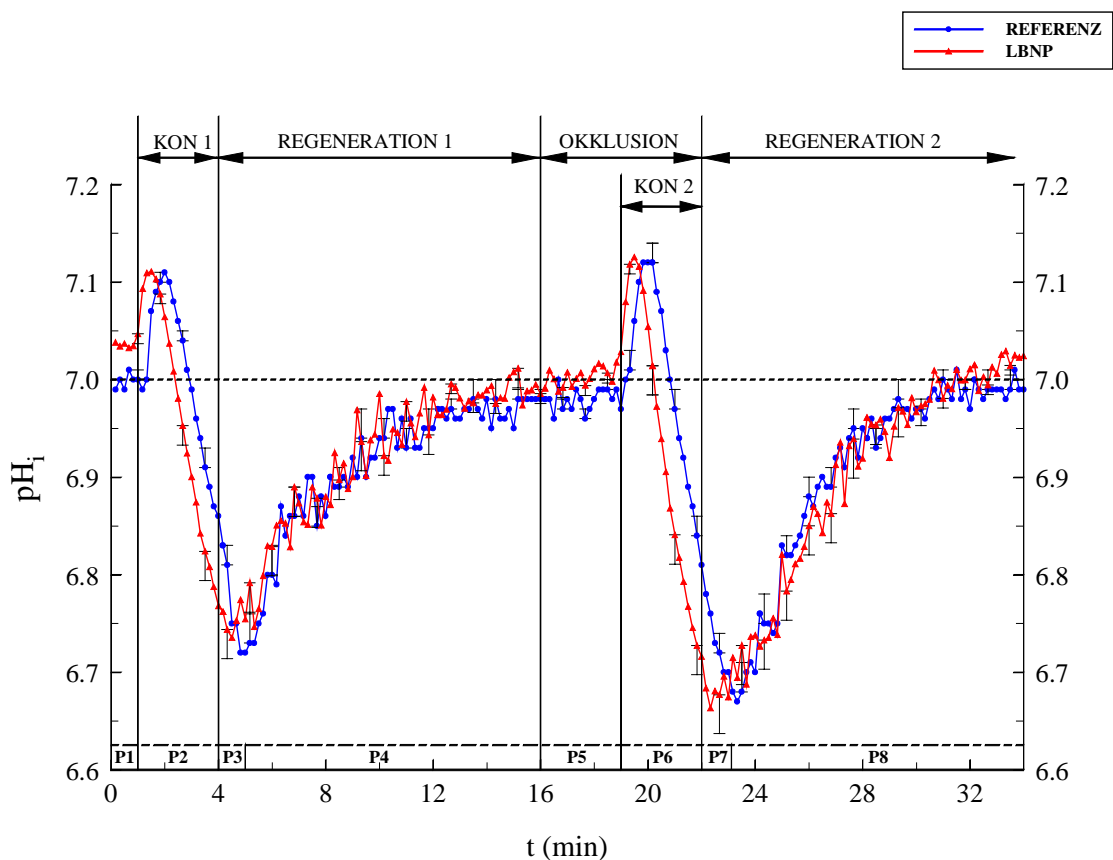
Die  $[P_i]$  ist relativ zur mittleren  $[PCr]$  in Ruhe angegeben, die auf 100 % gesetzt wurde.

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
REFERENZ vs. LBNP	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

Tabelle 2: Statistische Auswertung der  $[P_i]$  für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 23

## 3.1.2.5 Intrazellulärer pH

Zu Beginn der  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase ist bereits ein signifikant erhöhter (alkalischer)  $\text{pH}_i$  im LBNP-Versuch zu erkennen (vgl. Kap. 3.1.1.1). Mit Beginn aller Kontraktionsphasen kommt es zu einer Alkalinisierung auf Werte von ca. 7.11 (KON 1/1<sup>#</sup>) bzw. 7.12 (KON 2/2<sup>#</sup>), wobei die Alkalinisierung in den Kontraktionsphasen (KON 1<sup>#</sup>/2<sup>#</sup>) des LBNP-Versuchs ca. 20 Sekunden früher einsetzt ( $p < 0.01$ ). Im weiteren Verlauf sinkt der  $\text{pH}_i$ -Wert; dieser Abfall setzt während des LBNP-Versuchs bei den Kontraktionen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> signifikant früher ein ( $p < 0.05$ ). Weiterhin ist die Azidoseentwicklung im LBNP-Versuch während KON 1<sup>#</sup> ( $p < 0.01$ ) und KON 2<sup>#</sup> ( $p < 0.01$ ) größer als im REFERENZ-Versuch. Die Regeneration der  $\text{pH}_i$ -Werte verläuft vergleichbar. Der initiale  $\Delta\text{pH}_i$ -Abfall in der post-exercise Phase (P3 und P7) ist im REFERENZ-Versuch signifikant größer ( $p < 0.01$ ). Im REFERENZ-Versuch ist im Anschluss an KON 1 und 2 ein weiterer  $\text{pH}_i$ -Abfall von jeweils 0.14 Einheiten festzustellen, während der  $\text{pH}_i$  nach KON 1<sup>#</sup> und 2<sup>#</sup> lediglich um 0.03 bzw. 0.04 Einheiten abnimmt.

Abbildung 24:  $\text{pH}_i$  während des gesamten Versuchs

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	*	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

Tabelle 3: Statistische Auswertung des  $\text{pH}_i$  für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 24

## 3.1.2.6 Adenosindiphosphat

Die Abbildung 25 (vgl. Anhang C, Tab.17) zeigt einen im LBNP-Versuch während KON 1<sup>#</sup> als auch KON 2<sup>#</sup> stärkeren Anstieg der [ADP] ( $p < 0.01$ ). In den Regenerationsphasen REG 1/1<sup>#</sup> sowie REG 2/2<sup>#</sup> gibt es hingegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Experimenten. In den Regenerationsphasen sind, wie auch schon beim anorganischen Phosphat, Undershoots zu beobachten. Diese Undershoots weisen jedoch eine andere zeitliche Charakteristik als die P<sub>i</sub>-Undershoots auf. Anders als die anorganischen Phosphate, die sich bis zum Ende der Regenerationsphasen nicht erholen, ist bei den ADP-Undershoots eine vollständige Erholung in den Regenerationsphasen zu beobachten. Nach annähernd 8 – 9 Minuten erreichen die [ADP] in allen Regenerationsphasen (REG 1/1<sup>#</sup> sowie REG 2/2<sup>#</sup>) wieder ihre Ausgangskonzentration.

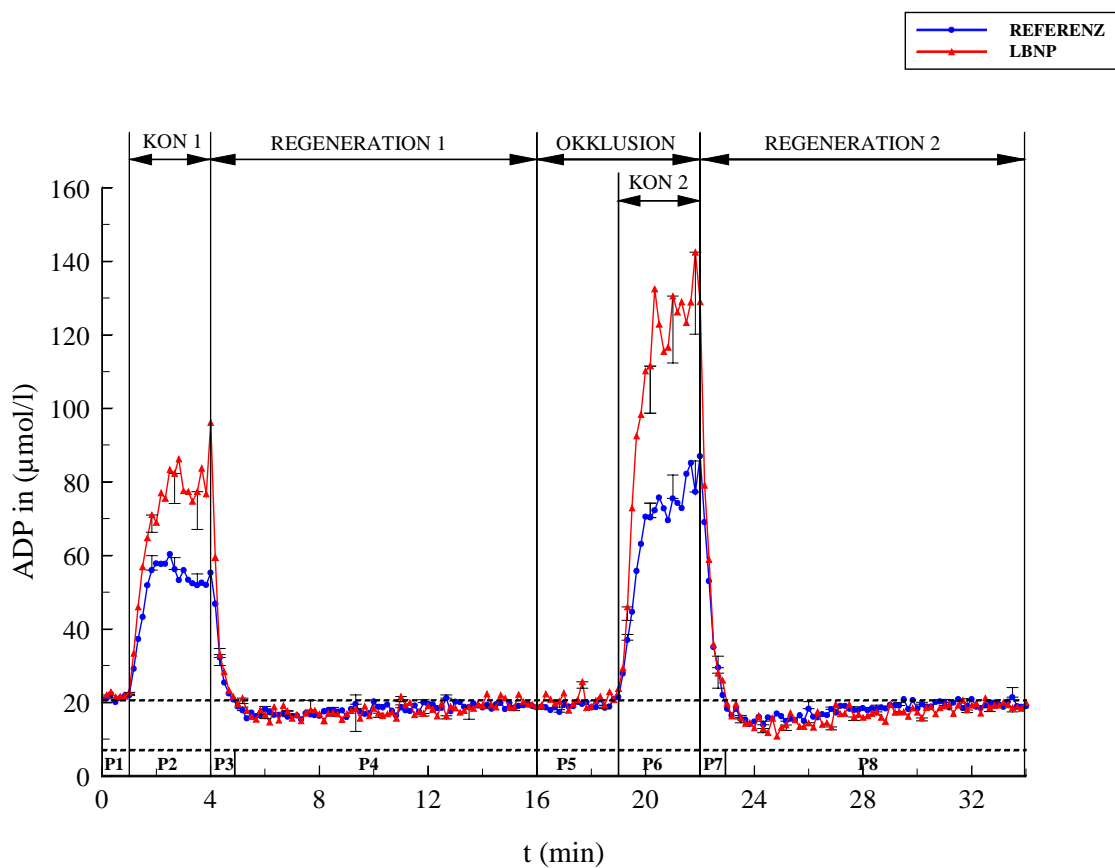


Abbildung 25: absolute [ADP] während des gesamten Versuchs

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

Tabelle 4: Statistische Auswertung der [ADP] für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 25

## 3.1.2.7 Phosphomonoester

Im Verlauf der Kontraktionsphasen (KON 1/1<sup>#</sup> sowie KON 2/2<sup>#</sup>) machen sich signifikante Konzentrationsanstiege der Phosphomonoester bemerkbar (Abb. 26; vgl. Anhang C, Tab. 18), die am Ende der Kontraktionen ihre maximalen Konzentrationen aufweisen. Dabei steigt die [PME] im Vergleich zu den Kontraktionen des REFERENZ-Versuchs im LBNP-Versuch während KON 1<sup>#</sup>/2<sup>#</sup> signifikant höher an ( $p < 0.05$ ). Der Abbau der PME ist bis zum Ende der Regenerationsphasen REG 1 und 1<sup>#</sup> und REG 2 und 2<sup>#</sup> nicht abgeschlossen, so dass zum Ende der Erholung noch keine Ruhekonzentrationen erreicht werden. Im Vergleich ist die [PME] im LBNP-Versuch in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> signifikant höher als im REFERENZ-Versuch ( $p < 0.05$ ).

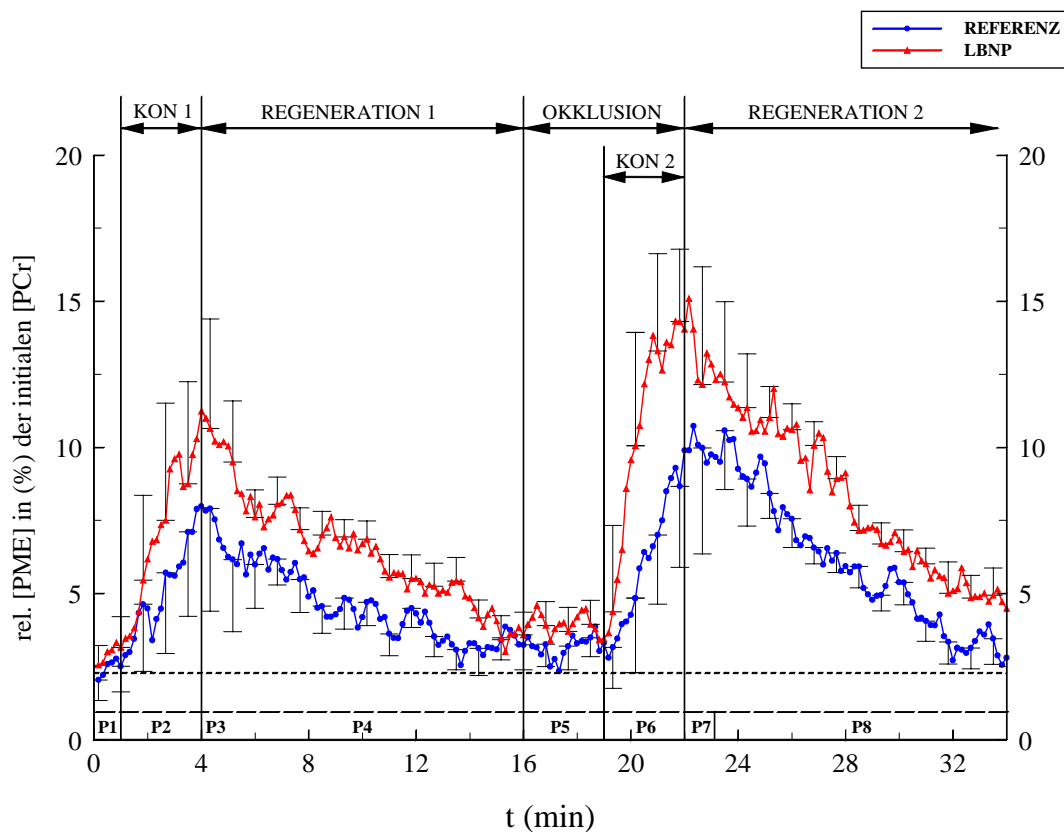


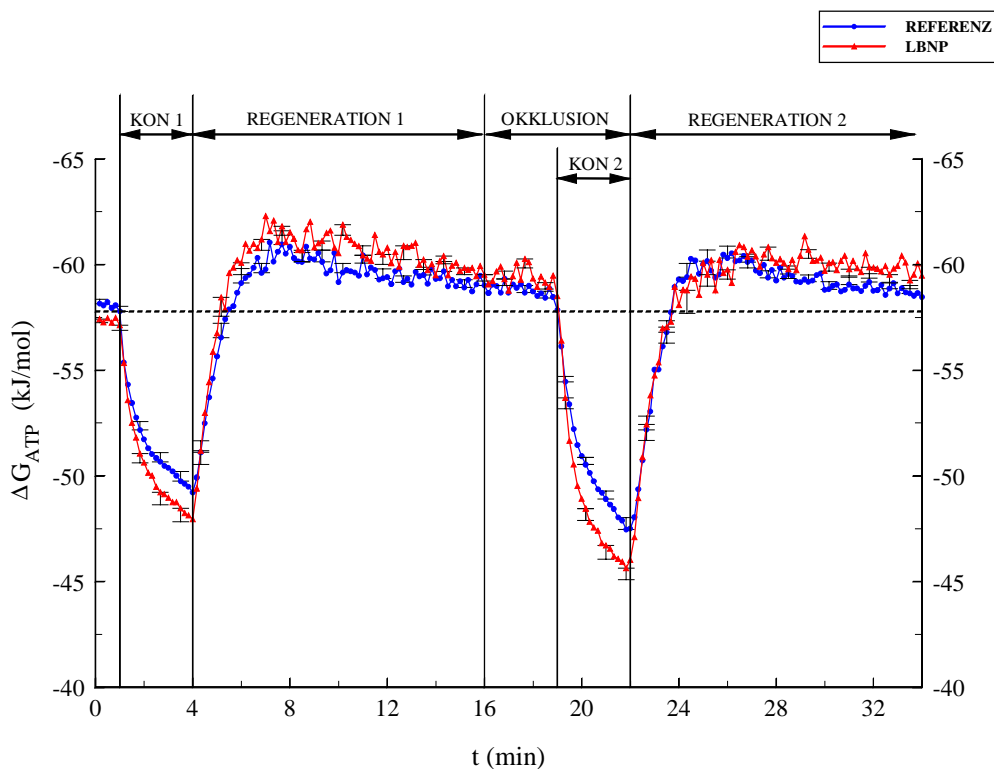
Abbildung 26: relative [PME] während des gesamten Versuchs

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	n.s.	*	*	*	n.s.	*	*	*

Tabelle 5: Statistische Auswertung der [P<sub>i</sub>] für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 26

## 3.1.2.8 Freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse

In der  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase ist im LBNP-Versuch eine signifikant weniger negative Freie Enthalpie (Abb. 27; vgl. Anhang C, Tab. 19) zu verzeichnen ( $p < 0.05$ ). Mit zunehmender Kontraktionsdauer von KON 1<sup>#</sup> und 2<sup>#</sup> ist ein vergleichsweise stärkerer Abfall der Freien Enthalpie zu beobachten, d. h. es wird eine positivere Freie Enthalpie im Vergleich zum REFERENZ-Versuch berechnet. Mit Beginn der Regenerationsphasen REG 1 und 1<sup>#</sup> und REG 2 und 2<sup>#</sup> kommt es dann zu einer schnellen Erholung der Freien Enthalpie in Richtung Ausgangswert; die Freie Enthalpie nimmt wieder negativere Werte an. Ähnlich wie bei der Erholungskinetik der [PCr] ist auch in der Regenerationsphase der  $\Delta G_{\text{ATP}}$  ein Overshoot zu erkennen. Dieser Overshoot findet ca. 4 Minuten nach Kontraktionsende – unabhängig vom Experiment – sein Maximum. Anschließend wird  $\Delta G_{\text{ATP}}$  wieder positiver und nähert sich dabei sukzessive den Ausgangswerten an, die jedoch weder in REG 1/1<sup>#</sup> noch REG 2/2<sup>#</sup> wieder erreicht werden. Die Erholungsphase weist keine signifikanten Unterschiede zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch auf.

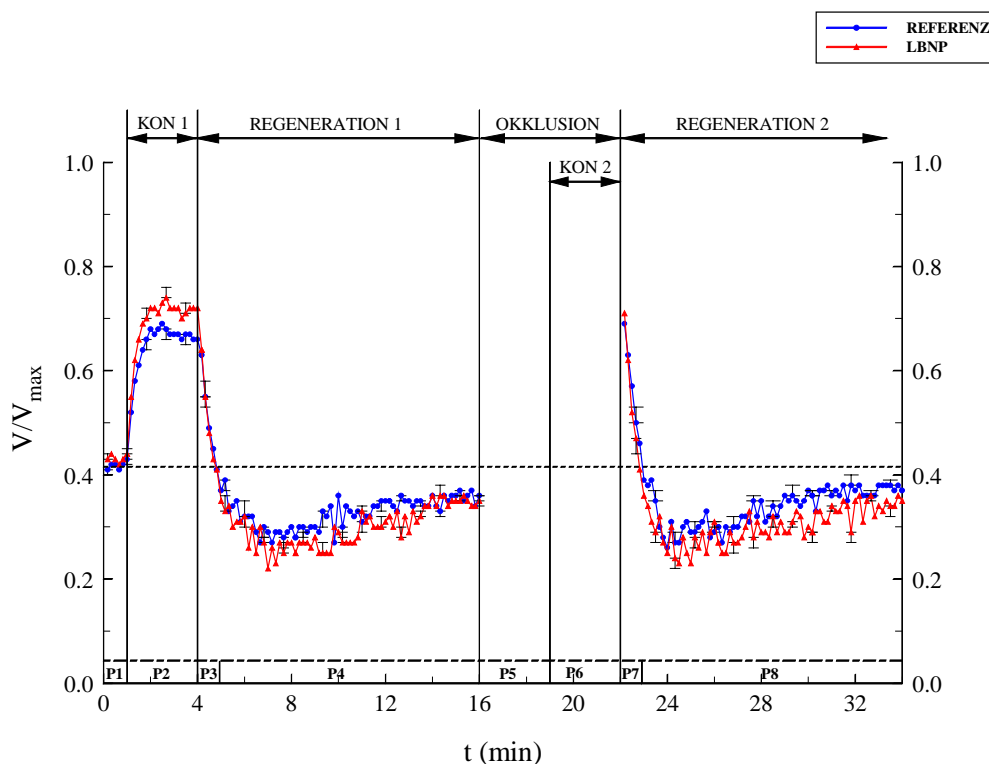
Abbildung 27:  $\Delta G_{\text{ATP}}$  während des gesamten Versuchs

	<b>P1</b> t = (0-1)	<b>P2</b> t = (1-4)	<b>P3</b> t = (4-5)	<b>P4</b> t = (5-18)	<b>P5</b> t = (18-19)	<b>P6</b> t = (19-22)	<b>P7</b> t = (22-23)	<b>P8</b> t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	*	*	n.s.	n.s.	n.s.	*	n.s.	n.s.

Tabelle 6: Statistische Auswertung der  $\Delta G_{\text{ATP}}$  für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 27

3.1.2.9 Relative mitochondriale ATP-Resynthesegeschwindigkeit ( $V/V_{\max}$ )

Die relative, mitochondriale ATP-Resynthesegeschwindigkeit  $V/V_{\max}$  ist in der  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase im Vergleich der beiden Experimente mit Werten von  $0.41 (\pm 0.01)$  (REFERENZ-Versuch) und  $0.44 (\pm 0.01)$  (LBNP-Versuch) statistisch gesehen nicht unterschiedlich (Abb. 28; vgl. Anhang C, Tab. 20). In den Regenerationsphasen REG 1/1<sup>#</sup> und REG 2/2<sup>#</sup> kommt es zu einer schnell einsetzenden Abnahme der  $V/V_{\max}$  bis auf Werte, die unterhalb der Ausgangswerte liegen. Im Verlauf der Kontraktionsphasen KON 1/1<sup>#</sup> und KON 2/2<sup>#</sup> nimmt die relative ATP-Synthesegeschwindigkeit zu. Dabei steigt die Synthesegeschwindigkeit im LBNP-Versuch stärker an als im REFERENZ-Versuch, so dass zum Ende der Kontraktionen KON 1/1<sup>#</sup>, respektive KON 2/2<sup>#</sup> die  $V/V_{\max}$  im LBNP- Versuch signifikant höhere Werte ( $p < 0.05$ ) erreicht. Diese Undershoots der rel. mitochondrialen ATP-Syntheserate finden ca. 3.5 Minuten nach Beendigung der Kontraktionen ihre Minima und regenerieren anschließend in Richtung Ausgangswerte. Die Erholungskinetik ist in beiden Experimenten identisch. Eine vollständige Erholung der  $V/V_{\max}$  zum Ende der Regenerationsphasen bleibt in beiden Experimenten aus.



**Abbildung 28: rel. mitochondriale ATP-Syntheserate während des gesamten Versuchs**

Durch die Manipulation des  $\text{PO}_2$  während der Okklusion wurde von einer Berechnung der  $V/V_{\max}$  für diese Phase abgesehen.

	<b>P1</b> t = (0-1)	<b>P2</b> t = (1-4)	<b>P3</b> t = (4-5)	<b>P4</b> t = (5-18)	<b>P5</b> t = (18-19)	<b>P6</b> t = (19-22)	<b>P7</b> t = (22-23)	<b>P8</b> t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	n.s.	*	n.s.	n.s.			n.s.	n.s.

**Tabelle 7: Statistische Auswertung von  $V/V_{\max}$  für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 28**

3.1.2.10 Dihydrogenphosphat ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ )

In der  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase sind keine Unterschiede zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch erkennbar. Nur in den Kontraktionsphasen, in denen das  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  in beiden Versuchen stark ansteigt, fällt die  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  im LBNP-Versuch signifikant höher aus ( $p < 0.01$ ) als im REFERENZ-Versuch (Abb. 29; vgl. Anhang C, Tab. 21). In den Regenerationsphasen REG 1/1<sup>#</sup> und REG 2/2<sup>#</sup> kommt zu einem initial schnellen Abfall des diprotonierten Phosphats (Undershoot). Im Verlauf der weiteren Regeneration erreicht das ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) jedoch nicht wieder seine Ausgangsruhekonzentration.

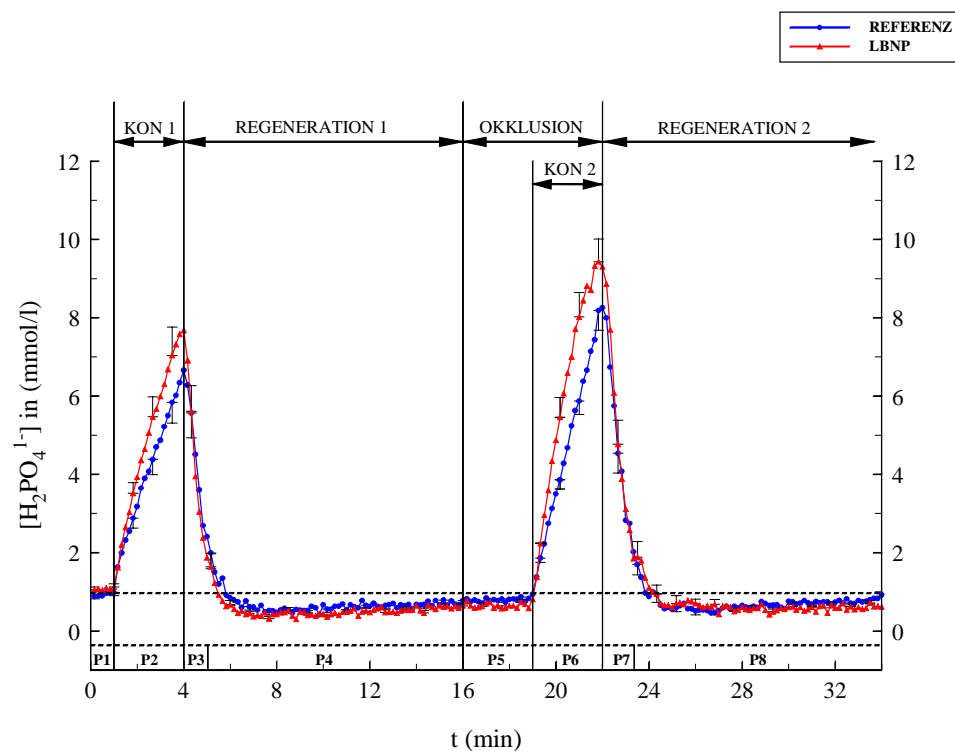


Abbildung 29: berechnete  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  während des gesamten Versuchs

	P1 t = (0-1)	P2 t = (1-4)	P3 t = (4-5)	P4 t = (5-18)	P5 t = (18-19)	P6 t = (19-22)	P7 t = (22-23)	P8 t = (23-34)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	n.s.	**	n.s.	n.s.	n.s.	**	n.s.	n.s.

Tabelle 8: Statistische Auswertung der  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 29

## 3.1.2.11 rmsEMG

Im LBNP-Versuch wird zu Beginn der Kontraktionen (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) eine im Vergleich zum REFERENZ-Versuch um ca.  $0.9 \mu\text{V}$  signifikant erhöhte EMG-Amplitude gemessen ( $p < 0.05$ ), was aus den Abbildungen 30 und 31 hervorgeht. Während die Amplitude innerhalb der Kontraktionsphase KON 1 mit  $2.2 \mu\text{V}$  relativ konstant bleibt, reduziert sich das

EMG-Signal während KON 1<sup>#</sup> nach ca. 60 Sekunden von  $3.1 \mu\text{V} (\pm 0.3)$  auf  $2.8 \mu\text{V} (\pm 0.3)$ . Im Verlauf der zweiten Kontraktion des REFERENZ-Versuchs (KON 2) kommt es zu einem anfänglichen, moderaten Anstieg des EMG-Signals von  $1.9 \mu\text{V} (\pm 0.2)$  auf Werte von annähernd  $2.3 \mu\text{V} (\pm 0.3)$ , die aber im Vergleich zum Ausgangswert statistisch nicht verschieden sind. KON 2<sup>#</sup> hingegen weist zu Beginn der Kontraktion eine Amplitude von  $3.1 \mu\text{V} (\pm 0.3)$  auf, die nach ca. 140 Sekunden signifikant steigt (vgl. Anhang C, Tab. 22) und bis sie zum Ende der Kontraktion einen Wert von  $4.4 \mu\text{V} (\pm 0.7)$  erreicht.

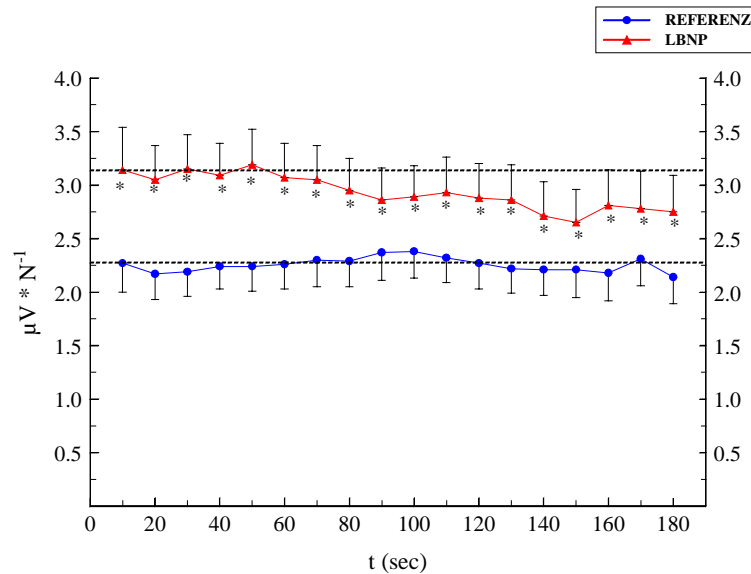


Abbildung 30: rmsEMG-Amplitude während KON 1/1<sup>#</sup>

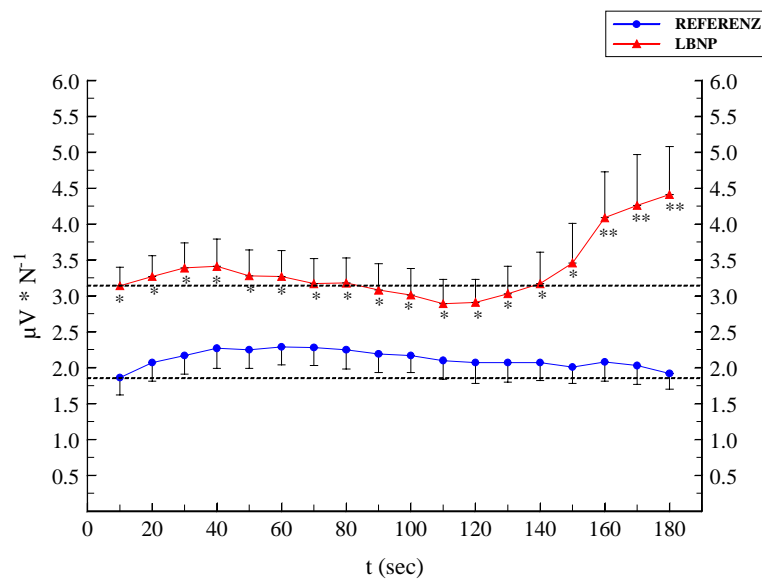


Abbildung 31: rmsEMG-Amplitude während KON 2/2<sup>#</sup>



## 3.1.2.12 Medianfrequenz

Die Medianfrequenz des EMG-Signals im REFERENZ-Versuch bleibt während KON 1 bis zu Beginn der 3. Arbeitsminute nahezu unverändert bei ca. 146 Hz ( $\pm 6.0$ ). Anschließend ist eine Abnahme der Medianfrequenz auf 132 Hz ( $\pm 5.6$ ) bis zum Kontraktionsende zu beobachten (Abb. 32). Im Vergleich dazu kommt es während KON 1<sup>#</sup> zu einer kontinuierlichen Abnahme des Medianwertes: bis 30 Sekunden vor Beendigung der Kontraktion sinkt die Medianfrequenz von initial 144 Hz ( $\pm 2.1$ ) auf 105 Hz ( $\pm 6.2$ ). Im Verlauf der letzten 30 Sekunden der Arbeitsphase vollzieht sich ein moderater Anstieg der Medianfrequenz auf 109 Hz ( $\pm 6.5$ ). Während KON 2 ist eine sukzessive Abnahme der Medianfrequenz von 152 Hz ( $\pm 6$ ) zu Beginn der Kontraktion bis auf 115 Hz ( $\pm 3.1$ ) zum Kontraktionsende feststellbar. Im Vergleich dazu kommt es auch während KON 2<sup>#</sup> (Abb. 33, vgl. Anhang C, Tab. 23) zu einer sofort einsetzenden und ebenfalls kontinuierlichen Abnahme der Medianfrequenz von anfangs 143 Hz ( $\pm 1.1$ ) auf 105 Hz ( $\pm 3.1$ ). Außerdem ist bereits nach 10 Sekunden ein signifikant niedrigerer Medianwert ( $p < 0.05$ ) während KON 2<sup>#</sup> im Vergleich zu KON 2 festzustellen. Sowohl während KON 1<sup>#</sup> als auch KON 2<sup>#</sup> kommt es in den letzten 30 Sekunden der Kontraktionsphasen wieder zu einem Anstieg der Medianfrequenz.

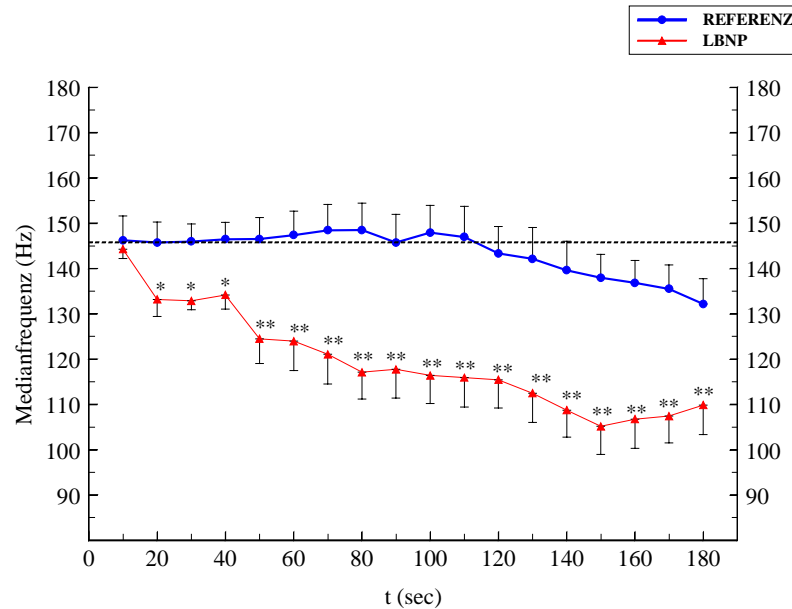


Abbildung 32: Medianfrequenz während KON 1/1<sup>#</sup>

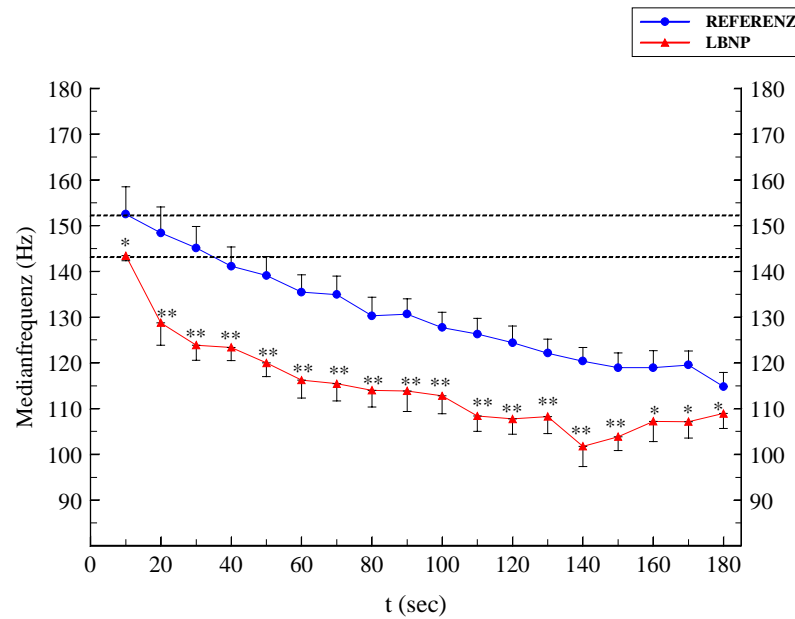


Abbildung 33: Medianfrequenz während KON 2/2<sup>#</sup>

### 3.1.3 Methodenkontroll-Studie

Die Methodenkontroll-Studie lässt während des gesamten Arbeits- und Erholungsprotokolls keine Unterschiede zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch erkennen. Sowohl der PCr-Abfall (Abb. 34) während der Kontraktionsphase, in der die [PCr] auf annähernd 35 % der initialen Konzentration abfällt, wie auch die Regenerationsphase, in der wieder ein PCr-Overshoot zu erkennen ist, verlaufen in beiden Versuchen ähnlich.

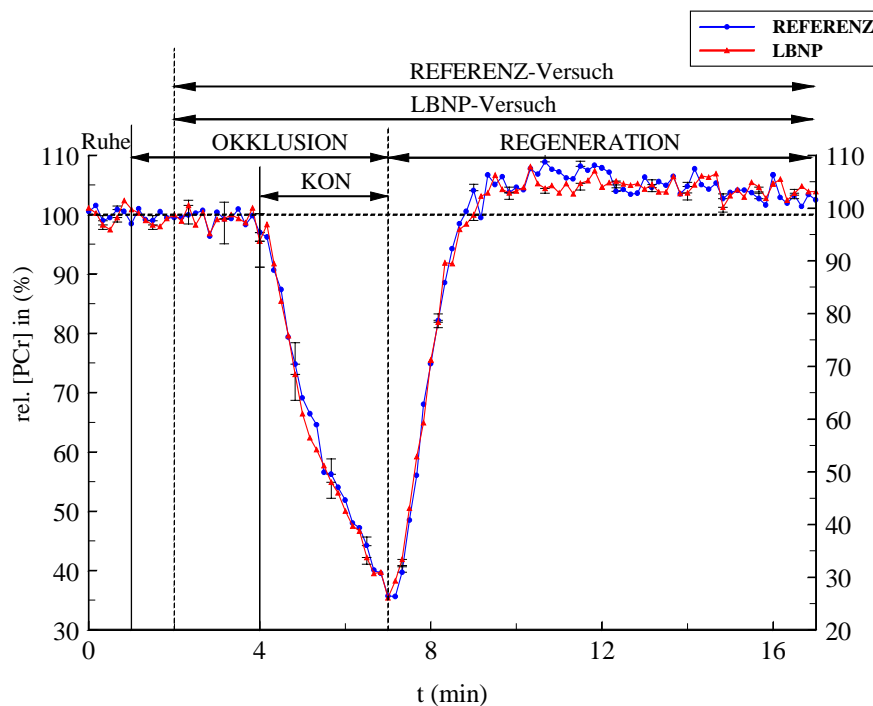


Abbildung 34: rel. [PCr] in der Methodenkontroll-Studie (n = 4)

3.1.4 LBNP<sub>kurz</sub>-Studie

## 3.1.4.1 PCr-Verbrauch vs. Arbeit

Der PCr-Verbrauch pro geleisteter Arbeit, lässt ein vergleichbares Ergebnis wie bereits in Studie I<sub>31P-MRS</sub> erkennen. Trotz einer geringer ausfallenden Arbeit (Kraft-Zeit-Integral) wird die [PCr] im LBNP-Versuch stärker reduziert als im REFERENZ-Versuch ( $p < 0.05$ ). Hinzu kommt, dass im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch die Reduktion der [PCr] sogar noch größer ausfällt als im LBNP-Versuch ( $p < 0.05$ ), wobei sich die jeweils geleistete Arbeit beider Versuche kaum voneinander unterscheidet. REFERENZ- und LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch unterscheiden sich im Abfall der [PCr] sogar hochsignifikant voneinander ( $p < 0.001$ ). Die initiale PCr-Reduktion während der ersten 20 Sekunden zwischen dem LBNP- und LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch sind nicht unterschiedlich, wobei sich diese beiden Versuche jedoch sehr signifikant vom REFERENZ-Versuch unterscheiden.

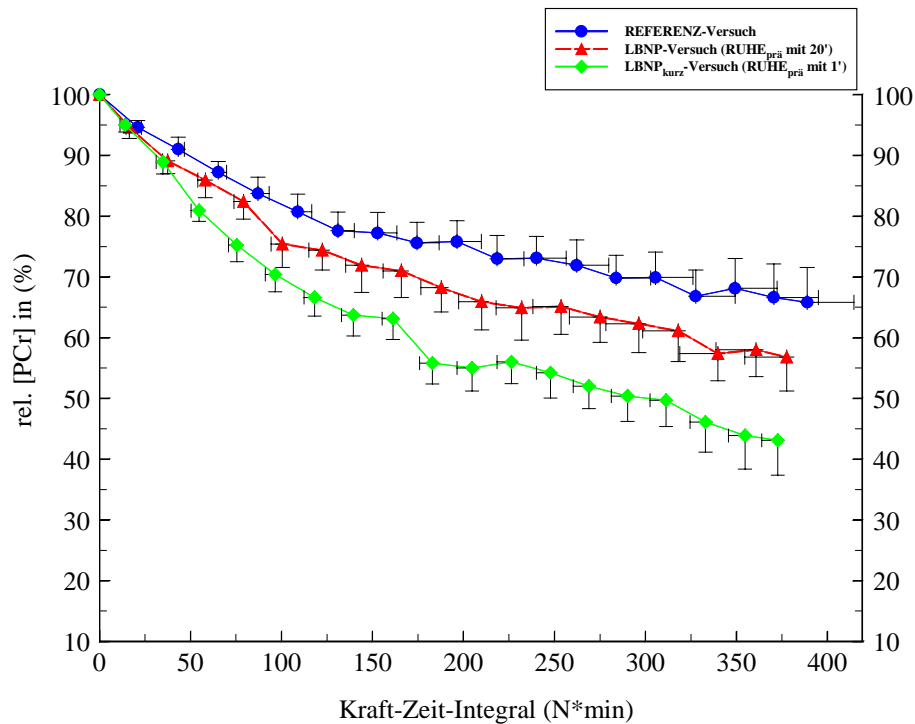


Abbildung 35: rel. [PCr] vs. Arbeit während KON 1/1<sup>#</sup>/1<sup>##</sup> (n = 7)

### 3.1.4.2 Intrazellulärer pH

Die Entwicklung des pH-Wertes ist im LBNP- wie auch im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch in den Kontraktionsphasen KON 1<sup>#</sup> und KON 1<sup>##</sup> ähnlich. In beiden Versuchen kommt es zu einer im Vergleich zum REFERENZ-Versuch früher einsetzenden Alkalinisierung auf einen pH<sub>i</sub> von ca. 7.13 ( $p < 0.05$ ). Der anschließende pH<sub>i</sub>-Abfall auf einen pH<sub>i</sub> von nahezu 6.77 ist in beiden LBNP-Versuchen ebenfalls signifikant niedriger als im REFERENZ-Versuch ( $p < 0.05$ ). Die Regeneration des pH<sub>i</sub> in den sich anschließenden Erholungsphasen unterscheidet sich hingegen nicht.

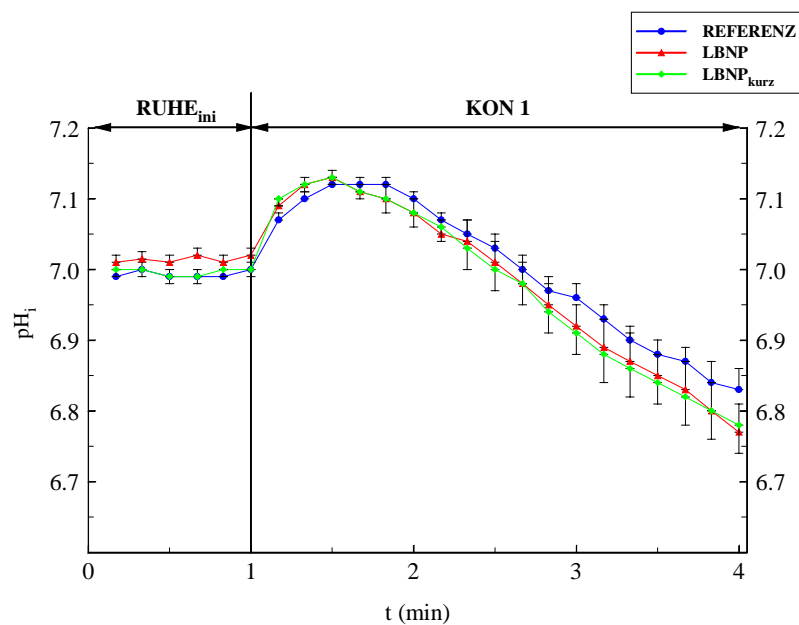


Abbildung 36: pH<sub>i</sub> während KON 1/1<sup>#</sup>/1<sup>##</sup> der LBNP<sub>kurz</sub>-Studie (n = 7)

	t = (0-1)	t = (1-4)
<b>REFERENZ vs. LBNP</b>	n.s.	*
<b>REFERENZ vs. LBNP<sub>kurz</sub></b>	n.s.	*
<b>LBNP vs. LBNP<sub>kurz</sub></b>	n.s.	n.s.

Tabelle 9: Statistische Auswertung des pH<sub>i</sub> für den interexperimentellen Vergleich in Abb. 36

## 3.2 Studie II<sub>Q</sub>

### 3.2.1 Kraft

Der Abfall der Kraft während des LBNP-Versuchs in dieser Studie II<sub>Q</sub> ist vergleichbar mit den in Studie I<sub>31P-MRS</sub> beschriebenen Resultaten. Auch hier waren die Probanden in der Lage, die geforderte Zielkraft über die gesamte Arbeitsdauer von KON 1 im REFERENZ-Versuch aufrecht zu erhalten, ohne dass es zu einem Abfall der Kraft kam. Im Verlauf von KON 1<sup>#</sup> ist ähnlich wie in Studie I<sub>31P-MRS</sub> dagegen ein moderater Abfall der Kraft mit Beginn der 70. Sekunde

erkennbar (Abb. 37). Dieser Abfall der Kraft unterscheidet sich jedoch erst 2 Minuten nach Kontraktionsbeginn signifikant von der Vorgabe ( $p < 0.05$ ; vgl. Anhang C, Tab. 24). Im Verlauf der 2. Kontraktion (Abb. 38) des REFERENZ-Versuchs (KON 2) kommt es nach 120 Sekunden zu einem sukzessiven Abfall der Kraft, die jedoch erst in den letzten 10 Sekunden unterschiedlich ist ( $p < 0.05$ ). Wesentlich früher setzt der Kraftverlust in KON 2<sup>#</sup> ein. Dort ist bereits mit Beginn der 2. Kontraktionsminute ein allmählicher Abfall der Kraft zu sehen, die jedoch erst nach 120 Sekunden statistisch niedriger ist als zu Beginn der Kontraktion ( $p < 0.05$ ).

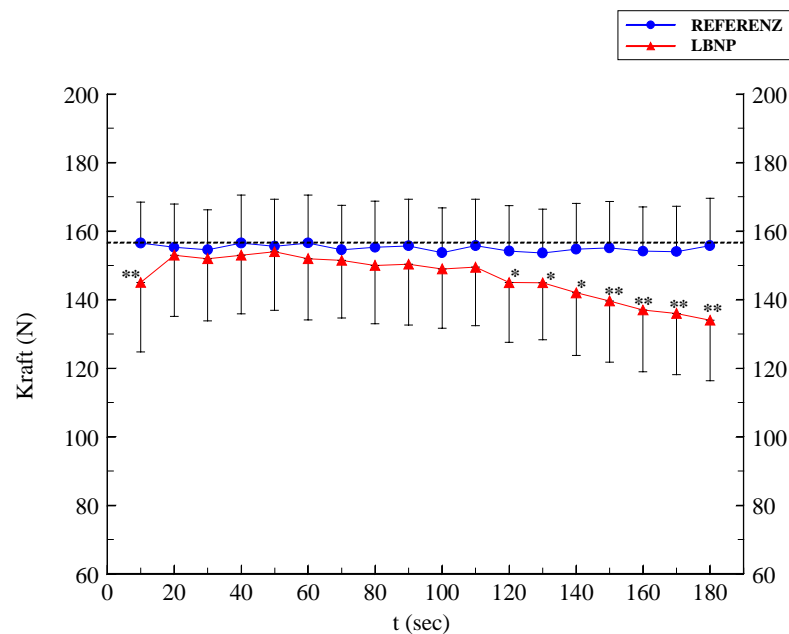


Abbildung 37: Kraftverlauf während KON 1/1<sup>#</sup>

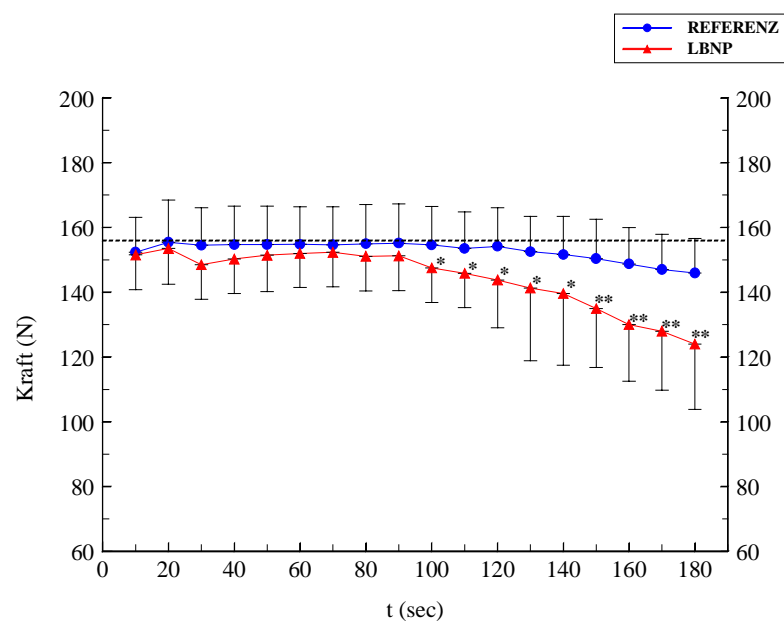
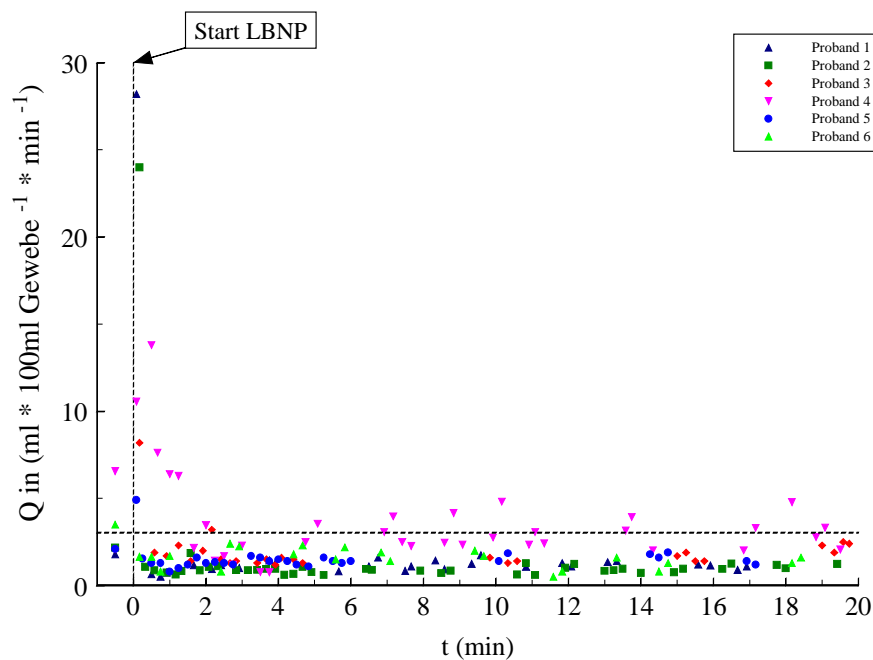


Abbildung 38: Kraftverlauf während KON 2/2<sup>#</sup>

### 3.2.2 Unterschenkeldurchblutung

Vor Beginn der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase ist kein Unterschied in der Unterschenkeldurchblutung zwischen dem REFERENZ-Versuch mit  $3.77 (\pm 0.38) \text{ ml} \cdot 100 \text{ ml}^{-1} \text{ Gewebe} \cdot \text{min}^{-1}$  und dem LBNP-Versuch mit  $3.3 (\pm 0.26) \text{ ml} \cdot 100 \text{ ml}^{-1} \text{ Gewebe} \cdot \text{min}^{-1}$  zu erkennen. Mit Anlegen des Unterdrucks reduziert sich bis zum Ende der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase im LBNP-Versuch die Ruhedurchblutung auf  $1.56 (\pm 0.22) \text{ ml} \cdot 100 \text{ ml}^{-1} \text{ Gewebe} \cdot \text{min}^{-1}$  ( $p < 0.05$ ). Im REFERENZ-Versuch ist keine Veränderung der Ruhedurchblutung in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase im Vergleich zum Ausgangswert vor der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase festzustellen. Abb. 39 illustriert die sich verändernde Perfusion im Verlauf der Unterdruckphase ( $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase). Unmittelbar nach Anlegen des Unterdrucks kommt es bei allen Probanden zunächst zu einer initialen, aber sehr kurz andauernden Durchblutungszunahme, die nach annähernd 20 Sekunden nicht mehr beobachtet werden kann. Anschließend liegt die Durchblutung des Unterschenkels bei allen Probanden unterhalb des Ausgangswertes ( $p < 0.05$ ).



**Abbildung 39:** Veränderung der Unterschenkeldurchblutung mit Beginn der LBNP in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase (gestrichelte horiz. Linie: gemittelte Ruhedurchblutung,  $n = 6$ )

In den ersten 20 Sekunden der Arbeitsphase KON 1<sup>#</sup> ist die Durchblutung im LBNP-Versuch im Vergleich zum REFERENZ-Versuch signifikant niedriger ( $p < 0.05$ , Abb. 40). Bis zum Ende dieser Arbeitsphase ist jedoch keine unterschiedliche Durchblutung mehr zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch zu erkennen.

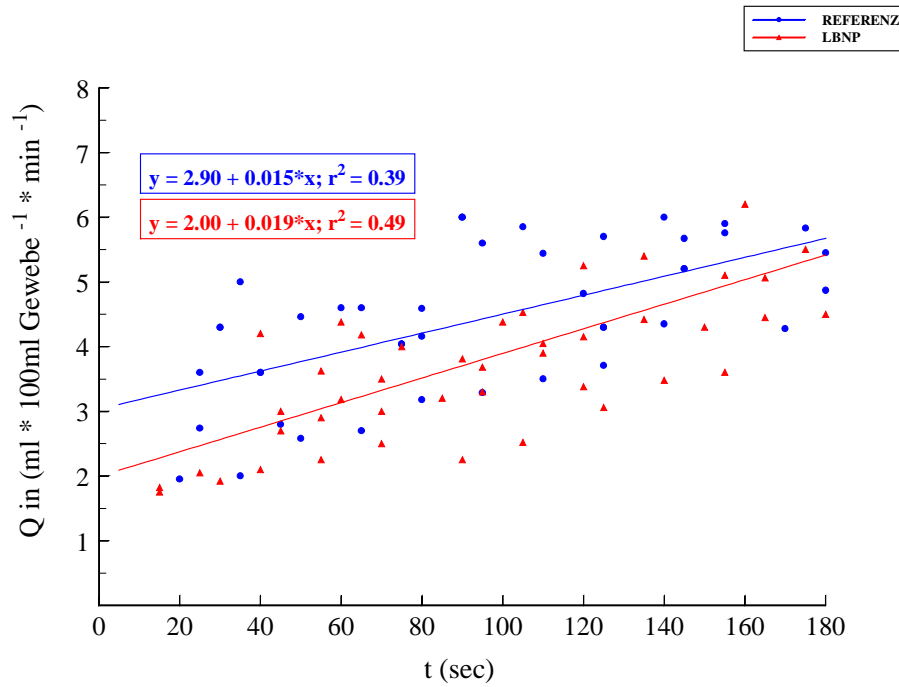


Abbildung 40: relative Veränderung der Durchblutung (Q) während KON 1/1<sup>#</sup> (n = 6)

Die in den Regenerationsphasen des LBNP-Versuchs (REG 1<sup>#</sup>/2<sup>#</sup>) gemessene Durchblutung des Unterschenkels (Abb. 41 und 42) ist im Vergleich zum REFERENZ-Versuch signifikant niedriger ( $p < 0.01$ ).

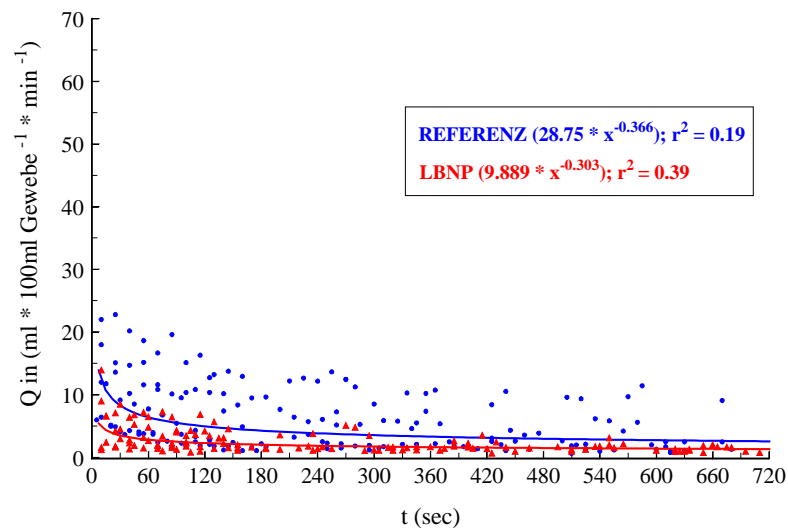


Abbildung 41: Durchblutung (Q) des Unterschenkels während REG 1/1<sup>#</sup>

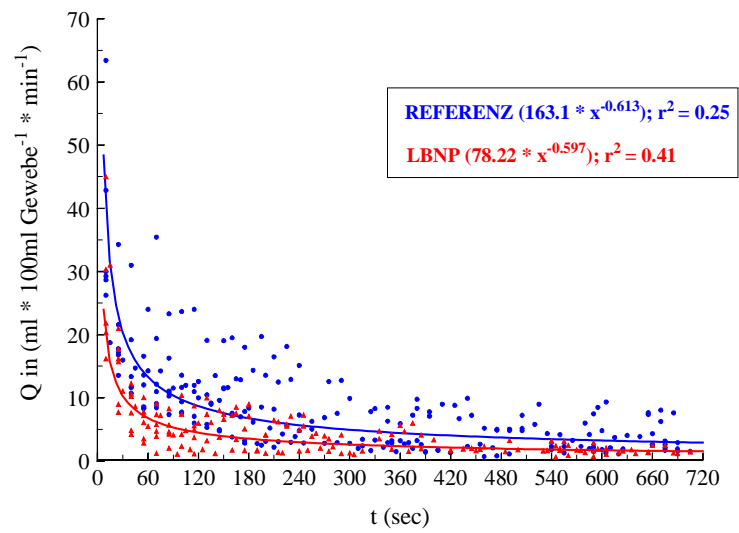


Abbildung 42: Durchblutung (Q) des Unterschenkels während REG 2/2<sup>#</sup>



### 3.3 Studie III<sub>UENP</sub>

Mit Ausnahme des Hämatokrits kann bei den Parametern dieser Studie kein Einfluss des Unterdrucks während des UENP-Versuchs festgestellt werden. Um dies zu belegen, werden im Folgenden lediglich die wichtigsten Parameter aufgeführt. Die übrigen Parameter befinden sich im Anhang C zur weiteren Ansicht.

#### 3.3.1 Kraftentwicklung

Die Kraftaufzeichnung ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen REFERENZ- und UENP-Versuch. Im REFERENZ-Versuch bei 20 % der MVC konnten die Probanden  $156 \text{ N} \cdot \text{min}$  ( $\pm 16$ ) während der Kontraktion KON-H entwickeln (Abb. 43), während sie im UENP-Versuch einen sogar marginal (n.s.) höheren Wert von  $166 \text{ N} \cdot \text{min}$  ( $\pm 14$ ) erzielen konnten. Auch bei den Experimenten mit 40 % der MVC ist kein Unterschied zwischen REFERENZ-Versuch ( $282 \text{ N} \cdot \text{min}$  ( $\pm 29$ )) und UENP-Versuch ( $277 \text{ N} \cdot \text{min}$  ( $\pm 31$ )) nachzuweisen.

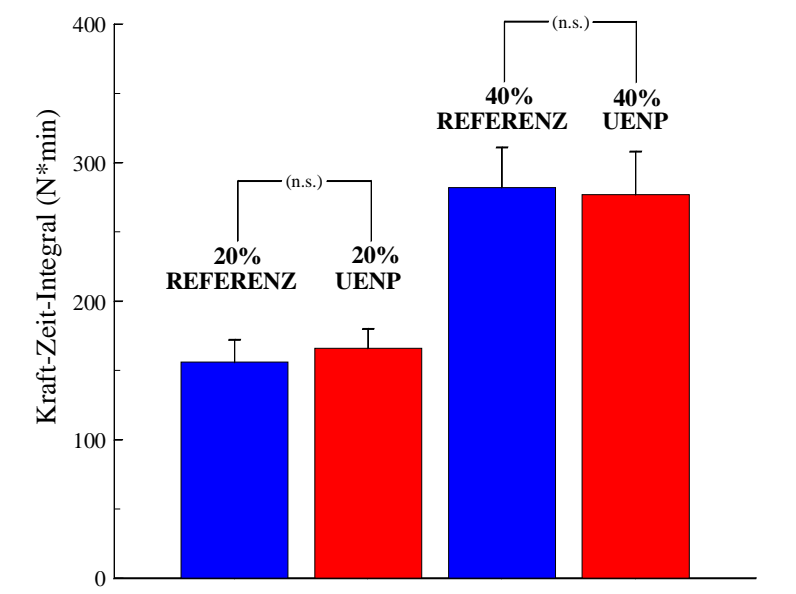


Abbildung 43: Kraft-Zeit-Integral für KON-H (REFERENZ-Versuch) und KON-H<sup>#</sup> (UENP-Versuch)

## 3.3.2 Laktat

Die bis zum Beginn ( $t = 0$ ) der Kontraktionsphase (KON-H) erkennbaren Schwankungen der [Lak] sind nicht unterschiedlich voneinander (Abb. 44). Die während KON-H erkennbaren Konzentrationsanstiege sind im REFERENZ- und UENP-Versuch – sowohl im 20 % MVC- als auch im 40 % MVC-Experiment – ebenfalls nicht unterschiedlich. Die höchsten [Lak] werden erst post-exercise in der REG-H erreicht. Auch die Regenerationsphase (REG-H) weist im interexperimentellen Vergleich zwischen UENP- und REFERENZ-Versuch keinen signifikanten Unterschied auf (vgl. Anhang C, Tab. 25).

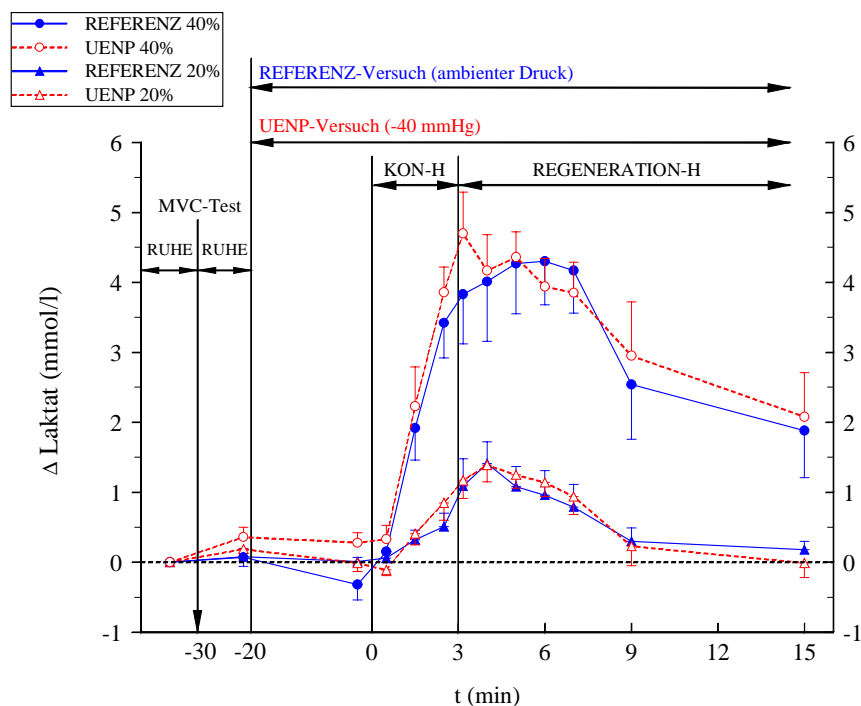


Abbildung 44:  $\Delta$  [Lak] während des Versuchs

## 3.3.3 Sauerstoffpartialdruck

Der  $PO_2$  lässt keine Unterschiede zwischen REFERENZ- und UENP-Versuch erkennen (Abb. 45). Während der Kontraktionsphasen KON-H/ $H^\#$  sinkt der  $PO_2$  je nach Arbeitsintensität signifikant auf Werte bis zu  $\pm 24$  mmHg ab. Im Anschluss an die Arbeitsphase ist in der Regenerationsphase des 40 % MVC-Versuchs (UENP- und REFERENZ-Versuch) ein Anstieg des  $PO_2$  auf Werte von  $\pm 53$  mmHg zu beobachten ( $p < 0.001$ ), während im 20 % MVC-Versuch der  $PO_2$  lediglich auf  $\pm 42$  mmHg ansteigt ( $p < 0.01$ ). Im weiteren Verlauf kommt es zu einer allmählichen Erholung des  $PO_2$  in Richtung Ruhewerte (vgl. auch Anhang C, Tab. 26), die am Ende der Regenerationsphase nahezu wieder erreicht werden.

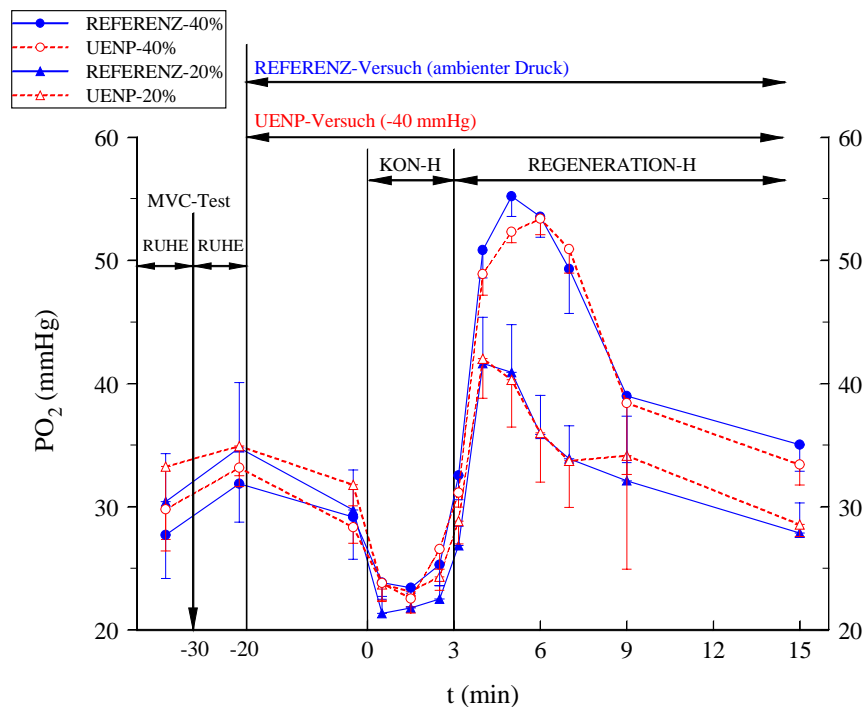


Abbildung 45: venöser  $PO_2$  während des Versuchs

### 3.3.4 Kohlenstoffdioxidpartialdruck

Der  $\text{PCO}_2$  steigt im Verlauf der Kontraktionsphase im 20 % MVC-Versuch auf annähernd  $\pm 64 \text{ mmHg}$  an ( $p < 0.01$ ) und im 40 % MVC-Versuch sogar auf Werte von über  $80 \text{ mmHg}$  ( $p < 0.001$ ), was in Abbildung 46 dargestellt ist und ferner der Tabelle 27 (Anhang C) entnommen werden kann. Der höchste  $\text{PCO}_2$  wird in allen Versuchen in der Regenerationsphase gemessen. Im Verlauf der Regenerationsphase kommt es im 20 % und 40 % MVC-Versuch innerhalb von 3 Minuten wieder zu einer vollständigen Erholung des  $\text{PCO}_2$  auf Ausgangswerte. Die REFERENZ- und UENP-Experimente unterscheiden sich weder im 20 % MVC- noch im 40 % MVC-Versuch.

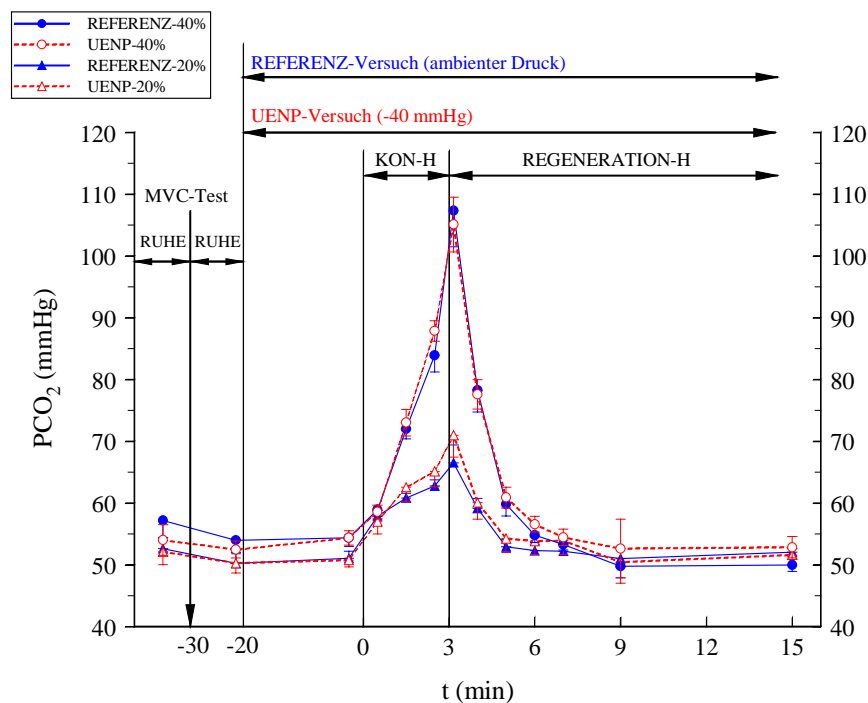


Abbildung 46: venöser  $\text{PCO}_2$  während des Versuchs

## 3.3.5 Extrazellulärer pH-Wert

Mit Beginn der Kontraktionsphase kommt es in allen Versuchen zu einem Absinken des pH (Abb. 47; vgl. Anhang C, Tab. 28). Im 20 % MVC-Versuch fällt der pH während KON-H und KON-H<sup>#</sup> auf bis zu 7.30 ( $p < 0.01$ ) und im 40 % MVC-Versuch auf einen Wert von ca. 7.20 ( $p < 0.001$ ). In der Regenerationsphase wird bei allen Versuchen 10 Sekunden nach Abbruch der Kontraktion die größte Azidose beobachtet. Während die Erholung des pH-Wertes im 20 % MVC-Versuch bereits nach 6 Minuten post-exercise abgeschlossen ist, kann man beim 40 % MVC-Versuch erst zum Ende der Regenerationsphase eine nahezu vollständige Erholung erkennen. In der 12. Minute nach Abbruch der Kontraktion ist der pH lediglich im UENP-Versuch noch signifikant in Bezug zum Ausgangsrühewert erniedrigt ( $p < 0.05$ ).

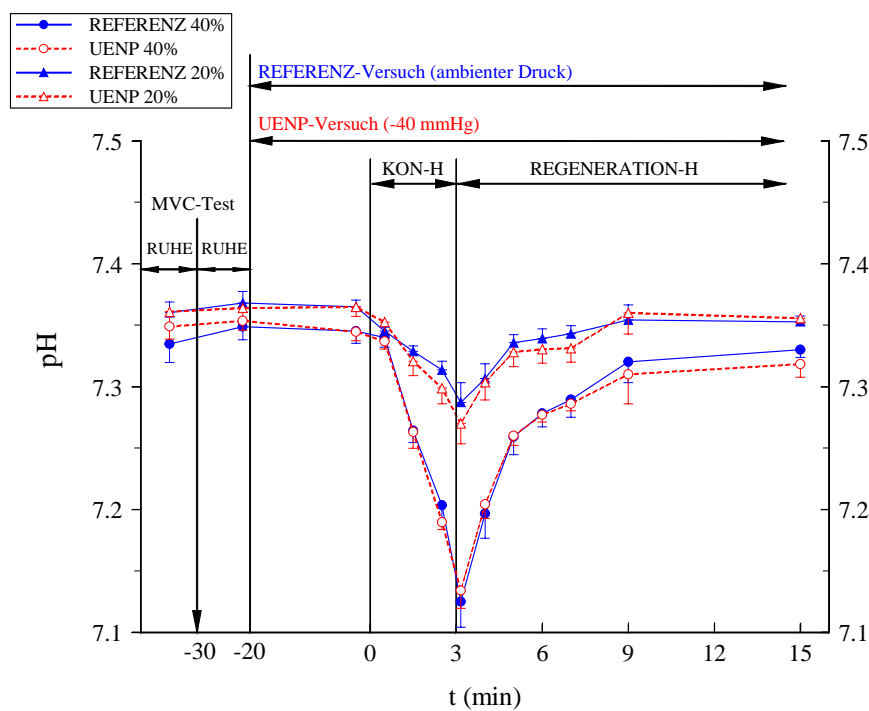


Abbildung 47: venöser pH während des Versuchs

## 3.3.6 Hämatokrit

Innerhalb der 20-minütigen  $RUHE_{prä}$ -Phase kommt es in den UENP-Versuchen (20 % und 40 % MVC) zu einem hochsignifikanten Anstieg des Hämatokrits um annähernd 3 Prozent (Abb. 48; vgl. Anhang C, Tab. 29). Die prozentuale Zunahme des Hkts im UENP-Versuch ist dabei im 20 % und dem 40 % MVC-Versuch ähnlich. In der sich anschließenden Kontraktionsphase bleibt der Hkt in beiden Unterdruckversuchen (20 % und 40 %) weitgehend konstant. Zwar kommt es innerhalb der Kontraktionsphase der REFERENZ-Versuche ebenfalls zu einem hochsignifikanten Anstieg des Hkts ( $p < 0.001$ ), jedoch ist der Hkt-Wert in den UENP-Versuchen in dieser Phase höher als der der REFERENZ-Versuche ( $p < 0.01$ ). In der Regenerationsphase bleibt der Hkt in den UENP-Versuchen im Vergleich zum Ausgangswert signifikant erhöht (vgl. Tab. 29). Dieses Phänomen ist im REFERENZ-Versuch nicht zu beobachten, wo der Hkt innerhalb der Regenerationsphase wieder auf Ruhewerte abfällt. Im REFERENZ-Versuch bei 40 % MVC sinkt der Hkt sogar 6 Minuten nach Ende der Kontraktion signifikant ( $p < 0.01$ ) unter den Ausgangsruhowert.

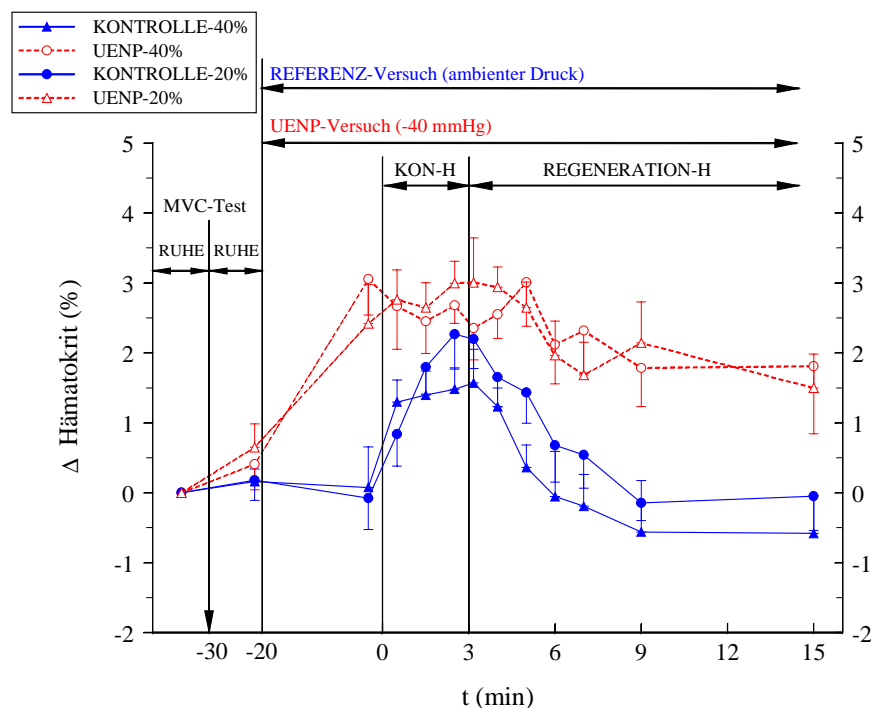


Abbildung 48: venöser  $\Delta$  Hämatokrit während des Versuchs

### 3.4 Zusammenfassung aller Studienergebnisse

Aufgrund der Fülle und Differenziertheit der Untersuchungsergebnisse sollen die wichtigsten Befunde jeder Studie zusammengefasst werden, wobei jeweils LBNP- und REFERENZ-Versuch miteinander verglichen werden:

#### Studie I<sub>31P-MRS</sub>:

- Alkalinisierung im Verlauf der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs
- größere Ermüdung während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- schnellerer PCr-Abfall mit Beginn von KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> pro Kraft-Zeit-Integral
- niedrigere [PCr] am Kontraktionsende von KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- höhere PCr-Resynthesegeschwindigkeit nach KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- PCr-Overshoot nach KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- niedrigerer pH<sub>i</sub>-Wert während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- erhöhte [P<sub>i</sub>] während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- erhöhte [ADP] während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- erhöhte [PME] während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- erhöhte [PME] während REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>
- höhere  $\Delta G_{\text{ATP}}$  während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- höhere rmsEMG-Amplituden während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- stärkerer Abfall des Medianwerts während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>

#### Methodenkontroll-Studie:

- kein Unterschied in der [PCr] zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch
- vergleichbarer PCr-Overshoot nach KON 1 und KON 1<sup>#</sup>

#### LBNP<sub>kurz</sub>-Studie:

- größerer PCr-Abfall während KON 1<sup>##</sup> im Vergleich zu KON 1<sup>#</sup> pro Kraft-Zeit-Integral
- größerer PCr-Abfall während KON 1<sup>#</sup> im Vergleich zu KON 1 pro Kraft-Zeit-Integral
- vergleichbarer PME-Anstieg während KON 1<sup>#</sup> und KON 1<sup>##</sup>
- höherer PME-Anstieg in beiden LBNP-Versuchen (LBNP und LBNP<sub>kurz</sub>) im Vergleich zum REFERENZ-Versuch

- vergleichbare  $\text{pH}_i$ -Veränderungen während der Kontraktions- und Regenerationsphase in beiden LBNP-Versuchen (LBNP und LBNP<sub>kurz</sub>)
- früher einsetzende Alkalinisierung in der Kontraktionsphase und ein sich anschließender früherer  $\text{pH}_i$ -Abfall in den LBNP-Versuchen im Vergleich zum REFERENZ-Versuch
- vergleichbare Regeneration des  $\text{pH}_i$  in allen Versuchen

### **Studie II<sub>Q</sub>:**

- reduzierte Durchblutung in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs
- Anstieg der Herzfrequenz in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs
- größere Ermüdung während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>
- reduzierte Durchblutung während REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>

### **Studie III<sub>UENP</sub>:**

- Zunahme des Hämatokrit im 20 % und 40 % UENP-Versuch



## 4 Diskussion

Aus den Ergebnissen kann zusammenfassend abgeleitet werden, dass der arbeitende Muskel in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  durch das induzierte LBNP-Manöver in seinem Stoffwechselverhalten manipuliert wird. Die unter LBNP-Bedingungen aufgezeichneten  $^{31}P$ -MRS-Daten deuten darauf hin, dass es während der Arbeitsphasen der Studie  $I_{31P-MRS}$  zu Veränderungen sowohl ① des glykolytischen als auch ② des oxidativen Energiestoffwechsels kommt. Neben den metabolischen Veränderungen sind in den Arbeitsphasen der Studie  $I_{31P-MRS}$  (abgesichert durch die Ergebnisse der Studie  $II_Q$ ) auch ③ elektrophysiologische Modifikationen während des LBNP-Versuchs festzustellen. Schließlich ist ④ in den LBNP-Versuchen der Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  in den Kontraktionsphasen eine signifikant ausgeprägtere Ermüdung des M. tibialis anterior zu beobachten ist.

### 4.1 Methodendiskussion

#### $^{31}P$ -MR-Spektroskopie

Ein Vorteil der  $^{31}P$ -MR-Spektroskopie liegt in der nicht-invasiven Messmethodik, da muskelbiopsische, biochemische Untersuchungstechniken – erstmals eingeführt von BERGSTRÖM 1962 – für Patienten oder Probanden schmerzhaft sind und zudem immer ein potenzielles Infektionsrisiko in sich bergen. Weiterhin lassen invasive Techniken lediglich nur eine begrenzte Anzahl von Messungen zu, wodurch die zeitliche Auflösung invasiver Messungen bei weitem nicht an die hohe zeitliche Auflösung der  $^{31}P$ -MRS heranreicht. Die  $^{31}P$ -MRS hingegen lässt Messungen mit einer sehr hohen zeitlichen Auflösung von bis zu 1 Sekunde (RADDI 1996) und einer sehr guten Reproduzierbarkeit und Messgenauigkeit von  $\pm 10$  Prozent zu (BLEI ET AL. 1993).

Bei der Bestimmung absoluter, intrazellulärer Konzentrationsangaben stoßen sowohl die  $^{31}P$ -MR-Spektroskopie als auch die biochemisch-histologische Untersuchungstechnik an ihre Grenzen. Histochemische Untersuchungsmethoden bedürfen einer sehr präzisen und schnellen Weiterverarbeitung, um die Zeitspanne vom Moment der Gewebeentnahme bis zum Einfrieren der Probe sehr gering zu halten, da sonst das PCr in der Biopsieprobe weiter zerfällt (EDWARDS ET AL. 1982). Hinzu kommt die Tatsache, dass die Entnahme der Muskelgewebeprobe eine Mikroverletzung – insbesondere des sarkoplasmatischen Retikulums – verursacht, wodurch es zu einer Aktivierung der Aktomyosin-ATPase durch eine erhöhte  $[Ca^{2+}]_i$  kommen kann. Diese ATPase-Aktivierung könnte somit noch zu Veränderungen der  $[PCr]$  und  $[P_i]$  führen. Wie

SÖDERLUND UND HULTMAN (1986) zeigen konnten, reduziert sich bei der Weiterbehandlung von Muskelbiopsien die [PCr], was auf die eben beschriebene ATPase-Aktivierung hindeutet.

Für die Bestimmung bzw. die Berechnung der absoluten [ADP] – in diesem Zusammenhang ist immer freies ADP gemeint – und der freien Enthalpie der ATP-Hydrolyse musste folgende theoretische Überlegung angestellt werden: Dass die rel. [ADP] nicht gemessen werden kann, ist auf die sehr niedrige intrazelluläre [ADP] zurückzuführen, die sich lediglich im  $\mu\text{M}$ -Bereich bewegt und sich somit unterhalb der Nachweisgrenze des  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektrums befindet. Zur Berechnung der [ADP] (vgl. Kap. 2.1.4.5.1, Formel 2.5) müssen u. a. die Konzentrationen des Gesamtcreatins, des Phosphocreatins und des ATP bekannt sein. Da die  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie lediglich in der Lage ist, relative Konzentrationsveränderungen zu dokumentieren bzw. Mengenrelationen ausgewählter Metabolite zu bestimmen, müssen absolute Konzentrationen angenommen werden. Dies gestaltet sich aufgrund der großen interindividuellen Variabilität der Muskelfaserzusammensetzung als sehr schwierig, was am Beispiel der Gesamtcreatinmenge verdeutlicht werden soll. Die Menge des Gesamtcreatins wird maßgeblich durch die Muskelfaserzusammensetzung beeinflusst, da der Gesamtcreatingehalt in FT-Fasern nachweislich höher ist als bei ST-Fasern (KUSHMERICK ET AL. 1992).

Betrachtet man die  $^{31}\text{P}$ -MRS-Standardliteratur, so werden in der Regel bei der Bestimmung der [ADP] folgende Konstanten als Berechnungsgrundlage herangezogen: Als Gesamtcreatinkonzentration ([TCr]) werden in den meisten Fällen  $42 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  (HARRIS ET AL. 1974, ARNOLD ET AL. 1984) und für die [ATP]  $8,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  (ARNOLD ET AL. 1984) zugrunde gelegt. Diese Daten stammen überwiegend aus Untersuchungen, in denen der M. gastrocnemius analysiert wurde. Zur Berechnung der [ADP] wurden daher in Studie I<sub>31P-MRS</sub> Werte herangezogen, die, basierend auf der Studie von CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997, aus Untersuchungen des M. tibialis anterior hervorgehen. Daraus ergibt sich *bei vorsichtiger Schätzung* eine [TCr] von  $39 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ , eine [ATP] von  $7,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$  sowie ein prozentualer Anteil der [PCr] am [TCr] von 70 %. Diese Berechnungen gehen von einem intrazellulären Flüssigkeitsgehalt von  $0,66 \text{ l} \cdot (\text{kg wet wt.})^{-1}$  entsprechend  $3,21 \text{ l} \cdot (\text{kg dry wt.})^{-1}$  aus (SAHLIN 1978, SPRIET ET AL. 1987). Da der M. gastrocnemius einen wesentlich größeren Anteil von FT-Fasern in seiner Muskelfaserzusammensetzung besitzt als der M. tibialis anterior (JOHNSON ET AL. 1973), erscheint die Verwendung muskelspezifischer Referenzwerte grundsätzlich gerechtfertigt.

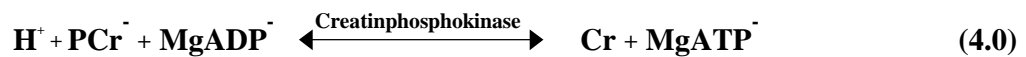
Da keine intramuskuläre Temperaturmessung möglich war, musste zur Berechnung der freien Enthalpie der ATP-Hydrolyse ( $\Delta G_{\text{ATP}}$ ) eine konstante Temperatur von 310 K angenommen

werden. Bei einem Anstieg der Temperatur von 10 °C würde sich die freie Enthalpie lediglich um  $-1 \text{ kJ mol}^{-1}$  verringern. Ein Absinken der Temperatur infolge der isometrischen Arbeit ist auszuschließen. EDWARDS ET AL. 1975 konnten bei Untersuchungen am *M. quadrizeps* zeigen, dass infolge einer isometrischen, ischämischen Arbeit mit Arbeitsphasen bis zu 151 Sekunden lediglich Temperaturanstiege von bis zu  $0,8 \text{ °C min}^{-1}$  in einer Tiefe von 3-5 cm zu verzeichnen sind. Es ist daher anzunehmen, dass, bedingt durch die kurzen Arbeitsphasen von 3 Minuten, der Temperaturanstieg kleiner als 10 °C ist; somit kann eine fehlerhafte Berechnung für die Arbeitsphasen ausgeschlossen werden. Eine durchblutungsbedingte Erwärmung des Muskels von mehr als 10 °C während der reaktiven Hyperämie (KROESE 1976 und 1977) in den Regenerationsphasen ist ebenso zu vernachlässigen. Somit ist die in dieser Arbeit berechnete freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse während als auch nach der Arbeit lediglich marginal durch die Temperatur beeinflusst worden. Daher erscheint ein temperaturabhängiger Berechnungsfehler der freien Enthalpie vernachlässigbar.

Aus neueren Untersuchungen geht hervor, dass trotz einer hohen Anzahl theoretischer Annahmen, die bei der Berechnung absoluter Konzentrationenangaben mittels  $^{31}\text{P}$ -MRS angestellt werden müssen, vergleichbare Messergebnisse zwischen spektroskopischer und histochemischer Analysetechnik zu verzeichnen sind. So kommen BANGSBO ET AL. 1993 zu dem Ergebnis, dass mit der  $^{31}\text{P}$ -MRS und der biochemischen Messmethodik vergleichbare Ergebnisse erzielt werden. Während die [PCr] unter Anwendung dieser beiden Analysetechniken – sowohl in Ruhe als auch bei Arbeit mit hohen Arbeitsintensitäten – auf vergleichbare Konzentrationen deutet, so ist die Beurteilung der [ATP] wesentlich problematischer. Bei hohen Arbeitsintensitäten von 90 % der MVC, konnte histochemisch eine Abnahme der [ATP] um ca. 30 % beobachtet werden, die mit Hilfe der  $^{31}\text{P}$ -MRS nicht erkennbar war (BANGSBO ET AL. 1993). Bei niedrigen Arbeitsintensitäten findet sich hingegen eine gute Korrelation der [ATP] zwischen beiden Analysetechniken. Weiterhin stellen BANGSBO ET AL. 1993 fest, dass der ADP-Konzentrationsanstieg in der spektroskopischen Analyse im Vergleich zum histochemischen Verfahren vergleichsweise größer ausfällt. Dieser Umstand wird damit erklärt, dass bei einer histochemischen Analyse Teile des ADPs gebunden werden, die biochemisch nicht mehr nachweisbar sind. Da während der  $^{31}\text{P}$ -MRS lediglich freies ADP berechnet wird und die [ATP] konstant bleibt, erscheint der ADP-Konzentrationsanstieg größer. Zu ähnlichen Befunden kommen CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997 in einer vergleichbaren Studie.

Wie bereits demonstriert, besteht die Möglichkeit, absolute Konzentrationen ausgewählter Metabolite wie z. B. die [ADP], die [ATP], die [PCr] und die  $\Delta G_{\text{ATP}}$  zu **berechnen**. Problematisch bei der Berechnung absoluter Konzentrationen ist die Tatsache, dass in die Be-

rechnung sehr viele Konstanten wie z. B. Gleichgewichtskonstanten und absolute Konzentrationen mit einfließen (vgl. Kap. 2.1.4.5.1), deren Nachweis zum Teil in vivo noch aussteht. Inwieweit diese Annahmen zulässig sind, ist zur Zeit nur schwer abzuschätzen. Als kritisches Beispiel sei an dieser Stelle die Creatinphosphokinase-Reaktion (E.C. 2.7.3.2, vgl. Formel 4.0; BLEI ET AL. 1993) angeführt. Dieser sogenannten Lohmann-Reaktion, bei der es sich formal gesehen um die Summe aus der ATP-Synthese und der PCr-Hydrolyse handelt, liegen zwei Annahmen zugrunde:



1. dass sich die CPK-Reaktion in einem Äquilibrium befindet.
2. dass sich die CPK-Reaktion in einem schnellen Austausch mit dem  $\text{TCr}_{\text{Gesamt}}$  ( $[\text{PCr}] + [\text{Cr}]$ ) befindet.

HOCHACHKA UND MOSSEY 1998 konnten jedoch an FT- und ST-Fasern von Fischen nachweisen, dass eine bedeutsame Creatinmenge nicht „frei“ zugänglich vorliegt und es somit nicht zwangsläufig zu einem schnellen Austausch der Creatinkinase mit dem Gesamtcreatinpool kommen muss. Trotz der Möglichkeit, die absoluten Konzentrationen der energiereichen Phosphate zu berechnen, wird ein Großteil der in dieser Arbeit vorgestellten Parameter in relativen Konzentrationen angegeben. Damit können nicht abschätzbare Fehler – z. B. durch fehlerhafte Gleichgewichtskonstanten – klein gehalten werden. Ein Bestreben dieses Forschungsvorhabens besteht darin, eine möglichst komplexe Interpretation und Betrachtung der Ergebnisse zu gewährleisten. Aus diesem Grund wurde das Spektrum zu diskutierender Parameter vergrößert, indem zu den gemessenen Metaboliten auch berechenbare Stoffwechselgrößen mit in die Diskussion aufgenommen werden. Dazu zählen die  $[\text{ADP}]$ , die relative Geschwindigkeit ( $V/V_{\text{max}}$ ) der mitochondrialen ATP-Synthese, die  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  und die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse ( $\Delta G_{\text{ATP}}$ ). Es erscheint gerechtfertigt, die angeführten Parameter mit in diese Untersuchung einzubringen, da lediglich ein Vergleich zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch vorgenommen wird. Ein etwaiger Berechnungsfehler sollte sich gleichermaßen in beiden Versuchen niederschlagen.

Wasserverschiebungen, wie sie beispielsweise während muskulärer Arbeit durch die Anhäufung von Stoffwechselmetaboliten (Cr und Laktat) zwischen Intra- und Extrazellularraum auftreten, können die Berechnung absoluter Konzentrationsangaben beeinflussen. Auf die relativen Konzentrationen der Parameter des Energiestoffwechsels, wie sie in dieser Arbeit

überwiegend dargestellt wurden, sollten diese Wasserverschiebungen jedoch keinen Einfluss haben, wenn die Mengen- bzw. Konzentrationsverhältnisse zwischen den gelösten Substanzen zueinander konstant bleiben. So hätten etwaige Wasserverschiebungen in dieser Studie lediglich einen Einfluss auf diejenigen Parameter, bei denen absolute Konzentrationen angegeben worden sind, wie z. B. bei der [ADP]. Bei einem Flüssigkeitseinstrom in die Zelle wird vermutlich die absolute Konzentrationen zu niedrig berechnet, da ein Wassereinstrom – ohne gleichzeitigen Substanzausstrom – zu einer Konzentrationserniedrigung führt.

Die unterschiedliche Spin-Sättigung der Metabolit-Signale (PCr, ATP und PME) und die Berechnung der Relaxations-Korrekturfaktoren (vgl. Kap. 2.1.4.5.1) stellen eine weitere systematische Fehlerquelle der  $^{31}\text{P}$ -MRS dar. Aus der relativ niedrigen Streuung des Korrekturfaktors für das ATP-Signal kann jedoch geschlossen werden, dass die interindividuelle Streuung gering war. Die vergleichsweise höhere Streubreite der Relaxations-Korrekturfaktoren für das PME- als auch  $\text{P}_i$ -Signal sind auf die in Ruhe relativ geringen Konzentrationen dieser Metabolite zurückzuführen. Es kann dabei jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Relaxations-Korrekturfaktoren für diese Metabolite interindividuell stark variieren.

Da die  $^{31}\text{P}$ -MRS insbesondere im Verlauf von Kontraktionen durchgeführt wurde, müssen Bewegungsartefakte berücksichtigt werden. Daher mussten Veränderungen der Signalintensität, die auf Bewegungen zurückzuführen sind, korrigiert werden. Beim Übergang von einer Ruhephase zu einer Arbeitsphase (und vice versa) kann es zu einer räumlichen Konfigurationsänderung der HF-Spule zum Muskel kommen. Würde sich der Abstand zwischen Muskel und Spule vergrößern, so hätte dadurch auch die Signalintensität abgenommen. Daher konnten unterschiedlich große  $^{31}\text{P}$ -MRS-Signale in zwei aufeinanderfolgenden Spektren nicht grundsätzlich als Konzentrationsveränderung interpretiert werden. So entstandene Bewegungsartefakte wurden korrigiert, indem für jedes Spektrum der Anteil eines jeden Integrals an der Summe ( $[\text{PME}] + [\text{P}_i] + [\text{PCr}] + [\beta\text{-ATP}]$ ) aller errechneten und relaxationskorrigierten Integrale ermittelt wurde, was sich in der  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie als gängiges Verfahren etabliert hat (CONSTANTIN-TEODOSIU ET AL. 1997, WACKERHAGE ET AL. 1998).

Aufgrund der Messtechnik und der zum Teil sehr kleinen Durchmesser der Magneten werden bei der  $^{31}\text{P}$ -MRS bevorzugt kleine Muskelgruppen (M. flexor digitorum profundus und superficialis, M. gastrocnemius lateralis und medialis) bei vorwiegend isometrischen Kontraktionsformen untersucht, da hier eine Manipulation der Signalintensität durch Bewegungsartefakte gering gehalten werden kann (KENT-BRAUN ET AL. 1993). Isometrische Kontraktionen

zeichnen sich durch vernachlässigbar geringe Bewegungs- bzw. Lageveränderungen aus, so dass die angebrachte Hochfrequenzspule sich räumlich wenig vom Muskel entfernt. Diese lediglich minimalen Veränderungen der funktionellen Einheit „Hochfrequenzspule und Muskulatur“ gewährleisten ein nahezu konstant gutes SNR während eines Experimentes. In Studie I<sub>31P-MRS</sub> lag das SNR in körperlicher Ruhe im Bereich von 60 bis 80 und verringerte sich im Verlauf der Kontraktionen auf Werte zwischen 20 und 40.

Ein bislang noch nicht ausreichend erklärbares Phänomen ist der sogenannte P<sub>i</sub>-Undershoot, der sich in einem Absinken der [P<sub>i</sub>] post-exercise unter die Ausgangskonzentration widerspiegelt (ARNOLD ET AL. 1984, WACKERHAGE ET AL. 1998). Dieses Stoffwechselverhalten erschwert die Bestimmung des intrazellulären pH-Werts, da der pH<sub>i</sub> anhand der relativen Verschiebung des P<sub>i</sub>-Peaks berechnet wird (vgl. Kap. 2.1.4.5.1). Das bedeutet, dass die Detektion des P<sub>i</sub>-Peaks nicht mehr mit absoluter Präzision durchgeführt werden kann, weil der P<sub>i</sub>-Peak zeitweise im MR-Spektrum innerhalb des Rauschens verschwindet. Infolgedessen kommt es bei der Berechnung des pH<sub>i</sub>-Werts in der frühen Erholungsphase zu relativ starken Schwankungen. Diese Einschränkung der Messgenauigkeit muss bei der Analyse des pH<sub>i</sub>-Werts in der Abschlussdiskussion berücksichtigt werden. Da der P<sub>i</sub>-Undershoot jedoch in Studie I<sub>31P-MRS</sub> in beiden Experimenten auftritt, sollte die Verwendung des pH<sub>i</sub> zur Beurteilung des Stoffwechselverhaltens in den Regenerationsphasen erlaubt sein.

Bei Ergometrien mit kleinen Muskelgruppen sind keine nennenswerten Anstiege der Katecholaminkonzentration zu verzeichnen (MAASSEN AND SCHNEIDER 1997). Aber gerade die Katecholamine spielen bei der Regulation des intrazellulären Energiestoffwechsels, insbesondere der Glykolyse, eine wesentliche Rolle (ISSEKUTZ 1984). Neben dieser Einflussnahme auf den Energiestoffwechsel sind die Katecholamine auch bei der Durchblutung und der Regulation des Ionentransports von Bedeutung. Da während der <sup>31</sup>P-MRS nur mit kleinen Muskelgruppen gearbeitet wird, kann eine komplexe, auf den Gesamtkörper übergreifende Diskussion nur eingeschränkt stattfinden. D.h. es werden keine pauschalisierenden Aussagen über Ganzkörperergometrien getroffen.

Zusammenfassend bleibt festzustellen, dass durch die niedrig gewählte Arbeitsintensität der untersuchten Muskelgruppen (Studie I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> bei 30 % der MVC, Studie III<sub>UENP</sub> bei 20 % und 40 % der MVC), Umrechnungen in absolute Konzentrationen – wenn angebracht in mmol · l<sup>-1</sup> bzw. μmol · l<sup>-1</sup> – vertretbar erscheinen. Ungenauigkeiten bei der Berechnung ausgewählter Parameter, bedingt durch nicht abschätzbare intrazelluläre Prozesse, sind auf Grund

der Versuchsanordnung (LBNP vs. REFERENZ) vernachlässigbar klein, da die Ungenauigkeiten sich in beiden Experimenten gleichermaßen niederschlagen.

### Energiestoffwechselanalyse

Die Energiebereitstellung erfolgt bei körperlicher Arbeit im wesentlichen über die aerobe und anaerobe Glykolyse sowie die oxidative Phosphorylierung. In Abhängigkeit zur Arbeitsintensität besitzen diese Stoffwechselprozesse einen unterschiedlichen prozentualen Anteil bei der Deckung des Gesamtenergiebedarfs (HOLLOSZY ET AL. 1998). Während bei der Glykogenolyse bzw. der Glykolyse sowohl intrazellulär gespeichertes Glykogen, als auch Blutglukose mit Hilfe eines transmembranalen Glukosetransports verstoffwechselt werden, kann der Citratzyklus sein zu verstoffwechselndes Ausgangssubstrat (Acetyl-CoA) sowohl aus der Glykolyse, als auch aus der  $\beta$ -Oxidation beziehen. Dies geschieht, indem die Citratsynthase die Kondensation von Oxalacetat und AcetylCoA zu Citrat katalysiert.

Der prozentuale Anteil der  $\beta$ -Oxidation an der Gesamtenergiebereitstellung ist sowohl von der Dauer und der Intensität der Belastung, als auch von der Arbeitsform (dynamisch oder isometrisch) abhängig (ROMIJN ET AL. 1993, BROOKS 1997). So konnten ROBERTS ET AL. 1996 zeigen, dass der Anteil der durch die  $\beta$ -Oxidation bereitgestellten Energiemenge (bei Arbeitsintensitäten von annähernd 40 % der maximalen Leistungsfähigkeit) mit 77 % am gesamten Energieumsatz am höchsten ist. Bei weiteren Intensitätserhöhungen bleibt der absolute Energiebetrag, der durch die Fettverbrennung bereitgestellt wird, konstant. Dieser Aspekt ist jedoch nicht ganz unumstritten, da ROMIJN ET AL. 1993 in ihren Studien nachweisen konnten, dass die absolute Fettsäure-Oxidationsrate mit zunehmender Arbeitsintensität abnimmt. Eine maximale Aktivierung der  $\beta$ -Oxidation scheint jedoch erst nach annähernd einer Stunde zu beobachten zu sein (BÜLOW 1988). Es konnte ferner gezeigt werden, dass unmittelbar mit Beginn muskulärer Arbeit die [FFS] des Blutes – auch bei Ergometrien mit kleinen Muskelgruppen – abnimmt (MAASSEN, unveröffentlichte Daten). Eine deutliche Steigerung der Fettsäureutilisation konnten WALLBERG-HENRIKSSON UND WAHREN 1989 erst nach ca. 10 min verzeichnen. Aus den angeführten Beobachtungen kann der Schluss gezogen werden, dass die  $\beta$ -Oxidation bei den in diesem Forschungsvorhaben durchgeführten kurzen Arbeits- und Erholungsperioden aufgrund der hohen Arbeitsintensität während der 3-minütigen, isometrischen Arbeit lediglich eine marginale Rolle spielt und somit in der Diskussion des Energiestoffwechsels vernachlässigt werden kann.

Ebenfalls nicht mit in die Diskussion des Energiestoffwechsels einfließen wird der Aminosäurestoffwechsel. So deuten Untersuchungsergebnisse darauf hin, dass der Aminosäurestoff-

wechsel erst nach sehr langen Arbeitsphasen von mehreren Stunden einen relativ bedeutsamen Teil des Gesamtenergiebedarfs abdeckt. Dabei kann der prozentuale Anteil des Protein- stoffwechsels bei der Deckung des Gesamtenergiebedarfs von ca. 2 % auf nahezu 10 % ansteigen (HULTMAN UND GREENHAFF 1993).

Es kann zusammengefasst werden, dass die in dieser Arbeit beschriebenen Arbeits- und Erholungsphasen durch den Protein- und Fettstoffwechsel lediglich marginal beeinflusst werden und sich daher die Diskussion des Energiestoffwechsels primär auf die Glyko(geno)lyse und die oxidative Phosphorylierung beschränkt. Insbesondere die Frage nach den Kontrollmechanismen dieser beiden Stoffwechselprozesse wird kontrovers diskutiert (CONNETT 1989, CONLEY ET AL. 1997, SAKS ET AL. 1994). Ein kurzer Überblick über die derzeit am meisten akzeptierten Theorien zur Stoffwechselregulation der Glykolyse und der oxidativen Phosphorylierung ist daher im Anhang E bereitgestellt. Der Überblick über die Kontrolltheorien ist von Bedeutung, da die Abschätzung der glykolytischen und oxidativen Stoffwechselintensität unter anderem anhand potenzieller Kontrollfaktoren bzw. -metabolite erfolgt, die innerhalb der Glykolyse und der oxidativen Phosphorylierung als Zwischenprodukte vorkommen.

#### Arbeitsprotokoll

Da nach einigen Vorversuchen erste Tendenzen im Energiestoffwechselverhalten zu erkennen waren, wurde in das Arbeits- und Erholungsprotokoll je eine Arbeitsphase bei intakter Durchblutung (KON 1/1<sup>#</sup>) und bei arterieller Okklusion (KON 2/2<sup>#</sup>) eingearbeitet. Durch das Anlegen der Okklusion vor und während KON 2/2<sup>#</sup> sollen zwei Aspekte abgeklärt werden. Zum Einen kann dadurch der Einfluss der Durchblutung auf die in Studie I<sub>31P-MRS</sub> beobachteten Phänomene abgeschätzt werden. Dies war unter anderem insofern von Bedeutung, als dass sich die Durchblutungsmessung während einer Kontraktion mit Hilfe der Venenverschlussplethysmographie recht schwierig gestaltet. Zudem kann durch die experimentelle Ischämie eine weitere Differenzierung zwischen Glykolyse und oxidativer Phosphorylierung vorgenommen werden. Durch die in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> angelegte Okklusion wurde das Muskelgewebe nahezu desoxygeniert, so dass während der Kontraktionen KON 2 und KON 2<sup>#</sup> nahezu ausschließlich glyko(geno)lytische Mechanismen der Energiebereitstellung zum Tragen kamen. Zu diesem Zweck wurde auf dem Oberschenkel proximal der Patella mittels einer Okklusionsmanschette ein Druck von 280 – 300 mmHg erzeugt, um eine absolute Unterbrechung der Durchblutung zu erzielen. Bei einigen Probanden wurde im Vorfeld der Experimente zunächst überprüft, ob der gewählte Okklusionsdruck ausreichend ist, um den ischämischen Zustand des Unterschenkels – auch während der Kontraktion – zu gewährleisten. Die Voruntersuchungen bestätigten, dass der gewählte Druck für dieses Forschungsvorhaben



korrekt dosiert war, da bereits ab einem Druck von ca. 200 – 220 mmHg kein Blutfluss, weder durch einen Ultraschall-Doppler noch durch ein Stethoskop, mehr festgestellt werden konnte. Andere Arbeitsgruppen, die ebenfalls mit dieser Okklusionstechnik und mit einem vergleichbaren Druck arbeiten, bestärken diese Vorgehensweise (QUISTORFF ET AL. 1992, WACKERHAGE ET AL. 1998).

Zwar zeigen Untersuchungen von BLEI ET AL. 1993 und WANG ET AL. 1990, dass eine Zeitspanne von annähernd 6 Minuten nötig ist, um mit Hilfe der Okklusionstechnik eine vollständige Desoxygenierung des Muskels hervorzurufen. HARRIS ET AL. 1975 kommen sogar zu dem Schluss, dass annähernd 10 Minuten notwendig sind, bis der Muskel absolut desoxygeniert ist. Angesichts der schmerzhaften Okklusionsprozedur wurde jedoch in diesem Forschungsvorhaben die Okklusionsdauer vor Beginn der Kontraktionen (KON 2 und KON 2<sup>#</sup>) auf 3 Minuten festgelegt. Berechnungen von MAINWOOD UND RENAUD 1985 sowie BLEI ET AL. 1993 ergeben, dass der Sauerstoffvorrat im ruhenden Muskel bei ca. 0.45 – 0.46 mM kg<sup>-1</sup> liegt (entsprechend 2.8 mmol · l<sup>-1</sup> ATP) und dass der Muskel innerhalb der 3-minütigen Okklusionsphase vor Beginn der 2. Kontraktion bei einer basalen Respirationsrate von 0.008 mM · s<sup>-1</sup> (BLEI ET AL. 1993) mit vorsichtiger Näherung um ca. 50-60 % desoxygeniert sein sollte. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch HARRIS ET AL. 1975, wonach der von ihnen untersuchte M. quadrizeps eine berechnete Sauerstoffreserve von ca. 0.5 mmol · (kg wet wt.)<sup>-1</sup> haben und nach einer Okklusionsphase von 4 Minuten zu ca. 40-50 % desoxygeniert sein soll. Eigene Untersuchungen mit Hilfe der Nahe-Infrarot-Technik (Near-Infrared-Spectroscopy) konnten zeigen, dass es mit Beginn einer Okklusion zu einem exponentiellen Desoxygenierungsprozess kommt, welcher anschließend in eine langsamere Desoxygenierungsphase übergeht. So kann davon ausgegangen werden, dass ein Großteil des im Muskelgewebe vorhandenen Sauerstoffs bereits vor Beginn von KON 2 und KON 2<sup>#</sup> verstoffwechselt wurde und damit lediglich ein für die Diskussion vernachlässigbar kleiner Restbetrag an Sauerstoff zur Verfügung stand. Somit kann die Stoffwechselrate der oxidativen Phosphorylierung in den Kontraktionsphasen KON 2/2<sup>#</sup> als nahezu null eingestuft werden.

Aus praktischen Gründen wurden KON 1/1<sup>#</sup> und KON 2/2<sup>#</sup> innerhalb eines Versuchs durchgeführt, was auf den sehr schwierigen Versuchsaufbau und die lediglich in begrenzter Anzahl vorhandenen Probanden zurückgeführt werden muss. Es ist dabei nicht auszuschließen, dass die Veränderungen der Kontraktionen KON 2 und 2<sup>#</sup> auf einen Wiederholungseffekt zurückzuführen sind. Dieser Aspekt sollte jedoch von untergeordneter Bedeutung sein, da zum Einen die Befunde der Kontraktionen KON 1/1<sup>#</sup> unterstützt werden und zum Zweiten ein mutmaß-

licher Wiederholungseffekt sowohl REFERENZ- als auch LBNP-Versuch gleichermaßen betrifft.

Durch die 20-minütige RUHE<sub>prä</sub>-Phase konnte sichergestellt werden, dass es nicht nur zu einer schnellen Füllung des venösen Gefäßbettes kommt, sondern auch zu einer Volumenzunahme des Interstitiums. Dies ist von Bedeutung, da in dem Forschungsvorhaben eine Orthostase simuliert werden soll, in der normalerweise der hydrostatische Druck der Blutsäule für eine interstitielle Volumenzunahme sorgt. Bei den 20 Minuten handelt es sich um einen Kompromiss zwischen dem Bestreben, eine größtmögliche Volumenzunahme des interstitiellen Kompartiments hervorzurufen und der Problematik, die Probanden nicht zu lange dem Unterdruck auszusetzen. In den LBNP-Versuchen lag die Zeitspanne des Unterdrucks bei 52 Minuten.

Die bei den Maximalkraftkontraktionen (vgl. Kap. 2.1.4.1, Punkt (D)) und während des Arbeitsprotokolls (vgl. Kap. 2.1.4.1) aufgebrachte Kraft wurde den Probanden auf einem Display angezeigt. Somit stand den Probanden ein Online-Feedback-System zur Verfügung, um ihre aktuell aufgebrachte Kraft zu kontrollieren und notfalls zu korrigieren. Der ständig anwesende Versuchsleiter sorgte während der Experimente durch verbale Motivierung für eine höchstmögliche Leistung der Probanden. Dieses Vorgehen gewährleistete ein Einhalten der Zielvorgaben, sofern dies nicht durch metabolische und andere nicht-motivationsbedingte Ermüdungsfaktoren im Verlauf der Kontraktion verhindert wurde.

Durch die fixen Positionen der Waden- und Spulenhaltung sowie zusätzlicher Markierungen des Fußergometers konnte die HF-Spule immer wieder an ein und derselben Stelle des M. tibialis anterior angebracht werden. Dadurch wurde vermieden, dass die <sup>31</sup>P-MRS an unterschiedlichen Stellen („fields of interests“) des M. tibialis anterior erfolgte. Eine Untersuchung des Muskels an unterschiedlichen Positionen hätte die Diskussion der Ergebnisse negativ beeinflusst, da die Muskelfaserstruktur innerhalb eines Muskels sehr heterogen angeordnet sein kann. Hinzu kommt, dass durch eine veränderte Lokalisation der Spule am Muskel die Gefahr besteht, den Stoffwechsel anderer Muskeln (z. B. den M. soleus) in die Aufzeichnung mit einzubeziehen und so die Ergebnisse zu verfälschen. Dieses Problem kann insbesondere bei der Benutzung relativ großer HF-Spulen auftreten (BARSTOW ET AL. 1994). KUSHMERICK ET AL. 1992 bestätigen, dass in Abhängigkeit vom Muskelfasertyp Unterschiede im Energiestoffwechsel beobachtet werden können, die auf signifikante Differenzen in der Zusammensetzung der „energiereichen Phosphate“ und der schweren Myosinketten zurückzuführen sind (MEYER ET AL. 1980 UND 1985, CROW UND KUSHMERICK 1982). So konnten bereits diverse

Arbeitsgruppen zeigen, dass die myofibrilläre ATPase von Typ II-Fasern einen um den Faktor 2-3 höheren Energieverbrauch im Vergleich zu Typ I-Fasern besitzen (GREENHAFF ET AL. 1993, STIENEN ET AL. 1996). Die strukturellen und enzymatischen Unterschiede zwischen den Fasertypen beeinflussen zusätzlich das Regenerationsverhalten. TESCH ET AL. 1989 machen darauf aufmerksam, dass die PCr-Resyntheserate in ST-Fasern schneller als in FT-Fasern ist. Aufgrund der Markierungen auf der Patientenliege kann die Problematik, die sich aus der Heterogenität der Muskeln ableitet, vernachlässigt werden.

Das Erzielen einer Maximalkraft ist von sehr vielen Faktoren abhängig, unter anderem von der Motivation, den Hebelverhältnissen und dem Regenerationsstatus. Da die Maximalkraft sehr stark variieren kann, wurde in den Studien I<sub>31P-MRS</sub>, II<sub>Q</sub> und III<sub>UENP</sub> das jeweils zweite bzw. letzte Experiment mit derselben absoluten Arbeitsintensität (in Newton) durchgeführt, mit der die Probanden bereits in den Kontraktionsphasen des ersten Experimentes belastet wurden. Dies geschah aus der Überlegung heraus, eine motivationsbedingte Fehlinterpretation der Leistungsfähigkeit des Probanden bei der Neuberechnung der zu absolvierenden Kraft zu vermeiden. Dadurch konnte eine Unterforderung des Muskels während des Experiments ausgeschlossen werden. Aufgrund des relativ kurzen Abstandes zwischen den beiden Untersuchungstagen kann man davon ausgehen, dass es zu keinen nennenswerten trainingsbedingten Veränderungen der Maximalkraft kommt und somit die zuerst ermittelten 30 % der MVC auch im zweiten Experiment annähernd den gewünschten 30 % MVC entsprechen. Dies konnte bei der späteren Auswertung bestätigt werden. Die Maximalkraft (MVC in N) betrug im REFERENZ-Versuch 556 ( $\pm$  62) N, während sie im LBNP-Versuch bei 574 ( $\pm$  48) N marginal, aber nicht signifikant höher lag. Wie schon in 2.1.4 angesprochen, wurde am zweiten Untersuchungstag, unabhängig davon, ob es sich dabei um den REFERENZ- oder LBNP-Versuch handelte, vor dem eigentlichen Experiment ebenfalls ein MVC-Test durchgeführt. Die Funktion dieses Tests bestand also nicht darin, eine Neuberechnung der 30 % MVC anzustellen, sondern vielmehr einen vergleichbaren Ermüdungszustand des M. tibialis anterior vor Beginn der beiden Experimente zu gewährleisten. Mit anderen Worten: Wäre am zweiten Untersuchungstag kein MVC-Test absolviert worden, so wäre der Energiestoffwechsel eines durch den MVC-Test bereits „vorbelasteten Muskels“ (Untersuchungstag 1) mit dem Stoffwechsel eines noch „ausgeruhten (frischen) Muskels“ (Untersuchungstag 2) verglichen worden. Dies hätte zu unterschiedlichen Ergebnissen und damit zu fehlerhaften Schlussfolgerungen führen können.

Weiterhin bestand für die Probanden ein mindestens 24-stündiges Sportverbot vor den Experimenten. Diese Vorgabe sollte ebenfalls eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleisten, denn diverse Arbeitsgruppen konnten bereits zeigen, dass die muskuläre Leistungs-

fähigkeit infolge einer unzureichenden Regeneration beeinflusst werden kann. Dies spiegelt sich beispielsweise in einer nicht ausreichenden intrazellulären Glykogenbeladung wieder, welche sich nachteilig auf die Leistungsfähigkeit auswirkt. Während einer Ergometrie hätte in diesem Fall das Phänomen muskulärer Ermüdung wesentlich früher auftreten können (MAASSEN UND BUSSE 1989, BALSOM ET AL. 1999, IVY 1999). Die Höhe der intramuskulären Glykogenkonzentration hat weiterhin einen Einfluss auf die Glykogenolyserate in vivo. Untersuchungen an Ratten, deren Glykogenkonzentration im Vorfeld manipuliert wurde, belegen (RICHTER UND GALBO 1986), dass die initiale Glykogenkonzentration vor einer definierten Muskelstimulation signifikant mit der Höhe des Glykogenabfalls während der Arbeit korreliert; d. h. je höher der Glykogengehalt zu Beginn der Arbeit, desto größer der Glykogenverbrauch. Anhand dieses Befundes wurde abgeleitet, dass der Glykogengehalt per se ein Aktivator der Phosphorylase a ist.

#### Methodische Überlegungen zum Versuchsaufbau

Charakteristisch für LBNP-Versuche ist, dass der Proband – sofern er in seiner Position nicht fixiert ist – durch den erzeugten Unterdruck in den Magneten „hineingesogen“ wird. Die daraus resultierende Lageveränderung könnte zu einer Verschlechterung der Aufnahmequalität des  $^{31}\text{P}$ -MRS-Signals führen. Verhindert wird die Positionsänderung während des Unterdrucks durch das vor Versuchsbeginn angelegte Kletterseil. In zusätzlich durchgeführten  $^{31}\text{P}$ -MRS-Messungen konnte nachgewiesen werden, dass es mit Beginn des Unterdrucks (Abb. 16, Phase  $t = (-21)$  bis  $t = (0)$ ) zu keiner Verschlechterung der Aufnahmequalität kommt.

Durch die Methodenkontroll-Studie wurde evaluiert, ob im Versuchsaufbau der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  ein (methodischer) Fehler vorliegt. Der methodische Fehler hätte dann vorgelegen, wenn der Energiestoffwechsel bereits durch die Inbetriebnahme des Unterdrucks – ohne eine **absichtlich** durchgeführte Kontraktion – beeinflusst worden wäre. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang, dass durch das Anlegen des Unterdrucks eine **unbeabsichtigte** Kontraktion der Skelettmuskulatur der unteren Extremitäten erfolgt, die der Stabilisierung des Körpers dient. Dies hätte sich in einer Erniedrigung der [PCr] niederschlagen müssen. Die oben angesprochenen zusätzlichen  $^{31}\text{P}$ -MRS-Messungen belegen jedoch eindeutig, dass es beim Übergang von der Ruhe- zur  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase (Abb. 16, Phase  $t = (-21)$  bis  $t = (0)$ ) weder zu einer Erhöhung der anorganischen Phosphate noch zu einer Reduzierung der [PCr] kam (vgl. Kap. 3.1.1.1). EMGs, die im Verlauf dieser kritischen Übergangsphase parallel aufgezeichnet wurden, lassen keine erhöhte elektrische Aktivität des M. tibialis anterior erkennen. Insofern findet sich kein Indiz für eine unbeabsichtigte Muskelaktivierung.

Geht man von der Annahme aus, dass die in Studie I<sub>31P-MRS</sub> aufgetretenen Veränderungen durch die Volumenverschiebung (entweder direkt durch das veränderte interstitielle oder intravasale Volumen oder indirekt durch hormonelle Veränderungen) hervorgerufen werden, so hätte sich in der Methodenkontroll-Studie nur dann etwas im Energiestoffwechsel verändern dürfen (Reduktion der [PCr] bzw. Anstieg der [P<sub>i</sub>]), wenn es zu einer zusätzlichen Arbeit durch eine unbeabsichtigte Kontraktion des M. tibialis anterior gekommen wäre. Der Vergleich der spektroskopischen Daten (n = 4) zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch bekräftigt, dass durch das Erzeugen des Unterdrucks keine Veränderungen der [PCr] in Ruhe zu verzeichnen sind (Abb. 34). Die [PCr]-Veränderungen während der Kontraktionen selbst sind ebenfalls nicht unterschiedlich. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass der M. tibialis anterior in der Ruhephase vor Beginn von KON 1<sup>#</sup> bei angelegtem Unterdruck keiner zusätzlichen energieverbrauchenden Belastung ausgesetzt war. Insofern lassen sich die vom REFERENZ-Versuch abweichenden metabolischen und neuro-physiologischen Veränderungen in der Studie I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> eindeutig auf physiologische Mechanismen zurückführen.

#### Elektromyographie

Voraussetzung für eine gute Aufnahmequalität der Elektromyogramme ist eine entsprechende Vorbereitung der Hautareale. Deshalb wird allgemein empfohlen, die Haut vor der Applikation der Ableitelektroden mit Alkohol zu säubern und die obersten Epithelschichten der Haut durch grobkörniges Papier zu entfernen, um die Hautimpedanz zu reduzieren. Die Verringerung der Hautimpedanz verbessert – auch bei Verstärkern mit einer hohen Impedanz – die Qualität der EMGs. Bei den in diesen Studien durchgeführten EMG-Ableitungen wurde die Haut mit einem 70 %-igen Alkohol gereinigt, da höherprozentige Alkohole durch stärkere Verdunstungseffekte ein Austrocknen der Haut nach sich ziehen und der Hautwiderstand dadurch wiederum zunimmt. Auf eine zusätzliche Präparation der Haut (Abtragen der obersten Epithelschichten durch den Einsatz von Schmirgelpapier) wurde verzichtet, da ① ein Herstellen vergleichbarer Impedanzen im REFERENZ- und LBNP-Versuch schwierig zu realisieren war und lediglich eine zusätzliche Belastung der Probanden hervorgerufen hätte und ② die Hautimpedanzen bei Probemessungen nach alleiniger Reinigung mit Alkohol unterhalb der von WINTER 1980 geforderten 10 kOhm lagen.

#### Venenverschlussplethysmographie

Aufgrund der hohen Messwiederholungsrate (alle 15 Sekunden) konnten Bewegungsartefakte nachkorrigiert werden. In den Ruhe- bzw. Regenerationsphasen waren derartige Artefakte aufgrund der entspannten, supinen Körperlage der Probanden ohnehin nicht zu registrieren. Die Auswertung der Durchblutungsmessung während der Kontraktion selbst stellte sich als

schwierig dar, da der äußerst sensitive Dehnmessfühler sowohl muskelbedingtes Zittern als auch Pulsationen der Blutgefäße registriert. Da die Korrektur der Durchblutungsmessung (in Abb. 49 gekennzeichnet durch die eingefügten Steigungsgeraden) sehr viel Erfahrung erfordert, wurde sie in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. rer. nat. Norbert Maassen durchgeführt (Zentrum Physiologie, Medizinischen Hochschule Hannover), der sich seit längerer Zeit mit der Arbeitsphysiologie kleiner Muskelgruppen beschäftigt.

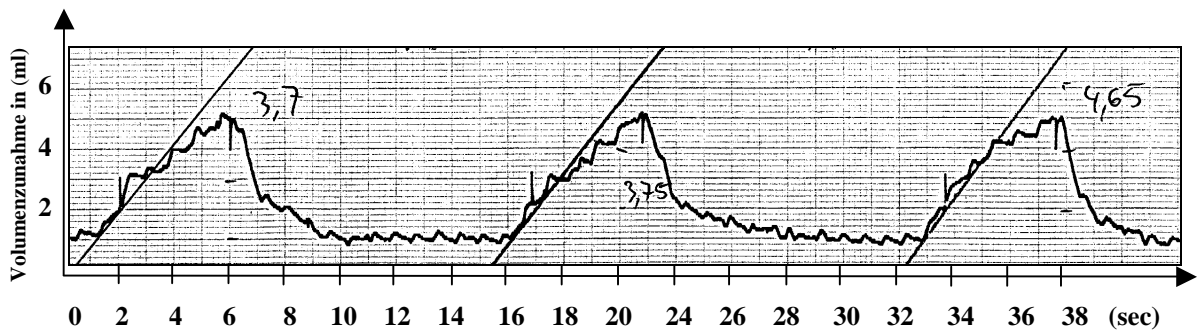


Abbildung 49: Durchblutungsmessung mit nachträglicher Korrektur

Problematisch bei der Anwendung der Venenverschlussplethysmographie ist die Tatsache, dass die Gesamtdurchblutung der jeweiligen Extremität, in diesem Fall des Unterschenkels, gemessen wird. Somit ist keine exakte Differenzierung der Durchblutung zwischen arbeitender und nicht-arbeitender Muskeln sowie der Hautdurchblutung möglich. Folgende Überlegungen lassen jedoch den Schluss zu, dass die gemessene Durchblutung nahezu ausschließlich auf den arbeitenden M. tibialis anterior zurückzuführen ist. Durch die relativ kurzen Kontraktionsphasen sollte es lediglich zu einer marginalen Temperaturerhöhung kommen, so dass eine Mehrdurchblutung der Haut im Rahmen der Temperaturregulation vernachlässigt werden kann. Weiterhin sollte eine erhöhte Unterschenkeldurchblutung primär auf den arbeitenden M. tibialis anterior zurückzuführen sein, da keine die Durchblutung stimulierenden Mechanismen in der nicht-arbeitenden Muskulatur aktiviert werden.

### Studie III<sub>UENP</sub>

Bei dem Vorhaben, methodenspezifische Limitierungen der <sup>31</sup>P-MRS zu kompensieren, indem in den Studien I<sub>31P-MRS/IIQ</sub> und Studie III<sub>UENP</sub> zwei unterschiedliche Muskeln untersucht werden, müssen mehrere Aspekte berücksichtigt werden. So sollte die Muskelfaserzusammensetzung der Finger-Flexoren-Gruppe des Unterarms (M. flexor digitorum profundus und superficialis) annähernd mit der des M. tibialis anterior übereinstimmen. Eine vergleichbare Muskelfaserzusammensetzung ist notwendig, da ST- und FT-Fasern sich durch eine Vielzahl metabolischer, neuro-physiologischer und kontraktiver Eigenschaften unterscheiden (PETTE UND

STARON 1990). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass aufgrund dieser muskelfaser-spezifischen Eigenschaften, die ST-Fasern langsamer ermüden und darüber hinaus auch schneller wieder regenerieren als FT-Fasern (TESCH ET AL. 1989, KUSHMERICK ET AL. 1992, MIZUNO ET AL. 1994). Diese Unterschiede können in ihrer Summe beim direkten Vergleich unterschiedlicher Muskelgruppen, abweichende Untersuchungsergebnisse hervorrufen und daraus resultierend fehlerhafte Schlussfolgerungen nach sich ziehen. Anhand bereits durchgeführter Studien kann hinsichtlich der unterschiedlichen Muskelfaserzusammensetzung folgendes festgestellt werden. MIZUNO ET AL. 1994 konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass es eine relativ große Streubreite in der Muskelfaserzusammensetzung der *Mm. flexor digitorum profundus* und *superficialis* im Unterarm gibt. So fanden sie bei einem 7-köpfigen Probandenkollektiv relative ST-Faserverteilungen von 65 % bis zu 15 %. Bei der Betrachtung der gemittelten Daten deuten die Ergebnisse darauf hin, dass die Flexorengruppe zu einem größeren Anteil aus FT-Fasern (ca. 60 %) besteht, was durch Befunde von JOHNSON ET AL. 1973 bestätigt wird. Dem gegenüber steht ein größeres relatives Vorkommen von ST-Fasern im *M. tibialis anterior* (JOHNSON ET AL. 1973, HENRIKSSON-LARSEN ET AL. 1983, JAKOBSSON ET AL. 1990), wobei dieser Befund geschlechtsunabhängig ist (HENRIKSSON-LARSEN 1985). Insgesamt bleibt festzuhalten, dass der *M. tibialis anterior* vermutlich einen höheren ST-Muskelfaseranteil als die *Mm. flexor digitorum profundus* und *superficialis* besitzt. Da aufgrund der Fragestellung vielmehr der interexperimentelle Vergleich innerhalb der Studie III<sub>UENP</sub> und nicht der Vergleich der Studien I<sub>31P-MRS</sub>/II<sub>Q</sub> mit der Studie III<sub>UENP</sub> im Vordergrund steht und somit keine muskelspezifischen Stoffwechseleigenschaften miteinander verglichen werden, sind die möglichen Unterschiede in der Muskelfaserzusammensetzung vernachlässigbar klein.

Um Aussagen über den Metabolismus der arbeitenden Muskulatur treffen zu können, musste gewährleistet werden, dass muskelvenöses Blut untersucht wird. Bei der Blutentnahme aus der *V. cubitalis* handelt es sich jedoch um Mischblut. D. h. diese Blutproben setzen sich zusammen aus muskelvenösem Blut der arbeitenden und nichtarbeitenden Muskulatur sowie aus Blut, welches den Hautarealen entstammt. Da die Stoffwechselintensität der Haut im Vergleich zum Muskel relativ niedrig ist, darf der Einfluss der Hautdurchblutung auf die Aussagekraft blutchemischer Parameter nicht unterschätzt werden. Um die Hautdurchblutung zu reduzieren und somit fast ausschließlich muskelvenöses Blut zu gewinnen, wurde der Unterarm gekühlt. Angefeuchtete Mullbinden wurden dafür während der Experimente um den Unterarm gebunden. Durch den erzeugten Unterdruck (während der UENP-Versuche) kam es am Oberarm zu einem marginalen Nachströmen von Luft im Bereich der Neoprenmanschette. Dieser konstante Luftstrom sorgte in Verbindung mit den feuchten Mullbinden für eine Kühlung des Unterarmes und somit für eine Konstriktion der Blutgefäße in der Haut. Um eine vergleichbare

Kühlung auch während des REFERENZ-Versuchs zu gewährleisten, lief die für den Unterdruck im UENP-Versuch verantwortliche Pumpe mit minimalster Pumpleistung (Leerlaufbetrieb). Zwar kam es dadurch zu einem Unterdruck von bis zu -1 mmHg, jedoch hatte dies keinen Effekt auf den Flüssigkeitshaushalt, was mithilfe des Venenverschlussplethysmographen dokumentiert wurde. Ebenso wenig ist dadurch eine Stoffwechselveränderung der Unterarmmuskulatur zu erwarten (vgl. auch 4.2.1.1).

Das Anlegen der Druckmanschette des Venenverschlussplethysmographen in Studie III<sub>UENP</sub> hatte 2 Gründe. Durch das konisch zulaufende Schnittmuster der Neoprenmanschette bestand die Gefahr, dass (im Verlauf des UENP-Versuchs) die Neoprenmanschette durch den Unterdruck in Richtung Plexiglas-Gehäuse „gesogen“ und sich dadurch vom Oberarm lösen würde. Durch die auf 20 mmHg aufgepumpte Staumanschette, die unterhalb der Neoprenmanschette lag, konnte dies verhindert werden. Um die Vergleichbarkeit der Untersuchungsergebnisse zwischen REFERENZ- und UENP-Versuch zu gewährleisten, wurde in *beiden* Experimenten ein Staudruck von 20 mmHg angelegt. Dieser Druck lag unterhalb des venösen Gefäßdrucks, wodurch die rheologischen Eigenschaften nur marginal beeinflusst wurden. Da jedoch in *beiden* Experimenten diese Manipulation des venösen Abflusses vorhanden war, sollte eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse gegeben sein. Darüber hinaus bestand durch die bereits vorhandene Staumanschette des Venenverschlussplethysmographen die Möglichkeit, die Perfusion der arbeitenden Unterarmmuskulatur grob abzuschätzen. Die Ergebnisse der Durchblutungsmessung des Unterarmes sind jedoch nicht im Ergebnisteil dargestellt, da in den Kontraktionsphasen keine signifikanten Unterschiede zu beobachten waren.



## 4.2 Studien $I_{31P-MRS}$ und $II_Q$

In der Arbeitsphysiologie wird der im Verlauf einer Kontraktion zu beobachtende Kraftabfall als Zeichen muskulärer Ermüdung gewertet: „*Fatigue is usually measured as a decline in force production relative to some predetermined rested state of the muscle*“ (BOTTERMAN 1995), wobei die Definition muskulärer Ermüdung uneinheitlich ist (SIMONSON UND WEISER 1976, BIGLAND-RITCHIE UND WOODS 1984, VØLLESTAD UND SEJESTEDT 1988). BIGLAND-RITCHIE UND WOODS 1984 definieren Ermüdung als „loss of force generating capacity“, die bereits mit Beginn muskulärer Arbeit auftritt. Diese Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass im Verlauf einer nicht-stimulierten, willkürlichen Kontraktion, bei der noch kein Anzeichen muskulärer Ermüdung nach BOTTERMAN 1995 zu erkennen war, die Maximalkraft bereits reduziert ist und mit zunehmender Arbeitsdauer weiter graduell abfällt. Aus praktischen Überlegungen wurde jedoch die zuerst vorgestellte Definition der Ermüdung von BOTTERMAN 1995 als Diskussionsgrundlage gewählt. Anhand der Ergebnisse aus den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  und der Definition von Ermüdung nach BOTTERMAN 1995 kann die in der Arbeitshypothese formulierte Frage ①, ob ein arbeitender Muskel infolge einer Flüssigkeitsverschiebung stärker bzw. früher ermüdet, positiv beantwortet werden. In beiden Studien ist im LBNP-Versuch ein deutlich früherer bzw. ausgeprägterer Abfall der Kraft während der Kontraktionsphasen feststellbar. Die in beiden Studien ( $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$ ) zu beobachtende ähnliche Ermüdungscharakteristik spricht auch dafür, dass in Studie  $II_Q$  vergleichbare Versuchsbedingungen wie in Studie  $I_{31P-MRS}$  geschaffen worden sind und somit die in Studie  $II_Q$  erhobenen Messergebnisse mit in die Diskussion der Studie  $I_{31P-MRS}$  einfließen können.

### 4.2.1 Metabolische und kardio-vaskuläre Veränderungen

#### 4.2.1.1 Der M. tibialis anterior während der $RUHE_{prä}$ -Phase

Infolge von LBNP-Manövern wird ein erhöhter Sympathikotonus beobachtet (HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996, JACOBS ET AL. 1996), der in einem Anstieg der [Kat] resultiert und dabei direkt von der Höhe und der Dauer des Unterdrucks abhängig ist. Daher kann in dieser Studie von einem Anstieg der [Adr] und [Nadr] während der LBNP-Phase ausgegangen werden. In Anlehnung an die Untersuchungsbefunde von HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996 sowie JACOBS ET AL. 1996 wird ein Anstieg der Katecholamine von mindestens 100 % für die Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  angenommen, wobei ein solcher Konzentrationsanstieg einen im Vergleich zu einer Ganzkörperergometrie relativ niedrigen Anstieg widerspiegeln würde (MAASSEN, pers. Mitteilung). Während des LBNP-Versuchs kann in der  $RUHE_{prä}$ -Phase ein sukzessiver und moderater signifikanter Anstieg der Herzfrequenz ( $p < 0.001$ ) von  $52 (\pm 2.7)$  vor Beginn der  $RUHE_{prä}$ -Phase auf  $69 (\pm 4.9)$  zum Ende der  $RUHE_{prä}$ -Phase beobachtet werden (vgl. Anhang

D, Abb. 58). Der Anstieg der Herzfrequenz deutet in der Regel auf einen erhöhten Sympathikotonus hin, was die Vermutung eines LBNP-bedingten Katecholaminanstiegs bestätigt. Anhand dieses Befundes ist zu vermuten, dass im weiteren Verlauf der Kontraktionen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> eine catecholaminerge Stimulation des glykogenolytischen Stoffwechsels hervorgerufen wird.

Unmittelbar mit Beginn der Unterdruckphase (RUHE<sub>prä</sub>-Phase) kommt es zu einer initialen Zunahme der Durchblutung, die binnen einer Minute in eine signifikante Reduzierung unterhalb des Ausgangswertes übergeht. Bei der initialen Zunahme der Durchblutung handelt es sich um die Füllung des venösen Gefäßsystems. Die anschließende Verminderung der Durchblutung scheint auf mehrere Faktoren zurückzuführen zu sein. Dabei sollen u. a. sinoarterielle und pulmonale Baroreflexe, Axonreflexe und myogene Komponenten eine Rolle spielen (ESSANDOH ET AL. 1988, JACOBSEN ET AL. 1993), die vermutlich synergistisch für eine Vasokonstriktion der Blutgefäße und damit für die Abnahme der Blutzirkulation sorgen. Im Verlauf eines LBNP-Manövers kann eine Zunahme der „skeletal muscle sympathetic nerve activity“ (MSNA) beobachtet werden (SCHERRER ET AL. 1988, ROWELL UND SEALS 1990, SCHOBEL ET AL. 1995, DAVY ET AL. 1998), wobei das Ausmaß dieser erhöhten Aktivität von der Höhe des Unterdrucks abhängig ist. SCHERRER ET AL. 1988 konnten bereits bei einem Unterdruck von -5 mmHg eine Zunahme der MSNA von 92 % feststellen, während ROWELL UND SEALS 1990 eine um 123 % erhöhte Aktivität bei -25 mmHg diagnostizierten. Daher ist wahrscheinlich, dass die Zunahme der MSNA in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> aufgrund des (größeren) Unterdrucks von -40 mmHg wesentlich höher ausfällt, als der von ROWELL UND SEALS 1990 beschriebene Wert. Durch die Zunahme der MSNA wird die Durchblutung in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase zusätzlich reduziert (SEALS UND VICTOR 1991, SALTIN ET AL. 1998).

Mit Ausnahme des p<sub>H<sub>i</sub></sub>-Wertes sind keine Veränderungen der energiereichen Phosphate (PCr, ATP, ADP, P<sub>i</sub>, vgl. Abb. 16) oder der potenziellen Kontrollmechanismen (ATP/ADP-Quotient oder  $\Delta G_{ATP}$ , vgl. Abb. 17) des oxidativen Energiestoffwechsels zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass die durch den Unterdruck herbeigeführte Flüssigkeitsverschiebung keinen unmittelbaren, messbaren Einfluss auf den basalen Energiebedarf der ruhenden Skelettmuskulatur hat. Ein Anstieg des basalen ATP-Verbrauchs ist auszuschließen, da dies mit einem Abfall der [PCr] sowie einem Anstieg der [P<sub>i</sub>] und [ADP] auf ein neues steady-state verbunden gewesen wäre. Zwar kommt es im Verlauf der RUHE<sub>prä</sub>-Phase zu einer Reduzierung der Durchblutung; diese sollte jedoch keinen Einfluss auf den basalen Energieverbrauch haben. GUTIERREZ ET AL. 1989, die den Einfluss der Durchblutung auf den Energieverbrauch untersuchen, zeigen in Experimenten an isolierten Hasen-Muskeln, dass sich infolge einer reduzierten Durchblutung der

basale Energieverbrauch nicht ändert und es somit zu keiner zellulären Adaptation an eine Hypoxämie kommt. Eine Reduktion des basalen Energieverbrauchs wäre vermutlich aufgrund der begrenzten Sensitivität der  $^{31}\text{P}$ -MRS nicht messbar gewesen.

In der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase des LBNP-Versuchs kommt es zu einer signifikanten Alkalinisierung des M. tibialis anterior (vgl. Abb. 16). Eine ventilationsbedingte Alkalinisierung, d. h. ein erhöhtes Atemminutenvolumen bei gleichbleibender Gesamtstoffwechsellage, kann ausgeschlossen werden, da die spirometrischen Daten der Studie  $\text{II}_Q$  keine Unterschiede zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch erkennen lassen. Dies wird durch Untersuchungen von DOWELL ET AL. 1968 und LOEPPKY ET AL. 1978 unterstützt. Zu anderen Befunden hingegen kommen AHN ET AL. 1989. Diese Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass es infolge eines LBNP-Manövers (u. a. bei -40 mmHg) sogar zu einer Reduzierung des Atemminutenvolumens infolge einer Reduzierung der Atemfrequenz kommt. Sollte die Ventilation den Säure-Basen-Haushalt beeinflussen, dann müsste sich auf Grund des erniedrigten Atemminutenvolumens vielmehr eine respiratorische Azidose entwickeln. Trotz der veränderten Ventilationsparameter konnten AHN ET AL. 1989 keine Veränderungen des Säure-Basen-Status feststellen. Somit ist es wahrscheinlicher, dass es sich bei der in Studie  $\text{I}_{31\text{P-MRS}}$  beobachteten Alkalinisierung in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase um eine metabolisch bedingte Alkalose handelt.

Die reduzierte Durchblutung des Unterschenkels in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase kann nicht ursächlich mit der Alkalose in Verbindung gebracht werden. Durch die verminderte Durchblutung des Unterschenkels in der Unterdruckphase (vgl. 3.2.2, Abb. 39; dazu auch LOEPPKY 1978, ESSANDOH ET AL. 1986), die einen eingeschränkten Abtransport von Stoffwechsellendprodukten – insbesondere von  $\text{CO}_2$  – aus dem Muskelgewebe nach sich zieht, hätte es vielmehr durch einen Anstieg des  $\text{PCO}_2$  zu einer respiratorischen Azidose kommen müssen. Somit erscheint eine respiratorische Teilkompensation der Alkalose, bedingt durch die veränderte Perfusion in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase, sehr wahrscheinlich, wodurch das Ausmaß der Alkalose unterschätzt wird.

Um eine metabolisch induzierte Alkalose hervorzurufen, hätte sich entweder die intrazelluläre Protonenproduktion durch einen erhöhten Protonenverbrauch oder -transport reduzieren oder aber die intrazelluläre Pufferkapazität erhöhen müssen. Eine Reduzierung der Protonenkonzentration aufgrund einer sinkenden Protonenproduktion könnte durch eine Erniedrigung der Stoffwechselaktivität des Citratzyklus unter den Ruhestoffwechsel hervorgerufen werden. Eine Abnahme des oxidativen Stoffwechsels würde eine geringere  $\text{CO}_2$ -Produktion nach sich ziehen und durch die verringerte  $[\text{CO}_2]$  das Gleichgewicht zwischen Pufferbasen und -säuren

gemäß der Henderson-Hasselbalchschen-Gleichung (Formel 4.3) verändern, was eine Alkalinisierung nach sich ziehen würde.

$$\text{pH} = \text{pK (6.1)} + \log \left( \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]} \right) \quad (4.3)$$

Sollte die Alkalinisierung auf die PCr-Hydrolyse zurückführen sein, in der  $\text{P}_i$  als Puffer für  $\text{H}^+$ -Ionen dient, so hätte es zumindest eine Zunahme der  $[\text{P}_i]$  und eine Abnahme der  $[\text{PCr}]$  geben müssen. Diese Annahme kann jedoch verworfen werden, da es zu keinen Konzentrationsveränderungen der  $[\text{P}_i]$  und  $[\text{PCr}]$  im Verlauf der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase kommt (Abb. 16). Da die Alkalinisierung einen transienten Verlauf erkennen lässt, deutet dies auf eine sukzessive Stimulation von Ionttransportern hin. Somit bleibt die Möglichkeit, dass sich die beobachtete Alkalose vielmehr durch spezielle Ionttransportmechanismen, wie beispielsweise den  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiport und/oder die  $\text{Na}^+$ -(un)abhängigen- $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Antiporter, hervorgerufen wurde. Ein Großteil des Protonen-Transports (80 %) erfolgt in Ruhe über die  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter und lediglich ein kleinerer Anteil (20 %) über die  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Antiporter (AICKIN UND THOMAS 1977). Andere Regulationsmechanismen wie z. B. der  $\text{H}^+/\text{Lak}^-$ -Cotransport scheinen in Ruhe keine größere Rolle zu spielen (JUEL 1996), da dieser Transportmechanismus durch den Konzentrationsgradienten angetrieben wird. Diese membrangebundenen Ionttransporter können durch unterschiedliche Mechanismen stimuliert werden. Zu den Kontrollfaktoren zählen u. a. Hormone, Neurotransmitter und Wachstumsfaktoren (JUEL 1997), bei denen an erster Stelle die Katecholamine Adrenalin (Adr) und Noradrenalin (Nadr) zu nennen sind. Den Katecholaminen wurde schon mehrfach eine stimulierende Wirkung auf Ionttransporter, wie z. B. die  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (BALLANYI 1988, CLAUSEN 1996) und den  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter, nachgewiesen (BAROIN ET AL. 1984, GIOVANNINI ET AL. 1988).

Aber auch das Mineralkorticoïd Aldosteron, das bislang eher aufgrund seiner genomischen Wirkung bekannt ist, kann an dieser Stelle mit aufgeführt werden. Untersuchungen von WEHLING ET AL. 1989, 1991, 1992 UND 1993 an menschlichen, mononuklearen Leukozyten sowie von OBERLEITHNER ET AL. 1987 an amphibischen Nierentubulus-Zellen zeigen, dass es zu einer raschen Aktivierung der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter durch Aldosteron kommt, was die schnelle (innerhalb weniger Minuten) nicht-genomische Wirkungsweise des Aldosterons belegt. Inwieweit dies jedoch auf den menschlichen Skelettmuskel in vivo übertragen werden kann, ist derzeit schwer zu beurteilen. ZANGE ET AL. 1996 untersuchten die Wirkung des Aldosterons auf den Energiestoffwechsel und den  $\text{pH}_i$  des menschlichen Skelettmuskels mittels  $^{31}\text{P}$ -MRS, indem sie gesunden Probanden 50 mg Aldosteron (iv.) verabreichten. Dabei kam es in der

ruhenden Skelettmuskulatur zu einer Abnahme des intrazellulären pH-Wertes. Dieser Befund steht somit im Widerspruch zu den Ergebnissen der Studie I<sub>31P-MRS</sub> und den Ergebnissen von WEHLING ET AL. 1989 UND 1991. Die bei ZANGE ET AL. 1996 beobachtete pH<sub>i</sub>-Wert-Reduktion ist möglicherweise durch Seiteneffekte der unphysiologischen Aldosteronerhöhung (um das 50-fache der normalen Aldosteron-Konzentration im Blut) zu erklären, wodurch die Sensitivität der Blutgefäße für konstriktorische Einflussfaktoren erhöht wird (WITZLEB 1993). Eine weitere Studie, in der Aldosteron appliziert wurde, konnte diese pH<sub>i</sub>-Abnahme nicht bestätigen (Zange, pers. Mitteilung).

Betrachtet man die physiologischen bzw. endokrinologischen Veränderungen, die während eines LBNP-Manövers auftreten, so kann eine Verbindung zwischen den Katecholaminen und dem Aldosteron mit den Ionentransportmechanismen hergeleitet werden. So konnten HINGHOFER-SZALKY ET AL. 1996 in LBNP-Versuchen an Menschen nachweisen, dass sich nach einer 30-minütigen Unterdruckphase bei -35 mmHg sowohl die Noradrenalin- als auch die Aldosteronkonzentrationen signifikant um annähernd 100 % erhöhen. Somit könnte die in Studie I<sub>31P-MRS</sub> beobachtete Alkalinisierung des ruhenden M. tibialis anterior auf die Stimulation des Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>-Antiports zurückgeführt werden.

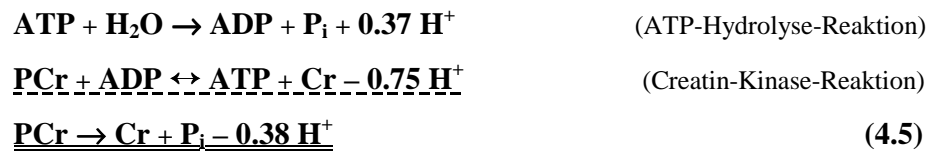
Die Alkalinisierung in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase und damit verbunden die möglicherweise erhöhte Transportrate der Ionentransporter haben eine direkte Auswirkung auf den Energiestoffwechsel der Arbeitsphase KON 1<sup>#</sup>. Einige Arbeitsgruppen weisen auf eine enge Korrelation zwischen Leistungsfähigkeit und pH-Wert hin (JONES ET AL. 1977, SUTTON ET AL. 1981, GOLDFINCH ET AL. 1988, GRANIER ET AL. 1996). SUTTON ET AL. 1981 kommen in ihren Studien zu dem Schluss, dass die Glykolyse in einem alkalischeren Milieu stärker aktiviert wird bzw. die Glykolyse mit abnehmenden pH<sub>i</sub> stärker gehemmt wird. Daraus folgt, dass zumindest zu Beginn von KON 1<sup>#</sup> ein „optimales“ Milieu für eine potenziell erhöhte glykolytische Stoffwechselrate vorhanden gewesen war. Durch die Alkalinisierung in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase und die erhöhte Transportrate der Ionentransporter kommt es des Weiteren zu einer Erhöhung der Pufferkapazität, was sich ebenfalls positiv auf den glykolytischen Energiestoffwechsel auswirken sollte, da der pH<sub>i</sub> die Wirkung des Enzyms Phosphofruktokinase verringern soll (TRIVEDI UND DANFORTH 1966, vgl. auch 4.2.1.2). Hinzu kommt die Tatsache, dass die [ADP] ebenfalls vom intrazellulären pH-Wert abhängt. Mit abnehmendem pH<sub>i</sub> sinkt die [ADP], was unter dem Aspekt potenzieller Kontrollmechanismen der oxidativen Phosphorylierung (vgl. Anhang E) einen nicht weiter abschätzbaren Einfluss auf den Energiestoffwechsel zu Beginn von KON 1<sup>#</sup> hat.

Durch die hormonbedingte Stimulation der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Transporter hat sich möglicherweise zusätzlich ein zelluläres Ödem gebildet. Ob und welche Auswirkungen eine Zellschwellung insbesondere während einer Kontraktion hat, darüber kann lediglich spekuliert werden. ROBIN UND THEODORE 1976 sowie LEWISTON ET AL. 1976 resümieren, dass intrazelluläre Ödeme einen nicht zu unterschätzenden Einfluss auf den Energiestoffwechsel besitzen. Dies konnten sie an alveolären Makrophagen verdeutlichen, bei denen es in der Folge einer Zellschwellung zu einer Reduzierung des Sauerstoffverbrauchs und zu einem Anstieg der glykolytischen Stoffwechselrate gekommen ist. Welchen Einfluss eine Zellschwellung auf die kontraktile Eigenschaften bzw. den Wirkungsgrad *in vivo* hat, ist bis dato für den menschlichen Skelettmuskel noch nicht beschrieben worden. Ebenfalls noch nicht diskutiert wurde die Beeinflussbarkeit von Ionen transportern durch Veränderungen der Gewebe- bzw. Sarkolemmdehnung. STEPHENSON 1995 weist in seinem Übersichtsartikel auf Befunde hin, wonach eine Volumenzunahme der T-Tubuli mechanosensitive  $\text{K}^+$ -Kanäle aktiviert. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass auch Ionen transporter nicht nur metabolisch, sondern auch mechanisch beeinflusst bzw. stimuliert werden. Dies könnte ebenfalls durch eine Volumenzunahme des Interstitiums erfolgen, die für eine Dehnung des Sarkolemm sorgt.

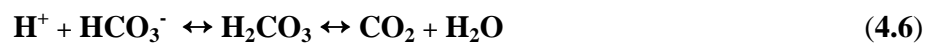
Zusammenfassend kann die in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase diagnostizierte Alkalose durch physiologische Mechanismen erklärt werden, an denen endokrine Mechanismen maßgeblich beteiligt sind. Dabei scheint der  $\text{pH}_i$  über eine erhöhte Hormonausschüttung (Aldosteron und Katecholamine) durch membranständige Ionen transporter hervorgerufen worden zu sein. Inwieweit diese oder andere Hormone, wie z. B. Wachstumsfaktoren, Kortisol oder Adrenomedullin eine Rolle spielen, ist mit den hier zur Verfügung stehenden Methoden nicht näher zu verifizieren. Es ist anzunehmen, dass das Ausmaß der Alkalinisierung durch die reduzierte Perfusion in den unteren Extremitäten sogar unterschätzt wird. Das intrazelluläre, alkalischere Milieu lässt im LBNP-Versuch zu Beginn der Kontraktionsphase KON 1<sup>#</sup> einen potenziell verbesserten glykolytischen Stoffwechsel erwarten, der unter Umständen bereits in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase erhöht war. Die durch die Alkalinisierung verbesserte Pufferkapazität und die Aktivierung der Protonen-Exchanger sollten ebenfalls für ein späteres Einsetzen muskulärer Ermüdung sorgen.

## 4.2.1.2 Der M. tibialis anterior in den Kontraktionsphasen

Die innerhalb der ersten Kontraktionsminute während KON 1/1<sup>#</sup> und KON 2/2<sup>#</sup> kurzfristige Alkalinisierung (Abb. 24) ist auf die Puffereigenschaft des P<sub>i</sub> zurückzuführen (ADAMS ET AL. 1990, BENDAHAN ET AL. 1990, BOSKA 1991), soll aber durch einen verstärkten Ca<sup>2+</sup>/H<sup>+</sup>-Symport zusätzlich unterstützt werden (CONNETT 1987b). Hierbei werden die H<sup>+</sup>-Ionen durch das anfallende P<sub>i</sub> gebunden, da das anorganische Phosphat mit einem pK-Wert von 6.75 ein sehr guter Puffer ist (SAHLIN 1978, WOLFE ET AL. 1988). Bilanziert man die Protonenproduktion und -elimination aus ATP-Hydrolyse und Creatin-Kinase-Reaktion, so kann man anhand der Formel 4.5 (YAMADA ET AL. 1993) erkennen, dass die PCr-Hydrolyse bis zu einem bestimmten Grad in der Lage ist, Protonen abzupuffern.



Die im weiteren Verlauf aller Kontraktionen einsetzende Azidose ist auf einen erhöhten glykolytischen Stoffwechsel zurückzuführen. Dabei dissoziiert die im glykolytischen Stoffwechsel anfallende Milchsäure in Laktat und H<sup>+</sup>-Ionen (YAMADA ET AL. 1993), was zu einer Laktatazidose führt. Die Laktatazidose wird durch die Bicarbonat-Reaktion teilkompensiert (Formel 4.6), in der zunächst Kohlensäure (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) gebildet wird. Anschließend zerfällt die Kohlensäure sofort in H<sub>2</sub>O und CO<sub>2</sub>, wobei das CO<sub>2</sub> unverzüglich in die Erythrozyten diffundiert und in den Lungenkapillaren abgeatmet wird.



Im LBNP-Versuch ist während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> eine früher einsetzende Azidose feststellbar, die als Indikator einer erhöhten glykolytischen Stoffwechselaktivität anzusehen ist (PARK ET AL. 1988, BLEI ET AL. 1993, CONLEY ET AL. 1997). Durch die zunehmende Milchsäurekonzentration und die erhöhte CO<sub>2</sub>-Produktion des oxidativen Stoffwechsels nimmt der pH<sub>i</sub>-Wert kontinuierlich ab. Der pH<sub>i</sub>-Abfall wird durch die PCr-Hydrolyse teilkompensiert. PIPER 1980 weist darauf hin, dass die Pufferkapazität der PCr-Hydrolyse pH-abhängig ist. Demnach wird bei einer Abnahme des pH<sub>i</sub>-Wertes von 6.8 auf 6.4 die Protonen-Pufferkapazität der PCr-Hydrolyse um 50 % von 0.4 mmol/l auf 0.6 mmol/l verbessert. Das bedeutet, dass der pH<sub>i</sub>-Abfall im LBNP-Versuch durch die zunehmende Pufferkapazität der PCr-Hydrolyse

kleiner ausfällt. Ohne diese zunehmende Pufferkapazität würde der  $\text{pH}_i$ -Abfall möglicherweise im LBNP-Versuch steiler verlaufen. Dies würde eine Unterschätzung der glykolytischen Stoffwechselrate bedeuten.

Die größeren  $\text{pH}_i$ - und PCr-Abnahmen während KON 2/2<sup>#</sup> sind im Vergleich zu KON 1/1<sup>#</sup> mit dem Wegfall der oxidativen Phosphorylierung und einem Anstieg der glykolytischen Stoffwechselrate zu erklären. So konnten TIMMONS ET AL. 1996 bereits zeigen, dass während einer 20-minütigen, isometrischen, muskulären Arbeit bei gleichzeitig angelegter, partieller Ischämie die glykolytische Stoffwechselrate erhöht ist. Da während KON 2/2<sup>#</sup> aufgrund der Okklusion die oxidative Phosphorylierung gleich null war (vgl. 4.1), kam es zwar zu einer Intensivierung der Glykolyse, die jedoch den größeren PCr-Abfall nicht verhindern konnte. Infolge der größeren glykolytischen Stoffwechselrate wird vermehrt Milchsäure gebildet, wodurch es zu der bereits angesprochenen Dissoziation der Milchsäure kommt; ein stärkerer  $\text{pH}_i$ -Abfall ist die Folge. Zusätzlich verstärkt wird das Ausmaß der Azidose während KON 2/2<sup>#</sup> wahrscheinlich auch durch einen Anstieg des  $\text{PCO}_2$ , der aus der angelegten arteriellen Okklusion resultiert, da  $\text{CO}_2$  durch die Perfusion nicht abtransportiert wird und somit nicht mehr abgeatmet werden kann.

Die infolge der angesprochenen Reflexmechanismen (vgl. 4.2.1.1), der erhöhten MSNA und der erhöhten [Kat] signifikant niedrigere Durchblutung am Ende der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs von Studie II<sub>Q</sub> ( $p < 0.05$ , vgl. Abb. 39), ist 10 Sekunden nach Beginn von KON 1<sup>#</sup> im Vergleich zu KON 1 immer noch erniedrigt ( $p < 0.05$ , Abb. 40). Bis zum Ende der Kontraktion nähert sich die Durchblutung jedoch derjenigen des REFERENZ-Versuchs an, so dass die Durchblutung am Ende von KON 1/1<sup>#</sup> nicht mehr unterschiedlich ist. Dies deutet darauf hin, dass die metabolisch bedingte Vasodilatation des Muskels weder durch die erhöhte [Kat] noch durch die erhöhte MSNA beeinflusst wird; somit scheint es zu einer funktionalen Sympatholyse zu kommen (SALTIN ET AL. 1998).

Die in Studie II<sub>Q</sub> durchgeführten Durchblutungsmessungen in den Kontraktionsphasen KON 1/1<sup>#</sup> lassen über die 3-minütige Kontraktionsphase keine signifikant unterschiedliche Durchblutung zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch erkennen (vgl. Abb. 40). Somit kann die Durchblutung nicht als Ursache der erhöhten Glykolyserate im LBNP-Versuch angesehen werden. Unterstützt wird dieser Befund durch die Arbeitsphase KON 2/2<sup>#</sup>, in der die Kontraktion bei arterieller Okklusion durchgeführt wurde, und in der ähnliche Ergebnisse im Stoffwechselverhalten wie bei KON 1/1<sup>#</sup> vorzufinden sind. Diese potenzielle Einflussnahme einer reduzierten Durchblutung könnte, wenn überhaupt, somit lediglich in der



RUHE<sub>prä</sub>-Phase eine Rolle spielen, da dort eine Reduzierung der Durchblutung durch das LBNP-Manöver hervorgerufen wurde (vgl. Abb. 39). Wie bereits diskutiert, bleibt der Energiestoffwechsel in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase davon jedoch unbeeinflusst.

Eine durchblutungsbedingte Erniedrigung des  $\text{pH}_i$  in den Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs ist ebenfalls auszuschließen, da ① keine signifikante Reduzierung der Durchblutung während KON 1<sup>#</sup> im Vergleich zu KON 1 in Studie II<sub>Q</sub> erkennbar ist, die für einen stärkeren Anstieg des  $\text{PCO}_2$  hätte sorgen können (vgl. 3.2.2); da ② eine vergleichbare  $\text{pH}_i$ -Kinetik zwischen KON 1/1<sup>#</sup> und KON 2/2<sup>#</sup> (bei arterieller Okklusion) vorliegt, was ebenfalls auf eine durchblutungsunabhängige Ursache des größeren  $\text{pH}_i$ -Abfalls im LBNP-Versuch hindeutet. Die Höhe der vom  $\text{pH}_i$ -Wert abgeleiteten glykolytischen Stoffwechselaktivierung wird vermutlich sogar unterschätzt, da während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> eine bereits in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase eingeleitete Stimulation der Protonen-Exchanger vorliegt (vgl. Kap. 4.2.2.1), wodurch der  $\text{pH}_i$ -Abfall teilkompensiert wird. Die Ursache des stärkeren glykolytischen Stoffwechsels wird vermutlich direkt durch den erhöhten Sympathikotonus, d. h. durch die erhöhten [Adr] und [Nadr] bewirkt (JANSSON ET AL. 1986, SHOEMAKER ET AL. 1997, FEBBRAIO ET AL. 1998, JAMES ET AL. 1999). Trotz des vermutlich relativ geringen Anstiegs der [Kat] um annähernd 100 % sollte dieser Anstieg ausreichend sein, die Glykolyse zu stimulieren. Schließlich konnten FEBBRAIO ET AL. 1998 ebenfalls bei niedrigeren Anstiegen der [Kat] eine Stimulierung der Glykolyse feststellen konnten.

Durch den Anstieg des Aldosterons kann es gleichzeitig zu einem Anstieg der intrazellulären [ $\text{Ca}^{2+}$ ] gekommen sein (WEHLING ET AL. 1998), bei dem es sich um einen mutmaßlichen glykolytischen Stoffwechselregulator handelt (CONLEY ET AL. 1997). So erscheint es denkbar, dass eine erhöhte [ $\text{Ca}^{2+}$ ]<sub>i</sub> für die verstärkte glykolytische Stoffwechselrate verantwortlich ist.

Neben der erhöhten [Kat] könnte die Zunahme der MSNA eine Rolle spielen, die, wie bereits gezeigt, während eines LBNP-Manövers erhöht ist (SCHERRER ET AL. 1988, ROWELL UND SEALS 1990, SCHOBEL ET AL. 1995, DAVY ET AL. 1998). Eine Zunahme der MSNA soll nach SEALS UND VICTOR 1991 die Glykogenolyse ebenfalls stimulieren, was durch den stärkeren PME-Anstieg während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> unterstützt wird. Im vorherigen Kapitel 4.2.1.1 wurde darauf verwiesen, dass eine Alkalinisierung eine höhere glykolytische Stoffwechselrate zulässt. Es ist jedoch auszuschließen, dass die Zunahme der glyko(geno)lytischen Stoffwechselrate während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> ursächlich auf eben diesen pH-Effekt zurückzuführen ist. Dieser Erklärungsansatz hätte lediglich dann weiter aufrechterhalten werden können, wenn der  $\text{pH}_i$  am Ende der Regenerationsphase REG 1<sup>#</sup> ebenfalls alkalischer (im

Vergleich zum REFERENZ-Versuch) gewesen wäre. Der  $\text{pH}_i$  im LBNP-Versuch ist zwar marginal, jedoch nicht signifikant höher.

Bestätigt wird die Annahme der glykolytischen Stoffwechselintensivierung im LBNP-Versuch durch die in den Kontraktionsphasen stärker ansteigende [PME]. Bei den Phosphomonoestern handelt es sich um glykolytische Intermediate, die im Verlauf der Glykolyse entstehen und bei denen es sich in erster Linie um das Glukose-6-Phosphat (G-6-P) handelt (HARRIS ET AL. 1981, BENDAHAN ET AL. 1990). Die erhöhte [PME] ist dabei primär auf eine intensivierete Glykogenolyse zurückzuführen, da Glukose-6-Phosphat die Phosphorylierung der Glukose durch ATP in der Hexokinase-Reaktion hemmt (SPRIET 1992). Daher entstammen die hohen [G-6-P] vornehmlich dem glykogenolytischen Stoffwechsel (BARFORD UND JOHNSON 1989, BARFORD ET AL. 1991, SPRIET 1992), der insbesondere in FT-Fasern stark ausgeprägt ist.

Die erhöhte [PME] und der niedrigere  $\text{pH}_i$  stehen im Widerspruch zu einigen in vitro Untersuchungen, die über hemmende Rückkopplungs-Mechanismen im Zusammenhang mit Enzymaktivitäten berichten. Nach VILLAR-PALASI 1991 und 1994 soll eine erhöhte [G-6-P] die cAMP-abhängige Protein-Kinase (E.C. 2.7.1.37) hemmen, so dass die Phosphorylase-Kinase (E.C. 2.7.1.38) in der inaktivierten, dephosphorylierten Form vorliegt. Infolgedessen liegt die Glykogen-Phosphorylase (E.C. 2.4.1.1) in der inaktiven b-Form vor. Ein Anstieg der [G-6-P] würde somit eine Hemmung der Glykogenolyse über einen negativen Rückkopplungs-Mechanismus erwarten lassen. In vivo Untersuchungen belegen jedoch, dass im Verlauf intensiver Arbeit G-6-P und andere glykolytische Intermediate durchaus stark ansteigen (SPRIET 1987, KATZ 1988, GREENHAFF ET AL. 1993), woraus auf eine relativ geringe negative Rückkopplung der [G-6-P] und anderer glykolytischer Intermediate in vivo geschlossen werden kann.

Der Einschätzung der glykolytischen Stoffwechselaktivierung widersprechen weiterhin in vitro Befunde, wonach eine zunehmende Azidose eine Hemmung der PFK-Aktivität hervorrufen soll, was eine Reduzierung der glykolytischen Stoffwechsels bedeuten würde (WU UND DAVIS 1981). GEVERS UND DOWDLE (1963) sowie TRIVEDI UND DANFORTH (1966) konnten durch in vitro Studien einen hemmenden Einfluss des  $\text{pH}_i$  auf die Phosphofruktokinase nachweisen. MADER (1984) geht bei seinen Überlegungen zur Kontrolle der Glykolyse ebenfalls von einem hemmenden Effekt des  $\text{pH}_i$  auf die Stoffwechselrate aus. Unterstützt wird diese Annahme durch Untersuchungen von SUTTON ET AL. 1981, die nach vorhergehender Manipulation

des pH-Werts durch  $\text{CaCO}_3$  (Kontroll-Versuch),  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Azidose-Versuch) und  $\text{NaHCO}_3$  (Alkalose-Versuch) im Verlauf einer Fahrradergometrie mit einem alkalischeren pH-Wert höhere Laktatwerte nachweisen konnten. Die im Alkalose-Versuch von SUTTON ET AL. 1981 erhöhte [Lak] deutet auf eine erhöhte anaerobe glykolytische Stoffwechselrate hin, während der Azidose-Versuch anhand der gemessenen [Lak] auf einen hemmenden Effekt des  $\text{pH}_i$ -Wertes auf den glykolytischen Stoffwechselrate schließen lässt. Jedoch konnten SPRIET ET AL. 1987 in Stimulationsversuchen am *M. quadriceps femoris* zeigen, dass eine reversible Hemmung der PFK frühestens ab einem  $\text{pH}_i$ -Wert von ca. 6.45 auftritt, infolgedessen es zu einer Abnahme der glykolytischen Stoffwechselrate kommt. BANGSBO ET AL. 1996 schließen einen hemmenden  $\text{pH}_i$ -Einfluss auf die glykolytische Stoffwechselrate *in vivo* sogar gänzlich aus. So soll die über eine negative Rückkopplung des  $\text{pH}_i$  auf die Phosphofruktokinase reduzierte Glykolyse, durch die stimulierende Wirkung erhöhter [AMP] und [ADP] übertroffen werden (SAHLIN 1986). Unter der Annahme, dass der in den *in vitro* Studien postulierte Rückkopplungseffekt des  $\text{pH}_i$  die Glykolyse hemmt, so dürfte der  $\text{pH}_i$  während muskulärer Arbeit nicht auf Werte von 6.2 absinken (gemessen z. B. bei ARNOLD ET AL. 1984), da ab einem  $\text{pH}_i$  von 6.9 die PFK kaum noch aktiv sein dürfte (TRIVEDI UND DANFORTH 1966). DOBSON ET AL. 1986 weisen darauf hin, dass die PFK auch bei niedrigeren  $\text{pH}_i$ -Werten aktiv ist. Da in Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  der intrazelluläre pH zu keinem Zeitpunkt unter den von SPRIETT ET AL. 1987 beschriebenen kritischen Wert von 6.45 abfiel und darüber hinaus BANGSBO ET AL. 1996 in ihren Untersuchungen (*in vivo*) ohnehin keinen  $\text{pH}_i$ -Einfluss finden konnten, kann eine erhöhte glykolytische Stoffwechselrate im LBNP-Versuch der Studie  $I_{31\text{P-MRS}}$  angenommen werden. Neben den Phosphomonoestern und dem  $\text{pH}_i$  deuten die potenziellen Kontrollfaktoren der Glykolyse ( $\text{P}_i$  und ADP) ebenso auf eine verstärkte Stimulation des glykolytischen Stoffwechsels hin (Anhang E (B)). WALTER ET AL. 1999 weisen in ihren Untersuchungen ebenfalls auf eine verstärkte glykolytische Stoffwechselrate durch erhöhte [ $\text{P}_i$ ] hin. Die bereits in der  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase vor Beginn von KON 1<sup>#</sup> signifikant höhere [ $\text{P}_i$ ] lässt somit zusätzlich eine stärkere Stimulation der glykolytischen Stoffwechselaktivität erwarten.

Trotz des intensivierten glykolytischen Stoffwechsels während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> kommt es zu einer größeren Reduktion der [PCr]. Das bedeutet, dass trotz der erhöhten glykolytischen Stoffwechselrate entweder ① der oxidative Anteil der Energiebereitstellung mit Beginn der Kontraktionen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> reduziert ist, oder dass sich ② der Energieverbrauch während einer Kontraktion vergrößert hat, d. h. es zu einer Abnahme des Wirkungsgrades des Muskels gekommen ist. Die Einflussnahme der oxidativen Phosphorylierung scheint hierbei keine Rolle zu spielen, da KON 2<sup>#</sup> unter arterieller Okklusion durchgeführt wurde und die stärkere Reduzierung der [PCr] sowohl während KON 1<sup>#</sup> als auch KON 2<sup>#</sup> zu erkennen ist.

Dieser Befund deutet zum Einen darauf hin, dass die stärkere Reduktion der [PCr] unabhängig von der Durchblutung, des Oxygenierungsgrades und somit unabhängig von der oxidativen Phosphorylierung auftritt. Zum Anderen ist die oxidative Stoffwechselrate in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> erhöht, was anhand der PCr-Resynthesegeschwindigkeitszeitkonstanten  $\tau$ , die als Maß der oxidativen Kapazität angesehen wird, postuliert werden kann (vgl. auch Kap. 4.2.1.3). Dies wiederum bedeutet, dass die oxidative Phosphorylierung zumindest während der Kontraktionsphase KON 1<sup>#</sup> intensiviert ist, da dort die mutmaßlichen Kontrollfaktoren der oxidativen Phosphorylierung (Anhang E (A, A1, A2)) signifikant im Vergleich zum REFERENZ-Versuch erhöht sind. Eine Reduzierung der oxidativen Kapazität während KON 1<sup>#</sup> und einer gleichzeitigen Intensivierung in der Regenerationsphase REG 1<sup>#</sup> erscheint unwahrscheinlich. Sollte es infolge einer negativen Rückkopplung möglicher Kontrollfaktoren zu einer Hemmung der oxidativen Phosphorylierung in der Kontraktionsphase kommen, so müsste diese Hemmung auch in der initialen Regenerationsphase noch bestehen, da zu diesem Zeitpunkt die entsprechenden Metabolite ebenfalls noch in hohen Konzentrationen vorliegen.

Anhand der bislang diskutierten Befunde muss der Schluss gezogen werden, dass sich der Wirkungsgrad  $\eta$  ( $\eta$  = äußere Arbeit/umgesetzte Energie; nach ULMER 1993) des M. tibialis anterior reduziert hat. Reduzierung des Wirkungsgrades bedeutet, dass im LBNP-Versuch mehr Stoffwechselenergie pro geleisteter Arbeit verbraucht wird als unter REFERENZ-Bedingungen und daher mehr Energie in Form von Wärme verloren geht. Der Wirkungsgradabfall wird durch den größeren initialen PCr-Abfall während KON 2<sup>#</sup> deutlich (Abb. 22). In den Kontraktionsphasen KON 2/2<sup>#</sup> dient der initiale PCr-Abfall als Indikator der muskulären Effizienz (ZANGE ET AL. 1997), da zu diesem Zeitpunkt der Kontraktion die Deckung des Energiebedarfs fast ausschließlich über die PCr-Hydrolyse und die anaerobe Glykolyse erfolgt. Aufgrund der angelegten Okklusion während KON 2/2<sup>#</sup>, durch die es zu einer Desoxygenierung des Muskels kommt, kann der oxidative Anteil der Energiebereitstellung vernachlässigt werden kann (vgl. Kap. 4.1). Unter der Annahme, in der Kontraktionsphase KON 1<sup>#</sup> seien die glykolytische und die oxidative Stoffwechselkapazität und in KON 2<sup>#</sup> sei die glykolytische Stoffwechselkapazität erhöht, kann davon ausgegangen werden, dass das Ausmaß der Wirkungsgradreduktion vermutlich unterschätzt wird, da die erhöhte Energiebereitstellung über die glykolytischen und oxidativen Stoffwechselprozesse einen noch stärkeren PCr-Abfall verhindert. Da während KON 1<sup>#</sup> des LBNP-Versuchs ebenfalls eine größere PCr-Reduktion erkennbar ist, deuten die Befunde auf eine durchblutungsunabhängige Ursache des reduzierten Wirkungsgrades im LBNP-Versuch hin. Aussagen über die Wärmeproduktion bzw. die Wärmeabgabe waren mit den zur Verfügung stehenden Mitteln im Übrigen nicht möglich.

Die Abhängigkeit der Stoffwechseleffekte von der Dauer der LBNP-Exposition wurden mit Hilfe der LBNP<sub>kurz</sub>-Studie untersucht (vgl. 2.1.4.4). Die Ergebnisse dieser LBNP<sub>kurz</sub>-Studie (vgl. Abb. 35 und 36; sowie Anhang D: Abb. 56 und 57), in der neben den bereits bekannten REFERENZ- und LBNP-Versuchen ein zusätzlicher LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch (RUHE<sub>prä</sub>-Phase auf 1 Minute verkürzt) durchgeführt wurde, unterstützen den Befund der Studie I<sub>31P-MRS</sub>, der einen größeren Abfall der [PCr] pro geleisteter Arbeit (Kraft-Zeit-Integral) zeigt. Der PCr-Abfall im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch (vgl. Abb. 35) ist im Vergleich zum LBNP-Versuch (20-minütige RUHE<sub>prä</sub>-Phase) signifikant niedriger ( $p < 0.05$ ), wobei die geleistete Gesamtarbeit vergleichbar ist. Das bedeutet, dass die Wirkungsgradreduktion im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch größer ist und/oder dass die in Studie I<sub>31P-MRS</sub> beobachtete Stimulierung der Glyko(geno)lyse während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> nicht oder lediglich in abgeschwächter Form im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch auftritt. Aufgrund der wesentlich kürzeren LBNP-Exposition in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP<sub>kurz</sub>-Versuchs kann es zu einer geringeren Katecholamin-Sekretion bis zum Beginn der Arbeitsphase von KON 1<sup>##</sup> gekommen sein (HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996, ROSSELER ET AL. 1999). Eine geringer ausfallende Glykolyserate infolge einer niedrigeren [Kat] zu Beginn der Kontraktion kann jedoch ausgeschlossen werden, da der pH<sub>i</sub> während der Kontraktionen KON 1<sup>#</sup> und 1<sup>##</sup> vergleichbar ist (vgl. Abb. 36). Der Anstieg der PME bestätigt zudem eine vergleichbare glykogenolytische Stoffwechselrate. Somit kann der Einfluss einer unterschiedlich hohen [Kat] zu Beginn der Kontraktion als Ursache der ausgeprägteren Wirkungsgradreduktion im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch vernachlässigt werden.

Weiterhin geht aus der LBNP<sub>kurz</sub>-Studie hervor, dass es vermutlich eine Adaptation des Muskels an die Flüssigkeitsverschiebung und die dadurch hervorgerufene Wirkungsgradreduzierung gibt, da die Reduzierung des Wirkungsgrades nach der 20-minütigen RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs nicht so stark wie im LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch ausfällt. Dabei scheint die interstitielle Volumenzunahme per se in keinem kausalen Zusammenhang mit den veränderten Wirkungsgraden zu stehen. Würde man einen abnehmenden Wirkungsgrad bei zunehmendem interstitiellen Volumen zugrunde legen, dann müsste die Kontraktion des LBNP-Versuchs (KON 1<sup>#</sup>) einen im Vergleich zum LBNP<sub>kurz</sub>-Versuch (KON 1<sup>##</sup>) schlechteren Wirkungsgrad haben, da mit zunehmender Dauer der RUHE<sub>prä</sub>-Phase das interstitielle Volumen sukzessive zunimmt. Dieser Befund deutet vielmehr auf eine Involvierung zentralnervöser Mechanismen bzw. reflexbedingter Regelkreise bei der Entstehung des reduzierten Wirkungsgrads hin.

In der vorangegangenen Diskussion (vgl. 4.2.1.1) wurde bereits darauf hingewiesen, dass es durch die Stimulierung der Ionentransporter zu einer Bildung intrazellulärer Ödeme in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase gekommen sein kann. Diese intrazellulären Ödeme könnten den Wirkungsgrad

verändern (ROBIN UND THEODORE 1976, LEWISTON ET AL. 1976). Durch die Ergebnisse der  $\text{LBNP}_{\text{kurz}}$ -Studie kann dies jedoch nahezu ausgeschlossen werden. Voraussetzung für eine Bildung intrazellulärer Ödeme wäre eine erhöhte Transportrate osmotisch wirkender Substanzen. Dies hätte, wie bereits vorgestellt, durch eine Erhöhung der  $[\text{Na}^+]_i$  mittels einer Aldosteron-bedingten Aktivierung des  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers erfolgen können (OBERLEITHNER 1987, WEHLING 1989, 1991 und 1992). Aufgrund der kurzen Unterdruckphase von 1 Minute vor Beginn  $\text{RUHE}_{\text{ini}}$ -Phase im  $\text{LBNP}_{\text{kurz}}$ -Versuch erscheint diese Möglichkeit unwahrscheinlich, da der  $\text{pH}_i$  nach 1 Minute mit angelegter LBNP nicht erhöht ist. Des Weiteren hätte die Wirkungsgradverringering im LBNP-Versuch am größten sein müssen, weil sich infolge der längeren  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase und der damit verbundenen längeren Wirkdauer des stimulierten  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschers ein größeres Ödem hätte entwickeln müssen. Hinzu kommt, dass eine „geschwollene“ Muskelfaser eine größere tetanische Maximalkraft entwickelt, was eher auf einen effektiveren „cross-bridge-stroke“ (Ruderschlag des Myosinkopfes) als auf eine erhöhte Frequenz von Ruderschlägen zurückzuführen ist (WESTERBLAD, pers. Mitteilung). Somit ist die Ursache der Wirkungsgradreduzierung zumindest nicht mit einer intrazellulären Ödembildung in Zusammenhang zu bringen.

Käme es während einer Kontraktion zu einer erhöhten Rekrutierung und/oder Frequenzierung von Muskelfasern, um ein und dieselbe Arbeit zu verrichten, so würde dies den Energieverbrauch erhöhen und somit den Wirkungsgrad des *M. tibialis anterior* verringern. Eine Reduzierung des Wirkungsgrades wäre aber auch möglich, wenn sich das Rekrutierungsmuster der innervierten Muskelfasern, d. h. das Aktivierungsverhalten von FT- und ST-Fasern zueinander verändern würde. Grundlage dieser Annahme ist der Befund, wonach der Energieverbrauch von FT-Fasern höher ist als der von ST-Fasern (MEYER ET AL. 1980, 1982 und 1985, KUSHMERICK 1983 und 1995, PETTE UND STARON 1990, KUSHMERICK ET AL. 1992, BANGSBO ET AL. 1993, STIENEN ET AL. 1996). FT-Fasern weisen einen im Vergleich zu ST-Fasern erheblich größeren ATP-Verbrauch bei gleicher Arbeit auf (BARCLAY 1996, STIENEN ET AL. 1996). Anhand dieser muskelfaserspezifischen Unterschiede kann die Vermutung geäußert werden, dass die Veränderungen des Energiestoffwechsels während des LBNP-Versuchs möglicherweise durch neuro-muskuläre Mechanismen hervorgerufen wurden, beispielsweise im Falle einer geringeren ST-Faser-, dafür aber höheren FT-Faser-Rekrutierung. Auf diese Möglichkeit soll in Kapitel 4.2.2 detailliert eingegangen werden, wenn die elektromyographischen Ergebnisse diskutiert werden.

#### 4.2.1.3 Der M. tibialis anterior in der Erholungsphase

Nach Kontraktionsende kommt es zunächst in beiden Versuchen zu einem weiteren Abfall des  $\text{pH}_i$ , welcher direkt auf den PCr-Resyntheseprozess zurückzuführen ist. Die während der PCr-Hydrolyse durch das Phosphat abgepufferten Protonen werden infolge der PCr-Resynthese wieder freigesetzt (KEMP ET AL. 1994). Die sich an muskuläre Arbeit anschließende Protonen-elimination ist auf mehrere Komponenten zurückzuführen. Zum Teil werden die Protonen in der Muskelzelle im oxidativen Stoffwechsel verbraucht. Ein bedeutsamerer Anteil wird jedoch über verschiedene Transportmechanismen aus der Zelle heraustransportiert, wobei die initiale Protonen-Transportrate  $\text{pH}_i$ -abhängig sein soll (KEMP ET AL. 1993b und 1994). Zu den Transportmechanismen zählen die  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter, die  $\text{H}^+/\text{Laktat}$ -Cotransporter und die  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Antiporter sowie die Diffusion von Milchsäure durch das Sarkolemm (JUEL 1996). Dabei regeneriert der  $\text{pH}_i$ -Wert tendenziell schneller als das Laktat (JUEL 1996). In der initialen Erholungsphase soll der  $\text{H}^+/\text{Laktat}$ -Cotransporter mit annähernd 30 – 35 % an dem Protonen-efflux aus der Zelle beteiligt sein (KEMP ET AL. 1994).

Bis zum Ende der Regenerationsphasen ist in keinem der Versuche, weder im Verlauf von KON 1/1<sup>#</sup> noch von KON 2/2<sup>#</sup>, eine vollständige Erholung des  $\text{pH}_i$  zu erkennen, wobei die  $\text{pH}_i$ -Regeneration zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch nicht unterschiedlich verläuft. Die gleich schnelle Regeneration des  $\text{pH}_i$  ist insofern erstaunlich, als dass es, basierend auf den Befunden von WACKERHAGE ET AL. 1998, im LBNP-Versuch zu einer langsameren Erholung des  $\text{pH}_i$  hätte kommen müssen, da der  $\text{pH}_i$  am Ende der Kontraktionsphasen des LBNP-Versuchs (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) signifikant niedriger ausfiel. WACKERHAGE ET AL. 1998 konnten in ihren Versuchen zeigen, dass sich der  $\text{pH}_i$  eines Muskels nach intensiver Arbeit (50 % der MVC) langsamer regeneriert, als nach einer weniger intensiven Arbeit (20 % der MVC). In Kapitel 4.2.1.1 konnte bereits hergeleitet werden, dass es zu einer Stimulierung von  $\text{H}^+$ -Transportern während der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase gekommen sein muss. Es ist anzunehmen, dass diese  $\text{H}^+$ -Iontentransporter während des gesamten LBNP-Versuchs und somit auch noch in der Regenerationsphase aufgrund der erhöhten Katecholamin- und Aldosteron-Konzentration stimuliert waren. Ein Indiz dafür ist der im LBNP-Versuch wesentlich früher einsetzende  $\text{pH}_i$ -Anstieg nach Arbeit.

Die Befunde von SHOEMAKER ET AL. 1997 würden ebenfalls eine verzögerte  $\text{pH}_i$ -Erholung erwarten lassen. Diese Arbeitsgruppe konnte nachweisen, dass die Durchblutung des Muskels infolge eines durch ein LBNP-Manöver erhöhten Sympathikotonus stark vermindert wird, wodurch die Erholung des  $\text{pH}_i$  langsamer verläuft. Ein vergleichbares Verhalten weist die Unterschenkeldurchblutung der Studie II<sub>Q</sub> (und somit vermutlich auch der Studie I<sub>31P-MRS</sub>) auf,

die in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup>/2<sup>#</sup> signifikant niedriger ausfiel (vgl. Abb. 39 und 40). Daraus müsste sich zusätzlich eine verlängerte Regeneration des  $\text{pH}_i$  während REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> ergeben. Des Weiteren wird der  $\text{pH}_i$  in der Erholungsphase durch den PCr-Overshoot beeinflusst. Infolge der Zunahme der [PCr] (über den Ausgangsrühewert) kommt es zu einer weiteren Freisetzung von Protonen, so dass der  $\text{pH}_i$  einer zusätzlichen azidotischen Belastung ausgesetzt ist. Es ist daher zu vermuten, dass sich der  $\text{pH}_i$ -Wert ohne die Beeinflussung durch die reduzierte Durchblutung des Muskels und den PCr-Overshoot noch schneller regeneriert hätte.

Lediglich die initiale  $\text{pH}_i$ -Kinetik unmittelbar nach Abbruch der Arbeit weist im interexperimentellen Vergleich einen Unterschied auf. Im Anschluss an die Arbeitsphasen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> fällt der  $\text{pH}_i$  um weitere 0.03 bzw. 0.04 Einheiten ab und steigt dann nach ca. 20-30 Sekunden wieder an. Im REFERENZ-Versuch hingegen ist post-exercise noch bis zur 50. Sekunde (KON 1), respektive bis zur 80. Sekunde (KON 2), ein weiterer  $\text{pH}_i$ -Abfall von jeweils 0.14 Einheiten zu erkennen, bevor es zu einem  $\text{pH}_i$ -Anstieg kommt. Dieses Verhalten des  $\text{pH}_i$  lässt sich vermutlich mit einer erhöhten Stimulation der Protonen-Austauscher erklären, die, wie bereits in Kapitel 4.2.1.1 diskutiert, durch die Katecholamine und das Aldosteron hervorgerufen wurde (BORGES ET AL. 1992, CLAUSEN 1996, WEHLING 1997). KEMP ET AL. 1994 konnten anhand von Stimulationsversuchen am Rattenmuskel zeigen, dass die  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Antiporter und die  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ -Antiporter selektiv mit Hilfe von Stilbenen und Amilorid gehemmt werden können. Der gegenteilige Effekt, d. h. eine Stimulation dieser Antiporter kann beispielsweise mithilfe des  $\text{T}_3$ -Hormons Triiodthyronin oder der Katecholamine herbeigeführt werden (BAROIN ET AL. 1984, THOMPSON ET AL. 1995). Diese Befunde verdeutlichen, dass diese Ionentransporter einem relativ starken Einfluss von Regulatoren (Hormonen, Transmitterstoffen) unterliegen können. Daraus lässt sich eine Interaktion der durch das LBNP-Manöver erhöhten Katecholamin- und Aldosteronkonzentrationen (HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996) auf die Protonen-Transporter und die initial schnellere  $\text{pH}_i$ -Regeneration im LBNP-Versuch erklären.

Da die Energiebereitstellung während muskulärer Arbeit sowohl über glykolytische als auch über oxidative Mechanismen erfolgt, ist eine Einzelanalyse der oxidativen Kapazität im Verlauf einer Kontraktion mit den in dieser Arbeit zur Verfügung stehenden Methoden nicht möglich. Der in Studie II<sub>Q</sub> gemessene Sauerstoffverbrauch ergab keinen Unterschied zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch. MCCREARY ET AL. 1996 maßen während einer dynamischen Plantarflexion des M. gastrocnemius bei einer Arbeitsintensität von 50 % der Maximalkraft einen Sauerstoffverbrauch von annähernd  $100 \cdot \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Da die Muskelmasse des M. tibialis



anterior wesentlich kleiner ist und zudem die Arbeitsintensität in dieser Studie mit 30 % der MVC geringer ausfiel, lag der Sauerstoffmehrerverbrauch vermutlich außerhalb der Messempfindlichkeit des in Studie II<sub>Q</sub> beschriebenen Spirometers.

Die oxidative Kapazität des untersuchten Muskels kann jedoch in der post-exercise Phase abgeschätzt werden. [PCr] regeneriert nach Belastung fast ausschließlich aerob, so dass die Geschwindigkeit der [PCr]-Regeneration als ein geeignetes Maß für die oxidative Kapazität des Muskels angesehen wird (ARNOLD ET AL. 1984, TAYLOR ET AL. 1986, QUISTORFF ET AL. 1992, BLEI ET AL. 1993, KEMP ET AL. 1993a UND 1993b, ZANGE ET AL. 1997, WACKERHAGE ET AL. 1998). Als Indikator der oxidativen Phosphorylierung dient hierbei die Zeitkonstante  $\tau$ , die mittels einer monoexponentiellen Regression anhand der PCr-Resynthese-Kinetik berechnet wird. Wie aus Abbildung 20 (vgl. auch Anhang C, Tabelle 14) hervorgeht, kommt es in den Regenerationsphasen des LBNP-Versuchs (REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>) zu einer Abnahme der Zeitkonstanten ( $\tau$ ), d. h. zu einer schnelleren Resynthese der [PCr]. Dies steht jedoch im Widerspruch zu den Befunden von WACKERHAGE ET AL. 1998, die in ihrer Studie nicht nur zeigen konnten, dass sich der pH<sub>i</sub> nach intensiverer Arbeit langsamer erholt als nach einer weniger intensiven Arbeit, sondern dass diese verzögerte Erholungskinetik auch die PCr-Resynthese betrifft. Als Indikator einer intensiveren Arbeit kann demnach eine größere Reduzierung der [PCr] und eine größere Azidose am Ende einer Arbeitsphase zugrunde gelegt werden. Auf Studie I<sub>31P-MRS</sub> übertragen bedeutet dies, dass die Probanden im LBNP-Versuch sowohl während KON 1<sup>#</sup> als auch während KON 2<sup>#</sup> intensiver gearbeitet haben als im REFERENZ-Versuch, da sowohl die [PCr] um annähernd 10 % stärker reduziert war (Abb. 20 und Tab. 14) als auch der pH<sub>i</sub> signifikant niedriger war (Abb. 24 und Tab. 16). Daraus hätte sich eine im LBNP-Versuch verzögerte Erholung der [PCr] (und wie bereits angesprochen des pH<sub>i</sub>) ergeben müssen, was anhand der Zeitkonstanten  $\tau$  jedoch nicht bestätigt werden kann; es ist sogar eine signifikant ( $p < 0.05$ ) schnellere Erholung der [PCr] in beiden Kontraktionen (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) des LBNP-Versuchs zu erkennen. Um die zu erwartende Erholungskinetik an einem Beispiel zu veranschaulichen, sind nachfolgend die rel. [PCr] während der Kontraktionen **KON 1** und **KON 2** sowie die sich anschließenden Regenerationsphasen **REG 1** und **REG 2** des **REFERENZ-Versuchs** einander gegenübergestellt (Abb. 50). Im Verlauf von KON 2 (mit angelegter Okklusion) kommt es im Vergleich zu KON 1 (mit intakter Durchblutung) zu einer größeren Reduktion der [PCr] um nahezu 10 %. Daran schließt sich eine länger andauernde Regeneration der [PCr] an, was an der Zeitkonstanten  $\tau$  (Abb. 50) abgelesen werden kann. Da die [PCr] am Ende der Kontraktionsphasen zwischen KON 1 und KON 1<sup>#</sup> sowie KON 2 und KON 2<sup>#</sup> (Abb. 19) eine ähnlich große Differenz aufweisen, wäre im LBNP-Versuch ebenfalls eine langsamere PCr-Erholungskinetik zu erwarten.

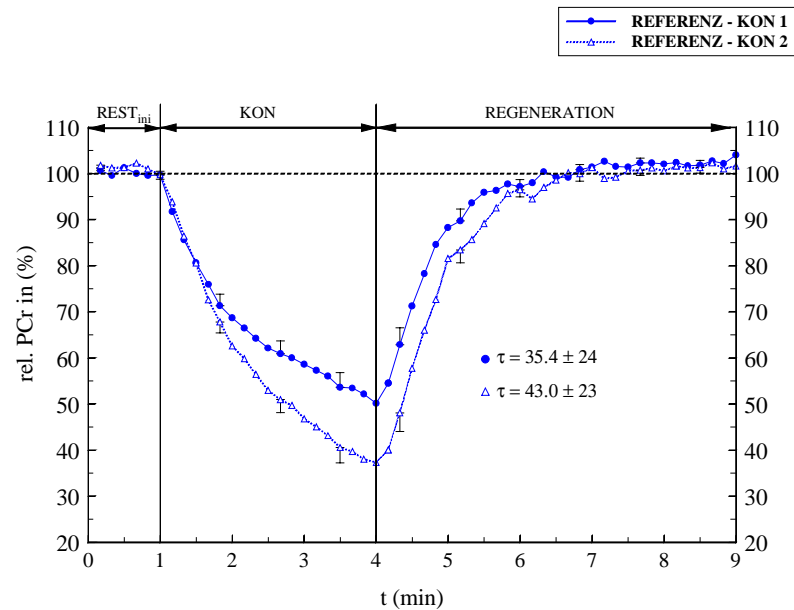


Abbildung 50: rel. [PCr] während KON 1 und KON 2 (Studie I<sub>31P</sub>-MRS)

Der Einfluss des intrazellulären pH-Wertes für die PCr-Regenerationsgeschwindigkeit ist in der initialen Erholungsphase nicht unumstritten. So deuten die Untersuchungsbefunde von LODI ET AL. 1997 und WALTER ET AL. 1997 darauf hin, dass die initiale PCr-Regeneration unabhängig vom pH<sub>i</sub> erfolgt. ARNOLD ET AL. 1984 und TAYLOR ET AL. 1986 dagegen schließen einen Einfluss des pH<sub>i</sub> nicht aus. Somit könnte die schnellere PCr-Regeneration der Studie I<sub>31P</sub>-MRS mit einer Veränderung der pH<sub>i</sub>-Regeneration – mit einer in Studie I<sub>31P</sub>-MRS gleich schnellen pH<sub>i</sub>-Regeneration – erklärt werden.

BLEI ET AL. 1991 konnten bei einer artifiziell durchgeführten Reduktion der Durchblutung am Unterarm mittels Okklusionsmanschette (10 Torr) zeigen, dass die Erholungsphase bereits durch diese relativ geringfügige Beeinflussung verlangsamt wird. Da die Durchblutung im LBNP-Versuch in allen Regenerationsphasen (REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup>) im Vergleich zum REFERENZ-Versuch signifikant erniedrigt war, wird die Geschwindigkeit, mit der die PCr-Resynthese erfolgt, in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> vermutlich unterschätzt. Es ist anzunehmen, dass das PCr bei intakter Durchblutung noch schneller regenerieren würde. Es kann zusammengefasst werden, dass das Phänomen der schnelleren PCr-Regeneration im LBNP-Versuch mit den derzeit favorisierten Kontrolltheorien der oxidativen Phosphorylierung (vgl. Anhang E) nicht ausreichend erklärt werden kann, was durch WACKERHAGE ET AL. 1998 bereits postuliert wurde. Welche Mechanismen möglicherweise ursächlich der schnelleren PCr-Regeneration im LBNP-Versuch zugrunde liegen, soll in Kapitel 4.2.2 unter Berücksichtigung neuro-muskulärer Parameter diskutiert werden.

Bei den in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> zu beobachtenden PCr-Overshoots handelt es sich um ein bislang selten beschriebenes Phänomen (KUSHMERICK ET AL. 1992, ZANGE ET AL. 1996, SAHLIN ET AL. 1997, BAERWALDE ET AL. 1999), was derzeit nicht ausreichend erklärt werden kann (KUSHMERICK ET AL. 1992). Die Stimulationsversuche von KUSHMERICK ET AL. 1992 am *Mm. soleus* und *biceps brachii* von Katzen deuten darauf hin, dass sich der beobachtete PCr-Overshoot in der Regenerationsphase auf Muskeln beschränkt, die einen relativ großen ST-Faseranteil besitzen. Dieser Befund wird durch Forschungsergebnisse am menschlichen *M. vastus lateralis* von SAHLIN ET AL. 1997 gestützt, der die Regenerationsphase im Anschluss an eine Fahrradergometrie untersuchte, die bei 75 % der maximalen Sauerstoffaufnahme durchgeführt wurde. Bei dem in dieser Studie untersuchten *M. tibialis anterior* handelt es sich um einen Muskel, der einen höheren prozentualen Anteil von ST-Fasern enthält (JOHNSON ET AL. 1973, HENRIKSSON-LARSON ET AL. 1983). Welcher Zusammenhang hier besteht, ist derzeit jedoch nicht erklärbar. Lediglich eine Links-Verschiebung des Gleichgewichts der Lohmann-Reaktion (vgl. Kap. 4.1, Formel 4.0) hätte einen PCr-Overshoot zur Folge. In den Regenerationsphasen KON 1/1<sup>#</sup> und KON 2/2<sup>#</sup> hat der  $\text{pH}_i$  seine Ausgangswerte noch nicht erreicht. Vielmehr müsste es durch die erhöhte Protonenkonzentration sogar eher zu einer Rechts-Verschiebung der Gleichgewichtslage der Lohmann-Reaktion kommen, die in einer Erniedrigung der [PCr] resultieren müsste. Somit kann der  $\text{pH}_i$ -Wert als Ursache des PCr-Overshoots ausgeschlossen werden, da im interexperimentellen Vergleich der  $\text{pH}_i$ -Regeneration zwischen REG 1 und REG 1<sup>#</sup> sowie REG 2 und REG 2<sup>#</sup> ohnehin keine Unterschiede vorliegen. Auch KUSHMERICK ET AL. 1992 kommen zu dem Schluss, dass der  $\text{pH}_i$  als Ursache des PCr-Overshoots ausgeschlossen werden kann, was sie u. a. mit den unterschiedlichen PCr- und  $\text{P}_i$ -Erholungskinetiken post-exercise begründen.

Eine Veränderung der  $[\text{Mg}^{2+}]_i$ , welche ebenfalls eine Veränderung der Gleichgewichtslage der Lohmann-Reaktion verursachen würde, kann ebenfalls nicht als Ursache des PCr-Overshoots angesehen werden. Dazu wurde der relative Abstand zwischen dem  $\beta$ -ATP-Peak, dessen Resonanzfrequenz von der  $[\text{Mg}^{2+}]$  abhängt, und dem PCr-Peak im MRS-Spektrum untersucht. Es konnten jedoch keine Auffälligkeiten festgestellt werden. Denkbar wäre auch, dass sich ein Ungleichgewicht zwischen ATP-Produktion und -verbrauch entwickelt hat und sich daraus der PCr-Overshoot ergibt. Dies kann lediglich durch eine erhöhte ATP-Produktion hervorgerufen worden sein, da es unwahrscheinlich erscheint, dass der Energieverbrauch post-exercise unter den basalen Energieverbrauch abfällt. Gegen eine erhöhte oxidative ATP-Synthese sprechen jedoch die beobachteten ADP-,  $\text{P}_i$ - und  $\Delta G_{\text{ATP}}$ -Undershoots. WACKERHAGE ET AL. 1998 weisen anhand ihrer Versuche, in denen die Zeitverläufe der mutmaßlichen Kontrollfaktoren der oxidativen Phosphorylierung (ADP-,  $\text{P}_i$ - und  $\Delta G_{\text{ATP}}$ ) nach unterschiedlich intensiven Arbeits-

intensitäten post-exercise untersucht wurden, darauf hin, dass die oxidative Phosphorylierung vermutlich nicht ausschließlich durch die beschriebenen Mechanismen reguliert wird. Diese Annahme kann durch die vorangehend beschriebene schnellere PCr-Resynthese des LBNP-Versuchs bestätigt werden.

ZANGE ET AL. 1996 beobachteten am M. gastrocnemius, der ein relativ ausgewogenes ST/FT-Faserverhältnis aufweist (SALTIN UND GOLLNICK 1983), ebenfalls einen PCr-Overshoot. Dies lässt zunächst die Vermutung zu, dass es sich bei dem Phänomen des PCr-Overshoots nicht zwangsläufig um eine auf den ST-Fasertyp bezogene Erscheinung handeln muss. Jedoch kann dieser Befund nicht als Beweis dafür angesehen werden, dass PCr-Overshoots auch in FT-Fasern auftreten. Hinzu kommt, dass der PCr-Overshoot möglicherweise durch eine hormonelle Komponente mit beeinflusst wird, da er in der pharmakologischen Studie von ZANGE ET AL. 1996 verstärkt infolge einer Applikation von Aldosteron (50 mg iv.) aufgetreten ist. Die durch das LBNP-Manöver hervorgerufene Flüssigkeitsverschiebung führt zu einer Erhöhung der Aldosteron-Konzentration (SZALKY-HINGHOFER ET AL. 1996) und kann somit für den PCr-Overshoot, über einen noch näher zu spezifizierenden hormonellen Wirkmechanismus, verantwortlich sein. Jedoch unterscheiden sich die PCr-Erholungskinetiken in besagter Studie von ZANGE ET AL. 1996 während der Versuche mit und ohne Aldosteron-Applikation. Während die [PCr] post-exercise nach Aldosteron-Applikation ein steady-state erkennen lässt (ähnlich der Kinetik des PCr-Overshoots in Abb. 20, LBNP-Versuch), gleicht die PCr-Kinetik ohne Aldosteron-Applikation eher einem kurzfristigen Overshoot (ähnlich der Kinetik der Methodenkontroll-Studie, Abb. 34).

Geht man von einem hormonbedingten Einfluss des PCr-Overshoots aus, so hätte sich in der Studie von KUSHMERICK ET AL. 1992 allerdings kein PCr-Overshoot einstellen dürfen. Dort handelt es sich nämlich um Muskelstimulationsversuche, innerhalb derer es zu keiner arbeitsbedingten Ausschüttung von Hormonen (Katecholamine, Cortisol, ACTH oder auch Aldosteron) kommt. Gegen einen hormonsensitiven Mechanismus sprechen auch die Ergebnisse des Methodenkontroll-Studie (Abb. 34), in dem zunächst eine arterielle Okklusion angelegt wurde, bevor eine Flüssigkeitsverschiebung durch das LBNP-Manöver eingeleitet wurde. Zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch kann in der Methodenkontroll-Studie kein Unterschied der [PCr] in den Arbeits- und Regenerationsphasen festgestellt werden. Auffällig ist, dass in der Methodenkontroll-Studie in beiden Versuchen PCr-Overshoots zu erkennen sind, die sich in ihrer Kinetik von denen des LBNP-Versuchs der Studie I<sub>31P-MRS</sub> unterscheiden. Während in Studie I<sub>31P-MRS</sub> bei KON 1<sup>#</sup> ein konstanter bzw. im Verlauf von KON 2<sup>#</sup> sogar ein sukzessiver Anstieg der PCr-Konzentration post-exercise erkennbar ist, ähnelt der PCr-Verlauf der

Methodenkontroll-Studie mehr einem kurzfristigen Overshoot, wobei die [PCr] anschließend wieder Richtung Ausgangswerte tendiert. In der Methodenkontroll-Studie kann also davon ausgegangen werden, dass es zu keiner Einflussnahme zirkulierender Hormone, insbesondere des Aldosterons, kommt, da Hormone den *M. tibialis anterior* aufgrund der angelegten Okklusion nicht erreichen. Die genaue Ursache der unterschiedlichen PCr-Kinetiken sind bis dato weder in der Fachliteratur aufgearbeitet, noch können sie hier aufgrund messmethodischer Beschränkungen näher untersucht werden.

Insgesamt werden durch das LBNP-Manöver eine Vielzahl metabolischer Veränderungen bewirkt. Zunächst kann die Frage ② der Ausgangshypothese (vgl. Kap. 1), ob es infolge einer Flüssigkeitsverschiebung zu einer Veränderung des Energiestoffwechsels kommt, ebenfalls positiv beantwortet werden. Die mittels  $^{31}\text{P}$ -MR-Spektroskopie gemessenen Energiestoffwechselfparameter (PCr,  $\text{P}_i$ , PME und  $\text{pH}_i$ ) und die berechneten Kontrollparameter der oxidativen Phosphorylierung (ADP,  $\Delta\text{G}_{\text{ATP}}$ ) deuten sowohl auf eine intensivierete Glykolyse- rate, als auch auf eine gesteigerte oxidative Phosphorylierung hin. Dabei scheint der größere Anstieg der Phosphomonoester auf eine stimulierte Glykogenolyse- rate und der stärkere  $\text{pH}_i$ - Abfall auf eine Zunahme der Glykolyse- rate hinzuweisen, die vermutlich durch die früher ein- setzende Alkalinisierung begünstigt werden. Ursache dieser intensivierten glyko(geno)- lytischen Stoffwechselrate ist sehr wahrscheinlich der erhöhte Sympathikotonus, der auf die LBNP-bedingte erhöhte Katecholaminfreisetzung und die erhöhte „skeletal muscle sympa- thetic nerve activity“ zurückgeführt werden kann. Darüber hinaus kommt aber auch ein Anstieg der  $[\text{Ca}]_i$  in Frage, der aus dem Anstieg der [Aldo] resultieren könnte (WEHLING ET AL. 1998). Die erhöhte Stoffwechselrate der oxidativen Phosphorylierung kann zu diesem Zeit- punkt der Diskussion nicht erklärt werden. Trotz dieses intensivierten Energiestoffwechsels ist eine ausgeprägtere Ermüdung während der Arbeitsphasen zu erkennen. Die Ursachen des PCr- Overshoots bleiben ungeklärt. Des Weiteren wurde eine Abnahme des Wirkungsgrades diagnostiziert, der, trotz der intensivierten glykolytischen und oxidativen Stoffwechsel- prozesse, für die größere Reduktion der [PCr] verantwortlich sein dürfte. Infolge der Flüssig- keitsverschiebung kommt es zu einer Zunahme der Protonentransportrate aus der Muskelzelle hinaus, was anhand der Alkalinisierung innerhalb der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase abgeleitet werden konnte. Die erhöhte Protonen-Transportrate ist dabei vermutlich auf einen Seiteneffekt kreis- laufstabilisierender Hormone (Katecholamine und Aldosteron) zurückzuführen. Diese meta- bolischen Befunde machen es erforderlich, neuro-muskuläre Parameter in die Diskussion mit einzubeziehen.

#### 4.2.2 Neuro-muskuläre Veränderungen

Die Überlagerung der elektrophysiologischen Signale jeder einzelnen Muskelfaser gestaltet die Interpretation elektromyographischer Untersuchungsbefunde problematisch. Zusätzlich erschwert wird dies durch die Muskelfaser-Heterogenität der Muskeln, die synergistische Arbeitsweise unterschiedlicher Muskelgruppen sowie die kontraktiven und metabolischen Eigenschaften der unterschiedlichen Muskelfasern. So konnte bislang nicht eindeutig geklärt werden, ob die Aktivierung motorischer Einheiten (ME) bei einer Willkür-Kontraktion einem sogenannten „Rotations-Prinzip“ unterliegen. Durch diesen Mechanismus könnten Muskelfasern in die Lage versetzt werden, sich durch eine alternierende Aktivierung der ME wieder kurzfristig zu regenerieren und dadurch auftretende Ermüdungsprozesse zu minimieren (FORBES 1922, PERSON UND KUDINA 1972, ENOKA ET AL. 1989). Das Erklärungsmodell, wonach motorische Einheiten konstant aktiv sind, findet derzeit eine größere Akzeptanz (ENOKA UND STUART 1992). Zu den ebenfalls kontrovers diskutierten Phänomenen in der Elektromyographie zählen u. a. auch die gegensätzlichen Befunde, wonach es bei Ermüdung zu einer Rechts-Verschiebung der Frequenz-Kraft-Kurve (EDWARDS ET AL. 1977) oder auch zu einer Links-Verschiebung (METZGER UND FITTS 1987, HÄGG 1992, THOMPSON ET AL. 1992) kommen soll.

In beiden Kontraktionsphasen des LBNP-Versuchs (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) ist eine signifikante Zunahme der elektrischen Aktivität des M. tibialis anterior zu verzeichnen (Abb. 30 und 31). Zu Beginn von KON 1<sup>#</sup> ist sie um ca. 34 % und zu Beginn von KON 2<sup>#</sup> um ca. 63 % erhöht; auch im weiteren Verlauf dieser beiden Kontraktionen bleibt sie nahezu konstant oberhalb des rmsEMG-Wertes des REFERENZ-Versuchs bzw. steigt während KON 2<sup>#</sup> sogar stark an. Zusätzlich kommt es während des LBNP-Versuchs (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) zu einer signifikant größeren Abnahme der Medianfrequenz (MF). Die höhere Amplitude (rmsEMG-Wert) in den Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs unterstützt dabei die Aussage des in Kapitel 4.2.1.2 diagnostizierten reduzierten Wirkungsgrades, da die geleistete Arbeit im LBNP-Versuch trotz des Anstiegs der elektrischen Aktivität des M. tibialis anterior geringer ausfiel. Eine Zunahme der elektrischen Aktivität ist durch eine zunehmende Rekrutierung und Frequenzierung sowie eine Synchronisation innervierter motorischer Einheiten möglich. Die initiale Medianfrequenz (MF) unterscheidet sich zu Beginn von KON 1<sup>#</sup> nicht vom REFERENZ-Versuch. Während KON 2<sup>#</sup> (LBNP-Versuch) ist die MF bereits nach 10 Sekunden signifikant niedriger als in der Arbeitsphase des REFERENZ-Versuchs (KON 2). Die nachträgliche Reduktion des zu mittellenden Zeitraums auf 5 Sekunden konnte zeigen, dass es zu einer schnellen initialen Abnahme der MF kommt, da sich die MF 5 Sekunden nach Beginn der Kontraktion (KON 2<sup>#</sup>) zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch nicht unterscheiden. Dies bedeutet, dass mit

Beginn der Arbeitsphasen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> die Zunahme der Amplitude nicht auf Veränderungen des Frequenzierungsmusters der ME zurückzuführen ist, da sich die MF sonst zu höheren Frequenzen hätte verschieben müssen. Eine quantitative Zunahme rekrutierter Muskelfasern würde ebenfalls eine höhere Amplitude generieren, ohne dabei die Medianfrequenz zu beeinflussen. Dabei muss es zu einer gleichmäßigen Zunahme von ST- und FT-Fasern im Verhältnis 1:1 gekommen sein, da eine ungleiche Rekrutierung ebenfalls eine Verschiebung der Medianfrequenz bedeuten würde. Eine frühzeitige Veränderung des Synchronisationsverhaltens der ME im Verlauf der Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs ist wahrscheinlich, da dieses Phänomen mit zunehmender Ermüdung zu beobachten sein soll (BIGLAND-RITCHIE 1981, KROGH-LUND UND JORGENSEN 1992). Erste Anzeichen muskulärer Ermüdung sind im LBNP-Versuch (während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) früher als im REFERENZ-Versuch zu erkennen (vgl. Kap. 3.1.2.1), jedoch ist es nicht möglich, zwischen Synchronisations- und Frequenzierungseffekten zu differenzieren.

In beiden Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) ist eine stärkere Abnahme der MF zu erkennen; sie weist einen exponentiellen Verlauf auf und wurde bereits durch andere Arbeitsgruppen beschrieben (LINDSTRÖM ET AL. 1977, HAGBERG 1981, DELUCA ET AL. 1986). Die Abnahme der MF, gleichbedeutend mit einer Frequenz-Verschiebung hin zu niedrigeren Frequenzen („low frequency shift“), wird als ein Indiz muskulärer Ermüdung angesehen (VIITASALO UND KOMI 1977, BIGLAND-RITCHIE ET AL. 1981, STULEN AND DELUCA 1981, MASUDA ET AL. 1999), wobei jedoch die kausalen Zusammenhänge zwischen der Ermüdung und der Frequenzabnahme nicht eindeutig geklärt werden können (SANDERCOCK ET AL. 1985, BRODY ET AL. 1991, ENOKA UND STUART 1992).

Die Abnahme der MF scheint mit dem Phänomen muskulärer Ermüdung, d. h. mit der Unfähigkeit, eine bestimmte Kraft zu entwickeln, sehr gut zu korrelieren (BROMAN ET AL. 1985). BRODY ET AL. 1991 konnten in ihren Untersuchungen zeigen, dass mit abnehmendem pH-Wert von 7.4 auf 6.6 die MF – aufgrund einer veränderten Erregungsleitungsgeschwindigkeit – ebenfalls abnimmt, was sie jedoch nicht ausschließlich mit dem pH-Wert im Zusammenhang bringen. CHOUSHAKOV UND MAASSEN 2000 (pers. Mitteilung) konnten hingegen während einer hochintensiven Intervallarbeit des Unterarmes (mehrmaliges Durchlaufen des Arbeitsprotokolls 15“ Arbeit gefolgt von 45“ Pause) zeigen, dass mit zunehmendem pH-Wert die Medianfrequenz abnimmt. Der ausgeprägtere MF-Abfall im LBNP-Versuch zu Beginn der Kontraktionsphasen (Studie I<sub>31P-MRS</sub>) kann nicht mit dem pH<sub>i</sub>-Wert in Verbindung gebracht werden, da die initiale Alkalinisierung zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch vergleichbar ist. Setzt man eine pH<sub>i</sub>-Abhängigkeit der Medianfrequenz voraus, so hätte im weiteren

Verlauf der Kontraktionen, basierend auf den Befunden von CHOCHAKOV UND MAASSEN 2000, zudem ein Anstieg der MF erfolgen müssen, da der  $\text{pH}_i$ -Wert abnimmt. Untersuchungsergebnisse von MILLS UND EDWARDS 1984 deuten ebenfalls darauf hin, dass die Veränderung der MF unabhängig vom  $\text{pH}_i$ -Wert stattfindet. Nachweisen konnten sie dies in einer Studie an einem Patientenkollektiv mit diagnostiziertem Myophosphorylase-Defizit (die Patienten sind zu keiner arbeitsinduzierten Laktatazidose fähig).

Die größere Abnahme der MF in den Arbeitsphasen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> des LBNP-Versuchs ist vermutlich primär auf eine veränderte Synchronisation und/oder Frequenzierungsrate zurückzuführen. Denn eine Abnahme des an den Kontraktionen beteiligten FT-Muskelfaseranteils würde keine signifikant höheren PME-Anstiege während des LBNP-Versuchs erwarten lassen (vgl. Abb. 26), da insbesondere FT-Fasern eine hohe glyko(geno)lytische Kapazität besitzen. Jedoch ist dies noch kein Beweis dafür, dass nicht doch eine Abnahme arbeitender FT-Fasern statt fand, schließlich können auch weniger FT-Fasern bei einer höheren glyko(geno)lytischen Stoffwechselrate einen größeren Anstieg der PME hervorrufen. Daher ist nicht auszuschließen, dass es im LBNP-Versuch während der Arbeitsphasen (KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup>) im Vergleich zum REFERENZ-Versuch zu einer Veränderung des arbeitenden FT- und ST-Muskelfaseranteils gekommen ist.

Es bleibt festzuhalten, dass trotz der erhöhten elektrischen Aktivität des *M. tibialis anterior* eine frühzeitige Ermüdung, d. h. eine ausgeprägtere Abnahme der Kraft während der Kontraktionsphasen des LBNP-Versuchs eintrat, was den Befund des reduzierten Wirkungsgrades somit zusätzlich belegt. Die erhöhten rmsEMG-Werte sind vermutlich auf eine Zunahme aktivierter Muskelfasern (Rekrutierung) zurückzuführen. Aussagen über die genaue Zusammensetzung zusätzlich rekrutierter Muskelfasern bzw. motorischer Einheiten, die Ursachen der Medianfrequenzabnahme sowie der Einfluss parallel ablaufender Synchronisationsprozesse sind nicht möglich. Anhand dieser Befunde kann die eingangs gestellte Frage ③, ob es infolge einer Flüssigkeitsverschiebung bzw. einer veränderten Flüssigkeitsverteilung zu neuro-muskulären Veränderungen kommt, ebenfalls bestätigt werden (vgl. Kap. 1).



### 4.2.3 Ermüdung

Von einer Grundsatzdiskussion der Ätiologie muskulärer Ermüdung wird abgesehen, da diese – aufgrund der in dieser Arbeit begrenzt zur Verfügung stehenden Messmethoden – nur unvollständig erfolgen könnte. Ohnehin werden die Ursachen muskulärer Ermüdung sehr kontrovers diskutiert (vgl. ENOKA UND STUART 1992, FITTS 1994, GANDEIVA ET AL. 1995); diverse intra- und extrazelluläre Parameter, wie beispielsweise  $P_i$ ,  $H_2PO_4^-$ ,  $pH_i$ , ADP, AMP, IMP,  $NH_3^+$ ,  $Ca^{2+}$ , NO,  $K^+$  können dazu gezählt werden.

Vielmehr soll in diesem Kapitel exemplarisch gezeigt werden, welche Ursachen den metabolischen und neuro-muskulären Veränderungen zugrunde liegen können und welche generell auszuschließen sind. Dadurch soll lediglich darauf verwiesen werden, dass die neuro-muskulären und metabolischen Veränderungen in den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  durch physiologische Prozesse erklärbar sind, die ihrerseits jedoch durch fehlende Messmethoden nicht überprüft werden konnten.

Bei der Erforschung metabolischer Ursachen von Ermüdung versucht man, die Muskelkraft bei einsetzender Ermüdung mit den Konzentrationen ausgewählter Metabolite wie z. B.  $P_i$ ,  $H_2PO_4^-$  und  $pH_i$  zu korrelieren. Dazu arbeiten gesunde Probanden (aber auch Krankenkollektive, GREHL ET AL. 1998) in der Regel mit einem definierten Muskel der Hand (WILKIE et al. 1984, MILLER ET AL. 1988, CADY ET AL. 1989, NEWMAN UND CADY 1990), des Unterarms (WILSON ET AL. 1988) oder der plantarflexorischen Wadenmuskulatur (DEGROOT ET AL. 1993, VESTERGAARD POULSEN ET AL. 1992, ZANGE ET AL. 1996 und 1997) und versuchen, eine vorgegebene Kraft so lange wie möglich zu halten. Die höchste Korrelation wurde zwischen der bei Ermüdung noch gehaltenen Kraft und dem diprotonierten Phosphat ( $H_2PO_4^-$ ) gefunden, das seitdem als metabolische Ursache für die Muskeleermüdung favorisiert wird (WILKIE 1986, WILSON ET AL. 1988, MILLER 1988, DEGROOT ET AL. 1993). Jedoch nicht alle Arbeitsgruppen können einen kausalen Zusammenhang zwischen Ermüdung und der  $[H_2PO_4^-]$  nachweisen (COOKE UND PATE 1990, ADAMS ET AL. 1991, SCHNEIDER ET AL. 1994). Es bleibt zu bedenken, dass das  $P_i$ ,  $H_2PO_4^-$  und der  $pH_i$  miteinander in einem chemischen Gleichgewicht stehen (Formel 4.4 und 4.5).



Infolge dieses chemischen Gleichgewichts kann es zu einer Zeitgleichheit der Phosphatanstiege ( $P_i$ , und  $H_2PO_4^-$ ) und des  $pH_i$ -Abfalls kommen, so dass Korrelationen zwischen der

Muskelleistung bei Ermüdung und diesen drei metabolischen Faktoren also zwangsläufig auftreten. Diese zeitliche Nähe der Phosphat- und  $\text{pH}_i$ -Veränderungen ist jedoch nicht grundsätzlich zu beobachten, was SCHNEIDER ET AL. 1994 während einer hochintensiven Intervallararbeit zeigen konnten; somit scheinen Veränderungen dieser Metabolite stark von der Dauer und der Intensität der Ergometrie abhängig zu sein. Gegen eine Abhängigkeit der muskulären Ermüdung vom  $\text{pH}_i$ -Wert und den Phosphaten sprechen auch Befunde niedrigintensiver Dauerbelastungen, in denen keine nennenswerten Metabolitveränderungen zu verzeichnen sind, wo es aber dennoch zu einer muskulären Ermüdung kommt (Maassen, pers. Mitteilung).

Der für diese Studie berechnete Anteil des Dihydrogenphosphats lässt für KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> einen signifikant höheren Anstieg der  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  zwischen REFERENZ- und LBNP-Versuch erkennen (vgl. Abb. 29). Anhand des Kraftverlaufs während KON 1<sup>#</sup> ist zu erkennen (vgl. Abb. 18), dass die Probanden unmittelbar mit Beginn der Kontraktion nicht in der Lage waren, die vorgegebene Sollkraft aufrecht zu erhalten. Die Ermüdung war somit trotz der relativ niedrigen  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  offensichtlich. Am Ende von KON 1 liegt eine  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  von 6.7 mmol/l vor, ohne dass zu diesem Zeitpunkt Anzeichen einer Ermüdung zu erkennen sind. Im Vergleich dazu ist im Verlauf von KON 2 nach 90 Sekunden ein sukzessiver Abfall der Kraft zu erkennen. Die dazugehörige  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  beträgt 4.7 mmol/l und liegt somit weit unterhalb der Konzentration, in der während KON 1 noch keine Ermüdung erkennbar ist. Der  $\text{pH}_i$  fällt ebenfalls als Ermüdungsfaktor aus, da zusätzlich zur ohnehin schon LBNP-bedingten Alkalinisierung eine initiale Alkalinisierung stattfindet (vgl. Kap. 4.2.1.1). Ein ähnliches Verhalten ist auch während KON 2<sup>#</sup> zu erkennen. Somit scheinen das  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  und der  $\text{pH}_i$  nicht als direkte Ermüdungsfaktoren in Frage zu kommen (SCHNEIDER ET AL. 1994, MAASSEN 1999).

Es ist dabei jedoch nicht auszuschließen, dass der  $\text{pH}_i$  andere Ermüdungseffekte im Verlauf der Arbeitsphasen verstärkt. Inwieweit die Ermüdung durch den zu Beginn von KON 1<sup>#</sup> vorliegenden höheren  $\text{pH}_i$  (Alkalinisierung in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase) teilkompensiert wird, ist nicht zu beurteilen, da der Ermüdungsprozess zwischen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> unterschiedlich verläuft (vgl. Abb. 18 und 19). Die während der Arbeitsphasen (KON 1<sup>#</sup> und 2<sup>#</sup>) stärker zunehmende Azidose könnte hingegen  $\text{pH}_i$ -abhängige Funktionen beeinflussen. So reduziert eine intrazelluläre Protonenakkumulation die Ausbreitungsgeschwindigkeit des Aktionspotenzials (JUEL 1988), was einen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit der Muskelfaser hat. Hinzu kommt, dass bei niedrigerem  $\text{pH}_i$ -Wert die Aktivität der  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase abnimmt (TIBES ET AL. 1974), was zu einer Abnahme des Membranpotenzials und zu einer Verkleinerung des Aktionspotenzials führen kann. Es besteht auch die Möglichkeit, dass durch einen Anstieg des  $\text{Ca}^{2+}_i$  – hervorgerufen durch eine erhöhte [Aldo] (WEHLING ET AL. 1998) –

$\text{Ca}^{2+}$ -abhängige  $\text{K}^+$ -Kanäle aktiviert werden (HILLE 1992). Dies kann zusätzlich zu einer Abnahme des Membranpotenzials führen. Ebenso können mechanosensitive  $\text{K}^+$ -Kanäle (BURTON UND HUTTER 1990) durch ein Anschwellen der T-Tubuli oder der gesamten Muskelfaser aktiviert werden (GONZALES-SERRATOS ET AL. 1978), wodurch es ebenfalls zu einer Veränderung des Membranpotenzials kommen könnte. Es ist daher anzunehmen, dass es durch die Flüssigkeitsverschiebung und die damit verbundenen Hormonveränderungen zu einer Beeinflussung der elektrophysiologischen Eigenschaften des Sarkolemm kam, wodurch die Ermüdungsprozesse hervorgerufen bzw. beeinflusst wurden.

Die ausgeprägtere Ermüdung im LBNP-Versuch darf nicht zwangsläufig in einen kausalen Zusammenhang mit der größeren PCr-Reduktion bzw. einer unzureichenden Versorgung der Muskelzelle mit Energieäquivalenten (PCr und ATP) während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> gebracht werden, denn zu keinem Zeitpunkt der Kontraktionen KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> ist ein Abfall der [ATP] zu erkennen. Eine vollständige Reduktion des PCr kann als Ursache ebenfalls ausgeschlossen werden, da die [PCr] lediglich auf minimal 25 % absinkt. VØLLESTAD 1995 weist auf Befunde hin, in denen die [PCr] im Verlauf von Ergometrien auf bis zu 10 % der initialen [PCr] abfällt, ohne dass dabei Anzeichen einer Ermüdung erkennbar sind. Lediglich bei hochintensiven Arbeiten scheint sich der Energiestoffwechsel leistungslimitierend auf die Muskelfunktion auszuwirken und für einen Abfall der [ATP] zu sorgen (VØLLESTAD 1995). Der Befund eines arbeitsbedingten ATP-Abfalls ist nicht ganz unumstritten, da insbesondere die Messmethodik für unterschiedliche Untersuchungsergebnisse verantwortlich zu sein scheint (BANGSBO ET AL. 1993). Die Ursachen für die z.T. widersprüchlichen Ergebnisse sind bis dato nicht eindeutig geklärt (vgl. 4.1). Da die Ermüdung im Verlauf von KON 1<sup>#</sup> bereits unmittelbar nach Beginn der Arbeit eintritt (die entwickelte Kraft liegt signifikant unterhalb der vorgegebenen Sollkraft, vgl. Abb. 18) und zu diesem Zeitpunkt die relative [PCr] noch verhältnismäßig hoch ist, scheint ein kausaler Zusammenhang zwischen Ermüdung und Energiestoffwechsel unwahrscheinlich.

### 4.3 Studie III<sub>UENP</sub>

Die in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> ausgeprägtere Ermüdung ist in der Studie III<sub>UENP</sub> nicht nachzuweisen. Weder im 20 % MVC- noch im 40 % MVC-Versuch sind Unterschiede in der Gesamtarbeit der Flexoren-Gruppe des Unterarmes (vgl. 3.3.1, Abb. 43) zwischen dem UENP- und REFERENZ-Versuch zu erkennen. Aus diesem Grund kann die Frage ④ der Ausgangshypothese, ob das Ausmaß der Flüssigkeitsverschiebung einen Einfluss auf die Leistungsfähigkeit des Skelettmuskels hat (vgl. Kap. 1), ebenfalls bejaht werden. Unterstützt wird der Befund der unterschiedlichen Ermüdung durch die blutchemisch erhobenen Parameter (vgl. Abb. 44 - 48), die mit Ausnahme des Hämatokrits ebenfalls keine Anzeichen einer Stoffwechselveränderung erkennen lassen. Die Zunahme des Hämatokrit-Wertes resultiert dabei nicht aus einer stoffwechselbedingten, osmotischen Flüssigkeitsverschiebung aus dem extra- in das intrazelluläre Kompartiment. Vielmehr ist diese Zunahme die Folge einer veränderten Hämodynamik, bei der es zu einer erhöhten Flüssigkeitsfiltration aus dem Intravasalraum in das Interstitium kommt (LOEPPKY ET AL. 1978).

Eine unterschiedliche Durchblutung im UENP- und REFERENZ-Versuch hätte zu einer Fehlinterpretation der Ergebnisse geführt. Beispielsweise könnte eine Reduzierung der Perfusion den Anstieg blutchemischer Parameter (z. B. Laktat) bei vergleichbarer Stoffwechsellage hervorrufen. Dadurch könnte der intrazelluläre Stoffwechsel falsch bewertet werden. Wie bereits in Kapitel 4.1 angeführt, wurde die Durchblutung mit Hilfe der am Oberarm angebrachten Blutdruckmanschette gemessen. Zwischen UENP- und REFERENZ-Versuch gibt es keine signifikanten Unterschiede in der Durchblutung, sowohl während der Kontraktions- als auch während der Regenerationsphase. Es ist also zu vermuten, dass der Muskelstoffwechsel in beiden Versuchen vergleichbar war. Somit weist die Durchblutung in der Regenerationsphase des UENP-Versuchs ein anderes Verhalten auf, als in der Regenerationsphase des LBNP-Versuchs in Studie II<sub>Q</sub>. Dies ist vermutlich auf einen in Studie II<sub>Q</sub> unveränderten Sympathikotonus zurückzuführen, da aufgrund der relativ niedrigen Flüssigkeitsverschiebung keine vermehrte Sekretion der Katecholamine und kein Anstieg der MSNA zu erwarten sind.

Die infolge des LBNP-Manövers in Studie I<sub>31P-MRS</sub> beobachtete Alkalinisierung ist in Studie III<sub>UENP</sub> ebenfalls nicht zu beobachten. Dies scheint ebenfalls darauf zurückzuführen zu sein, dass der lokal am Unterarm erzeugte Unterdruck eine verhältnismäßig kleine Flüssigkeitsverschiebung hervorgerufen hat, wodurch keine zusätzliche Produktion kreislaufstabilisierender Hormone (z. B. Angiotensin II und Katecholamine) ausgelöst wurde. Daraus folgt, dass das Ziel dieser Studie III<sub>UENP</sub>, nämlich eine lokale Flüssigkeitsverschiebung ohne

Beeinflussung des zentralen Blutvolumens, erreicht worden ist. Infolge des unveränderten Hormonstatus fehlt somit auch der hormonelle Stimulus auf die Protonen-Transporter (z. B. den  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Transporter, vgl. 4.2.1.1). Es ist nicht auszuschließen, dass die in der Studie  $\text{I}_{31\text{P-MRS}}$  beschriebenen Stoffwechsel-Effekte (Anstieg des  $\text{pH}_i$  in der  $\text{RUHE}_{\text{prä}}$ -Phase, Intensivierung des glykolytischen und oxidativen Stoffwechsels) sich auch in der Studie  $\text{III}_{\text{UENP}}$  intrazellulär manifestiert haben, dass sie blutchemisch jedoch nicht mehr nachzuweisen sind. Da zusätzlich keine Anzeichen einer Ermüdung zu beobachten sind, lässt sich hieraus vielmehr ableiten, dass eine lokale Hydratation am Unterarm keine metabolischen Veränderungen des Energiestoffwechsels hervorruft.

#### 4.4 Gesamtdiskussion

Die bislang getroffenen Aussagen über den intensivierten glykolytischen und oxidativen Energiestoffwechsel sowie den reduzierten Wirkungsgrad des M. tibialis anterior können mit Hilfe der elektromyographischen und spektroskopischen Befunde ergänzt werden. Die während KON 1<sup>#</sup> und KON 2<sup>#</sup> (LBNP-Versuch) zu beobachtende Abnahme des Wirkungsgrades scheint durch ein verändertes Innervationsmuster der motorischen Einheiten pro Zeiteinheit mit beeinflusst worden zu sein, wobei andere (intrazelluläre) Mechanismen und Stoffwechselprozesse nicht gänzlich auszuschließen sind. Trotz der zusätzlichen Rekrutierung von Muskelfasern und der erhöhten glykolytischen und oxidativen Stoffwechselrate kommt es im LBNP-Versuch, trotz einer geringer ausfallenden Gesamtarbeit, zu einer stärkeren Ermüdung.

In allen Studien ( $I_{31P-MRS}$ ,  $II_Q$  und  $III_{UENP}$ ) ist durch den nahezu identischen Unterdruck eine vergleichbare Volumenzunahme des Interstitiums und des Intravasalraumes anzunehmen. Da jedoch in der Studie  $III_{UENP}$  keine Effekte der Flüssigkeitsverschiebung auf den Muskelstoffwechsel zu erkennen sind, lässt sich feststellen, dass der lokale Hydratationszustand des Skelettmuskels per se keine Rolle bei den Stoffwechseleränderungen und den Ermüdungseffekten der Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  spielt. Im Methodenkontroll-Versuch – bei diesem Versuch wurde das LBNP-Manöver erst erzeugt, nachdem eine Okklusion am Oberschenkel angelegt wurde – konnte des Weiteren gezeigt werden, dass trotz der Reduktion des zentralen Blutvolumens durch die Flüssigkeitsverschiebung in das linke, nicht-arbeitende Bein keine Stoffwechseleränderungen zu erkennen sind – im Gegensatz zu den Studien  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$ . Die Ergebnisse deuten vielmehr darauf hin, dass zentrale (thorakale oder abdominale) Volumen- und/oder Druck-Rezeptoren das Innervationsmuster des M. tibialis anterior vermutlich synergistisch mit Rezeptoren des Interstitiums und/oder des Intravasalraumes beeinflussen. Die Funktionsweise, d. h. die Lokalisation relevanter Rezeptoren und deren Wirkungsweise, sind unbekannt. Ebenso unklar bleibt, welche Wechselwirkungen bzw. neuronalen Verschaltungen zwischen den Volumen- und Druck-Rezeptoren, dem Nervensystem (Zentral- und/oder vegetatives Nervensystem) und der neuro-muskulären Innervation bestehen.

Der Adaptationsprozess im  $LBNP_{kurz}$ -Versuch der  $LBNP_{kurz}$ -Studie (vgl. 4.2.1.2, siehe auch Abb. 35) könnte dabei auf eine veränderte Empfindlichkeit dieser Rezeptoren zurückgeführt werden. In der Physiologie sind bereits ähnliche Phänomene bekannt, wie beispielsweise die Wirkung arterieller Barorezeptoren auf den Sympathikotonus. Dabei führt eine Erhöhung des arteriellen Drucks zunächst zu einem Anstieg der sympathischen Aktivität. Anschließend erfolgt, trotz des weiterhin erhöhten arteriellen Drucks, ein Rückgang der sympathischen

Aktivität auf den Ausgangswert, was als „resetting“ bezeichnet wird (ROWELL 1993). Ein vergleichbarer Mechanismus erscheint auch für die neuro-muskuläre Innervation denkbar. ESSFELD UND BAUM 1996 konnten bereits zeigen, dass die Herzfrequenz durch eine Manipulation des interstitiellen Volumens während einer Muskelarbeit beeinflusst wird. Anhand der hier vorliegenden Befunde muss jedoch die Frage gestellt werden, inwieweit bei den Ergebnissen von ESSFELD UND BAUM 1996 das zentrale Blutvolumen eine Rolle spielt.

Die durch die Flüssigkeitsverschiebung hervorgerufene Veränderung des neuro-muskulären Innervationsmusters wurde in der humanphysiologischen Literatur bislang noch nicht beschrieben. Damit wird erstmals ein Mechanismus vorgestellt, bei dem gezeigt wird, dass die lokale und/oder zentrale Flüssigkeitsverteilung im Menschen nicht nur einen Einfluss auf endokrinologische (HINGHOFER-SZALKAY ET AL. 1996, JAKOBS ET AL. 1996) und kardiovaskuläre (BAUM ET AL. 1990 und 1993, ESSFELD ET AL. 1988 und 1993, SCHÜTZE ET AL. 1991) Phänomene besitzt, sondern darüber hinausgehend auch auf neurale bzw. neuro-muskuläre Prozesse.

Die Ursachen für die ausgeprägtere Abnahme der Medianfrequenz und die Zunahme der rmsEMG-Amplitude im LBNP-Versuch können letztlich nicht geklärt werden. Jedoch deuten diese Parameter darauf hin, dass die Stoffwechseleffekte der Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> möglicherweise durch neuro-muskuläre Prozesse verursacht worden sind. Es ist zu vermuten, dass ein Funktionsausfall bzw. eine Funktionsreduzierung von Muskelfasern durch eine erhöhte Arbeitsintensität teilkompensiert wurde, wodurch man die stärkere Reduktion der [PCr] erklären könnte. Welche Muskelfasern dabei am stärksten betroffen sind, ist nicht abzuschätzen, da die Diskriminierung der [PCr] zwischen ST- und FT-Fasern mittels der <sup>31</sup>P-MRS nicht möglich ist; lediglich die relative [PCr] im Muskelgewebe kann untersucht werden. Um eine detaillierte Aussage treffen zu können, müssen muskelbiopsische Untersuchungen durchgeführt werden.

Inwieweit die oxidative Phosphorylierung tatsächlich verändert ist, kann an dieser Stelle nicht eindeutig bestimmt werden, da anhand (allgemein akzeptierter) Kontrolltheorien der oxidativen Phosphorylierung die schnellere PCr-Resynthese zumindest nicht metabolisch erklärbar ist. Lediglich eine veränderte Muskelfaserinnervation der ST- und FT-Fasern zwischen LBNP- und REFERENZ-Versuch könnte die schnellere PCr-Resynthese erklären. Daher muss die bislang getroffene Aussage über die Zunahme der oxidativen Stoffwechsellkapazität relativiert werden. Es besteht die Möglichkeit, dass es sich bei der in Kapitel 4.2.1.3 diagnostizierten Zunahme der oxidativen Kapazität post-exercise vielmehr um eine "scheinbare

Erhöhung" handelt. Dieser Erklärungsansatz wäre denkbar, wenn im LBNP-Versuch entweder ein größerer ST-Faseranteil als im REFERENZ-Versuch rekrutiert worden wäre oder dieselbe Anzahl von ST-Fasern intensiver gearbeitet hätten. ST-Fasern regenerieren schneller als FT-Fasern (TESCH ET AL. 1989), wodurch die schnellere PCr-Regeneration im LBNP-Versuch unter Berücksichtigung dieser muskelfaserspezifischen Charakteristik erklärt werden könnte. Die stärkere Abnahme der Medianfrequenz könnte hier als Indiz einer Abnahme von FT-Fasern dienen. Somit erscheint es möglich, dass die schnellere PCr-Resynthese während der Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup> und REG 2<sup>#</sup> aus der veränderten Muskelfaserinnervation der Arbeitsphasen resultiert.

Die in der Einleitung angesprochene Leistungsreduktion der Astronauten wird vermutlich durch die Flüssigkeitsverteilung bzw. -verschiebung stark beeinflusst. Während der Rückkehr ins Gravitationsfeld der Erde – insbesondere nach mehrmonatigen Weltraumaufenthalten – kommt es bei Astronauten zu einer stark ausgeprägten Flüssigkeitsverschiebung, was auf eine Zunahme der Compliance und damit auf eine größere Reduktion des thorakalen Blutvolumens zurückzuführen ist. Die Flüssigkeitsverschiebung, der die Astronauten ausgesetzt sind, ist ähnlich groß, wenn nicht gar größer als die in dieser Arbeit während des LBNP-Versuchs hervorgerufene Volumenveränderung. Daraus sollte eine größere Stimulation der Druck- und/oder Volumenrezeptoren folgen. Weiterhin ist anzunehmen, dass die hormonelle Reaktion wegen der größeren Umverteilung des Blutvolumens ebenfalls größer ausfällt. Daher sollten dieselben Mechanismen, die in der Studie  $I_{31P-MRS}$  und  $II_Q$  für die ausgeprägtere und frühzeitigere Ermüdung der arbeitenden Muskulatur gesorgt haben, auch bei Astronauten vergleichbare Effekte hervorrufen. Der beschriebene Einfluss der Flüssigkeitsverschiebung auf die muskuläre Leistungsfähigkeit ist zudem für andere Arbeitsbereiche von Interesse. HOLLMANN UND HETTINGER 1990 weisen beispielsweise darauf hin, dass Fahrradergometrien, die in aufrechter Körperlage durchgeführt werden, eine größere Maximalleistung zulassen. Dies widerspricht den Befunden dieser Arbeit, da die Leistungsfähigkeit in supiner Lage (REFERENZ-Versuch) größer war als in „passiver“ vertikaler Lage (LBNP-Versuch), was anhand der erzielten Gesamtarbeit und den Wirkungsgraden abgeleitet werden konnte. Dies könnte bedeuten, dass bei der Arbeit mit großen Muskelgruppen diejenigen Effekte, die bei der Arbeit mit kleinen Muskelgruppen auftreten (wie sie in dieser Arbeit zu beobachten sind), von anderen, möglicherweise system- und hormonphysiologischen Parametern überlagert werden. Daraus ist die Forderung abzuleiten, lageabhängige Muskelarbeiten wie z. B. Fahrradergometrien zu standardisieren. Insbesondere bei der ergometrischen Untersuchung von Gesunden- und Krankenkollektiven sind die Ergebnisse dieser Arbeit zu berücksichtigen, da im klinischen



Alltag die vorbereitenden Maßnahmen im Vorfeld von Ganzkörperergometrien bislang nicht standardisiert sind.

Die Ergebnisse dieser Arbeit verdeutlichen die Abhängigkeit zellulärer und neuro-muskulärer Phänomene von kardio-vaskulären und hormonellen Veränderungen und zeigen die Notwendigkeit, muskelphysiologische Fragestellungen komplex zu betrachten. Die Fragen nach den kausalen Zusammenhängen des veränderten Innervationsmusters bzw. des veränderten Energiestoffwechsels durch die Flüssigkeitsverschiebung könnten durch folgende Untersuchungen abgeprüft werden: Ein graduelles Variieren des gewählten Unterdrucks (z. B. von -10 bis -50 mmHg) und das Erzeugen eines Überdrucks (Lower Body Positive Pressure) sollten Aussagen über eine volumenabhängige Flüssigkeitsverschiebung und die Bedeutung des Hormonhaushaltes zulassen. Weiterhin sollte die Wirkungsweise des Aldosterons in Bezug auf die Alkalinisierung in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase oder auf den PCr-Overshoot in den Regenerationsphasen REG 1<sup>#</sup>/2<sup>#</sup> während eines LBNP-Manövers durch den Einsatz eines selektiven AT<sub>1</sub>-Rezeptor-Antagonisten (z. B. Losartan<sup>®</sup>) untersucht werden. In einem weiteren Schritt ist zu klären, ob die gefundenen Stoffwechseleffekte an anderen Muskeln (z.B. dem M. gastrocnemius) reproduziert werden können. Ergänzend dazu ist die Bedeutung von Arbeitsintensität und -dauer für die vorliegenden Ergebnisse zu untersuchen.

## 5 Zusammenfassung

Im Anschluss an Weltraumaufenthalte, insbesondere nach einer mehrmonatigen 0g-Exposition, kommt es bei Astronauten zu einer Beeinträchtigung der muskulären Leistungsfähigkeit. Die Ursachen dieser Leistungsverringerung werden derzeit kontrovers diskutiert. Dabei sollen sowohl muskelspezifische Faktoren, wie z. B. die Muskelatrophie, als auch kardio-vaskuläre Faktoren (orthostatische Intoleranz) eine Rolle spielen. Aufgrund zum Teil widersprüchlicher Untersuchungsbefunde müssen jedoch zusätzliche Ursachen in Betracht gezogen werden. Der Einfluss einer veränderten Flüssigkeitsverteilung ist dabei bislang noch nicht in Erwägung gezogen worden. Daher wurde im Rahmen dieser Arbeit der Einfluss einer simulierten Orthostase auf die Leistungsfähigkeit des isoliert arbeitenden M. tibialis anterior untersucht, um so Aussagen über das Leistungsvermögen des Skelettmuskels in Abhängigkeit zur Körperlage, bzw. zu einer veränderten Hydratation treffen zu können.

21 gesunde Probanden führten in supiner Körperlage an 2 unterschiedlichen Testtagen eine isometrische Kontraktion des M. tibialis anterior bei 30 % der Maximalkraft durch (Studie I<sub>31P-MRS</sub>). Die Versuche wurden innerhalb eines Kernresonanzgerätes durchgeführt, mit dessen Hilfe relevante Parameter des Energiestoffwechsels (ATP, PCr, Pi, pH<sub>i</sub>, ADP) gemessen bzw. berechnet wurden. Um gemäß der Fragestellung die Bedeutung der Körperlage auf die muskuläre Leistungsfähigkeit zu untersuchen, wurde die Ergometrie einmal in supiner Lage (REFERENZ-Versuch) des Probanden durchgeführt. Die zweite Untersuchung wurde während einer simulierten Orthostase (LBNP-Versuch) absolviert, die mit Hilfe eines vom Abdomen caudalwärts erzeugten Unterdrucks hervorgerufen wurde; dies entspricht in supiner Lage annähernd einem passiven Stehen. Zur komplexeren Analyse wurde der M. tibialis anterior zusätzlich elektrophysiologisch mittels Oberflächenelektromyographie untersucht. In einer nahezu identischen Simulationsstudie (Studie II<sub>Q</sub>, n = 7) außerhalb des Kernresonanzgerätes wurden dazu ergänzend systemphysiologische Parameter (Durchblutung und Ventilation) gemessen. In einer abschließenden Studie (Studie III<sub>UENP</sub>) wurde eine - im Vergleich zu den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> - geringe Flüssigkeitsverschiebung am Unterarm von 7 Probanden hervorgerufen, die eine volumenabhängige Beurteilung der in den Studien I<sub>31P-MRS</sub> und II<sub>Q</sub> gefundenen Effekte ermöglichte.

In den Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs (Studie I<sub>31P-MRS</sub>) konnte eine ausgeprägtere Ermüdung des M. tibialis anterior als im REFERENZ-Versuch beobachtet werden. Weiterhin kam es in den Arbeitsphasen des LBNP-Versuchs im Vergleich zum REFERENZ-Versuch zu folgenden signifikanten neuro-muskulären und metabolischen Veränderungen am Ende der Arbeitsphase: einer größeren Reduktion der [PCr] bei einer geringer ausfallender Gesamt-

arbeit, einem niedrigeren  $\text{pH}_i$ -Wert, einem stärkeren Anstieg der [PME], [ADP],  $[\text{H}_2\text{PO}_4^-]$  und der  $[\text{P}_i]$ . Im Vergleich dazu konnte in den Regenerationsphasen des LBNP-Versuchs eine schnellere PCr-Resynthese und ein PCr-Overshoot beobachtet werden. In der Studie  $\text{II}_Q$  konnten neuro-muskuläre Veränderungen (höhere rmsEMG-Werte und eine ausgeprägtere Abnahme der Medianfrequenz) während der Kontraktionsphase im LBNP-Versuch diagnostiziert werden. Die Durchblutung war in den Regenerationsphasen des LBNP-Versuchs signifikant niedriger als im REFERENZ-Versuch.

Anhand dieser Ergebnisse wurde erarbeitet, dass es infolge der Flüssigkeitsverschiebung im LBNP-Versuch zu einer Intensivierung des Protonentransports sowie des glyko(geno)lytischen und oxidativen Stoffwechsels kam. Dabei können die intensivierte Glyko(geno)lyse und der Protonentransport primär auf eine Zunahme des Sympathikotonus zurückgeführt werden, der seinerseits das Resultat eines veränderten Hormonhaushaltes – infolge der Flüssigkeitsverschiebung – ist. Die Zunahme der oxidativen Kapazität im LBNP-Versuch, die anhand der schnelleren PCr-Resynthesegeschwindigkeit ermittelt wurde, scheint das Resultat eines veränderten Innervationsmusters motorischer Einheiten des M. tibialis anterior zu sein. Trotz der Aktivitätserhöhung der energieliefernden glykolytischen und (möglicherweise) oxidativen Stoffwechselprozesse kommt es zu einer größeren Reduktion der PCr-Speicher, was eine Abnahme des Wirkungsgrades anzeigt. Die dieser Wirkungsgradreduktion zugrunde liegenden neuro-muskulären und/oder zellulären Mechanismen bleiben ungeklärt. Es konnte jedoch abgeleitet werden, dass es einen lage- bzw. volumenabhängigen Mechanismus geben muss, der maßgeblich das Rekrutierungsverhalten der Skelettmuskulatur beeinflusst; Aussagen über den Ort und die Funktionsweise konnten nicht getroffen werden. Des Weiteren kann derzeit nicht ausreichend erklärt werden, wodurch der PCr-Overshoot in den Regenerationsphasen entsteht. Es ist zu vermuten, dass die Ursache dieses PCr-Overshoots in Verbindung mit einer Zunahme des Wassergehaltes im Muskelgewebe und/oder Veränderungen des Hormonhaushaltes gesehen werden kann.

Aus den Befunden dieser Arbeit ergibt sich, dass die bei der Rückkehr der Astronauten zu beobachtende reduzierte Leistungsfähigkeit, insbesondere nach einer lang andauernden  $\mu\text{g}$ -Exposition, nicht ausschließlich durch histo-chemische und kardio-vaskuläre Veränderungen erklärt werden kann. Vielmehr müssen darüber hinausgehend auch neuro-muskuläre Mechanismen diskutiert werden.

## 6. Literatur

- Adams GR**, Foley JM, Meyer RA: Muscle buffer capacity estimated from pH changes during rest-to-work transitions. *J Appl Physiol* 69 (3): 968-972 (1990)
- Adams GR**, Fisher JM, RA Meyer: Hypercapnic acidosis and increased  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  concentration do not decrease force in cat skeletal muscle. *Am J Physiol* 260: C805-C812 (1991)
- Ahn B**, Sakakibara Y, Paulev PE, Masuda A, Nishibayashi Y, Nakamura W, Honda Y: Circulatory and respiratory responses to lower body negative pressure in man. *Jpn J Physiol* 39 (6): 919-929 (1989)
- Aickin CC**, Thomas RC: An investigation of the ionic mechanism of intracellular pH regulation in mouse soleus muscle fibres. *J Physiol (Lond)* 273: 295-316 (1977)
- Arnold DL**, Matthews PM, Radda GK: Metabolic recovery after exercise and the assessment of mitochondrial function in vivo in human skeletal muscle by means of  $^{31}\text{P}$  NMR. *Magn Reson Med* 1: 307-315 (1984)
- Aratow MS**, Fortney M, Watenpaugh DE, Crenshaw AG, Hargens AR: Transcapillary fluid responses to lower body negative pressure. *J Appl Physiol* 74: 2763-2770 (1993)
- Antonutto G**, Capelli C, Girardis M, Zamparo P, di Prampero PE: Effects of microgravity on maximal power of lower limbs during very short efforts in humans. *J Appl Physiol* 86 (1): 85-92 (1999)
- Babcock GT**, Wikström M: Oxygen activation and the conservation of energy in cell respiration. *Nature* 356: 301-309 (1992)
- Bachl N**, Baron R, Tschann H, Mossaheh M, Bumba W, Hildebrand F, Knauf M, Witt M, Albrecht R, Kozlovskaya I, Charitonov N: Grundlagen der muskulären Leistungsfähigkeit unter Bedingungen der Schwerelosigkeit. *Wien Med Wschr* 23/24: 588-610 (1993)
- Baerwalde S**, Zange J, Müller K, Maassen N: High-Energy-Phosphates Measured by  $^{31}\text{P}$ -MRS During LBNP in Exercising Human Leg Muscle. *J Grav Physiol* 6 (1): P37-P38 (1999)
- Baisch F**, Gauger J, Heer M: Classification of the free fluid reservoir in the calf by electrical impedance tomography. *Physiologist* 34: S181-S182 (1991)
- Baisch FJ**: Body fluid distribution in man in space and effect of lower body negative pressure treatment. *Clin Invest* 71 (9): 690-699 (1993)
- Balaban RS**: Regulation of oxidative phosphorylation in the mammalian cell. *Am J Physiol* 258: C377-C389 (1990)
- Balakhovskii IS**, Virovets OA, Voloshin VG: Changes in the circulating blood volume during lower body negative pressure exposure. *Kosmicheskaja Biol I Med* 4: 27-30 (1970)
- Ballanyi K**, Grafe P: Changes in intracellular ion activities induced by adrenaline in human and rat skeletal muscle. *Pflügers Arch* 411 (3): 283-288 (1988)

- Baldwin KM**, Roy RR, Sacks RD, Blanco C, Edgerton VR: Relative independence of metabolic enzymes and neuromuscular activity. *J Appl Physiol* 56 (6): 1602-1607 (1984)
- Balsom PD**, Gaitanos GC, Söderlund K, Ekblom B: High-intensity exercise and muscle glycogen availability in humans. *Acta Physiol Scand* 165 (4): 337-345 (1999)
- Bangsbo J**, Johansen L, Graham T, Saltin B: Lactate and H<sup>+</sup> effluxes from human skeletal muscles during intense, dynamic exercise. *J Physiol (Lond)* 462: 115-133 (1993)
- Bangsbo J**, Madsen K, Kiens B, Richter EA: Effect of muscle acidity on muscle metabolism and fatigue during intense exercise in man. *J Physiol (Lond)* 495 ( Pt 2): 587-596 (1996)
- Barclay CJ**: Mechanical efficiency and fatigue of fast and slow muscles of the mouse. *J Physiol (Lond)* 497 ( Pt 3): 781-794 (1996)
- Barford D**, Johnson LN: The allosteric transition of glycogen phosphorylase. *Nature* 340 (6235): 609-616 (1989)
- Barford D**, Hu SH, Johnson LN: Structural mechanism for glycogen phosphorylase control by phosphorylation and AMP. *J Mol Biol* 218 (1): 233-260 (1991)
- Baroin A**, Garcia-Romeu F, Lamarre T, Motais R: A transient sodium-hydrogen exchange system induced by catecholamines in erythrocytes of rainbow trout *Salmo gairdneri*. *J Physiol (Lond)* 356: 21-31 (1984)
- Barstow TJ**, Buchthal SD, Zanconato S, Cooper DM: Changes in potential controllers of human skeletal muscle respiration during incremental calf exercise. *J Appl Physiol* 77 (5): 2169-2176 (1994)
- Basmajian JV**, DeLuca C: *Muscles Alive. Their Functions Revealed in Electromyography*. 5ed. Baltimore, Williams & Wilkins (1985)
- Bassett Frey MA**, Mathes KL, Hoffler GW: Cardiovascular Responses of Women to Lower Body Negative Pressure. *Aviat Space Environ Med* 57: 531-538 (1986)
- Baum K**, Essfeld D, Stegemann J: Reduction in extracellular muscle volume increases heart rate and blood pressure response to isometric exercise. *Eur J Appl Physiol* 60 (3): 217-221 (1990)
- Baum K**, Essfeld D, Sondermann C, Leyk D, Stegemann J: Effect of graded changes in extracellular muscle volume on cardiovascular drives during static exercise. *Eur J Appl Physiol* 67 (3): 245-249 (1993)
- Bendahan D**, Confort-Gouny S, Kozak-Reiss G, Cozzone PJ: P<sub>1</sub> trapping in glycolytic pathway can explain transient P<sub>1</sub> disappearance during recovery from muscular exercise. *FEBS letters* 269: 402-405 (1990)
- Berg HE**, Dudley GA, Hather B, Tesch PA: Work capacity and metabolic and morphologic characteristics of the human quadriceps muscle in response to unloading. *Clin Physiol* 13 (4): 337-347 (1993)

- Berg HE**, Tesch PA: Changes in muscle function in response to 10 days of lower limb unloading in humans. *Acta Physiol Scand* 157 (1): 63-70 (1996)
- Berg HE**, Larsson L, Tesch PA: Lower limb skeletal muscle function after 6 wk of bed rest. *J Appl Physiol* 82 (1): 182-188 (1997)
- Bergström J**: Muscle electrolytes in man. *Scand J Clin Lab Invest (Suppl. 14)*: 9-88 (1962)
- Bessman SP** und Carpenter CL: The creatine-creatine phosphate energy shuttle. *Annu Rev Biochem* 54: 831-862 (1985)
- Bigland-Ritchie B**, Donovan EF, Roussos CS: Conduction velocity and EMG power spectrum changes in fatigue of sustained maximal efforts. *J Appl Physiol* 51 (5): 1300-1305 (1981)
- Bigland-Ritchie B**, Woods JJ: Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. *Muscle Nerve* 7 (9): 691-699 (1984)
- Bigland-Ritchie B**, Furbush F, Woods JJ: Fatigue of intermittent submaximal voluntary contractions: central and peripheral factors. *J Appl Physiol* 61 (2): 421-429 (1986)
- Bier A**: Hyperemia by suction apparatus. In: *Hyperemia as a Therapeutic Agent* edited by Blech GM, Chicago: Roberts, 74-87 (1905)
- Blei ML**, Kushmerick MJ, Esselman PC, Odderson IB: Pattern of normal human muscle energetics utilizing a new Quantitative Exercise Stress Test (QUEST) protocol. Society of magnetic Resonance in Medicine, X Annual Meeting. San Francisco, CA, USA; 110a (1991)
- Blei ML**, Conley KE, Odderson IB, Esselman PC, Kushmerick MJ: Individual variation in contractile cost and recovery in a human skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*. 90: 7396-7400 (1993)
- Bloch F**, Hansen W, Pacchard M: Nuclear induction. *Phys Rev* 69: 127 (1946)
- Blomqvist CG**, Stone HL: Cardiovascular adjustments to gravitational stress. In: *Handbook of Physiology. The Cardiovascular System. Peripheral Circulation and Organ Blood Flow*. Bethesda, Am Physiol Soc, Section. 2, Chapter 28 (1983)
- Borgese F**, Sardet C, Cappadoro M, Pouyssegur J, Motais R: Cloning and expression of a cAMP-activated Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger: evidence that the cytoplasmic domain mediates hormonal regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 (15): 6765-6769 (1992)
- Boska M**: Estimating the ATP cost of force production in the human gastrocnemius/soleus muscle group using <sup>31</sup>P MRS and <sup>1</sup>H MRI. *NMR Biomed* 4 (4): 173-181 (1991)
- Botterman BR**: Task-Dependent Nature Of Fatigue In Single Motor Units. In: *Fatigue*. *Adv Exp Med Biol* 384: 351-360 (1995)

- Brindle KM**, Fulton Am, Williams SP: Studies of cellular energetics using  $^{31}\text{P}$ -NMR. In: Brown GC und Cooper CE: Bioenergetics: A practical approach. Oxford, New York, Tokyo: IRL Press: 159-182 (1995)
- Brody LR**, Pollock MT, Roy SH, De Luca CJ, Celli B: pH-induced effects on median frequency and conduction velocity of the myoelectric signal. *J Appl Physiol* 71 (5): 1878-1885 (1991)
- Broman H**, Bilotto G, De Luca CJ: Myoelectric signal conduction velocity and spectral parameters: influence of force and time. *J Appl Physiol* 58 (5): 1428-1437 (1985)
- Brooks GA**: Importance of the 'crossover' concept in exercise metabolism. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 24 (11): 889-895 (1997)
- Brown E**, Goei JS, Greenfield ADM, Plassaras GC: Circulatory responses to simulated gravitational shifts of blood in man induced by exposure of the body below the iliac crests to subatmospheric pressure. *J Physiol (Lond)* 183: 607-627 (1966)
- Brown GC**: Control of respiration and ATP synthesis in mammalian mitochondria and cells. *Biochem J* 284: 1-13 (1992)
- Buchanan P**, Convertino VA: A study of the effects of prolonged simulated microgravity on the musculature of the lower extremities in man: an introduction. *Aviat Space Environ Med* 60 (7): 649-652 (1989)
- Bülow J**: Lipid mobilization and utilisation. In: Poortmans JR (ed): Principles of exercise Biochemistry. 27: 140-163. Basel, Karger (1988).
- Burton FL**, Hutter OF: Sensitivity to flow of intrinsic gating in inwardly rectifying potassium channel from mammalian skeletal muscle. *J Physiol (Lond)* 424: 253-261 (1990)
- Cady EB**, Jones DA, Lynn J, Newham DJ: Changes in force and intracellular metabolites during fatigue of human skeletal muscle. *J Physiol* 418: 311-325 (1989)
- Chance B**, Williams GR: Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation. I. Kinetics of oxygen utilization. *J Biol Chem* 217: 383-393 (1955)
- Chance B**, Williams GR: The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Adv Enzymol* 17: 65-134 (1956)
- Chance B**, Leigh JS Jr, Clark BJ, Maris J, Kent J, Nioka S, Smith D: Control of oxidative metabolism and oxygen delivery in human skeletal muscle: a steady-state analysis of the work/energy cost transfer function. *Proc Natl Acad Sci USA* 82 (24): 8384-8388 (1985)
- Chance B**, Leigh JS, Kent J, McCully K: Metabolic control principles and  $^{31}\text{P}$  NMR. *Fed. Proc.* 45: 2915-2920 (1986)
- Caiozzo VJ**, Ma E, McCue SA, Smith E, Herrick RE, Baldwin KM: A new animal model for modulating myosin isoform expression by altered mechanical activity. *J Appl Physiol* 73 (4): 1432-1440 (1992)

- Clausen T:** The Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump in skeletal muscle: quantification, regulation and functional significance. *Acta Physiol Scand* 156 (3): 227-235 (1996)
- Coles DR, Kidd BSL, Moffat W:** Distensibility of blood vessels of the human calf determined by the local application of subatmospheric pressure. *J Appl Physiol* 10: 461-468 (1957)
- Connett RJ, Gayeski TE, Honig CR:** Lactate efflux is unrelated to intracellular PO<sub>2</sub> in a working red muscle in situ. *J Appl Physiol* 61 (2): 402-408 (1986)
- Connett RJ:** Glycolytic regulation during an aerobic rest-to-work transition in dog gracilis muscle. *J Appl Physiol* 63 (6): 2366-2374 (1987a)
- Connett RJ:** Cytosolic pH during a rest-to-work transition in red muscle: application of enzyme equilibria. *J Appl Physiol* 63 (6): 2360-2365 (1987b)
- Connett RJ, Sahlin K:** Control of glycolysis and glycogen metabolism. In: *Handbook of Physiology. Exercise, Regulation and Integration of Multiple Systems*. Bethesda, Am. Physiol. Soc. Section. 12, Chapter 19: 870-911 (1996)
- Connett RJ:** Analysis of metabolic control: new insights using scaled creatine kinase model. *Am J Physiol* 254: R949-R959 (1988)
- Conley KE, Blei ML, Richards TL, Kushmerick MJ, Jubrias SA:** Activation of glycolysis in human muscle in vivo. *Am J Physiol* 273(1 Pt 1): C306-C315 (1997)
- Conley KE, Kushmerick MJ, Jubrias SA:** Glycolysis is independent of oxygenation state in stimulated human skeletal muscle in vivo. *J Physiol (Lond)* 511 ( Pt 3): 935-945 (1998)
- Constantin-Teodosiu D, Greenhaff PL, McIntyre DB, Round JM, Jones DA:** Anaerobic energy production in human skeletal muscle in intense contraction: a comparison of <sup>31</sup>P-magnetic resonance spectroscopy and biochemical techniques. *Exp Physiol* 82 (3): 593-601 (1997)
- Convertino VA, Doerr DF, Mathes KL, Stein SL, Buchanan P:** Changes in volume, muscle compartment, and compliance of the lower extremities in man following 30 days of exposure to simulated microgravity. *Aviat Space Environ Med* 60 (7): 653-658 (1989a)
- Convertino VA, Doerr DF, Stein SL:** Changes in size and compliance of the calf after 30 days of simulated microgravity. *J Appl Physiol* 66 (3): 1509-1512 (1989b)
- Cooke R, Pate E:** The inhibition of Muscle Contraction by the Products of ATP Hydrolysis. *Biochemistry of Exercise VII* (ed. AW Taylor). Human Kinetic Books (1990)
- Crow MT und Kushmerick MJ:** Phosphorylation of myosin light chains in mouse fast-twitch muscle associated with reduced actomyosin turnover rate. *Science* 217 (4562): 835-837 (1982)
- Davis EJ, Davis-vanThienen WIA:** Rate control of phosphorylation-coupled respiration by rat liver mitochondria. *Arch. Biochem. Biophys.* 233: 573-581 (1984)



- Davy KP**, Seals DR, Tanaka H: Augmented cardiopulmonary and integrative sympathetic baroreflexes but attenuated peripheral vasoconstriction with age. *Hypertension* 32 (2): 298-304 (1998)
- DeGreiff A**: Showspec for Windows Version 1.0 - Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin. Köln-Porz (1999)
- DeGroot M**, Massie BM, Boska M, Gober J, Miller RG, Weiner MW: Dissociation of  $[H^+]$  from fatigue in human muscle detected by high time resolution  $^{31}P$ -NMR. *Muscle Nerve* 16: 91-98 (1993)
- DeLuca CJ**, Sabbahi MA, Roy SH: Median frequency of the myoelectric signal. Effects of hand dominance. *Eur J Appl Physiol* 55 (5): 457-464 (1986)
- Diffie GM**, Caiozzo VJ, McCue SA, Herrick RE, Baldwin KM: Activity-induced regulation of myosin isoform distribution: comparison of two contractile activity programs. *J Appl Physiol* 74 (5): 2509-2516 (1993)
- Dobson GP**, Yamamoto E, Hochachka PW: Phosphofructokinase control in muscle: nature and reversal of pH-dependent ATP inhibition. *Am J Physiol* 250 (1 Pt 2): R71-R76 (1986)
- Dowell AR**, Shropshire S Jr, McCally M: Ventilation and pulmonary gas exchange during headward (+Gz) gradient acceleration. *Aerosp Med* 39 (9): 926-934 (1968)
- Edgerton VR**, Zhou MY, Ohira Y, Klitgaard H, Jiang B, Bell G, Harris B, Saltin B, Gollnick PD, Roy RR: Human fiber size and enzymatic properties after 5 and 11 days of spaceflight. *J Appl Physiol* 78 (5): 1733-1739 (1995)
- Edwards RHT**, Hill DK, Jones DA: Heat production and chemical changes during isometric contractions of the human quadriceps muscle. *J Physiol* 251: 303-315 (1975)
- Edwards RH**, Hill DK, Jones DA, Merton PA: Fatigue of long duration in human skeletal muscle after exercise. *J Physiol (Lond)* 272 (3): 769-778 (1977)
- Edwards RHT**: Human muscle function and fatigue. In *Human Muscle Fatigue: Physiological Mechanisms*, ed. Porter & Whelan, Ciba Foundation Symposium, Vol. 82: 1-18, Pitman Medical (1981)
- Edwards RHT**, Dawson MJ, Wilkie DR, Gordon RE, Shaw D: Clinical use of nuclear magnetic resonance in the investigation of myopathy. *Lancet* 27, 1 (8274): 725-731 (1982)
- Eklund B**, Kaijser L: Effect of regional alpha- and beta adrenergic blockade on blood flow in resting forearm during contralateral isometric exercise. *J Physiol (Lond)* 262: 39-50 (1976)
- Ellington WR**: Phosphocreatine represents a thermodynamic and functional improvement over other muscle phosphagens. *J Exp Biol* 143: 177-194 (1989)

- Enoka RM**, Robinson GA, Kossev AR: Task and fatigue effects on low-threshold motor units in human hand muscle. *J Neurophysiol* 62 (6): 1344-1359 (1989)
- Enoka RM**, Stuart DG: Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol* 72 (5): 1631-48 (1992)
- Erecinska M**, Wilson DF: Regulation of cellular energy metabolism. *J Membr Biol* 70 (1): 1-14 (1982)
- Escourrou SE**, Raffestin B, Paoelier Y, Pussard E, Rowell LB.: Cardiopulmonary and carotid baroreflex control of splanchnic and forearm circulation. *Am J Physiol* 264: H777-H782 (1993)
- Essandoh LK**, Houston DS, Vanhoutte PM, Shephard JT: Differential effects of lower body negative pressure on forearm and calf blood flow. *J Appl Physiol* 61 (3): 994-998 (1988)
- Essfeld D**, Baum K, Stegemann J: Local fluid losses enhance heart rate drives in light to moderate exercise. *Aviat Space Environ Med* 59 (11 Pt 1): 1055-1060 (1988)
- Essfeld D**, Baum K, Hoffmann U, Stegemann J: Effects of microgravity on interstitial muscle receptors affecting heart rate and blood pressure during static exercise. *Clin Investig* 71 (9): 704-709 (1993)
- Essfeld D**, Baum K: Influence of gravity on cardiovascular reflexes from skeletal muscle receptors. *Med Sci Sports Exerc* 28 (10 Suppl): S23-S28 (1996)
- Favero TG**: Sarcoplasmic reticulum  $Ca(2^+)$  release and muscle fatigue. *J Appl Physiol* 87 (2): 471-483 (1999)
- Febbraio MA**, Lambert DL, Starkie RL, Proietto J, Hargreaves M: Effect of epinephrine on muscle glycogenolysis during exercise in trained men. *J Appl Physiol* 84 (2): 465-470 (1998)
- Fitts RH**: Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev* 71: 49-94 (1994)
- Forbes A**: The interpretation of spinal reflexes in terms of present knowledge of nerve condition. *Physiol. Rev.* 2: 361-414 (1922)
- Fortney S**, Tankersley C, Lightfoot T, Drinkwater D, Clulow J, Gerstenblith G, O'Conner F, Becker L, Lakatta E, Fleg G: Cardiovascular responses to lower body negative pressure in trained and untrained older men. *J Appl Physiol* 73 (6): 2693-2700 (1992)
- Gadian DG**: Nuclear magnetic resonance and its application to living systems. Clarendon Press, Oxford 1982
- Gandevia SC**, Thomas CK, McComas AJ: Fatigue. *Adv Exp Med Biol* 384 (1995)
- Gayeski TE**, Connett RJ, Honig CR: Minimum intracellular  $PO_2$  for maximum cytochrome turnover in red muscle in situ. *Am J Physiol* 252 (5 Pt 2): H906-H915 (1987)
- Gazenko OG**, Genin AM, Yegorov AD: Summary of Medical investigations in USSR Manned Space Missions. *Acta Astronautica* 8: 907-917 (1981)

- Gevers W**, Dowdle E: The effect on pH on glycolysis in vitro. *Clin Sci* 25: 343-349 (1963)
- Giovannini P**, Seydoux J, Girardier L: Evidence for a modulating effect of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange on the metabolic response of rat brown adipose tissue. *Pflügers Arch* 411 (3): 273-277 (1988)
- Goldfinch J**, Mc Naughton L, Davies P: Induced metabolic alkalosis and its effects on 400-m racing time. *Eur J Appl Physiol* 57 (1): 45-48 (1988)
- Gonzeles-Serratos H**, Somlyo AV, McClellan G, Shuman H, Borrero LM, Somlyo AP: Composition of vacuoles and sarcoplasmic reticulum in fatigued muscle: electron probe analysis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75 (3): 1329-1333 (1978)
- Granier PL**, Dubouchaud H, Mercier BM, Mercier JG, Ahmaidi S, Prefaut CG: Effect of NaHCO<sub>3</sub> on lactate kinetics in forearm muscles during leg exercise in man. *Med Sci Sports Exerc* 28 (6): 692-697 (1996)
- Greenhaff PL**, Söderlund K, Ren JM, Hultman E: Energy metabolism in single human muscle fibres during intermittent contraction with occluded circulation. *J Physiol (Lond)* 460: 443-453 (1993)
- Grehl T**, Müller K, Vorgerd M, Tegenthoff M, Malin JP, Zange J: Impaired aerobic glycolysis in muscle phosphofructokinase deficiency results in biphasic post-exercise phospho-creatine recovery in <sup>31</sup>P magnetic resonance spectroscopy. *Neuromuscul Disord* 8 (7): 480-488 (1998)
- Grigoriev AL**, Kozlovskaya IB: Man in Space. 25 Years of Manned Space Flights in the Soviet Union – Biomedical Aspects. *Biological Sciences in Space*. In: Watanabe S, Mitarai G., Mori S. (eds.): Proceedings of the International Symposium on Biological Sciences in Space. Myu Research, Tokyo 9-16 (1987)
- Güell A**, Tallarida G, Wegmann H: Physical Countermeasures to be Applied during Long-Term Manned Space Flight. ESA SP-1160 (1993)
- Günther H**: NMR-Spektroskopie. Grundlagen, Konzepte und Anwendungen der Protonen- und Kohlenstoff-Kernresonanz-Spektroskopie in der Chemie. 3.Auflage. Stuttgart, New York: Thieme Verlag (1992)
- Guynn RW**, Veech RL: The equilibrium constants of the adenosine triphosphate-citrate lyase reactions. *J Biol Chem* 248 (20): 6966-6972 (1973)
- Gutierrez G**, Pohil RJ, Narayana P: Skeletal muscle O<sub>2</sub> consumption and energy metabolism during hypoxemia. *J Appl Physiol* 66 (5): 2117-2123 (1989)
- Hägg GM**: Interpretation of EMG spectral alterations and alteration indexes at sustained contraction. *J Appl Physiol* 73 (4): 1211-1217 (1992)
- Hagberg M**: Muscular endurance and surface electromyogram in isometric and dynamic exercise. *J Appl Physiol* 51(1): 1-7 (1981)

- Halliwill JR**, Lawler LA, Eickhoff TJ, Joyner MJ, Mulvagh SL: Reflex responses to regional venous pooling during lower body negative pressure in humans. *J Appl Physiol* 84 (2): 454-458 (1998)
- Harris DA**, Das AM: Control of mitochondrial ATP synthesis in the heart. *Biochem J* 280 (Pt 3): 561-573 (1991)
- Harris RC**, Hultman E, Sahlin K: Glycogen, glycogenolytic intermediates and high-energy phosphates determined in biopsy samples of musculus quadricepsfemoris of man at rest. Methods and variances of values. *Scand J Clin Lab Invest* 33: 109-120 (1974)
- Harris RC**, Hultman E, Kaijser L, Nordesjo LO: The effect of circulatory occlusion on isometric exercise capacity and energy metabolism of the quadriceps muscle in man. *Scand J Clin Lab Invest* 35 (1): 87-95 (1975)
- Harris RC**, Hultman E, Sahlin K: Glycolytic intermediates in human muscle after isometric contraction. *Pflügers Arch* 389 (3): 277-282 (1981)
- Hausser KH**, Kalbitzer HR: NMR für Mediziner und Biologen. Strukturbestimmung, Bildgebung, In-Vivo-Spektroskopie. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo. Springer Verlag (1989)
- Herbert ME**, Roy RR, Edgerton VR: Influence of one-week hindlimb suspension and intermittent high load exercise on rat muscles. *Exp Neurol* 102 (2): 190-198 (1988)
- Henriksson-Larsen KB**, Lexell J, Sjöström M: Method for the preparation and analysis of cross-sections of whole tibialis anterior. Distribution of different fibre types in human skeletal muscles. *I.Histochem J* 15 (2): 167-178 (1983)
- Henriksson-Larsen K**: Distribution, number and size of different types of fibres in whole cross-sections of female m tibialis anterior. An enzyme histochemical study. *Acta Physiol Scand* 123 (3): 229-235 (1985)
- Hikida RS**, Gollnick PD, Dudley GA, Convertino VA, Buchanan P: Structural and metabolic characteristics of human skeletal muscle following 30 days of simulated microgravity. *Aviat Space Environ Med* 60 (7): 664-670 (1989)
- Hille B**: Ionic Channels of Excitable Membranes. pp. 115-139. Sutherland, MA: Sinauer (1992)
- Hinghofer-Szalkay H**, König EM, Sauseng-Fellegger G, Zambo-Polz C: Biphasic blood volume changes with lower body suction in humans. *Am J Physiol* 263 (4 Pt 2): H1270-H1275 (1992)
- Hinghofer-Szalkay HG**, Vigan M, Sauseng-Fellegger G, König EM, Lichardus B, Jezova D: Head-up tilt and lower body suction: comparison of hormone responses in healthy men. *Physiol Res* 45 (5): 369-378 (1996)

- Hochachka PW, Mossey MK** : Does muscle creatine phosphokinase have access to the total pool of phosphocreatine plus creatine? *Am J Physiol* 274 (3 Pt 2): R868-R872 (1998)
- Hollmann W, Hettinger Th**: Sportmedizin. Arbeits- und Trainingsgrundlagen. 3. Auflage, Schattauer Verlag (1990)
- Holloszy JO, Kohrt WM, Hansen PA**: The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Front Biosci* 15 (3): D1011-D1027 (1998)
- Hultman E, Greenhaff P**: Ernährung und Energiereserven. In: Hrsg. Astrand und Shephard: Ausdauer im Sport, Deutscher Ärzte Verlag (1994)
- Issekutz B, Jr**: Effect of beta-adrenergic blockade on lactate turnover in exercising dogs. *J Appl Physiol* 57 (6): 1754-1759 (1984)
- Ivy JL**: Role of carbohydrate in physical activity. *Clin Sports Med* 18 (3): 469-84 (1999)
- Jacobs MC, Goldstein DS, Willemsen JJ, Smits P, Thien T, Lenders JW**: Differential effects of low- and high-intensity lower body negative pressure on noradrenaline and adrenaline kinetics in humans. *Clin Sci (Colch)* 90 (5): 337-343 (1996)
- Jacobsen TN, Morgan BJ, Scherrer U, Vissing SF, Lange RA, Johnson N, Ring WS, Rahko PS, Hanson P, Victor RG**: Relative contributions of cardiopulmonary and sinoaortic baroreflexes in causing sympathetic activation in the human skeletal muscle circulation during orthostatic stress. *Circ Res* 73 (2): 367-378 (1993)
- Jakobsson F, Borg K, Edstrom L**: Fibre-type composition, structure and cytoskeletal protein location of fibres in anterior tibial muscle. Comparison between young adults and physically active aged humans. *Acta Neuropathol (Berl)* 80 (5): 459-468 (1990)
- Jakobus WE, Moreadith RW, Vandegear KM**: Mitochondrial respiratory chain. Evidence against the regulation of respiration by extramitochondrial phosphorylation potentials or by [ATP]/[ADP] ratios. *J Biol Chem* 257: 2397-2402 (1982)
- Jakobus WE**: Respiratory control and the integration of heart high-energy phosphate metabolism by mitochondrial creatin kinase. *Ann Rev Physiol* 47: 707-725 (1985)
- James JH, Wagner KR, King JK, Leffler RE, Upputuri RK, Balasubramaniam A, Friend LA, Shelly DA, Paul RJ, Fischer JE**: Stimulation of both aerobic glycolysis and Na(+)-K(+)-ATPase activity in skeletal muscle by epinephrine or amylin. *Am J Physiol* 277 (1 Pt 1): E176-E186 (1999)
- Jansson E, Hjemdahl P, Kaijser L**: Epinephrine-induced changes in muscle carbohydrate metabolism during exercise in male subjects. *J Appl Physiol* 60 (5): 1466-1470 (1986)
- Jeneson JAL, Wiseman RW, Westerhoff HV, Kushmerick MJ**: The signal transduction function for oxidative phosphorylation is at least second order in ADP. *J Biol Chem* 271 (45): 27995-27998 (1996)

- Johnson MA**, Polgar J, Weightman D, Appleton D: Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study. *J Neurol Sci* 18 (1): 111-129 (1973)
- Johnston MA**, Dietlein LF: Biomedical Results from Skylab. NASA, SP-377, Washington D.C. (1977)
- Jones NL**, Sutton JR, Taylor R, Toews CJ: Effect of pH on cardiorespiratory and metabolic responses to exercise. *J Appl Physiol* 43 (6): 959-964 (1977)
- Juel C**: Muscle action potential propagation velocity changes during activity. *Muscle Nerve* 11 (7): 714-719 (1988)
- Juel C**: Lactate/proton co-transport in skeletal muscle: regulation and importance for pH homeostasis. *Acta Physiol Scand* 156: 369-374 (1996)
- Juel C**: Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiol Rev* 77 (2): 321-58 (1997)
- Kabada MP**, Wootten ME, Gainey J, Cochran GVB: Repeatability of Phasic Muscle Activity: Performance of Surface and Intramuscular Wire Electrodes in Gait Analyses. *J Ortho Res* 3: 350-359 (1985)
- Kakurin LI**, Cherepakhin MA, Pervushin VI: Effect of spaceflight factors on human muscle tone. *Kosm. Biol.* 1971 (5): 63-68. Zit aus: Convertino VA: Physiological Adaptions to Weightlessness: Effects on Exercise and Work Performance. In: American College of Sports Medicine Series. *Exerc Sport Sci. Rev.* 18 (1990)
- Katz A**: G-1,6-P2, glycolysis, and energy metabolism during circulatory occlusion in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 255 (2 Pt 1): C140-C144 (1988)
- Kell DB**: The protonmotive force as an intermediate in electron transport-linked phosphorylation: problems and prospects. *Curr. Top. Cell. Reg.* 33: 279-289 (1992)
- Kemp GJ**, Taylor DJ, Radda GK: Control of phosphocreatine resynthesis during recovery from exercise in human skeletal muscle. *NMR Biomed.* 6 (1): 66-72 (1993a)
- Kemp GJ**, Taylor DJ, Styles P, Radda G: The production, buffering and efflux of protons in human skeletal muscle during exercise and recovery. *NMR Biomed* 6 (1): 73-83 (1993b)
- Kemp GJ**, Thompson CH, Sanderson AL, Radda GK: pH control in rat skeletal muscle during exercise, recovery from exercise, and acute respiratory acidosis. *Magn Reson Med* 31 (2): 103-109 (1994)
- Kent-Braun JA**, Miller RG, Weiner MW: Phases of metabolism during progressive exercise to fatigue in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 75(2): 573-580 (1993)
- Klingenberg M**, Rottenberg H: Relation between the gradient of the ATP/ADP ratio and the membrane potential across the mitochondrial membrane. *Eur J Biochem* 73 (1): 125-130 (1977)
- Klingenberg M**, Nelson DR: Structure-function relationships of the ADP/ATP carrier. *Biochim. Biophys. Acta* 1187: 241-244 (1994)

- Kramer R**, Klingenberg M: Modulation of the reconstituted adenine nucleotide exchange by membrane potential. *Biochemistry* 19 (3): 556-560 (1980)
- Kristensen SR**: Mechanisms of cell damage and enzyme release. *Dan Med Bull* 41 (4): 423-433 (1994)
- Kroese AJ**: Reactive hyperaemia in the human calf after long-lasting ischaemia. A study with strain-gauge plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 36 (8): 739-745 (1976)
- Kroese AJ**: Reactive hyperaemia in the calf of trained and untrained subjects: a study with strain gauge plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 37 (2): 111-115 (1977)
- Krogh-Lund C** und Jorgensen K: Modification of myo-electric power spectrum in fatigue from 15% maximal voluntary contraction of human elbow flexor muscles, to limit of endurance: reflection of conduction velocity variation and/or centrally mediated mechanisms? *Eur J Appl Physiol* 64 (4): 359-370 (1992)
- Kushmerick MJ**, Crow MT: Regulation of energetics and mechanics by myosin light chain phosphorylation in fast-twitch skeletal muscle. *Fed Proc* 42 (1): 14-20 (1983)
- Kushmerick MJ**: Energetics of muscle contraction. In: *Handbook of Physiology*. Section 10: Muscle (p. 189-236). American Physiological Society. Bethesda (1983)
- Kushmerick MJ**, Meyer RA, Brown TR: Regulation of oxygen consumption in fast- and slow-twitch muscle. *Am J Physiol* 263: C598-C606 (1992)
- Kushmerick MJ**: Bioenergetics and Muscle Cell Types. In: *Fatigue*. *Adv Exp Med Biol* 384 (1995)
- LaFevers EV**, Nicogossian AE, Hursta WN: Electromyographic analyses of skeletal muscle changes arising from 9 days of weightlessness in the Apollo-Soyuz space mission. NASA Technical Memorandum. NASA TMX-58177 1-30 (1976)
- LaNoue KF**, Jeffries FM, Radda GK: Kinetic control of mitochondrial ATP synthesis. *Biochemistry* 25 (23): 7667-7675 (1986)
- Lardy HA**, Wellman H: Oxidative phosphorylations: role of inorganic phosphate as an acceptor systems in control of metabolic rates. *J Biol Chem* 195: 215-224 (1952)
- Laszlo Z**, Rössler A., Hinghofer-Szalkay H. G.: Cardiovascular Changes During and After Different LBNP Levels in Men *Aviat Space Environ Med*. 69: 32-39 (1998)
- Lathers CM**, Charles JB: Use of lower body negative pressure to counter symptoms of orthostatic intolerance in patients, bed rest subjects, and astronauts. *J Clin Pharmacol* 33 (11): 1071-1085 (1993)
- Laurig W**: Elektromyographie. In: Willimczik K (Hrsg.): *Forschungsmethoden in der Sportwissenschaft*. Grundkurs Datenerhebung 1. (1983)
- Lawler LA**, Halliwill JR, Summer JM, Joyner MJ, Mulvagh SL: Laeg mass and lower body negative pressure tolerance in men and women. *J Appl Physiol* 85, 4: 1471-1475 (1998)

- Lawson JWR** und **Veech RL**: Effects of pH and free  $Mg^{2+}$  on the  $K_{eq}$  of the creatine kinase reaction and other phosphate hydrolyses and phosphate transfer reactions. *J Biol Chem* 25: 6528-6537 (1979)
- Leach CS**: An Overview of the endocrine and metabolic changes in Manned Space Flight. *Acta Astronautica* 8: 977-986 (1981)
- Lewiston NJ**, **Theodore J**, **Robin ED**: Intracellular edema and dehydration: effects on energy metabolism in alveolar macrophages. *Science* 191 (4225): 403-404 (1976)
- Lindström L**, **Kadefors R**, **Petersen I**: An electromyographic index for localized muscle fatigue. *J Appl Physiol* 43 (4): 750-754 (1977)
- Lippmann F**: Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy. In: **Nord FF**, **Werkman CH** (eds.) *Advances in Enzymology*, vol 1, pp. 99-162. New York: Intersciences Publishers, Inc. (1941)
- Loeppky JA**, **Venters MD**, **Luft UC**: Blood volume and cardiorespiratory responses to lower body negative pressure. *Aviat Space Environ Med* 49 (11): 1297-1307 (1978)
- Lodi R**, **Kemp GJ**, **Iotti S**, **Radda GK**, **Barbiroli B**: Influence of cytosolic pH on in vivo assessment of human muscle mitochondrial respiration by phosphorus magnetic resonance spectroscopy. *MAGMA* 5(2): 165-171 (1997)
- Lundvall J**, **Lanne T**: Large capacity in man for effective plasma volume control in hypovolaemia via fluid transfer from tissue to blood. *Acta Physiol Scand* 137 (4): 513-520 (1989)
- Maassen N**, **Busse MW**: The relationship between lactic acid and work load: a measure for endurance capacity or an indicator of carbohydrate deficiency? *Eur J Appl Physiol* 58 (7): 728-737 (1989)
- Maassen N**, **Koch H**, **Schneider G**, and **Leibfritz D**: PCR and PHI during different types of exercise. *Proceedings of the 8th International Hypoxia Symposium Hypoxia and Molecular Medicine* S: 306 (1993)
- Maassen N**: Der pH-Wert des Blutes bei körperlicher Belastung. *Dt. Z. Sportmedizin* 11 und 12: 362-367 (1999)
- Mader A**: Eine Theorie zur Berechnung der Dynamik und des Steady State von Phosphorylierungszustand und Stoffwechselaktivität der Muskelzelle als Folge des Energiebedarfs. *Habilitationsschrift*. Köln (1984)
- Mainwood GW**, **Renaud JM**: The effect of acid-base balance on fatigue of skeletal muscle. *Can J Physiol Pharmacol* 63(5): 403-416 (1985)
- Marx SO**, **Ondrias K**, **Marks AR**: Coupled gating between individual skeletal muscle  $Ca^{2+}$  release channels. *Science* 281 (5378): 818-821 (1998)



- Masuda K**, Masuda T, Sadoyama T, Inaki M, Katsuta S: Changes in surface EMG parameters during static and dynamic fatiguing contractions. *J Electromyogr Kinesiol* 9 (1): 39-46 (1999)
- McCreary CR**, Chilibeck PD, Marsh GD, Paterson DH, Cunningham DA, Thompson RT: Kinetics of pulmonary oxygen uptake and muscle phosphates during moderate-intensity calf exercise. *J Appl Physiol* 81 (3): 1331-1338 (1996)
- Metzger JM**, Fitts RH: Fatigue from high- and low-frequency muscle stimulation: contractile and biochemical alterations. *J Appl Physiol* 62 (5): 2075-2082 (1987)
- Meyer RA**, Dudley GA, Terjung RL: Ammonia and IMP in different skeletal muscle fibers after exercise in rats. *J Appl Physiol* 49 (6): 1037-1041 (1980)
- Meyer RA**, Kushmerick MJ, Brown TR: Application of <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy to the study of striated muscle metabolism. *Am J Physiol* 242: C1-C11 (1982)
- Meyer RA**, Brown TR, Kushmerick MJ: Phosphorus nuclear magnetic resonance of fast- and slow-twitch muscle. *Am J Physiol* 248 (3 Pt 1): C279-C287 (1985)
- Meyer RA**: A linear model of muscle respiration explains monoexponential phosphocreatine changes. *Am J Physiol* 254 (4 Pt 1): C548-553 (1988)
- Meyer RA**, Foley JM: Testing models of respiratory control in skeletal muscle. *Med. Sci. Sports Exerc* 26: 52-57 (1994)
- Maassen N**, Schneider G: Mechanism of Fatigue in Small Muscle Groups. *Int J Sports Med* 18 (Suppl 4): 320-321 (1997)
- Miller RG**, Boska MD, Moussavi RS, Carson PJ, Weiner MW: <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance studies of high energy phosphates and pH in human muscle fatigue. Comparison of aerobic and anaerobic exercise. *J Clin Invest* 81: 1190-1196 (1988)
- Mills KR**, Edwards RH: Muscle fatigue in myophosphorylase deficiency: power spectral analysis of the electromyogram. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 57 (4): 330-335 (1984)
- Mitchell P**: Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. *Nature* 191: 144-148 (1961)
- Mitchell P**: Proton translocation phosphorylation in mitochondria, chloroplasts and bacteria: natural fuel cells and solar cells. *Fed Proc* 26: 1370-1378 (1967)
- Mitchell P**: Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 206: 1148-1159 (1979)
- Mittelstaedt H**: Origin and processing of postural information. *Neurosci Biobehav Rev* 22 (4): 473-478 (1998)
- Mizuno M**, Secher NH, Quistorff B: <sup>31</sup>P-NMR spectroscopy, rsEMG, and histochemical fiber types of human wrist flexor muscles. *J Appl Physiol* 76 (2): 531-538 (1994)

- Montgomery LD**, Kirk PJ, Payne PA, Guber RL, Newton SD, Williams BA: Cardiovascular responses of men and women to lower body negative pressure. *Aviat Space Environ Med* 48: 138-145 (1977)
- Moore D**, Bie P, Oser H: *Biological and Medical Research in Space*. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York (1996)
- Musacchia XJ**, Steffen JM, Deavers DR: Rat hindlimb muscle responses to suspension hypokinesia/hypodynamia. *Aviat Space Environ Med* 54 (11): 1015-1020 (1983)
- Musgrave FS**, Zechman FW, Mains RC: Changes in total leg volume during lower body negative pressure. *Aerospace Med* 40: 602-606 (1969)
- Newman DJ**, Cady EB: A  $^{31}\text{P}$  study of fatigue and metabolism in human skeletal muscle with voluntary intermitted contractions at different forces. *NMR Biomed* 3: 211-219 (1990)
- Nioka S**, Argov Z, Dobson GP, Forster RE, Subramanian HV, Veech RL, Chance B: Substrate regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation in hypercapnic rabbit muscles. *J Appl Physiol* 72: 521-528 (1992)
- Norsk P**, Warberg J, Bonde-Petersen F: Influence of central venous pressure on plasma vasopressin in humans. *J Appl Physiol* 61: 1352-1357 (1986)
- Norsk P**, Ellegard P, Videbaek R, Stadeager C, Jessen F, Johansen LB, Kristensen MS, Kamegai M, Warberg J, Christensen NJ: Arterial pulse pressure and vasopressin release in humans during lower body negative pressure. *Am J Physiol* 264: R1024-R1030 (1993)
- Oberleithner H**, Weigt M, Westphale HJ, Wang W: Aldosterone activates  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange and raises cytoplasmic pH in target cells of the amphibian kidney. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 (5): 1464-1468 (1987)
- Ohira Y**, Jiang B, Roy RR, Oganov V, Ilyina-Kakueva E, Marini JF, Edgerton VR: Rat soleus muscle fiber responses to 14 days of spaceflight and hindlimb suspension. *J Appl Physiol* 73 (2 Suppl): 51S-57S (1992)
- Ovádi J**, Orosz F: Calmodulin and dynamics of interactions of cytosolic enzymes. *Curr Top Cell Regul* 33: 105-126 (1992)
- Papa S**, Lorusso M, Capitanio N: Mechanistic and phenomenological features of proton pumps in the respiratory chain of mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 26: 609-618 (1994)
- Park JH**, Brown RL, Park CR, Cohn M, Chance B: Energy metabolism of the untrained muscle of elite runners as observed by  $^{31}\text{P}$  magnetic resonance spectroscopy: evidence suggesting a genetic endowment for endurance exercise. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 (23): 8780-8784 (1988)
- Patel MS**, Roche TE: Molecular biology and biochemistry of pyruvate dehydrogenase complexes. *FASEB J* 4 (14): 3224-3233 (1990)

- Person RS**, Kudina LP: Discharge frequency and discharge pattern of human motor units during voluntary contraction of muscle. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 32 (5): 471-483 (1972)
- Pette D**, Staron RS: Cellular and molecular diversities of mammalian skeletal muscle fibers. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 116: 1-76 (1990)
- Piiper J**: Chapter 4. in *Lactate*: edited Moret, Weber, Haissly und Denolis. Springer Verlag (1980)
- Purcell E**, Torrey H., Powel R.: Resonance absorption by nuclear magnetic moments in solids. *Physics Reviews* 69: 37-38 (1946)
- Quistorff B**, Johansen L, Sahlin K: Absence of phosphocreatine resynthesis in human calf muscle during ischaemic recovery. *Biochem J* 291 (Pt 3): 681-686 (1992)
- Radda GK**: Control, bioenergetics and adaption in health and disease. *Noninvasive biochemistry from nuclear magnetic resonance. FASEB J* 6: 3032-3038 (1992)
- Radda GK**: Control of energy metabolism during muscle contraction. *Diabetes* 45 Suppl 1: S88-S92 (1996)
- Ratkevicius A**, Mizuno M, Povilonis E, Quistorff B: Energy metabolism of the gastrocnemius and soleus muscles during isometric voluntary and electrically induced contractions in man. *J Physiol (Lond)* 507 (Pt 2): 593-602 (1998).
- Raven PB**, Rohm-Young D, Blomqvist CG: Physical fitness and cardiovascular response to lower body negative pressure. *J Appl Physiol* 56 (1): 138-144 (1984)
- Riley DA**, Ellis S, Giometti CS, Hoh JF, Ilyina-Kakueva EI, Oganov VS, Slocum GR, Bain JL, Sedlak FR: Muscle sarcomere lesions and thrombosis after spaceflight and suspension unloading. *J Appl Physiol* 73 (2 Suppl): 33S-43S (1992)
- Richter EA**, Galbo H High glycogen levels enhance glycogen breakdown in isolated contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* 61 (3): 827-831 (1986)
- Roberts TJ**, Weber JM, Hoppeler H, Weibel ER, Taylor CR: Design of the oxygen and substrate pathways. II. Defining the upper limits of carbohydrate and fat oxidation. *J Exp Biol* 199 (Pt 8): 1651-1658 (1996)
- Robin ED**, Theodore J: Intracellular and subcellular oedema and dehydration. *Ciba Found Symp* (38): 273-289 (1976)
- Romijn JA**, Coyle EF, Sidossis LS, Gastaldelli A, Horowitz JF, Endert E, Wolfe RR: Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* 265 (3 Pt 1): E380-E391 (1993)
- Rosler A**, Laszlo Z, Haditsch B, Hinghofer-Szalkay HG: Orthostatic stimuli rapidly change plasma adrenomedullin in humans. *Hypertension* 34 (5): 1147-1151 (1999)

- Rowell LB**, Detry JR, Blackmon JR, Wyss C: Importance of splanchnic vascular bed in human blood pressure regulation. *J Appl Physiol* 32: 213-220 (1972)
- Rowell LB**, Seals DR: Sympathetic activity during graded central hypovolemia in hypoxemic humans. *Am J Physiol* 259 (4 Pt 2): H1197-H1206 (1990)
- Rowell LB**: *Human Cardiovascular Control*. New York, Oxford Press (1993)
- Sahlin K**: Intracellular pH and energy metabolism in skeletal muscle of man. With special reference to exercise. *Acta Physiol Scand Suppl* 455: 1-56 (1978)
- Sahlin K**: Muscle fatigue and lactic acid accumulation. *Acta Physiol Scand Suppl* 556: 83-91 (1986)
- Sahlin K**, Söderlund K, Tonkonogie M, Hirakoba K: 1997: Phosphocreatine content in single fibers of human muscle after sustained submaximal exercise. *Am J Physiol* 273 (1 Pt 1): C172-C178 (1997)
- Saks VA**, Khuchua ZA, Vasilyeva EV, Belikova OYu, Kuznetsov AV: Metabolic compartmentation and substrate channelling in muscle cells. Role of coupled creatine kinases in in vivo regulation of cellular respiration--a synthesis. *Mol Cell Biochem* 133-134: 155-192 (1994)
- Saltin B**, Blomqvist G, Mitchell JH, Johnson RL Jr, Wildenthal K, Chapman CB: Response to exercise after bed rest and after training. *Circulation* 38 (5 Suppl):VIII-78 (1968)
- Saltin B**, Gollnick PD: Skeletal muscle adaptability. In: *Handbook of Physiology*, Chapter 19: 555-631, Bethesda (1983)
- Saltin B**, Radegran G, Koskolou MD, Roach RC: Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. *Acta Physiol Scand* 162 (3): 421-436 (1998)
- Samueloff SL**, Browse NL, Shepherd JT: Response of capacity vessels in human limbs to head-up tilt and suction on lower body. *J Appl Physiol* 21: 47-54 (1966)
- Sandercock TG**, Faulkner JA, Albers JW, Abbrecht PH: Single motor unit and fiber action potentials during fatigue. *J Appl Physiol* 58 (4): 1073-1079 (1985)
- Sandler H**, Vernikos J: *Inactivity, Physiological Effects*. Academic Press Inc., Orlando U.S.A. (1986)
- Scherrer U**, Vissing SF, Victor RG: Effects of lower-body negative pressure on sympathetic nerve responses to static exercise in humans. Microneurographic evidence against cardiac baroreflex modulation of the exercise pressor reflex. *Circulation* 78 (1): 49-59 (1988)
- Schneider G**, Koch H, Maassen N, Leibfritz D: <sup>31</sup>P NMR Spectroscopy of the human calf muscle during intensiv exercise. *Eur J Appl Physiol (Suppl)* 69 (3): Artikel P14 (1994)
- Schnyder T**, Rojo M, Furter R, Wallimann T: The structure of mitochondrial creatine kinase and its membrane binding properties. *Mol Cell Biochem* 133-134: 115-123 (1994)

- Schobel HP**, Oren RM, Mark AL, Ferguson DW: Influence of resting sympathetic activity on reflex sympathetic responses in normal man. *Clin Auton Res* 5 (2): 71-80 (1995)
- Schütze H**, Hildebrandt W, Stegemann: The interstitial fluid content in working muscle modifies the cardiovascular response to exercise. *Eur J Appl Physiol* 62 (5): 332-336 (1991)
- Seals DR**, Victor RG: Regulation of muscle sympathetic nerve activity during exercise in humans. *Exerc Sport Sci Rev* 19: 313-349 (1991)
- Shenkman BS**, Stepanov VI, Cheglova IA, Kulev AP, Kozlovskaya IB: Fibre size and capillary supply in human m. vastus lateralis after long duration spaceflight: effect of training. Proceedings of the 6<sup>th</sup> European Symposium on Life Sciences Research in Space, Trondheim (ESA SP-390): 291-294 (1996)
- Shoemaker JK**, Pandey P, Herr MD, Silber DH, Yang QX, Smith MB, Gray K, Sinoway LI: Augmented sympathetic tone alters muscle metabolism with exercise: lack of evidence for functional sympatholysis. *J Appl Physiol* 82 (6): 1932-1938 (1997)
- Simonson E**, Weiser P: Physiological aspects and physiological correlates of work capacity and fatigue. Charles C. Thomas, Springfield 111 (1976)
- Smith JJ**, Porth CJM: Posture and the circulation: the age effect. *Exp. Gerontol.* 26: 141-162 (1991)
- Söderlund K**, Hultman E: Effects of delayed freezing on content of phosphagens in human skeletal muscle biopsy samples. *J Appl Physiol* 61: 832-835
- Spriet LL**, Söderlund K, Bergstrom M, Hultman E: Skeletal muscle glycogenolysis, glycolysis, and pH during electrical stimulation in men. *J Appl Physiol* 62(2): 616-621 (1987)
- Spriet LL**: Anaerobic metabolism in human skeletal muscle during short-term, intense activity. *Can J Physiol Pharmacol* 70 (1): 157-165 (1992)
- Starnes JW**: Introduction to respiratory control in skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc* 26: 27-29 (1994)
- Stephenson DG**, Lamb GD, Stephenson MM, Fryer MW: Mechanisms of Excitation-contraction coupling relevant to skeletal muscle fatigue. In: *Fatigue*. Edited by Gandevia SC, Thomas CK, McComas AJ. *Adv Exp Med Biol* 384 (1995)
- Stienen GJ**, Kiers JL, Bottinelli R, Reggiani C: Myofibrillar ATPase activity in skinned human skeletal muscle fibres: fibre type and temperature dependence. *J Physiol (Lond)* 493 (Pt 2): 299-307 (1996)
- Stulen FB**, DeLuca CJ: Frequency parameters of the myoelectric signal as a measure of muscle conduction velocity. *IEEE Trans Biomed Eng* 28 (7): 515-523 (1981)
- Stulen FB**, De Luca CJ: Muscle fatigue monitor: a noninvasive device for observing localized muscular fatigue. *IEEE Trans Biomed Eng* 29 (12): 760-768 (1982)

- Sutton JR**, Jones NL, Toews CJ : Effect of PH on muscle glycolysis during exercise. *Clin Sci* 61 (3): 331-338 (1981)
- Taylor DJ**, Styles P, Matthews PM, Arnold DA, Gadian DG, Bore P, Radda GK: Energetics of human muscle: exercise-induced ATP depletion. *Magn Reson Med* 3 (1): 44-54 (1986)
- Tesch PA**, Thorsson A, Fujitsuka N: Creatine phosphate in fiber types of skeletal muscle before and after exhaustive exercise. *J Appl Physiol* 66 (4): 1756-1759 (1989)
- Thompson LP** und Mohrman DE: Blood flow and oxygen consumption in skeletal muscle during sympathetic stimulation. *Am J Physiol* 245 (1): H66-H71 (1983)
- Thompson LV**, Balog EM, Riley DA, Fitts RH: Muscle fatigue in frog semitendinosus: alterations in contractile function. *Am J Physiol* 262 (6 Pt 1): C1500-C1506 (1992)
- Thompson CH**, Kemp GJ, Radda GK: Triiodothyronine-induced changes in proton efflux from rat skeletal muscle in vivo. *Eur J Endocrinol* 133 (2): 260-264 (1995)
- Thornton WE**, Rummel JA: Muscular deconditioning and its prevention in space flight. In: Johnson RF and Dietlein DG: *Biomedical Results from Skylab. NASA AP-37*: 191-197 (1977)
- Tibbits GF**: Role of the Sarcolemma in Muscle Fatigue. In: *Biochemistry of Exercise VII, Part I*. edited by: Taylor, Gollnick, Green, Ianuzzo, Noble, Métivier und Sutton. Human Kinetics Books, Champaign, IL (1990)
- Tibes U**, Hemmer B, Schweigart U, Böning D, Fotescu D: Exercise acidosis as cause of electrolyte changes in femoral venous blood of trained and untrained man. *Pflügers Arch* 347 (2): 145-158 (1974)
- Timmons JA**, Poucher SM, Constantin-Teodosiu D, Worrall V, MacDonald IA, Greenhaff PL: Metabolic responses of canine gracilis muscle during contraction with partial ischemia. *Am J Physiol* 270 (3 Pt 1): E400-E406 (1996)
- Trivedi B**, Danforth WH: Effect of pH on the kinetics of frog muscle phosphofructokinase. *J Biol Chem* 241 (17): 4110-4112 (1966)
- Ulmer HV**: Energiehaushalt. In: *Physiologie des Menschen* (Hrsg. Schmidt RF und Thews G). 25. korrigierte Auflage. Springer Verlag (1993)
- Vandenborne K**, Walter G, Ploutz-Snyder L, Staron R, Fry A, De Meirleir K, Dudley GA, Leigh JS: Energy-rich phosphate in slow and fast human skeletal muscle. *Am J Physiol* 268: C869-C876 (1995)
- Veech RL**, Lawson JW, Cornell NW, Krebs HA: Cytosolic phosphorylation potential. *J Biol Chem* 254 (14): 6538-6547 (1979)
- Vestergaard Poulsen P**, Thomsen C, Sinkjaer T, Stubgaard M, Rosenfalck A, Henriksen O: Simultaneous electromyography and <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance spectroscopy with application to muscle fatigue. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 85: 402-411 (1992)

- Villar-Palasi C:** Substrate specific activation by glucose 6-phosphate of the dephosphorylation of muscle glycogen synthase. *Biochim Biophys Acta* 1095 (3): 261-267 (1991)
- Villar-Palasi C:** Inhibition by glucose 6-phosphate of cyclic AMP-dependent protein kinase phosphorylation of glycogen synthase. *Biochim Biophys Acta* 1207 (1): 88-92 (1994)
- Viitasalo JH, Komi PV:** Signal characteristics of EMG during fatigue. *Eur J Appl Physiol* 37 (2): 111-121 (1977)
- Vøllestad NK, Sejersted OM:** Biochemical correlates of fatigue. A brief review. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 57 (3): 336-347 (1988)
- Vøllestad NK:** Metabolic Correlates of Fatigue from Different Types of Exercise in Man. In: *Fatigue. Adv Exp Med Biol* 384 (1995)
- Wackerhage H, Hoffmann U, Essfeld D, Leyk D, Müller K, Zange J:** Recovery of free ADP, Pi, and free energy of ATP hydrolysis in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 85 (6): 2140-2145 (1998)
- Wallberg-Henriksson H, Wahren J:** Effects of nutrition and diabetes mellitus on the regulation of metabolic fuels during exercise. *Am J Clin Nutr* 49 (5 Suppl): 938-943 (1989)
- Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM:** Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. *Biochem J* 281 (Pt 1): 21-40 (1992)
- Walter G, Vandenborne K, McCully KK, Leigh JS:** Noninvasive measurement of phosphocreatine recovery kinetics in single human muscles. *Am J Physiol* 272 (2 Pt 1): C525-C534 (1997)
- Walter G, Vandenborne K, Elliott M, Leigh JS:** In vivo ATP synthesis rates in single human muscles during high intensity exercise. *J Physiol (Lond)* 519 (Pt 3): 901-910 (1999)
- Wanders RJA, Groen AK, Van Roermund CWT, Tager J:** Factors determining the relative contribution of the adenine-nucleotide translocator and the ADP-regenerating system to the control of oxidative phosphorylation in isolated rat-liver mitochondria. *Eur J Biochem* 142: 417-424 (1984)
- Wanders RJA, Westerhoff HV:** Sigmoidal relation between mitochondrial respiration and log ([ATP]/[ADP]) out under conditions of extramitochondrial ATP utilization. Implications for the control and thermodynamics of oxidative phosphorylation. *Biochemistry* 27: 7832-7840 (1988)
- Wang ZY, Noyszewski EA, Leigh JS Jr:** In vivo MRS measurement of deoxymyoglobin in human forearms. *Magn Reson Med* (3): 562-567 (1990)

- Wehling M**, Armanini D, Strasser T, Weber PC. Effect of aldosterone on the sodium and potassium concentrations in human mononuclear leukocytes. *Am J Physiol* 252: E505-E508 (1987)
- Wehling M**, Käsmayr J, Theisen K. Evidence for rapid, nongenomic effects of mineralocorticoids in lymphocytes involving the sodium-proton exchanger of the cell membrane. *Am J Physiol* 260: E719-E726 (1991)
- Wehling M**, Christ M, Theisen K. Membrane receptors for aldosterone: a novel pathway for mineralocorticoid action. *Am J Physiol* 263: E974-E979 (1992)
- Wehling M**, Christ M, Gerzer R. Aldosterone-specific membrane receptors and related rapid, non-genomic effects. *Trends Pharmacol Sci* 14: 1-4 (1993)
- Wehling M**: Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annu Rev Physiol* 59: 365-93 (1997)
- Wehling M**, Spes CH, Win N, Janson CP, Schmidt BM, Theisen K, Christ M: Rapid cardiovascular action of aldosterone in man. *J Clin Endocrinol Metab* 83 (10): 3517-3522 (1998)
- Westerblad H**, Allen DG: Myoplasmic  $Mg^{2+}$  concentration in *Xenopus* muscle fibres at rest, during fatigue and during metabolic blockade. *Exp Physiol* 77 (5): 733-740 (1992)
- White DD**, Montgomery LD: Pelvic blood pooling of men and women during lower body negative pressure. *Aviat Space Environ Med* 67: 555-559 (1996)
- Wilkie DR**, Dawson MJ, Edwards RH, Gordon RE, Shaw D: <sup>31</sup>P NMR studies of resting muscle in normal human subjects. *Adv Exp Med Biol* 170: 333-347 (1984)
- Wilkie DR**: Muscular fatigue: effects of hydrogen ions and inorganic phosphate. *Fed Proc* (13): 2921-2923 (1986)
- Wilson DF**, Stubbs M, Veech RL, Erecinska M, Krebs HA: Equilibrium relations between the oxidation-reduction reactions and the adenosine triphosphate synthesis in suspensions of isolated liver cells. *Biochem J* 140 (1): 57-64 (1974)
- Wilson DF**, Erecinska M, Drown C, Silver IA: Effect of oxygen tension on cellular energetics. *Am J Physiol* 233 (5): C135-C140 (1977)
- Wilson DF**, Erecinska M, Drown C, Silver IA: The oxygen dependence of cellular energy metabolism. *Arch Biochem Biophys* 195 (2): 485-493 (1979)
- Wilson DF**: Factors affecting the rate and energetics of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Med Sci Sports Exerc* 26 (1): 37-43 (1994)
- Wilson DF**: Energy metabolism in muscle approaching maximal rates of oxygen utilization. *Med Sci Sports Exerc* 27 (1): 54-59 (1995)



- Wilson JR**, McCully KK, Mancini DM, Boden B, and Chance B: Relationship of muscular fatigue to pH and diprotonated Pi in humans: a <sup>31</sup>P-NMR study. *J Appl Physiol* 64: 2333-2339 (1988)
- Winder WW**: Malonyl-CoA-regulator of fatty acid oxidation in muscle during exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 26: 117-132 (1998)
- Winiarski AM**, Roy RR, Alford EK, Chiang PC, Edgerton VR: Mechanical properties of rat skeletal muscle after hind limb suspension. *Exp Neurol* 96 (3): 650-660 (1987)
- Winter DA**: *The Biomechanics and Motor Control of Normal Human Gait*. Waterloo, Ontario, Canada. University of Waterloo Press (1987)
- Witzleb E**: Funktionen des Gefäßsystems. In: *Physiologie des Menschen* (Hrsg. Schmidt RF und Thews G). 25. Auflage. Springer Verlag (1993)
- Wolfe CL**, Gilbert HF, Brindle KM, Radda GK: Determination of buffering capacity of rat myocardium during ischemia. *Biochim Biophys Acta* 971 (1): 9-20 (1988)
- Wolthuis RA**, Bergmann SA, Nicogossian AE: Physiological Effects of Locally Applied Reduced Pressure in Man. *Physiological Reviews* 54: 566-595 (1974)
- Wolthuis RA**, LeBlanc A, Carpentier WA, Bergman SA: Response in local vascular volumes to lower body negative pressure stress. *Aviat Space Environ Med* 46: 697-702 (1975)
- Wood SJ**, Slater CR: Action potential generation in rat slow- and fast-twitch muscles. *J Physiol (Lond)* 486 ( Pt 2): 401-410 (1995)
- Wu TF**, Davis EJ: Regulation of glycolytic flux in an energetically controlled cell-free system: the effects of adenine nucleotide ratios, inorganic phosphate, pH, and citrate. *Arch Biochem Biophys* 209 (1): 85-99 (1981)
- Yamada T**, Kikuchi K, Sugi H: <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance studies on the glycogenolysis regulation in resting and contracting frog skeletal muscle. *J Physiol (Lond)* 460: 273-286 (1993)
- Zange J**, Müller K, Gerzer R, Sippel K, Wehling M: Nongenomic effects of aldosterone on phosphocreatine levels in human calf muscle during recovery from exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 81(12): 4296-4300 (1996)
- Zange J**, Müller K, Schuber M, Wackerhage H, Hoffmann U, Günther RW, Adam G, Neuberger JM, Sinitsyn VE, Bacharev AO, Belichenko OI: Changes in calf muscle performance, energy metabolism, and muscle volume caused by long-term stay on space station MIR. *Int J Sports Med* 18 Suppl 4: S308-S309 (1997)

Proband	Alter	Gewicht in kg	Größe in cm	Sport *	Geschlecht
J.K.	28	63	170	Volleyball/Joggen (7)	♀
A.N.	36	68	165	-----	♀
M.V.	32	77	181	Joggen, Volleyball (3)	♂
M.N.	33	70	180	-----	♂
S.D.	23	62	174	Triathlon (7)	♀
S.B.	32	80	181	Triathlon (10)	♂
F.S.	28	74	185	Triathlon (4)	♂
V.W.	24	47	156	Tischtennis (3)	♀
K.B.	27	65	174	Volleyball (3)	♀
M.A.	23	62	180	Triathlon (8)	♂
C.K.	26	62	168	-----	♀
N.F.	27	69	181	Joggen, Schwimmen (5)	♀
R.N.	39	63	172	-----	♂
H.N.	29	68	173	Kunstturnen (2)	♂
D.V.	28	60	165	Volleyball (3)	♂
M.S.	29	70	178	Surfen, Skaten (2)	♂
R.N.	39	63	172	-----	♂
K.S.	22	67	175	Schwimmen (1)	♀
S.K.	26	65	174	-----	♀
A.W.	24	64	175	-----	♀
J.M.	30	71	175	Badminton, Fußball (2)	♂
<b>Mittelwert</b>	<b>28.8</b>	<b>66.2</b>	<b>174.0</b>	<b>(4.28)</b>	<b>10 ♀</b>
<b>SD</b>	<b>4.8</b>	<b>6.7</b>	<b>6.6</b>	<b>(2.6)</b>	<b>11 ♂</b>

Tabelle 10: Anthropometrische Daten der Probanden aus Studie I<sub>31P-MRS</sub>

\* Zahl in Klammern gibt den wöchentlichen Trainingsumfang in Stunden wieder

Proband	Alter	Gewicht in kg	Größe in cm	Sport *	Geschlecht
R. C.	28	72	184	Triathlon (10)	♂
M. M.	24	80	190	Triathlon (12)	♂
S. D.	23	61	172	Basketball (4)	♀
S. B.	31	78	181	Triathlon (8)	♂
F. S.	25	72	185	Handball (4)	♂
M. M.	20	80	176	Handball (4)	♂
U. A.	29	62	177	Schwimmen (4)	♀
<b>Mittelwert</b>	<b>25.7</b>	<b>72.1</b>	<b>180.7</b>	<b>(6.6)</b>	<b>5 ♂</b>
<b>SD</b>	<b>3.5</b>	<b>7.4</b>	<b>5.7</b>	<b>(3.2)</b>	<b>2 ♀</b>

Tabelle 11: Anthropometrische Daten der Probanden aus Studie II<sub>q</sub>

Proband	Alter	Gewicht	Größe in cm	Sport *	Geschlecht
R.C.	28	72	184	Triathlon (10)	♂
M.M.	24	79	190	Triathlon (12)	♂
L.H.	35	65	180	Handball (3)	♂
S. B.	31	78	181	Triathlon (8)	♂
J. S.	29	89	188	Volleyball (4)	♂
J. H.	32	69	176	Triathlon (11)	♂
M.D.	28	68	178	Kein Sport	♂
<b>Mittelwert</b>	<b>29.6</b>	<b>74.3</b>	<b>182.4</b>	<b>(6.9)</b>	<b>7 ♂</b>
<b>SD</b>	<b>3.2</b>	<b>7.7</b>	<b>4.8</b>	<b>(3.7)</b>	<b>0 ♀</b>

Tabelle 12: Anthropometrische Daten der Probanden aus Studie III<sub>UENP</sub>

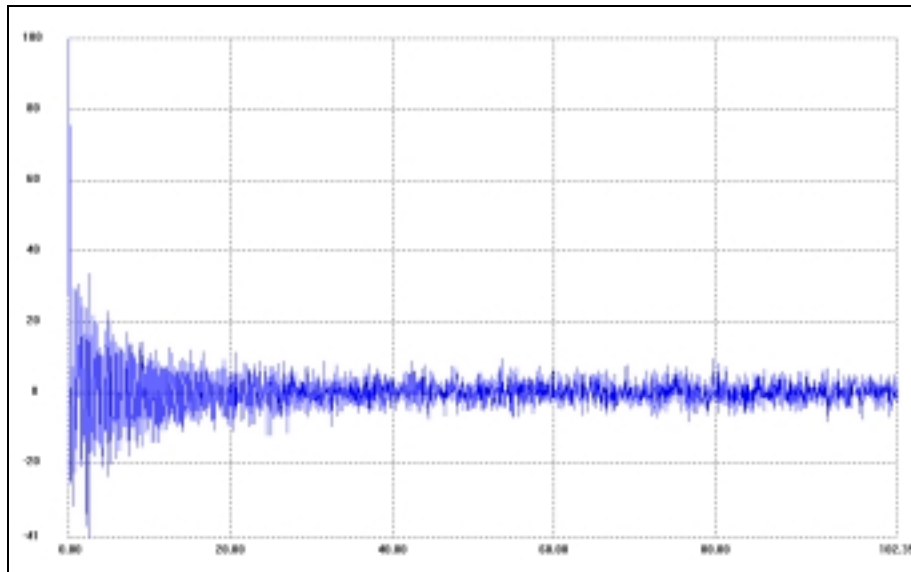


Abbildung 51: Roh-Spektrum

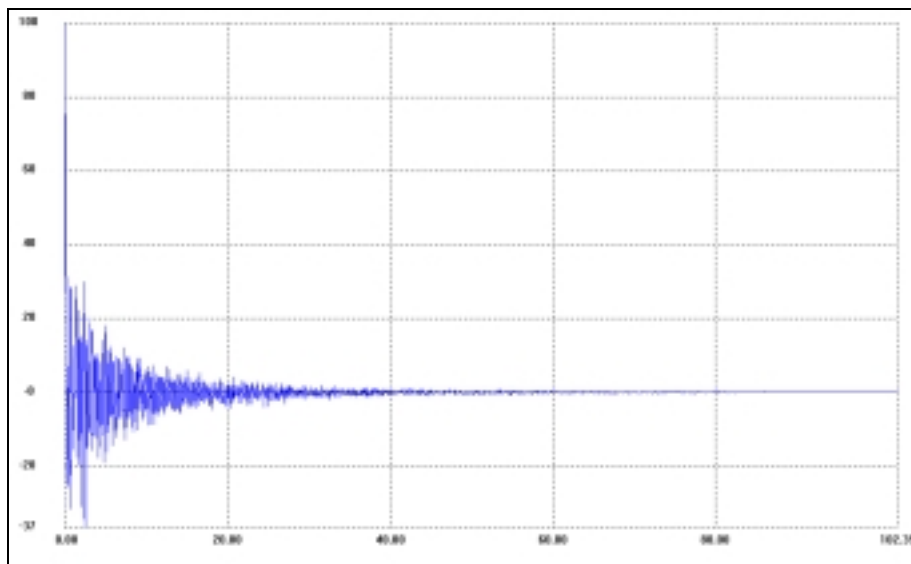


Abbildung 52: Spektrum nach der exponentiellen Filterung

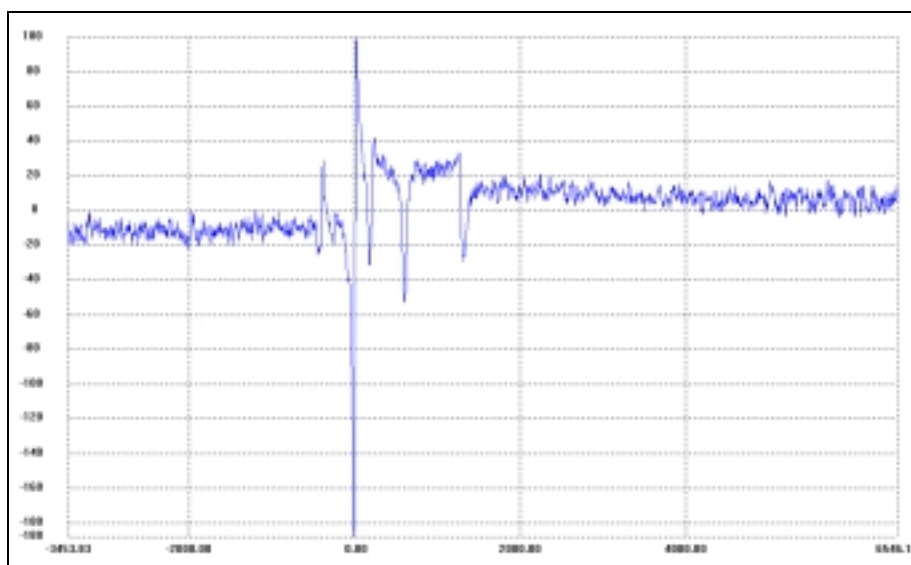


Abbildung 53: Spektrum nach der Fourier-Transformation (FFT)

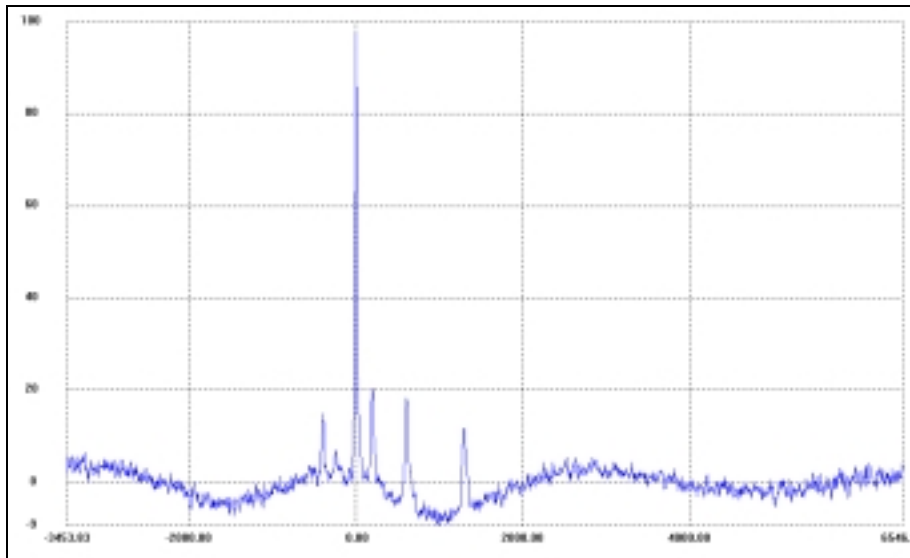


Abbildung 54: Spektrum nach der Pasenkorrektur

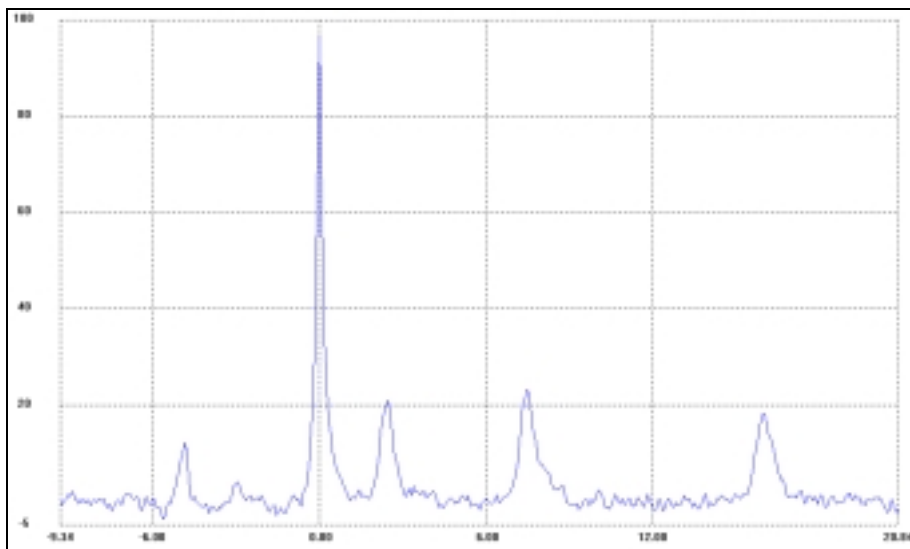


Abbildung 55: Spektrum nach dem Zoomen und der Basislinien-Korrektur

	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
10“ n. Arbeitsbeginn	138.9 ± 8.7	** 97.1 ± 8.9 <sup>ns</sup>	125.9 ± 6.1	98.3 ± 7.8
30“ n. Arbeitsbeginn	133.3 ± 4.7	* 124.9 ± 5.1 <sup>ns</sup>	133.1 ± 4.7	130.3 ± 5.4
60“ n. Arbeitsbeginn	133.9 ± 4.8	* 127.5 ± 5.4 <sup>ns</sup>	132.5 ± 5.0	128.5 ± 5.5
90“ n. Arbeitsbeginn	132.9 ± 4.7	* 128.0 ± 5.1 <sup>ns</sup>	129.7 ± 5.2	* 121.1 ± 5.9 <sup>ns</sup>
120“ n. Arbeitsbeginn	133.3 ± 4.9	* 127.9 ± 5.4 <sup>ns</sup>	125.2 ± 5.9 <sup>ns</sup>	** 106.3 ± 6.7 <sup>ns</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	132.9 ± 4.8	** 119.4 ± 5.4 <sup>ns</sup>	119.2 ± 7.3 <sup>ns</sup>	** 97.2 ± 7.7 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	126.0 ± 5.9	** 103.2 ± 6.5 <sup>ns</sup>	108.2 ± 8.2 <sup>ns</sup>	** 75.9 ± 9.0 <sup>ns</sup>

**Tabelle 13: Statistische Auswertung der Kraft während Studie I<sub>31P-MRS</sub> über jeweils 10 Sekunden gemittelt**

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1‘ gemittelt)	100.1 ± 0.6	100.1 ± 0.7	101.2 ± 0.6	* 103.9 ± 1.1 <sup>ns</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60“ n. Arbeitsbeginn	68.7 ± 2.5 <sup>ns</sup>	** 60.7 ± 3.0 <sup>ns</sup>	62.6 ± 2.5 <sup>ns</sup>	** 48.0 ± 4.2 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	50.1 ± 3.8 <sup>ns</sup>	** 40.9 ± 4.5 <sup>ns</sup>	37.4 ± 3.6 <sup>ns</sup>	** 26.5 ± 3.2 <sup>ns</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
τ	35.4 ± 24	* 27.3 ± 13	43 ± 23	* 30.9 ± 17
10“ n. KON-Ende	54.5 ± 4.0 <sup>ns</sup>	50.1 ± 4.7 <sup>ns</sup>	40.1 ± 3.6 <sup>ns</sup>	* 33.9 ± 4.2 <sup>ns</sup>
30“ n. KON-Ende	71.3 ± 3.5 <sup>ns</sup>	74.6 ± 3.9 <sup>ns</sup>	57.8 ± 3.7 <sup>ns</sup>	58.5 ± 4.7 <sup>ns</sup>
1‘ n. KON-Ende	88.3 ± 2.9 <sup>ns</sup>	90.8 ± 2.4 <sup>ns</sup>	81.5 ± 3.5 <sup>ns</sup>	83.2 ± 3.9 <sup>ns</sup>
4‘ n. KON-Ende	102.1 ± 1.0	** 107.5 ± 1.5 <sup>ns</sup>	100.6 ± 1.6	* 103.1 ± 1.6 <sup>ns</sup>
12‘ n. KON-Ende	102.4 ± 1.0	* 105.0 ± 0.9 <sup>ns</sup>	101.2 ± 1.1	** 106.9 ± 1.0 <sup>ns</sup>

**Tabelle 14: Statistische Auswertung der rel. [PCr] während Studie I<sub>31P-MRS</sub>**

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1‘ gemittelt)	10.51 ± 0.79	* 13.45 ± 0.83	9.24 ± 0.72	8.37 ± 0.83 <sup>ns</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60“ n. Arbeitsbeginn	40.9 ± 0.8 <sup>ns</sup>	** 50.8 ± 3.5 <sup>ns</sup>	46.6 ± 2.5 <sup>ns</sup>	** 61.1 ± 3.81 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	56.7 ± 3.8 <sup>ns</sup>	** 65.4 ± 4.2 <sup>ns</sup>	68.6 ± 3.5 <sup>ns</sup>	** 77 ± 3.3 <sup>ns</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10“ n. KON-Ende	50.9 ± 3.8 <sup>ns</sup>	* 56.0 ± 4.0 <sup>ns</sup>	63.8 ± 3.9 <sup>ns</sup>	* 70.0 ± 4.4 <sup>ns</sup>
30“ n. KON-Ende	34.6 ± 3.2 <sup>ns</sup>	32.4 ± 3.6 <sup>ns</sup>	45.7 ± 3.7 <sup>ns</sup>	45.6 ± 4.2 <sup>ns</sup>
1‘ n. KON-Ende	19.6 ± 2.6 <sup>ns</sup>	14.1 ± 2.4	21.6 ± 3.1 <sup>ns</sup>	22.2 ± 3.8 <sup>ns</sup>
4‘ n. KON-Ende	5.3 ± 0.8 <sup>ns</sup>	4.4 ± 0.6 <sup>ns</sup>	5.5 ± 0.6 <sup>ns</sup>	7.5 ± 0.9 <sup>ns</sup>
12‘ n. KON-Ende	8.5 ± 0.9 <sup>ns</sup>	7.8 ± 0.8 <sup>ns</sup>	8.4 ± 0.6 <sup>ns</sup>	7.1 ± 0.7 <sup>ns</sup>

**Tabelle 15: Statistische Auswertung der rel. [P<sub>i</sub>] während Studie I<sub>31P-MRS</sub>**

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	6.99 ± 0.01	** 7.04 ± 0.01	6.99 ± 0.01	7.01 ± 0.01 <sup>z</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	7.08 ± 0.01 <sup>z</sup>	* 7.06 ± 0.01 <sup>z</sup>	7.09 ± 0.01 <sup>z</sup>	** 7.05 ± 0.02 <sup>z</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	6.81 ± 0.02 <sup>z</sup>	** 6.77 ± 0.03 <sup>z</sup>	6.76 ± 0.02 <sup>z</sup>	** 6.72 ± 0.03 <sup>z</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	6.75 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.76 ± 0.03 <sup>z</sup>	6.73 ± 0.02 <sup>z</sup>	** 6.68 ± 0.02 <sup>z</sup>
30'' n. KON-Ende	6.72 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.74 ± 0.03 <sup>z</sup>	6.70 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.68 ± 0.04 <sup>z</sup>
1' n. KON-Ende	6.73 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.75 ± 0.03 <sup>z</sup>	6.67 ± 0.03 <sup>z</sup>	6.67 ± 0.05 <sup>z</sup>
4' n. KON-Ende	6.89 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.88 ± 0.04 <sup>z</sup>	6.89 ± 0.02 <sup>z</sup>	6.85 ± 0.04 <sup>z</sup>
12' n. KON-Ende	6.98 ± 0.01	6.99 ± 0.01	6.99 ± 0.01	7.01 ± 0.01

Tabelle 16: Statistische Auswertung des pH<sub>i</sub> während Studie I<sub>31P-MRS</sub>

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	21.4 ± 1.5	24.8 ± 1.7	19.9 ± 1.8	21.5 ± 1.7 <sup>z</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	57.8 ± 4.2 <sup>z</sup>	** 69.0 ± 3.8 <sup>z</sup>	70.5 ± 6.4 <sup>z</sup>	*** 110.2 ± 14.1 <sup>z</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	55.3 ± 7.4 <sup>z</sup>	*** 96.2 ± 3.8 <sup>z</sup>	84.2 ± 16.8 <sup>z</sup>	*** 129.0 ± 21.3 <sup>z</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	46.9 ± 5.22 <sup>z</sup>	** 59.4 ± 12.4 <sup>z</sup>	69.1 ± 9.4 <sup>z</sup>	** 79.1 ± 10.0 <sup>z</sup>
30'' n. KON-Ende	25.4 ± 2.4 <sup>z</sup>	28.4 ± 3.0 <sup>z</sup>	35.1 ± 3.7 <sup>z</sup>	35.7 ± 6.7 <sup>z</sup>
1' n. KON-Ende	18.9 ± 1.9	19.5 ± 1.8 <sup>z</sup>	18.3 ± 2.6	19.8 ± 2.8 <sup>z</sup>
4' n. KON-Ende	16.4 ± 1.2 <sup>z</sup>	16.9 ± 2.4 <sup>z</sup>	18.3 ± 1.6	14.4 ± 1.6 <sup>z</sup>
12' n. KON-Ende	18.6 ± 1.4	19.0 ± 1.4 <sup>z</sup>	20.9 ± 1.8	19.2 ± 1.4

Tabelle 17: Statistische Auswertung der absoluten [ADP] während Studie I<sub>31P-MRS</sub>

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	2.5 ± 0.5	3.0 ± 0.4	3.4 ± 0.6 <sup>z</sup>	3.9 ± 0.5 <sup>z</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	4.5 ± 0.8 <sup>z</sup>	* 6.2 ± 0.8 <sup>z</sup>	4.3 ± 0.5 <sup>z</sup>	** 9.6 ± 1.3 <sup>z</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	8.0 ± 1.1 <sup>z</sup>	* 11.2 ± 1.5 <sup>z</sup>	9.9 ± 1.4 <sup>z</sup>	** 14.1 ± 1.9 <sup>z</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	7.8 ± 1.0 <sup>z</sup>	* 11.0 ± 1.2 <sup>z</sup>	9.9 ± 1.4 <sup>z</sup>	** 15.1 ± 2.2 <sup>z</sup>
30'' n. KON-Ende	7.5 ± 0.9 <sup>z</sup>	* 10.2 ± 1.7 <sup>z</sup>	10.1 ± 1.4 <sup>z</sup>	* 12.3 ± 2.9 <sup>z</sup>
1' n. KON-Ende	6.3 ± 0.6 <sup>z</sup>	* 10.1 ± 1.5 <sup>z</sup>	9.8 ± 1.7 <sup>z</sup>	* 12.9 ± 1.9 <sup>z</sup>
4' n. KON-Ende	4.9 ± 0.7 <sup>z</sup>	6.5 ± 0.9 <sup>z</sup>	7.6 ± 1.3 <sup>z</sup>	* 10.6 ± 1.1 <sup>z</sup>
12' n. KON-Ende	3.2 ± 0.4	3.6 ± 0.5	2.8 ± 0.6	4.5 ± 0.5

Tabelle 18: Statistische Auswertung der rel. [PME] während Studie I<sub>31P-MRS</sub>

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	-56.7 ± 0.3	-55.8 ± 0.2	-57.1 ± 0.3 <sup>ns</sup>	-57.3 ± 0.3 <sup>ns</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	-51.0 ± 0.3 <sup>ns</sup>	* -49.8 ± 0.4 <sup>ns</sup>	-50.3 ± 0.4 <sup>ns</sup>	* -48.2 ± 0.5 <sup>ns</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	-48.6 ± 0.5 <sup>ns</sup>	* -47.3 ± 0.7 <sup>ns</sup>	-47.0 ± 0.5 <sup>ns</sup>	* -45.5 ± 0.5 <sup>ns</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	-49.3 ± 0.5 <sup>ns</sup>	-48.7 ± 0.6 <sup>ns</sup>	-47.6 ± 0.5 <sup>ns</sup>	-46.5 ± 0.6 <sup>ns</sup>
30'' n. KON-Ende	-51.7 ± 0.5 <sup>ns</sup>	-52.0 ± 0.5 <sup>ns</sup>	-50.1 ± 0.5 <sup>ns</sup>	-50.1 ± 0.7 <sup>ns</sup>
1' n. KON-Ende	-54.6 ± 0.6	-55.4 ± 0.6	-54.1 ± 0.7 <sup>ns</sup>	-53.6 ± 0.7 <sup>ns</sup>
4' n. KON-Ende	-59.4 ± 0.4 <sup>ns</sup>	-59.4 ± 0.4 <sup>ns</sup>	-59.0 ± 0.6 <sup>ns</sup>	-58.0 ± 0.4 <sup>ns</sup>
12' n. KON-Ende	-57.6 ± 0.4	-57.8 ± 0.3 <sup>ns</sup>	-57.4 ± 0.3	-58.1 ± 0.4 <sup>ns</sup>

Tabelle 19: Statistische Auswertung der  $\Delta G_{ATP}$  während Studie I<sub>31P</sub>-MRS

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	0.41 ± 0.02	* 0.44 ± 0.01	0.39 ± 0.01	0.38 ± 0.02 <sup>ns</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	0.68 ± 0.02 <sup>ns</sup>	* 0.72 ± 0.01 <sup>ns</sup>	0.70 ± 0.02 <sup>ns</sup>	** 0.77 ± 0.02 <sup>ns</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	0.66 ± 0.02 <sup>ns</sup>	** 0.72 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.73 ± 0.02 <sup>ns</sup>	** 0.78 ± 0.02 <sup>ns</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	0.63 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.64 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.69 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.71 ± 0.03 <sup>ns</sup>
30'' n. KON-Ende	0.49 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.48 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.57 ± 0.03 <sup>ns</sup>	0.54 ± 0.03 <sup>ns</sup>
1' n. KON-Ende	0.37 ± 0.03	0.35 ± 0.03	0.39 ± 0.03	0.36 ± 0.03
4' n. KON-Ende	0.30 ± 0.01 <sup>ns</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.29 ± 0.03 <sup>ns</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>ns</sup>
12' n. KON-Ende	0.36 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.35 ± 0.02 <sup>ns</sup>	0.37 ± 0.02	0.35 ± 0.02 <sup>ns</sup>

Tabelle 20: Statistische Auswertung der rel. ATP-Syntheserate während Studie I<sub>31P</sub>-MRS

	RUHE 1 t = (0 - 1)	RUHE 1 <sup>#</sup> t = (0 - 1)	RUHE 2 t = (18 - 19)	RUHE 2 <sup>#</sup> t = (18 - 19)
(über 1' gemittelt)	0.96 ± 0.07	** 1.01 ± 0.06	0.39 ± 0.06 <sup>ns</sup>	0.38 ± 0.05 <sup>ns</sup>
	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
60'' n. Arbeitsbeginn	3.18 ± 0.24 <sup>ns</sup>	* 3.93 ± 0.34 <sup>ns</sup>	3.50 ± 0.21 <sup>ns</sup>	* 4.87 ± 0.45 <sup>ns</sup>
180'' n. Arbeitsbeginn	6.66 ± 0.62 <sup>ns</sup>	** 7.68 ± 0.70 <sup>ns</sup>	8.26 ± 0.61 <sup>ns</sup>	** 9.30 ± 0.62 <sup>ns</sup>
	REG 1	REG 1 <sup>#</sup>	REG 2	REG 2 <sup>#</sup>
10'' n. KON-Ende	6.28 ± 0.61 <sup>ns</sup>	6.91 ± 0.05 <sup>ns</sup>	8.00 ± 0.61 <sup>ns</sup>	8.68 ± 0.62 <sup>ns</sup>
30'' n. KON-Ende	4.51 ± 0.58 <sup>ns</sup>	3.95 ± 0.53 <sup>ns</sup>	5.75 ± 0.62 <sup>ns</sup>	6.08 ± 0.70 <sup>ns</sup>
1' n. KON-Ende	2.41 ± 0.47	1.87 ± 0.33	2.83 ± 0.41	3.11 ± 0.59 <sup>ns</sup>
4' n. KON-Ende	0.47 ± 0.08 <sup>ns</sup>	0.42 ± 0.05 <sup>ns</sup>	0.51 ± 0.11 <sup>ns</sup>	0.7 ± 0.10 <sup>ns</sup>
12' n. KON-Ende	0.78 ± 0.05 <sup>ns</sup>	0.64 ± 0.04 <sup>ns</sup>	0.8 ± 0.08	0.65 ± 0.08 <sup>ns</sup>

Tabelle 21: Statistische Auswertung der [H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup>] während Studie I<sub>31P</sub>-MRS

	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
10“ n. Arbeitsbeginn	2.3 ± 0.3	* 3.1 ± 0.4	1.9 ± 0.2	* 3.1 ± 0.3
30“ n. Arbeitsbeginn	2.2 ± 0.2	* 3.2 ± 0.3	2.2 ± 0.3 <sup>ns</sup>	* 3.4 ± 0.4
60“ n. Arbeitsbeginn	2.3 ± 0.2	* 3.1 ± 0.3	2.3 ± 0.3 <sup>ns</sup>	* 3.3 ± 0.4
90“ n. Arbeitsbeginn	2.4 ± 0.3	* 2.9 ± 0.3 <sup>ns</sup>	2.2 ± 0.3 <sup>ns</sup>	* 3.1 ± 0.4
120“ n. Arbeitsbeginn	2.3 ± 0.2	* 2.9 ± 0.3 <sup>ns</sup>	2.1 ± 0.3	* 2.9 ± 0.3
150“ n. Arbeitsbeginn	2.2 ± 0.3	* 2.7 ± 0.3 <sup>ns</sup>	2.0 ± 0.3	* 3.5 ± 0.6 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	2.1 ± 0.3	* 2.8 ± 0.3 <sup>ns</sup>	1.9 ± 0.2	** 4.4 ± 0.7 <sup>ns</sup>

Tabelle 22: Statistische Auswertung des rms-Wertes während Studie I<sub>31P-MRS</sub>

	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
10“ n. Arbeitsbeginn	146.0 ± 5.4	144.3 ± 2.1	152.5 ± 6	* 143.4 ± 1.1
30“ n. Arbeitsbeginn	146.0 ± 3.9	* 132.8 ± 1.9 <sup>ns</sup>	145.1 ± 4.7 <sup>ns</sup>	** 123.9 ± 3.3 <sup>ns</sup>
60“ n. Arbeitsbeginn	147.4 ± 5.3	** 123.9 ± 6.5 <sup>ns</sup>	135.5 ± 3.8 <sup>ns</sup>	** 116.2 ± 3.9 <sup>ns</sup>
90“ n. Arbeitsbeginn	145.7 ± 6.2	** 117.7 ± 6.3 <sup>ns</sup>	130.6 ± 3.4 <sup>ns</sup>	** 113.9 ± 4.5 <sup>ns</sup>
120“ n. Arbeitsbeginn	143.3 ± 6.0	** 115.4 ± 6.2 <sup>ns</sup>	124.8 ± 3.6 <sup>ns</sup>	** 107.7 ± 3.4 <sup>ns</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	138.0 ± 5.2 <sup>ns</sup>	** 105.2 ± 6.2 <sup>ns</sup>	118.9 ± 3.3 <sup>ns</sup>	* 103.9 ± 3.1 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	132.2 ± 5.6 <sup>ns</sup>	** 109.9 ± 6.5 <sup>ns</sup>	114.8 ± 3.1 <sup>ns</sup>	* 108.9 ± 3.2 <sup>ns</sup>

Tabelle 23: Statistische Auswertung der Medianfrequenz während während Studie I<sub>31P-MRS</sub>

	KON 1	KON 1 <sup>#</sup>	KON 2	KON 2 <sup>#</sup>
10“ n. Arbeitsbeginn	156.5 ± 12.0	** 145.1 ± 20.2 <sup>ns</sup>	152.3 ± 10.8	151.5 ± 10.7
30“ n. Arbeitsbeginn	154.6 ± 11.7	152.2 ± 18.2	154.5 ± 11.6	148.2 ± 10.7
60“ n. Arbeitsbeginn	156.6 ± 14.0	152.5 ± 17.8	154.8 ± 11.6	152.0 ± 10.5
90“ n. Arbeitsbeginn	155.7 ± 13.6	150.4 ± 17.8	155.2 ± 12.1	151.2 ± 10.7
120“ n. Arbeitsbeginn	154.2 ± 13.2	* 145.2 ± 17.4 <sup>ns</sup>	154.2 ± 11.9	* 142.8 ± 14.8 <sup>ns</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	155.1 ± 13.6	** 139.7 ± 17.9 <sup>ns</sup>	150.4 ± 12.1	* 135.1 ± 18.2 <sup>ns</sup>
180“ n. Arbeitsbeginn	155.8 ± 13.8	** 134.2 ± 17.6 <sup>ns</sup>	145.9 ± 10.7 <sup>ns</sup>	** 124.1 ± 20.2 <sup>ns</sup>

Tabelle 24: Statistische Auswertung der Kraft während Studie II<sub>Q</sub>



	<b>RUHE 20 %</b>	<b>RUHE 20 %<sup>#</sup></b>	<b>RUHE 40 %</b>	<b>RUHE 40 %<sup>#</sup></b>
10“ v. Arbeitsbeginn	0.01 ± 0.06	-0.01 ± 0.12	-0.32 ± 0.22	0.28 ± 0.14
	<b>KON-H 20 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>KON-H 40 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 40 %</b>
30“ n. Arbeitsbeginn	0.06 ± 0.09	-0.11 ± 0.08	0.15 ± 0.16 <sup>§</sup>	0.33 ± 0.2 <sup>§§</sup>
90“ n. Arbeitsbeginn	0.32 ± 0.14 <sup>§</sup>	0.41 ± 0.16 <sup>§</sup>	1.92 ± 0.46 <sup>§§§</sup>	2.23 ± 0.56 <sup>§§§§</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	0.51 ± 0.19 <sup>§§</sup>	0.85 ± 0.25 <sup>§§</sup>	3.42 ± 0.50 <sup>§§§§</sup>	3.86 ± 0.36 <sup>§§§§</sup>
	<b>REG-H 20 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>REG-H 40 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 40 %</b>
10“ n. KON-Ende	1.09 ± 0.39 <sup>§§§§</sup>	1.17 ± 0.26 <sup>§§§§</sup>	3.83 ± 0.71 <sup>§§§§</sup>	* 4.70 ± 0.59 <sup>§§§§</sup>
1‘ n. KON-Ende	1.41 ± 0.31 <sup>§§§§</sup>	1.39 ± 0.24 <sup>§§§§</sup>	4.01 ± 0.85 <sup>§§§§</sup>	4.17 ± 0.51 <sup>§§§§</sup>
2‘ n. KON-Ende	1.08 ± 0.29 <sup>§§§§</sup>	1.25 ± 0.19 <sup>§§§§</sup>	4.27 ± 0.72 <sup>§§§§</sup>	4.36 ± 0.36 <sup>§§§§</sup>
3‘ n. KON-Ende	0.96 ± 0.35 <sup>§§§</sup>	1.14 ± 0.2 <sup>§§§§</sup>	4.30 ± 0.62 <sup>§§§§</sup>	3.94 ± 0.4 <sup>§§§§</sup>
4‘ n. KON-Ende	0.79 ± 0.32 <sup>§§§</sup>	0.94 ± 0.26 <sup>§§§</sup>	4.17 ± 0.61 <sup>§§§§</sup>	3.85 ± 0.44 <sup>§§§§</sup>
6‘ n. KON-Ende	0.3 ± 0.19 <sup>§</sup>	0.23 ± 0.28 <sup>§</sup>	2.54 ± 0.78 <sup>§§§</sup>	2.95 ± 0.77 <sup>§§§</sup>
12‘ n. KON-Ende	0.18 ± 0.12	-0.01 ± 0.21	1.88 ± 0.67 <sup>§§§</sup>	2.08 ± 0.63 <sup>§§§§</sup>

Tabelle 25: Δ [Lak] während des Arbeits- und Erholungsprotokolls (Studie III<sub>UENP</sub>)

	<b>RUHE 20 %</b>	<b>RUHE 20 %<sup>#</sup></b>	<b>RUHE 40 %</b>	<b>RUHE 40 %<sup>#</sup></b>
10“ v. Arbeitsbeginn	29.7 ± 3.3	31.8 ± 1.7	29.2 ± 3.4	28.3 ± 1.3
	<b>KON-H 20 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>KON-H 40 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 40 %</b>
30“ n. Arbeitsbeginn	21.3 ± 1.4 <sup>§§§§</sup>	23.7 ± 1.4 <sup>§§§§</sup>	23.8 ± 1.4 <sup>§§§§</sup>	23.8 ± 1.4 <sup>§§§§</sup>
90“ n. Arbeitsbeginn	21.8 ± 1.2 <sup>§§§§</sup>	23.1 ± 1.2 <sup>§§§§</sup>	23.4 ± 1.5 <sup>§§§§</sup>	22.5 ± 1.2 <sup>§§§§</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	22.5 ± 1.1 <sup>§§§§</sup>	24.3 ± 1.1 <sup>§§§§</sup>	25.2 ± 1.7 <sup>§§§</sup>	26.6 ± 1.6 <sup>§§§</sup>
	<b>REG-H 20 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>REG-H 40 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 40 %</b>
10“ n. KON-Ende	26.8 ± 1.6	28.8 ± 1.9	32.5 ± 2.0	31.1 ± 1.2 <sup>§§§§</sup>
1‘ n. KON-Ende	41.6 ± 3.8 <sup>§§§</sup>	42.0 ± 3.2 <sup>§§§</sup>	50.8 ± 2.2 <sup>§§§§</sup>	48.9 ± 1.7 <sup>§§§§</sup>
2‘ n. KON-Ende	40.9 ± 3.9 <sup>§§§</sup>	40.3 ± 3.8 <sup>§§§</sup>	55.2 ± 1.6 <sup>§§§§</sup>	52.3 ± 0.9 <sup>§§§§</sup>
3‘ n. KON-Ende	35.9 ± 3.2 <sup>§</sup>	36.0 ± 3.9 <sup>§</sup>	53.4 ± 1.7 <sup>§§§§</sup>	53.4 ± 1.3 <sup>§§§§</sup>
4‘ n. KON-Ende	33.9 ± 2.7 <sup>§</sup>	33.7 ± 3.8 <sup>§</sup>	49.3 ± 3.6 <sup>§§§§</sup>	50.9 ± 2.0 <sup>§§§§</sup>
6‘ n. KON-Ende	32.1 ± 5.3	34.1 ± 9.2	39.0 ± 5.4 <sup>§§§</sup>	38.4 ± 5.8 <sup>§§§</sup>
12‘ n. KON-Ende	27.9 ± 2.5	28.5 ± 0.9	35.0 ± 2.2 <sup>§</sup>	33.4 ± 1.7 <sup>§</sup>

Tabelle 26: venöser PO<sub>2</sub> während des Arbeits- und Erholungsprotokolls (Studie III<sub>UENP</sub>)

	<b>RUHE 20 %</b>	<b>RUHE 20 %<sup>#</sup></b>	<b>RUHE 40 %</b>	<b>RUHE 40 %<sup>#</sup></b>
10“ v. Arbeitsbeginn	51.1 ± 1.2	50.8 ± 1.1	54.4 ± 1.4	54.4 ± 1.2
	<b>KON-H 20 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>KON-H 40 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 40 %</b>
30“ n. Arbeitsbeginn	57.9 ± 0.9 <sup>st</sup>	57.0 ± 2.0 <sup>st</sup>	58.9 ± 1.1 <sup>st</sup>	58.6 ± 1.1 <sup>st</sup>
90“ n. Arbeitsbeginn	60.8 ± 0.8 <sup>st</sup>	62.6 ± 2.3 <sup>stst</sup>	72.0 ± 1.6 <sup>stst</sup>	73.0 ± 2.2 <sup>stst</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	62.8 ± 1.0 <sup>stst</sup>	65.2 ± 2.5 <sup>stst</sup>	83.9 ± 2.7 <sup>ststst</sup>	87.9 ± 1.7 <sup>ststst</sup>
	<b>REG-H 20 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>REG-H 40 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 40 %</b>
10“ n. KON-Ende	66.5 ± 2.9 <sup>stst</sup>	71.0 ± 3.5 <sup>ststst</sup>	107.4 ± 5.9 <sup>ststst</sup>	105.1 ± 4.4 <sup>ststst</sup>
1‘ n. KON-Ende	59.2 ± 1.6 <sup>stst</sup>	60.1 ± 2.7 <sup>stst</sup>	78.3 ± 3.5 <sup>ststst</sup>	77.6 ± 2.4 <sup>ststst</sup>
2‘ n. KON-Ende	52.9 ± 1.2	54.3 ± 2.3 <sup>st</sup>	59.8 ± 1.9 <sup>st</sup>	60.9 ± 1.7 <sup>st</sup>
3‘ n. KON-Ende	52.3 ± 1.1	53.8 ± 2.1	54.8 ± 1.1	56.6 ± 1.3
4‘ n. KON-Ende	52.2 ± 0.9	53.9 ± 2.3	53.3 ± 0.9	54.5 ± 1.3
6‘ n. KON-Ende	51.0 ± 1.6	50.4 ± 3.4	49.8 ± 1.9 <sup>st</sup>	52.6 ± 4.7
12‘ n. KON-Ende	52.1 ± 0.5	51.6 ± 0.8	50.0 ± 1.0 <sup>st</sup>	52.9 ± 1.7

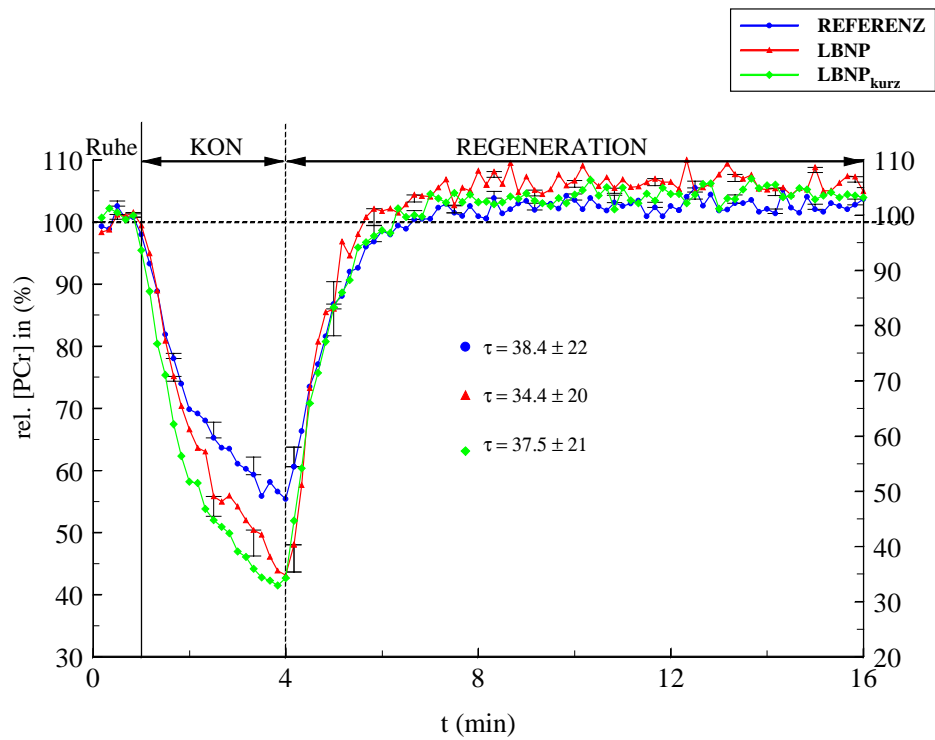
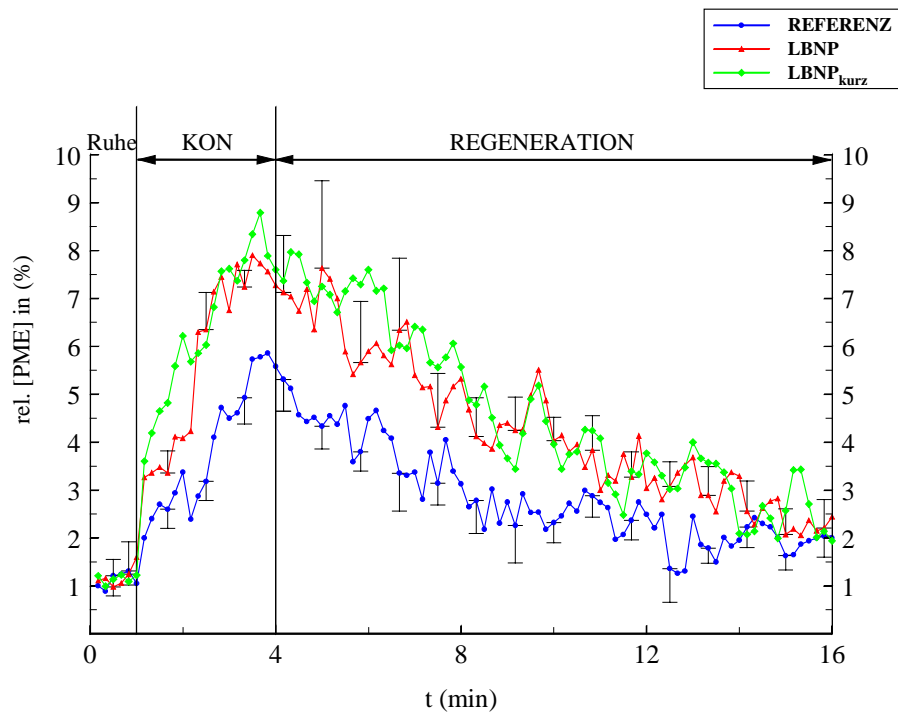
Tabelle 27: venöser PCO<sub>2</sub> während des Arbeits- und Erholungsprotokolls (Studie III<sub>UENP</sub>)

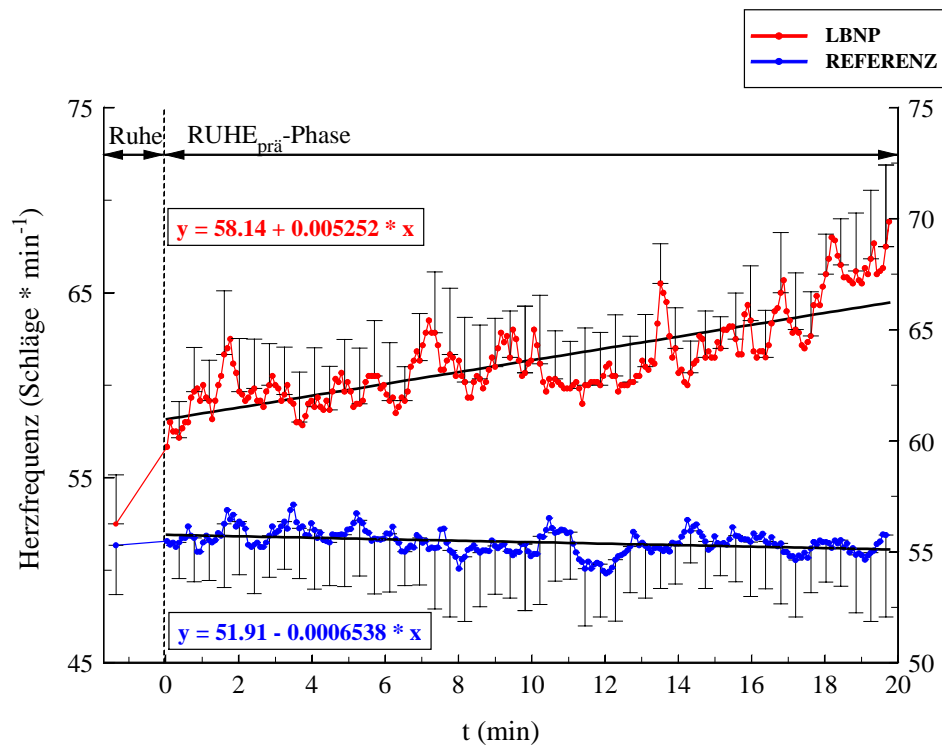
	<b>RUHE 20 %</b>	<b>RUHE 20 %<sup>#</sup></b>	<b>RUHE 40 %</b>	<b>RUHE 40 %<sup>#</sup></b>
10“ v. Arbeitsbeginn	7.36 ± 0.01	7.36 ± 0.01	7.35 ± 0.01	7.34 ± 0.01
	<b>KON-H 20 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>KON-H 40 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 40 %</b>
30“ n. Arbeitsbeginn	7.34 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.35 ± 0.01	7.34 ± 0.01	7.34 ± 0.01
90“ n. Arbeitsbeginn	7.33 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.32 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.26 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.26 ± 0.01 <sup>stst</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	7.31 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.30 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.20 ± 0.02 <sup>ststst</sup>	7.19 ± 0.01 <sup>ststst</sup>
	<b>REG-H 20 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>REG-H 40 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 40 %</b>
10“ n. KON-Ende	7.29 ± 0.02 <sup>ststst</sup>	7.27 ± 0.02 <sup>ststst</sup>	7.13 ± 0.02 <sup>ststst</sup>	7.13 ± 0.01 <sup>ststst</sup>
1‘ n. KON-Ende	7.31 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.30 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.20 ± 0.01 <sup>ststst</sup>	7.20 ± 0.01 <sup>ststst</sup>
2‘ n. KON-Ende	7.34 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.33 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.26 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.26 ± 0.01 <sup>stst</sup>
3‘ n. KON-Ende	7.34 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.33 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.28 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.28 ± 0.01 <sup>stst</sup>
4‘ n. KON-Ende	7.34 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.33 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.29 ± 0.01 <sup>stst</sup>	7.29 ± 0.01 <sup>stst</sup>
6‘ n. KON-Ende	7.35 ± 0.01	7.36 ± 0.02	7.32 ± 0.02 <sup>st</sup>	7.31 ± 0.02 <sup>st</sup>
12‘ n. KON-Ende	7.35 ± 0.00	7.36 ± 0.00	7.33 ± 0.01 <sup>st</sup>	7.32 ± 0.01 <sup>st</sup>

Tabelle 28: venöser pH während des Arbeits- und Erholungsprotokolls (Studie III<sub>UENP</sub>)

	<b>RUHE 20 %</b>	<b>RUHE 20 %<sup>#</sup></b>	<b>RUHE 40 %</b>	<b>RUHE 40 %<sup>#</sup></b>
10“ v. Arbeitsbeginn	0.1 ± 0.6	*** 3.1 ± 0.5 <sup>##</sup>	-0.1 ± 0.5	*** 2.4 ± 0.6 <sup>##</sup>
	<b>KON-H 20 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>KON-H 40 %</b>	<b>KON-H<sup>#</sup> 40 %</b>
30“ n. Arbeitsbeginn	1.3 ± 0.3 <sup>#</sup>	** 2.7 ± 0.6 <sup>##</sup>	0.8 ± 0.5 <sup>#</sup>	*** 2.8 ± 0.4 <sup>##</sup>
90“ n. Arbeitsbeginn	1.4 ± 0.3 <sup>##</sup>	** 2.5 ± 0.5 <sup>##</sup>	1.8 ± 0.4 <sup>#</sup>	*** 2.7 ± 0.4 <sup>##</sup>
150“ n. Arbeitsbeginn	1.5 ± 0.3 <sup>##</sup>	** 2.7 ± 0.3 <sup>##</sup>	2.3 ± 0.5 <sup>##</sup>	** 3.0 ± 0.3 <sup>##</sup>
	<b>REG-H 20 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 20 %</b>	<b>REG-H 40 %</b>	<b>REG-H<sup>#</sup> 40 %</b>
10“ n. KON-Ende	1.6 ± 0.5 <sup>##</sup>	** 2.4 ± 0.5 <sup>##</sup>	2.2 ± 0.4 <sup>##</sup>	* 3.0 ± 0.6 <sup>##</sup>
1‘ n. KON-Ende	1.2 ± 0.3 <sup>##</sup>	** 2.6 ± 0.3 <sup>##</sup>	1.7 ± 0.4 <sup>#</sup>	** 2.9 ± 0.3 <sup>##</sup>
2‘ n. KON-Ende	0.4 ± 0.3 <sup>#</sup>	*** 3.0 ± 0.6 <sup>##</sup>	1.4 ± 0.4 <sup>#</sup>	** 2.7 ± 0.4 <sup>##</sup>
3‘ n. KON-Ende	-0.1 ± 0.7	*** 2.1 ± 0.6 <sup>##</sup>	0.7 ± 0.5	** 2.0 ± 0.5 <sup>##</sup>
4‘ n. KON-Ende	-0.2 ± 0.5	*** 2.3 ± 0.6 <sup>##</sup>	1.1 ± 0.5 <sup>#</sup>	* 1.7 ± 0.5 <sup>##</sup>
6‘ n. KON-Ende	-0.6 ± 0.7 <sup>#</sup>	*** 1.8 ± 0.6 <sup>##</sup>	-0.2 ± 0.3	** 2.1 ± 0.6 <sup>##</sup>
12‘ n. KON-Ende	-0.6 ± 0.6 <sup>#</sup>	*** 1.8 ± 1 <sup>##</sup>	-0.1 ± 0.5	** 1.5 ± 0.5 <sup>##</sup>

Tabelle 29: Δ Hämatokrit während des Arbeits- und Erholungsprotokolls (Studie III<sub>UENP</sub>)

**LBNP<sub>kurz</sub>-Studie**Abbildung 56: rel. [PCr] während KON 1/1<sup>#</sup>/1<sup>##</sup> (n = 7)Abbildung 57: rel. [PME] während KON 1/1<sup>#</sup>/1<sup>##</sup> der LBNP<sub>kurz</sub>-Studie (n = 7)

**Studie II<sub>Q</sub>****Abbildung 58:** Herzfrequenz in der RUHE<sub>prä</sub>-Phase des LBNP-Versuchs (Studie II<sub>Q</sub>)

**Studie III<sub>UENP</sub>**

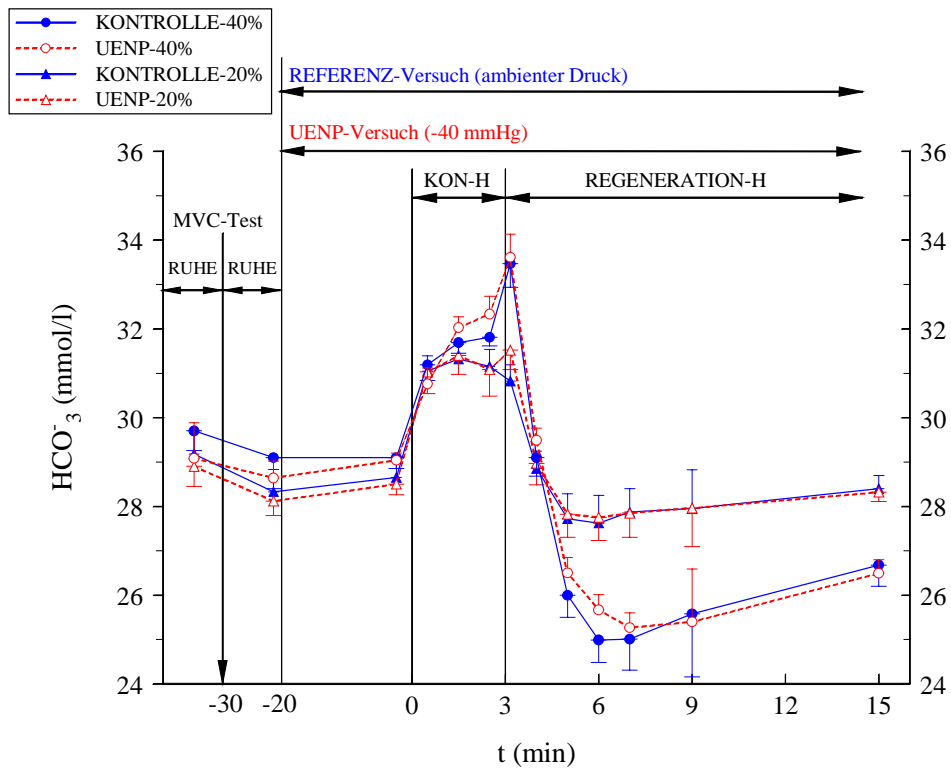


Abbildung 59:  $[\text{HCO}_3^-]$  während Studie III<sub>UENP</sub>

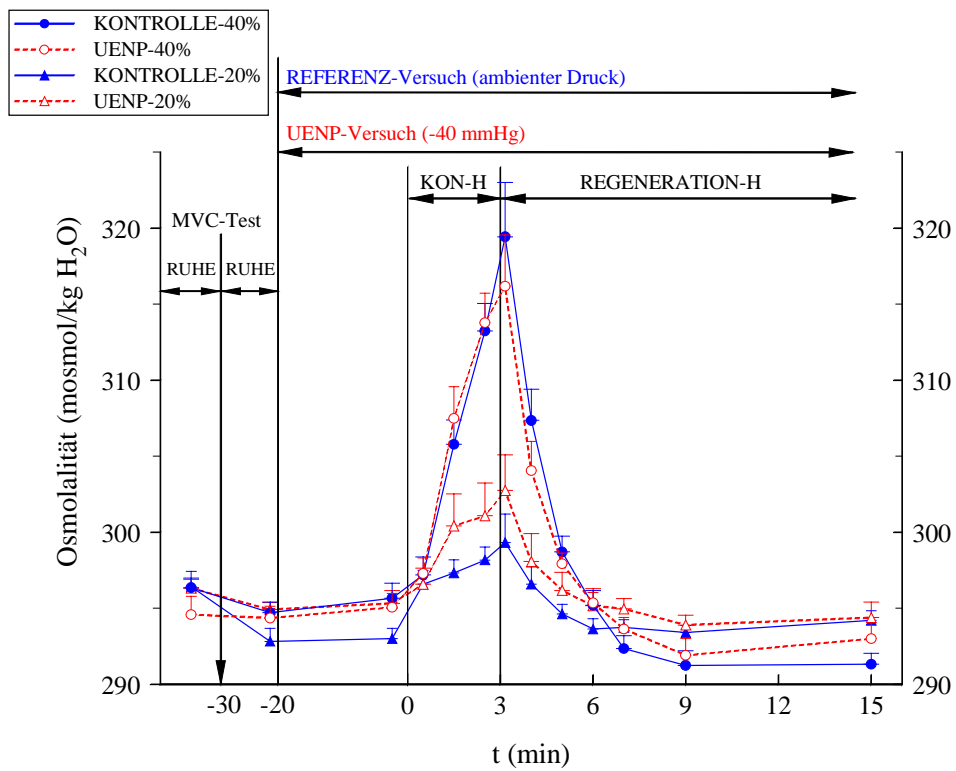
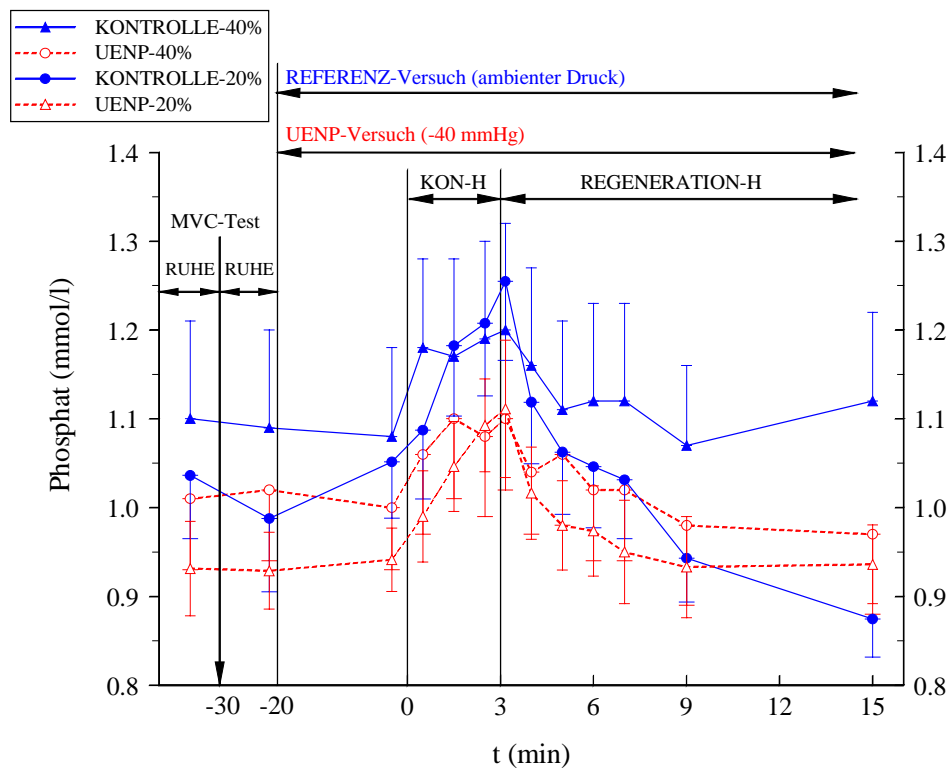
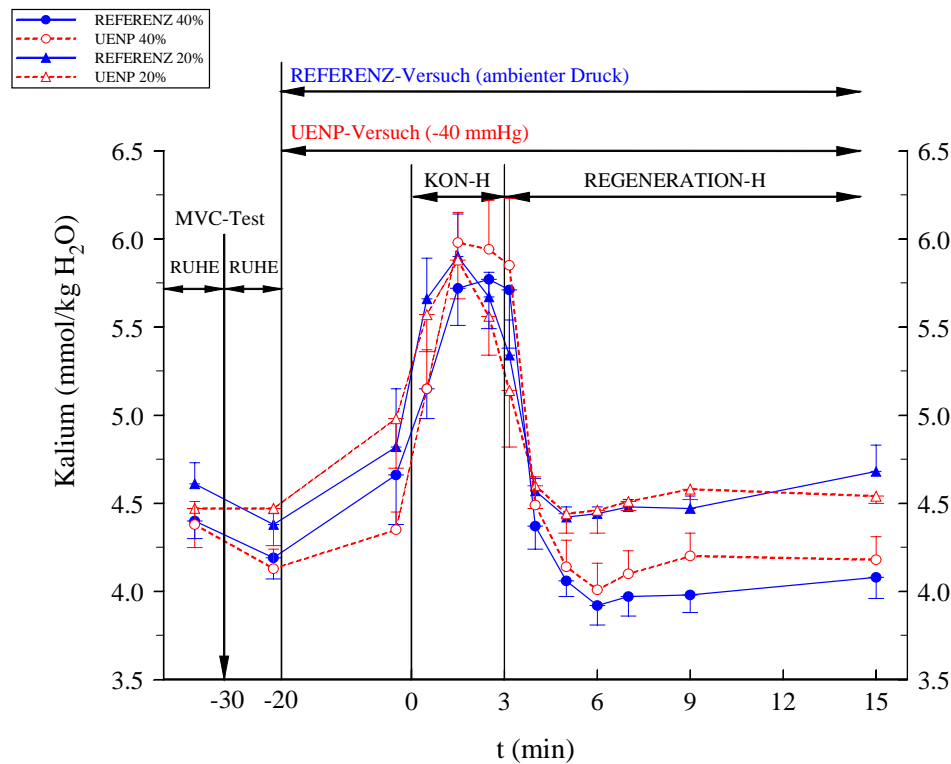


Abbildung 60: Osmolalität während Studie III<sub>UENP</sub>

Abbildung 61: [P<sub>i</sub>] während Studie III<sub>UENP</sub>Abbildung 62: [K<sup>+</sup>] während Studie III<sub>UENP</sub>

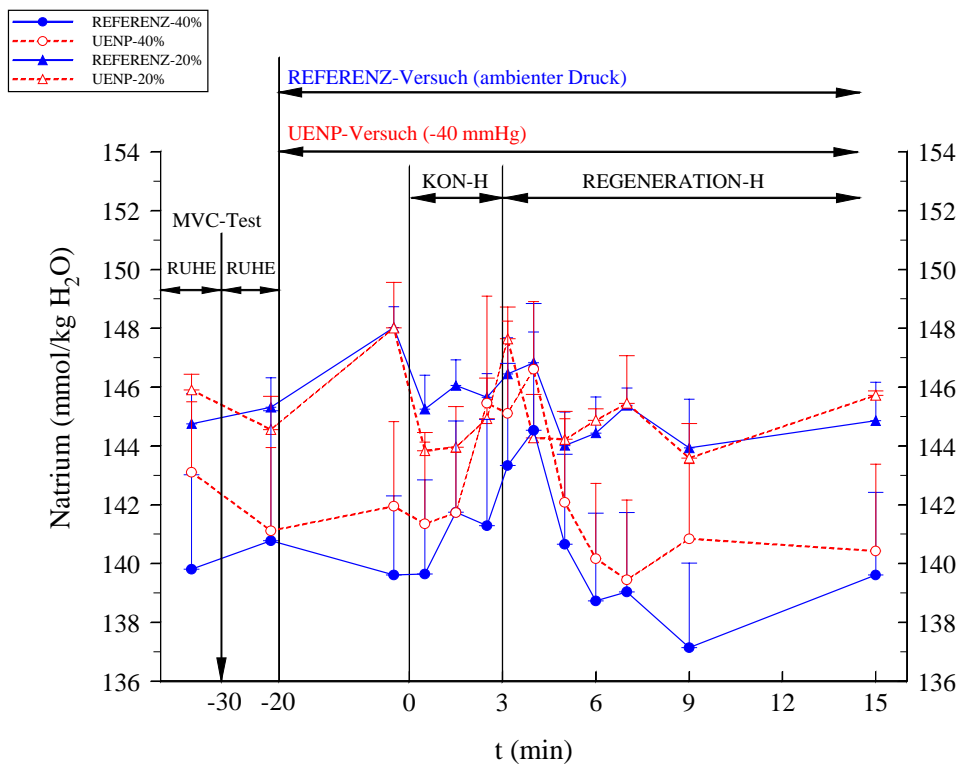


Abbildung 63: [Na<sup>+</sup>] während Studie III<sub>UENP</sub>

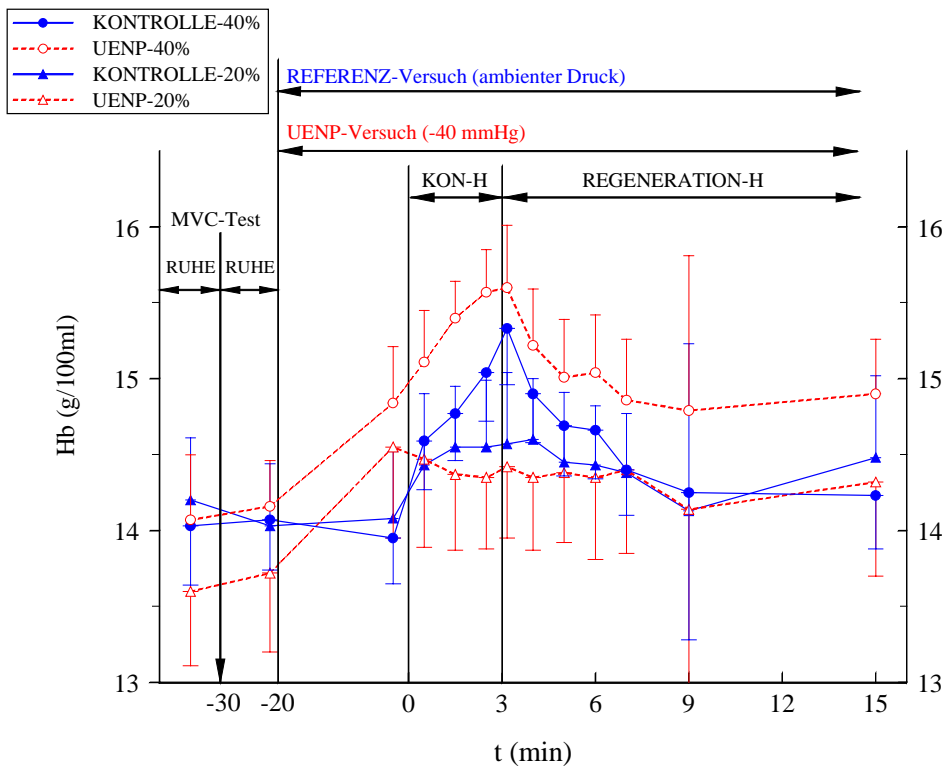


Abbildung 64: Hb-Gehalt während Studie III<sub>UENP</sub>



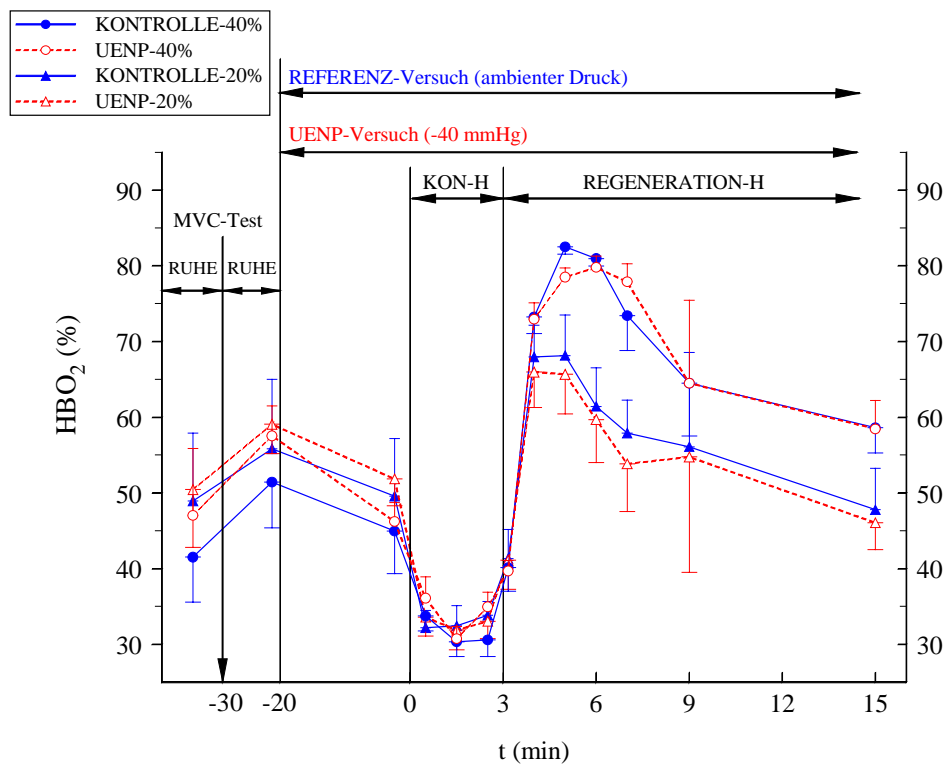


Abbildung 65: HbO<sub>2</sub> während Studie III<sub>UENP</sub>

## **A Oxidative Phosphorylierung**

Die Kontrolle der mitochondrialen ATP-Synthese innerhalb der Atmungskette wurde 1961 von MITCHELL mit Hilfe der chemiosmotischen Theorie erklärt (MITCHELL 1961, 1967, 1979). Am Anfang der Atmungskette werden die wasserstoffreichen Reduktionsäquivalente NADH und FADH<sub>2</sub> oxidiert, die im Verlauf des Citratzyklus, der  $\beta$ -Oxidation und des Aminosäurestoffwechsels durch die Reaktion von Enzymen der Klasse 1 (Oxidoreduktasen) entstehen. Die Elektronen dieser Reduktionsäquivalente fließen durch die unterschiedlichen Komplexe I-V der Atmungskette und werden anschließend in der Cytochrom-c-Oxidase auf molekularen Sauerstoff übertragen (BABCOCK und WIKSTRÖM 1992). Da zwischen den Donatoren (NADH<sub>2</sub> und FADH<sub>2</sub>) und dem Akzeptor (O<sub>2</sub>) eine große Redoxpotenzialdifferenz besteht, sind diese Reaktionen stark exergon. Die freie Enthalpie dieser Reaktionen wird dazu benutzt, um Protonen mit Hilfe der Komplexe I, III und IV der Atmungskette aus der Mitochondrienmatrix in den Intramembranraum zu transportieren (PAPA et al. 1994). Durch diesen Prozess wird ein elektrochemischer Protonenpotenzialgradient über die innere Mitochondrienmembran aufgebaut (KELL 1992). Als Maß für diesen Protonenpotenzialgradienten führte MITCHELL 1979 den Begriff der Protonenmotorischen Kraft ( $\Delta p$ ) ein. Die Protonenmotorische Kraft setzt sich zusammen aus ① dem Protonenkonzentrationsgradienten über der inneren Mitochondrienmembran ( $\Delta pH$ , innen alkalisch) sowie ② der Differenz der elektrischen Potenziale über der inneren Mitochondrienmembran ( $\Delta\Psi$ , innen negativ) und wird nach der Formel 4.1 berechnet (KELL 1992):

$$\Delta p = \Delta\Psi - 2,303 \cdot RT/F \cdot \Delta pH \quad (4.1)$$

$\Delta p$  protonenmotorische Kraft (mV), R Gaskonstante (8,315 J mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>), T absolute Temperatur (K), Faraday-Konstante (96480 J V<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>),  $\Delta\Psi$  Transmembrandifferenz der elektrischen Potenziale (mV)

### **A1 Die kinetische Kontroll-Theorie**

Die ATP-Syntheserate ist im Rahmen einer ökonomischen Energiebilanzierung dem ATP-Verbrauch angepasst (BALABAN 1990, BROWN 1992). Wie jedoch diese genaue Kopplung von Verbrauch und Synthese funktioniert, ist bislang nicht eindeutig geklärt. Ein Vielzahl von Mechanismen und Kontrollfaktoren der oxidativen Phosphorylierung sind bislang entdeckt worden, jedoch einem Faktor die alleinige Kontrolle zuzuschreiben ist bei der Fülle der vorliegenden Studien und Ergebnisse nahezu unmöglich. So wurden statistische Zusammenhänge zwischen einzelnen Metaboliten wie beispielsweise den PCr-, P<sub>i</sub>-, Cr-, NO-, Ca<sup>2+</sup>-, O<sub>2</sub>- und ADP-Konzentrationen und der mitochondrialen ATP-Syntheserate vorgeschlagen.

Die ersten Studien die sich mit dieser Fragestellung beschäftigt haben, stammen von LARDY UND WELLMAN 1952 sowie CHANCE UND WILLIAMS aus den Jahren 1955 und 1956. Diese Arbeitsgruppen kamen anhand von Untersuchungen an isolierten Mitochondriensuspensionen zu dem Schluss das sowohl die freie, extramitochondriale [ADP] als auch die [P<sub>i</sub>] die mitochondriale oxidativen Phosphorylierung in vitro regulieren. ADP und P<sub>i</sub>, beides Stoffwechselendprodukte der ATP-Hydrolyse, dienen gewissermaßen als Regulatoren eines klassischen Feedback-Systems zwischen mitochondrialer oxidativer Phosphorylierung und ATPase-Aktivität. Demnach sind die extramitochondriale [ADP] und [P<sub>i</sub>] proportional zur ATP-Hydrolyse und damit zur Arbeit (JAKOBUS ET AL. 1982). Diese Beziehung zwischen der [ADP] und der ATP-Syntheserate wird nach CHANCE UND WILLIAMS 1955 mit der Formel 4.2 beschrieben:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{1}{1 + \frac{K_m}{[ADP]}} \quad (4.2)$$

$V/V_{\max}$  rel. mitochondriale ATP-Synthese (dimensionslos),  $K_m$  Michaelis-Konstante für [ADP] (20  $\mu\text{mol l}^{-1}$  nach CHANCE UND WILLIAMS 1955)

Die ATP-Synthese-Rate ist nach dieser Formel nur von der freien, extramitochondrialen [ADP] abhängig, wobei diese Formel nur unter normalen, physiologischen Bedingungen gelten soll. CHANCE ET AL. 1985 und 1986 veröffentlichten eine modifizierte Version ihrer Formel, die unter extremen physiologischen Bedingungen gelten soll, beispielsweise wenn die ATP-Synthese nicht mehr mit P<sub>i</sub>, NADH oder O<sub>2</sub> gesättigt ist (vgl. Kap. 2.1.4.5.1, Formel 2.7). Weitere Untersuchungen müssen jedoch klären, in welcher Beziehung die [ADP] und die oxidative Phosphorylierungsrate zueinander stehen, da sowohl eine hyperbole (MEYER 1988) als auch eine sigmoidale Beziehung beschrieben wurde (MADER 1984, JENESON ET AL. 1996).

Die mitochondriale ATP-Syntheserate muss jedoch nicht ausschließlich durch die [ADP] reguliert werden. ADP wird durch die ADP<sup>3-</sup>-ATP<sup>4-</sup>-Translokase in die Matrix transportiert (KLINGENBERG UND NELSON 1994). Daher besteht die Möglichkeit, dass die Transportgeschwindigkeit des ADP<sup>3-</sup>-ATP<sup>4-</sup>-Translokase-Antiports die Syntheserate bestimmt oder aber zumindest beeinflusst. Die Untersuchungen von KLINGENBERG UND ROTTENBERG 1977 sowie KRAMER UND KLINGENBERG 1980 ergaben drei Faktoren, die den ADP<sup>3-</sup>-ATP<sup>4-</sup>-Translokase-Antiport beeinflussen: ① die extramitochondriale ATP- und ADP-Konzentration, ② die intramitochondriale ATP- und ADP-Konzentration sowie ③ der elektrische Potenzialgradient ( $\Delta\psi$ ) über der inneren Mitochondrienmembran. So sind einige Arbeitsgruppen (DAVIS UND DAVIS-VANTHIENEN 1984, WANDERS 1984, WANDERS ET AL. 1988 ) der Ansicht, dass die mitochon-

driale ATP-Syntheserate zunimmt, wenn das extramitochondriale ATP/ADP-Verhältnis kleiner wird.

Ein weiterer Kontrollfaktor der die mitochondriale ATP-Syntheserate steuern soll, ist der intrazelluläre Energietransport sowie die Cr-Konzentration. BESSMAN UND CARPENTER 1985 gehen davon aus, dass das PCr als eine Art Energietransporter zwischen dem räumlich voneinander getrennten ATP-Syntheseort (Mitochondrienmatrix) und der ATP-Utilisationsort (Cytosol) fungiert. Transportmechanismen innerhalb der Mitochondrienmembran sorgen dafür, dass das ATP ins Cytosol transportiert wird. So deutet der Befund von SCHNYDER ET AL. 1994 auf einen, die Mitochondrienmembran durchspannenden funktionalen Enzym-Carrier-Komplex hin. Bei diesem Modell handelt es sich um einen Porin-Kanal in der äußeren Mitochondrienmembran, der mit dem mitochondrialen Isoenzym der Creatin-Kinase in Verbindung stehen soll. Dadurch besteht möglicherweise eine direkte Verbindung zur  $\text{ADP}^3\text{-ATP}^4$ -Translokase. Über dieses komplexe Netzwerk soll die Creatin-Kinase-Reaktion den Stoffwechsel regulieren, denn dann würde die extramitochondriale Creatin-Konzentration die intramitochondriale [ADP] beeinflussen und die mitochondriale ATP-Synthese regulieren (JAKOBUS 1985, BESSMAN UND CARPENTER 1985, WALLIMAN ET AL. 1992).

## **A2 Die thermodynamische Kontroll-Theorie**

Grundlage dieser Theorie zur Kontrolle der oxidativen Phosphorylierung, welche maßgeblich von WILSON ET AL. 1974, 1977, 1979, 1994, 1995 sowie ERECINSKA UND WILSON 1982 entwickelt wurde und auch als Near-Equilibrium-Hypothese bezeichnet wird, ist die Annahme, dass die folgenden vier Faktoren die ATP-Syntheserate determinieren: ① das intramitochondriale  $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ -Verhältnis ② die Konzentration des molekularen Sauerstoffs ③ die Konzentration der Atmungsketten-Proteine ④ das cytosolische  $([\text{ADP}][\text{P}_i])/[\text{ATP}]$ -Verhältnis, welches als cytosolisches Phosphorylierungspotenzial bezeichnet wird (VEECH ET AL. 1979).

Das extramitochondriale  $([\text{ADP}][\text{P}_i])/[\text{ATP}]$ -Verhältnis wird von den Befürwortern dieser Theorie als, der unter den meisten Bedingungen, entscheidender Faktor der mitochondrialen ATP-Synthese betrachtet (KUSHMERICK 1983, MEYER 1988). So wird die freie Enthalpie der ATP-Hydrolyse ( $\Delta G_{\text{ATP}}$ ) durch das  $([\text{ADP}][\text{P}_i])/[\text{ATP}]$ -Verhältnis bestimmt (vgl. Formel 2.6, Kap. 2.1.4.5.1). Das bedeutet, dass bei einer weniger negativen  $\Delta G_{\text{ATP}}$  die ATP-Synthese steigt und entsprechend die ATP-Synthese sinkt, sobald die freie Enthalpie negativer wird.

Bei den thermodynamischen und kinetischen Steuerungsmodellen der oxidativen Phosphorylierung handelt es sich um die beiden am meisten diskutierten Theorien. Darüber hinaus werden zusätzlich weitere Mechanismen diskutiert, die die ATP-Synthese beeinflussen oder sogar kontrollieren sollen. So wird der  $F_0-F_1$ -ATP-Synthase (E.C. 3.6.1.35, LANOUE 1986) wie auch anderen Regulatorproteinen (HARRIS UND DAS 1991) eine Bedeutung zugewiesen. WACKERHAGE ET AL. 1998 weisen jedoch anhand ihrer Forschungsergebnisse darauf hin, dass die oxidative Phosphorylierung vermutlich **nicht** allein von der freien Enthalpie, den freien  $P_i$ -,  $Cr$ - und ADP-Konzentrationen und dem ATP/ADP-Verhältnis kontrolliert wird, was sie u. a. auf fehlerhafte Formeln und Konstanten zurückführen. Des Weiteren sind sie der Meinung, dass durchaus andere Metabolite und Stoffwechselwege einen Einfluss auf die oxidative Phosphorylierung haben können (FELL 1992). Die Ergebnisse von KUSHMERICK ET AL. 1992 scheinen diese Vermutung zu bestätigen, da sie nachweisen konnten, dass die Steuerung der oxidativen Phosphorylierung in ST- und FT-Fasern unterschiedlich erfolgt.

## **B Glykolyse**

Eine ähnlich kontroverse Diskussion, wie sie bereits für die Kontroll-Mechanismen der oxidativen Phosphorylierung aufgezeigt wurde, findet sich auch bei der Frage, durch welche Faktoren die Glykolyse reguliert wird. Hierbei werden in erster Linie zwei unterschiedliche Positionen deutlich, bei denen sowohl Feedforward- (CONLEY ET AL. 1997) als auch Feedback-Steuerungsmodelle (CONNETT 1989) diskutiert werden.

CONNETT 1989 geht in seinem Erklärungsansatz zu möglichen Steuerungsmechanismen der Glykolyse von einem Feedback-Modell aus. So soll die Glykolyse unter der allosterischen Kontrolle der Schlüsselenzyme Phosphofruktokinase (E.C. 2.7.1.11) und der Myophosphorylase (E.C. 2.4.1.1) stehen, die maßgeblich durch die  $[ADP]$ ,  $[AMP]$  und  $[P_i]$  sowie den  $pH_i$  beeinflusst werden (CONNETT 1989 UND 1996). Die während muskulärer Arbeit zu beobachtenden Konzentrationsanstiege dieser Metabolite ( $P_i$ , ADP und AMP) sollen ebenso die glykolytische Stoffwechselrate erhöhen, wie auch Veränderungen des Phosphorylierungspotenzials ( $([ADP][P_i])/[ATP]$ -Verhältnis) und Erhöhungen der  $[Ca^{2+}]$  und des pH-Wertes. Jedoch scheint die PFK nicht allein die Fluxrate der Glykolyse zu kontrollieren. Von Bedeutung scheint auch die Myophosphorylase zu sein, da eine erhöhte  $[P_i]$  ebenfalls eine erhöhte Verstoffwechslung von Glykogen zur Folge hat (CONNETT 1986). Auf der anderen Seite zeigen Studien, dass hohe  $P_i$ - oder ADP- Konzentrationen nicht zwangsläufig eine erhöhte glykolytische Stoffwechselaktivität provozieren (QUISTORFF ET AL. 1992, BLEI ET AL. 1993). Dieses Szenario findet man beispielsweise, wenn die Durchblutung eines Muskel im Anschluss an

muskuläre Arbeit durch das Anlegen einer Okklusion unterbrochen wird. In dieser Situation liegen die mutmaßlichen Regulationsmetabolite der Glykolyse noch in hohen Konzentrationen oberhalb der Halbsättigungskonstanten ( $K_m$ ) vor und somit sollte auch eine hohe glykolytische Stoffwechselrate vorliegen, um so die Regeneration des PCr-Speichers zu gewährleisten. Eine Regeneration des PCr-Speichers durch die oxidative Phosphorylierung ist zu diesem Zeitpunkt auszuschließen, da aufgrund der arbeitsbedingten Desoxygenierung die Sauerstoffreserven nahezu aufgebraucht sind und somit der  $PO_2$  unter den kritischen Wert von ca. 0,5 mmHg (GAYESKI ET AL. 1987, CONNETT ET AL. 1989) gefallen ist. Tatsächlich kommt es jedoch zu keiner sichtbaren Erholung der [PCr] in der ischämischen Erholungsphase, was darauf hindeutet, dass die Kontrolle der Glykolyse nicht allein mit Hilfe dieses Feedback-Modell erklärt werden kann und möglicherweise in vivo durch andere Faktoren moduliert oder aber gar überlagert wird (CONLEY ET AL. 1997). Nach Ansicht diverser Arbeitsgruppen (WILKIE ET AL. 1984, QUISTORFF ET AL. 1992, CONLEY ET AL. 1997) soll die Glykolyse jedoch vielmehr über einen Feedforward-Mechanismus kontrolliert werden, d. h. beispielsweise durch eine Muskelaktivierung per se (QUISTORFF ET AL. 1992, CONLEY ET AL. 1998). Von Bedeutung scheint dabei das  $Ca^{2+}$  zu sein, dass entweder direkt oder indirekt in die Aktivierung der Glykolyse eingreifen soll und somit eine enge Verbindung zwischen Energieverbrauch und Energiebereitstellung widerspiegelt. Unter diesem Aspekt scheint es eine Verbindung zwischen dem  $Ca^{2+}$  und den für die Glykolyse wichtigen Enzymen zu geben, was bislang jedoch lediglich in in vitro Untersuchungen belegt werden konnte (OVÁDI UND OROSZ 1992). Nicht zu unterschätzen ist des Weiteren der Einfluss der Katecholamine auf den glykolytischen Stoffwechsel (ISSEKUTZ 1984). Somit steht die Klärung der Fragen, welcher Faktoren mutmaßlich an der glykolytischen Stoffwechselrate sind und inwieweit in vitro Ergebnisse auf physiologische in vivo Bedingungen übertragen werden können noch aus.

## HIGH-ENERGY-PHOSPHATES MEASURED BY $^{31}\text{P}$ -MRS DURING LBNP IN EXERCISING HUMAN LEG MUSCLE

Sven Baerwalde\*, Jochen Zange\*, Klaus Müller\*, Norbert Maassen\*\*

\*GERMAN AEROSPACE CENTER, INSTITUTE OF AEROSPACE MEDICINE, COLOGNE, \*\*DEP. OF SPORTS PHYSIOLOGY, MEDICAL SCHOOL HANNOVER, GERMANY

### Introduction

Subatmospheric pressure applied to the human body from the iliac crest caudally (**Lower Body Negative Pressure, LBNP**) has been known to cause various central and peripheral cardio-vascular reactions. We investigated the effects of such a LBNP maneuver on energy metabolism of human skeletal leg muscle. We tested the hypothesis whether an altered fluid distribution induced by LBNP may cause any effect on aerobic and/or anaerobic energy metabolism and cellular pH-regulation during isometric contraction monitored by  $^{31}\text{P}$ -MR spectroscopy.

### Methods

13 healthy volunteers in supine position performed an isometric contraction consisting of a dorsiflexion by the m. tibialis anterior with 30% MVC. Contraction lasted 3 minutes and was performed either under ambient atmospheric pressure (**CONTROL**) or under subatmospheric pressure (**LBNP**, -5.32 kPa). LBNP procedure was initiated 20 minutes before exercise protocol was started and lasted throughout the whole experiment including a recovery period. High time resolution (10 seconds)  $^{31}\text{P}$ -MRS measurements - with 4.7 Tesla magnetic field strength - recorded intracellular relative [ATP], [PCr], [ $\text{P}_i$ ] and [PME]. [ADP] and  $\text{pH}_i$  were calculated. Additionally, torque was evaluated by a linear force transducer. Statistics were calculated using a two-factorial analysis of variance and a Scheffé test as post-hoc analysis. Differences with  $p < 0.05$  were assumed to be significant.

### Results

Generally, exercise performed during LBNP was significantly ( $p < 0.05$ ) more exhausting than during CONTROL (Fig.1). Subjects were unable to maintain

a required force completely over the three minute exercise period under LBNP condition. During CONTROL condition subjects were able to maintain force .

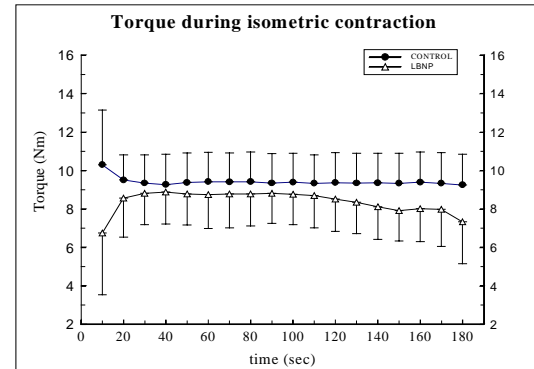


Fig. 1: Torque (Nm)

PCr consumption during LBNP ended in an approx. 10% lower [PCr] level at the end of exercise compared with CONTROL ( $p < 0.001$ ; Fig 2). Furthermore, [PCr] was significantly elevated in regard to resting values during recovery in both tests (CONTROL  $p < 0.05$ , LBNP  $p < 0.01$ ). Furthermore, [PCr] during LBNP recovery was even more elevated than CONTROL ( $p < 0.05$ )

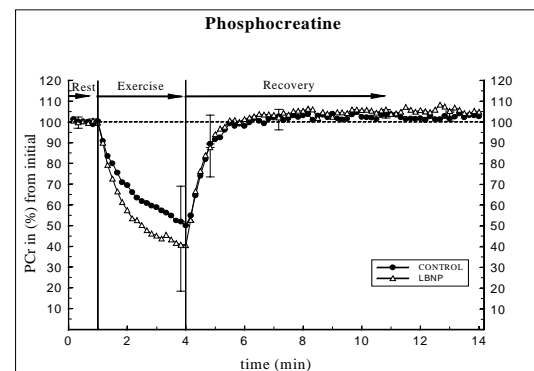
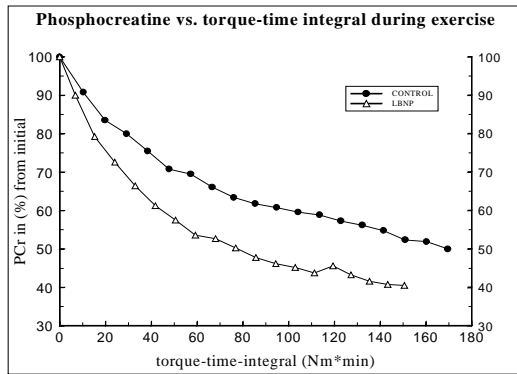


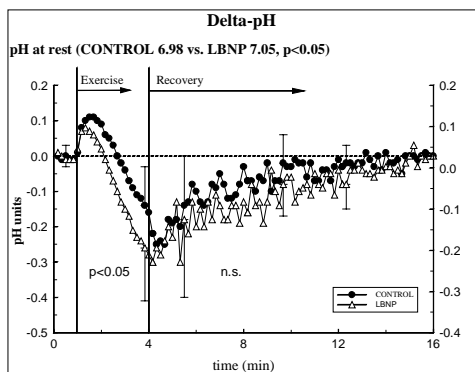
Fig. 2: relative changes in [PCr]

PCr decline (Fig.3) during exercise under LBNP was faster ( $p < 0.01$ ) during the first 20 seconds of contraction with respect to obtained torque than under CONTROL ( $-32\% \pm (13.8 \text{ SD}) [\text{PCr}] \cdot (100 \text{ Nm} \cdot \text{min})^{-1}$  vs.  $-18\% \pm (13.5 \text{ SD})$  respectively).



**Fig. 3: PCr (%) vs. torque-time-integral**

Resting  $pH_i$ -values (7.05 vs. 6.98) between LBNP and CONTROL differed significantly with  $p < 0.01$ . Furthermore, exercise  $pH_i$  revealed a more pronounced decrease  $p < 0.05$  (Fig. 4). Recovery revealed no difference between LBNP and CONTROL conditions.



**Fig. 4: intracellular pH (delta values)**

### Discussion

Because of different PCr kinetics during exercise the mechanisms of ATP-synthesis by means of (an)aerobic glycolysis and oxidative phosphorylation seemed to be impaired. This impairment might be caused by changes in intra- and extracellular fluid volume, different blood flow patterns or by disturbed electrophysiological properties e. g. a different recruitment behavior of muscle fibres which could result in a decrease in muscle-(fibre) mechanical efficiency. Despite the increased blood pooling in lower extremities during LBNP suggesting a better perfusion during dynamic exercise (Eiken 1988) a

significantly more pronounced fatigue can be seen during LBNP-experiments.

Glycolysis seems to be enhanced concluded by the more lowered  $pH_i$  during exercise. Control factors for glycolytic flow are several-fold elevated ( $P_i$  and ADP) and thus initiating an increased phosphofructokinase activity. Oxidative phosphorylation seems to be attenuated because of an early reduction in [PCr] during the first 20 seconds of exercise. In conclusion, energy consumption exceeds energy producing metabolic pathways. Therefore, reduced blood flow during LBNP (Loepky et al. 1980) could be a limiting factor.

Furthermore, LBNP maneuvers are associated with massive hormonal changes (Hinghofer-Szalkey et al. 1996). Among these hormones there are rapidly acting ones like the catecholamines and with some delay aldosterone which could have a putative effect on oxidative metabolism and blood flow (Christ et al. 1998, Zange et al. 1996).

Christ M. and M. Wehling (1998): Cardiovascular steroid actions: swift swallows or sluggish snails? *Cardiovasc Res* 40 (1): 34-44

Eiken O. (1988): Effects of increased muscle perfusion pressure on responses to dynamic leg exercise in man. *Eur J Appl Physiol* 57 (6): 772-776

Hinghofer-Szalkey H.G., M. Vigas, G. Sauseng-Felleger, E.M. Konig, B. Lichardus, D. Jezova (1996): Head up-tilt and lower body suction: comparison of hormone responses in healthy men. *Physiol. Res* 45 (5): 369-378

Loepky, J.P., E.R.Greene, D.E. Hoekenga, M.D. Venters, M.W. Eldridge (1980): Aortic and tibial bloodflow response to lower negative pressure (LBNP). *The Physiologist* 23: S141-S 144

Zange J., K. Müller, R. Gerzer, K. Sippel, M. Wehling (1996): Nongenomic effects of aldosterone on phosphocreatine levels in human calf muscle during recovery from exercise. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 81 (12): 4296-4300



### **Alterations in Skeletal Muscle Energy Metabolism under LBNP are Independent From Blood Flow**

**Introduction:** It was previously shown that low level exercise performed by human skeletal muscle during LBNP resulted in a more pronounced fatigue and an increased ATP formation by primarily anaerobic pathways compared to ambient pressure conditions (BAERWALDE ET AL. 1999). Therefore the hypothesis was tested whether changes in blood flow and therefore oxygen supply might be responsible for this altered muscle performance. **Methods:** 21 healthy volunteers performed in supine position 2 isometric contractions (CON I and CON II) with 30% MVC under ambient atmospheric pressure (CONTROL) as well as under subatmospheric pressure (LBNP, -5.32 kPa) conditions. CON I and CON II, which were separated by 12 minutes of rest, were executed with the m. tibialis anterior. Additionally, CON II was performed under arterial occlusion by placing a cuff around the thigh of the exercising leg. Cuff was inflated 3 minutes before CON II was started and deflated with termination of CON II. Exercise during LBNP and CONTROL were carried out in a 4.7 Tesla magnet where  $^{31}\text{P}$ -MRS measured intracellular relative [ATP], [PCr], [P<sub>i</sub>]. Furthermore, pH<sub>i</sub> was calculated as well. **Results:** During 20 minutes of LBNP prior to CON I, pH<sub>i</sub> showed a slight increase from 6.99 to 7.05 ( $p < 0.001$ ) whereas other metabolites showed no changes from baseline values. Under LBNP condition CON I and CON II resulted in a more pronounced fatigue compared with CONTROL indicated by a greater loss of force with respect to required target force ( $p < 0.01$ ) and a significantly more decreased end-exercise [PCr]. The PCr decline during the first 20 seconds of CON I and CON II under LBNP condition was more rapid ( $p \leq 0.001$ ) than during CONTROL. Despite the alkalization during LBNP prior to exercise, pH<sub>i</sub> was significantly lower during CON I and CON II compared to CONTROL ( $p < 0.05$ ). Velocity of post-exercise recovery revealed no significant differences between LBNP and CONTROL neither for pH<sub>i</sub> nor for PCr. However, during LBNP post-exercise recovery ended in an significantly elevated [PCr] compared with baseline values. **Conclusions:** The more pronounced inability to sustain a required muscle target force and the impaired energy metabolism during exercise under LBNP condition is independent from blood flow. The altered PCr-decline during CON I and CON II under LBNP condition showed the same change compared to CONTROL and therefore neither oxygen supply nor blood flow can be related to the observed effects. Furthermore the behaviour of pH<sub>i</sub> suggests an enhanced glyco(gen)olysis during exercise. Nevertheless the enhanced anaerobic metabolism during LBNP does not fully compensate for the impaired energy metabolism. Oxidative phosphorylation seemed to be elevated as well which was determined by the PCr-recovery constant  $\tau$ . Furthermore, additional electromyographic investigations reveal an altered muscle-fibre recruitment during exercise which might be responsible for the enhanced oxidative phosphorylation.

## Eidesstattliche Erklärung

"Ich, Sven Baerwalde, geb. am 12.06.1966 in Hannover, versichere, dass ich die von mir vorgelegte Dissertation selbstständig angefertigt, die benutzten Quellen und Hilfsmittel vollständig angegeben und die Stellen der Arbeit – einschließlich Tabellen, Karten und Abbildungen –, die anderen Werken im Wortlaut oder dem Sinn nach entnommen sind, in jedem Einzelfall als Entlehnung kenntlich gemacht habe; dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat; dass sie abgesehen von unten angegebenen Teilpublikationen noch nicht veröffentlicht worden ist, sowie dass ich eine solche Veröffentlichung vor Abschluss des Promotionsverfahrens nicht vornehmen werde. Die Bestimmungen dieser Promotionsordnung sind mir bekannt. Die von mir vorgelegte Dissertation ist von Herrn Privatdozent Dr. Stephan Frings betreut worden."

### Teilpublikation:

Baerwalde S, Zange J, Müller K und N Maassen: High-Energy-Phosphates measured by <sup>31</sup>P-MRS during LBNP in exercising human leg muscle. J Grav Physiol 6 (1): P37-P38 (1999).

Köln, den 21. Februar 2001

**Sven Baerwalde**

## Lebenslauf und Ausbildungsgang

---

### **Persönliche Daten**

Sven Baerwalde

geboren am 12.06.1966 in Hannover, ledig, keine Kinder

Biologe und Sportwissenschaftler

Wohnhaft: Berrenrather Str. 572 (App. 403), 50354 Hürth

Eltern: Bernd-Uwe und Lieselotte Baerwalde, geb. Nerge

---

### **Berufstätigkeiten**

seit dem 01.07.00	Projektleiter GLOBE-Germany am Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt, Raumflugbetrieb und Astronautentraining
01.06.1997-30.06.00	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt, Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin
01.09.95 - 31.05.97	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Zentrum Physiologie der Medizinischen Hochschule Hannover
seit September '95	Mitarbeiter am Institut für Medizin, Sport und Gesundheit (Hannover)

---

### **Berufliche und außerberufliche Weiterbildung**

1996 – 2000	Kongress- und Forschungsaufenthalte sowie Workshops in Orlando, Washington, Moskau, Rom, Tübingen, Freiburg und Heidelberg
1994 – 1995	4-monatiger Sprachaufenthalt in Australien und Neuseeland
1987 – 1988	11-monatiger Sprachaufenthalt in den USA (Northampton, PA)

---

### **Ausbildungsweg und Schule**

Okt 88 – Nov 94	Studium der Biologie und Sportwissenschaften für das Lehramt an Gymnasien (Sek.II) in Hannover Abschluss: 1. Staatsexamen für das Lehramt an Gymnasium in den Fächern Biologie, Sport, Pädagogik und Psychologie (Note: 1,8)
1986 – 1987	Absolvierung des Wehrdienstes
1982 – 1986	Abitur am Erich-Kästner-Gymnasium in Laatzen (Niedersachsen)
1982 – 1978	Realschule in Laatzen (Niedersachsen)
1972 – 1978	Grund- und Orientierungsschule in Laatzen (Niedersachsen)

Köln, den 21. Februar 2001

**Sven Baerwalde**