



**Deutsche
Sporthochschule Köln**
German Sport University Cologne

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin
Abteilung für Molekulare und Zelluläre Sportmedizin
Deutsche Sporthochschule Köln
Geschäftsführender Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Bloch

Der Einfluss intermittierender Hypoxie auf den Laktattransport in den Erythrozyten und Skelettmuskelzellen des Typ-2-Diabetikers

von der Deutschen Sporthochschule Köln
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Sportwissenschaft
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Edward Lenzen

aus Euskirchen

Köln 2012



**Deutsche
Sporthochschule Köln**
German Sport University Cologne

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin
Abteilung für Molekulare und Zelluläre Sportmedizin
Deutsche Sporthochschule Köln
Geschäftsführender Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Bloch

Der Einfluss intermittierender Hypoxie auf den Laktattransport in den Erythrozyten und Skelettmuskelzellen des Typ-2-Diabetikers

Von der Deutschen Sporthochschule Köln
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Sportwissenschaft
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Edward Lenzen

aus Euskirchen

Köln 2012

Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Bloch

Zweite Gutachterin: Prof. Dr. rer. nat. Klara Brixius

Vorsitzender des Promotionsausschusses:

Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Bloch

Tag der Disputation: 13.06.2012

Eidesstattliche Versicherung:

gem. § 7 Abs. 2 Nr. 4 und 5:

Hierdurch erkläre ich an Eides statt: Ich habe diese Dissertationsarbeit selbständig und nur unter Bezeichnung der angegebenen Quellen angefertigt; sie hat noch keiner anderen Stelle zur Prüfung vorgelegen. Wörtlich übernommene Textstellen, auch Einzelsätze oder Teile davon, sind als Zitate kenntlich gemacht worden.

Hierdurch erkläre ich, dass ich die „Leitlinien guter wissenschaftlicher Praxis“ der Deutschen Sporthochschule Köln in der aktuellen Fassung eingehalten habe.

Köln, den 24.01.2012

Edward Lenzen

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Wilhelm Bloch als Doktorvater für die Möglichkeit zur Promotion und dafür, dass er mich für die molekulare und zelluläre Sportmedizin begeistert hat,

Frau Prof. Dr. rer. nat. Klara Brixius, die mich in dieser Zeit am Institut unermüdlich betreut und bestens beraten hat,

den Ärztinnen Prof. Dr. Dr. Christine Graf und Dr. Georgina Montiel sowie den Ärzten Dr. Dr. Thorsten Schiffer und Dario Capin für die Betreuung der Patienten und Unterstützung bei den Diabetes-Typ-2-Studien,

den Mitarbeiterinnen der beteiligten Institute, insbesondere Anika Voß, Anke Schmitz, Bianca Collins, Mojgan Ghilav, und Gundula Mades für Ihre Hilfsbereitschaft,

Frau Karin Böttcher, ohne die ich das Projekt „Promotion“ nicht angegangen wäre,

Dipl.-Sportlehrerin Andrea Ronczka und allen Diplomandinnen und Diplomanden sowie den Doktorandinnen und Doktoranden des Institutes für die wertvolle und jederzeit kollegiale Unterstützung,

der Fa. Höhenbalance AG in Köln, die die Hypoxiestudie in Ihren Räumlichkeiten ermöglicht hat und allen Diabetes-Typ-2-Patienten, ohne deren Ausdauer auch meine Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Abschließend möchte ich meiner Familie, meinen Freunden und meiner Partnerin Cristina aufrichtig danken, die mich immer unterstützt haben, obwohl ich sie sehr vernachlässigt habe.

Danksagung

Für meine Mutter Anna Gertrud Lenzen, geb. Pützer

Inhaltsverzeichnis

	Titel	Seite
1	Einleitung	
1.1	Laktatmetabolismus	5
1.1.1	Biochemie der Milchsäure	5
1.1.2	Historische Paradigmen zum Laktat	5
1.1.3	Moderne Entwicklungen der Laktatforschung	7
1.1.4	Laktattransport durch Monocarboxylattransporter (MCT)	9
1.1.5.	Laktattransport in den Erythrozyten	13
1.1.6	Laktatverteilung im Blut	14
1.1.7	Laktattransport in der Skelettmuskulatur	16
1.1.8	Regulation der MCT-Expression	20
1.1.9	Laktat-Shuttle-Theorien	22
1.2.	Hypoxie	25
1.2.1	Der Einfluss von Hypoxie auf den Kohlenhydrat- stoffwechsel	27
1.2.2	Hypoxie-induzierter Faktor (HIF)	29
1.2.3	Der Einfluss von Hxpxie auf die Expression des MCT1 in den Erythrozyten	30
1.2.4	Der Einfluss von Hypoxie auf die Expression des MCT1 und MCT4 in der Skelettmuskulatur	31
1.2.5	Das intermittierende Hypoxietraining	32
1.3	Diabetes-Mellitus-Typ-2	33
1.3.1	Epidemiologie	33
1.3.2	Sport und Diabetes-Mellitus-Typ-2	36
1.3.3	Laktat und Diabetes-Mellitus-Typ-2	39
1.3.4	Hypoxie und Diabetes-Mellitus-Typ-2	42
1.3.5	MCT und Diabetes-Mellitus-Typ-2	45
1.4	Fragestellung der vorliegenden Arbeit	47

Inhaltsverzeichnis

2	Methodik	
2.1	Studiendesign	48
2.1.1	Probanden	48
2.1.2	Studienverlauf	49
2.2	Untersuchungen	50
2.2.1	Anthropometrische Daten	50
2.2.2	Nüchtern-Blutproben, Laborparameter	51
2.2.3	Belastungs-Blutproben, Laborparameter	53
2.2.4	Immunhistochemie	55
2.2.5	Belastungs-Spiro-Ergometrie	70
2.2.6	Muskelbiopsie	72
2.3.	Interventionen	73
2.3.1	Referenzgruppe	73
2.3.2	Ausdauergruppe	74
2.3.3	Hypoxiegruppe	76
2.4.	Statistik	78
3	Ergebnisse	
3.1	Basischarakterisierung der Probanden	79
3.1.1	BMI	79
3.1.2	Ruheblutdruck	79
3.1.3	Herzfrequenz	82
3.2	Stoffwechselfparameter	83
3.2.1	Blutzucker	83
3.2.2	Cholesterin	84
3.2.3	HDL-Cholesterin	85
3.2.4	LDL-Cholesterin	86
3.2.5	Triglyzeride	87
3.2.6	Laktat (Ruhe)	87
3.3	Leistungsphysiologische Parameter	88
3.3.1	Leistung bei 2 mmol/l Laktat	88

Inhaltsverzeichnis

3.3.2	Leistung bei 4 mmol/l Laktat	89
3.3.3	Laktat (maximal)	90
3.3.4	Herzfrequenz (maximal)	91
3.3.5	Belastungsblutdruck	92
3.3.6	Leistung (maximal)	93
3.3.7	Maximale Sauerstoffaufnahme VO_{2peak}	94
3.4	Immunhistochemie der Skelettmuskulatur	96
3.4.1	Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Sarkoplasma	96
3.4.2	Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Sarkolemm	97
3.4.3	Immunhistochemischer Nachweis des MCT4 im Sarkoplasma	98
3.4.4	Immunhistochemischer Nachweis des MCT4 im Sarkolemm	99
3.4.5	Immunhistochemischer Nachweis der MHC1 (Typ1- Muskelfaser)	101
3.4.6	Immunhistochemischer Nachweis der MHC2 (Typ2- Muskelfaser)	102
3.4.7	Muskelfaserdurchmesser	103
3.5	Blut	105
3.5.1	Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Erythrozyten	105
3.5.2	Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Erythrozyten unter Belastung	106
3.5.3	Differentielle Laktatanalyse	108

Inhaltsverzeichnis

4	Diskussion	
4.1	Der Einfluss des intermittierenden Hypoxietrainings auf Stoffwechsel- und Leistungsparameter	112
4.2	Der Einfluss des intermittierenden Hypoxietrainings auf die MCT im Skelettmuskel	116
4.3	Der Einfluss des intermittierenden Hypoxietrainings auf den MCT1 im Erythrozyten	121
4.4	Der Einfluss des intermittierenden Hypoxietrainings auf die Laktatverteilung im Blut	124
5	Zusammenfassung	131
6	Abstract	133
7	Literaturverzeichnis	135
8	Abkürzungsverzeichnis	173
9	Abbildungsverzeichnis	179
10	Lebenslauf	181

1 Einleitung

1.1 Laktatmetabolismus

1.1.1 Biochemie der Milchsäure

Laktate sind die Salze der Milchsäure (2-Hydroxypropansäure) $C_3H_6O_3$, die im Kohlenhydratstoffwechsel als Produkt der sog. anaeroben Glykolyse im Zytosol gebildet werden. In wässrigen biologischen Systemen dissoziiert die Milchsäure wegen ihres pK von 3.9 bei physiologischem pH zu 99% in Laktat⁻ und H^+ . Physiologisch entsteht dabei nur das links drehende Enantiomer des Laktates. Da die Milchsäure zu den Monocarbonsäuren mit einer Carboxylgruppe (COOH) gehört, zählt Laktat auch zu deren Salzen, den Monocarboxylaten. Laktat steht über die Laktatdehydrogenasereaktion (LDH) mit Pyruvat im Gleichgewicht.

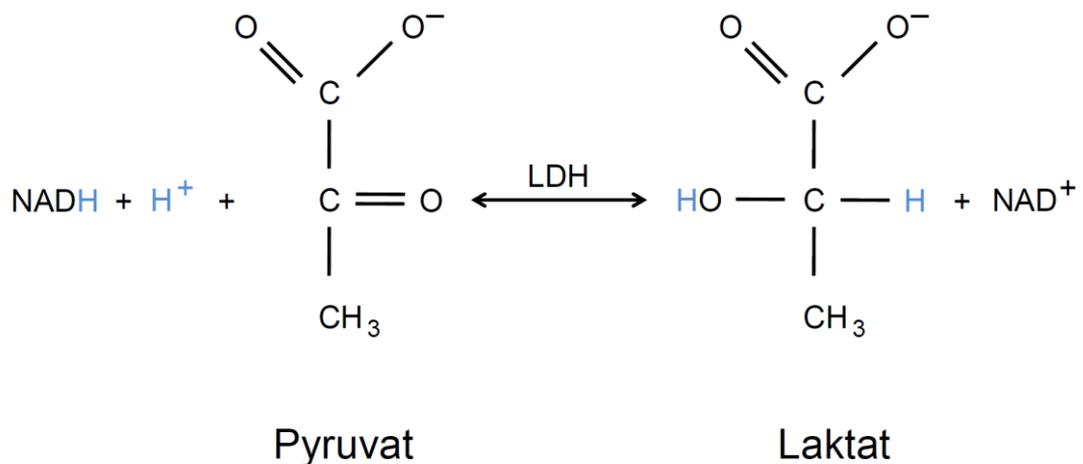


Abb.1: Die Laktatdehydrogenasereaktion

1.1.2 Historische Paradigmen zum Laktat

Nach der Entdeckung der Milchsäure durch Scheele (1780) konnte Berzelius, der auch die Brenztraubensäure entdeckte, bereits um 1807 einen Zusammenhang zwischen geleisteter Muskelarbeit und der Menge an produziertem Laktat herstellen (Berzelius 1808). Auf die Arbeiten von Pasteur (1863) ist zurückzuführen, dass die Laktatbildung als Folge von

Sauerstoffmangel verstanden wurde. Große Fortschritte in der Laktatforschung konnten Fletcher und Hopkins (1907) durch die Verbesserung der Analysemethode erreichen, wodurch sie z.B. Zusammenhänge zwischen Laktatbildung, Muskelermüdung und Erholung unter O_2 -Verbrauch feststellten.

Darauf aufbauend bestimmte die Hypothese von Hill (1913), dass Laktat der Brennstoff für die Muskelkontraktion sei und in der Erholungsphase nach Muskelarbeit unter Sauerstoffverbrauch wieder hergestellt wird (Konzept der Sauerstoffschuld), lange Zeit die wissenschaftliche Literatur. Meyerhoff (1920) konnte Glykogen als den Vorläufer des Laktates identifizieren und 20 Jahre später zusammen mit Embden und Parnas die Glykolyse (Embden-Meyerhof-Weg) entschlüsseln (Meyerhof 1942). Cori & Cori (1929) konnten nachweisen, dass Laktat in der Leber wieder zu Glukose metabolisiert werden kann (Cori-Zyklus). Lohmann postulierte nach seiner Entdeckung von ATP und Kreatinphosphat, dass ATP die unmittelbare Energiequelle für die Muskelkontraktion darstellt und Milchsäure ein Abfallprodukt ohne weitere Verwendung sei (Lohmann 1934). Die daran anschließende Zeit zwischen 1930 und den frühen 1970er Jahren bezeichnet Gladden (2004a) in seinem Review als die ‚dead-end waste product era‘ des Laktates, in der auch die Sichtweise der Muskelermüdung als Folge einer metabolischen Azidose durch Laktat weiter untermauert wurde (Hermansen 1981, Sahlin 1992). In diese Zeit fällt auch der Beginn der sog. Schwellenkonzepte nach der Einführung des Begriffes ‚anaerobic threshold‘ für die spiroergometrisch gemessene ventilatorische Schwelle durch Westerman & McIlroy (1964), die den ersten Laktatanstieg bei körperlicher Belastung markiert. Mader et al. (1976) arbeiteten als Erste mit laktatbasierten Schwellenkonzepten und definierten die aerob-anaerobe Schwelle der Arbeitsmuskulatur als den Bereich des Überganges von rein aerober zur partiell anaeroben (laktazid gedeckten) Energiebereitstellung. Diesen Bereich der maximalen aeroben Kapazität sahen die Autoren bei 4 mmol/l Laktat im peripheren Blut und benutzten diese Laktatschwelle als Kriterium zur Beurteilung der Ausdauerleistungsfähigkeit. In der Folge dieser Veröffentlichung wurden

weitere Laktatschwellenkonzepte entwickelt (Übersicht bei Heck & Beneke 2008), die bis heute die Diagnostik und Trainingssteuerung im Leistungssport bestimmen. Auch im Gesundheitssport und in der Sporttherapie ist die Festlegung von Belastungsintensitäten mit Hilfe der Laktatdiagnostik etabliert (Bjarnason-Wehrens 2009).

1.1.3 Moderne Entwicklungen der Laktatforschung

In der aktuellen Literatur wird die Rolle des Laktatanions sehr weit ausdifferenziert (Übersichten bei Philp et al. 2005, Gladden 2004a). Bei Verletzungen der Cutis etwa stimuliert Laktat die Produktion des ‚Vascular Endothelial Growth Factor‘ (VEGF) und einigen Zytokinen zur Unterstützung der Angiogenese und Kollagensynthese im Wundbereich (Trabold et al. 2003, Hunt et al. 2007). In der Onkologie werden Nutzung und Freisetzung von Laktat durch Tumore zunehmend kritisch betrachtet und als prognostische Marker z.B. zur Beurteilung der Malignität und der Neigung zur Metastasierung diskutiert. Im Fokus steht dabei nicht nur die Rolle des Laktates als energetisches Molekül in der hypoxischen Tumorumgebung, sondern auch die nachgewiesene Rolle als Precursor bei der Aminosäurebildung. Es wird vermutet, dass Laktat über Transaminase-Reaktionen zu erhöhtem Proteinangebot und so zum Überleben und Wachstum von Tumoren beiträgt (Kennedy und Dewhirst 2010). Mori et al. (1998) und Trabold et al. (2003) konnten zeigen, dass Laktat pH-unabhängig als Vasodilator agiert. Vlassenko et al. (2006) vermuten, dass die Änderung der Laktatkonzentration über einen Shift der NADH/NAD⁺-Ratio auf einen nicht identifizierten Signalweg Einfluß nimmt und regional den zerebralen Blutfluss modulieren kann. Hein et al. (2006) fanden Belege, dass die durch L-Laktat verursachte retinale Gefäßerweiterung über eine Stimulation der endothelialen NO-Synthase (eNOS) erfolgt.

Leite et al. (2007, 2011) und Sola-Penna (2008) beschreiben regulatorische Funktionen des Laktates auf den Kohlenhydratstoffwechsel. Sie konnten an Skelettmuskelhomogenaten von Mäusen eine konzentrationsabhängige, pH-Wert-unabhängige, Inhibierung der Phosphofruktokinase (PFK) und

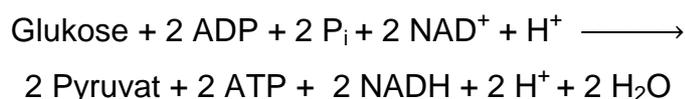
Hexokinase mit konsekutiver Senkung des glykolytischen Flusses und Glukoseverbrauchs durch Laktat dokumentieren.

Die Änderung des Redoxstatus durch Laktat und die mögliche systemische Wirkung durch die Verteilung über den Blutstrom veranlasste Brooks (2002), dem Laktation auch die Rolle eines metabolischen Signals zuzuweisen. Er verglich die Wirkungen mit einem Pseudohormon und kreierte den Begriff Laktormon.

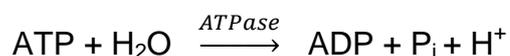
Auch die traditionelle Sichtweise, dass die durch die Laktatbildung verursachte Azidose der Hauptgrund für die Ermüdung der Arbeitsmuskulatur ist (Fitts 1994), wird immer häufiger in Frage gestellt (Lindinger et al. 1995, Pate et al. 1995, Wiseman et al. 1996, Westerblad et al. 1997, Bruton et al. 1998, Posterino et al. 2001, Westerblad et al. 2002, Allen et al. 2008). Nielsen et al. (2001) konnten als Erste sogar einen protektiven Einfluss des Laktates auf die Kraftentfaltung beim Kontraktionszyklus belegen, welchen sie in weiteren Arbeiten (Pedersen et al. 2004) erhärten konnten.

Robergs und Amann (2003) greifen die Arbeit von Gevers (1977) auf und führen in ihrer Publikation den viel beachteten Ansatz aus, dass durch die Bildung von Laktat in der arbeitenden Muskelzelle Protonen verbraucht werden und damit einer Azidose entgegengewirkt wird. Im Detail beschreiben sie bei der Laktat-Dehydrogenase-Reaktion, dass durch die Anlagerung von zwei Elektronen und zwei Protonen Pyruvat zu Laktat reduziert wird. Dabei entstammen zwei Elektronen und ein Proton dem NADH und ein Proton dem Zytosol. Die bei der Muskelkontraktion zur Azidose führenden Protonen entstehen ihrer Meinung nach bei der:

1. Glykolyse



2. ATP-Hydrolyse



Die Arbeiten von Robergs und Mitarbeitern finden nicht nur Zustimmung. Böning & Maassen (2008) verwerfen das Konzept von Robergs und Amann, für sie bleibt weiterhin die Laktatbildung bei körperlicher Belastung die alleinige Ursache der nichtrespiratorischen Azidose. Lindinger & Heidenhauser (2008) sehen die Bedeutung des Laktates bei der intrazellulären Azidose durch die Strong-Ion-Difference (SID) Theorie nach Stewart (1983) gegeben. Danach führt die Bildung des starken Anions Laktat zu einer erniedrigten SID mit unvermeidlichem Anstieg der Protonenkonzentration.

Eng verbunden mit dem Konzept der Azidose durch Laktat ist traditionell die Annahme der Entstehung des Moleküls unter Sauerstoffmangel (Hill et al. 1924). Die ersten Berichte der Bildung von Laktat unter aeroben Bedingungen in der Muskulatur stammen von Jöbsis & Stainsby (1968). Sie konnten mit Fluoreszenz-Spektroskopie in Kaninchen-Muskeln zeigen, dass die begrenzte Kapazität der Mitochondrien zur Sauerstoffverarbeitung die Ursache zur Laktatbildung ist und nicht Sauerstoffmangel. Connert et al. (1984, 1990) konnten dies in ihren Arbeiten erhärten. Durch die Limitation der oxidativen Phosphorylierung bei gesteigerter Glykolyse kommt es zu einer Anhäufung von Pyruvat. Um den glykolytischen Metabolismus aufrechtzuerhalten, muss NAD^+ durch die Laktatbildung in der LDH-Reaktion restituiert werden (Jöbsis & Stainsby 1968). Ein großer Vorteil der Glykolyse ist die ca. 100mal so schnelle ATP-Produktion wie über die oxidative Phosphorylierung in der Atmungskette (Voet et al. 1992).

1.1.4 Laktattransport durch Monocarboxylattransporter (MCT)

Die Fortschritte in der modernen Laktatforschung beruhen wesentlich auf dem Nachweis der Existenz der sog. Monocarboxylattransporter. Bis zu diesem Zeitpunkt gab es kaum Zweifel, dass Laktat und andere Monocarboxylate wie Pyruvat, Ketonkörper und β -Hydroxybutyrat ausschließlich über Diffusion biologische Membranen und Gewebe passieren.

Einleitung

Bei Inhibitorstudien mit alpha-cyano-4-Hydroxycinnamat an Erythrozyten konnten Halestrap & Denton (1974) als Erste nachweisen, dass spezielle schon länger vermutete (Watts & Randle 1967, Henderson et al. 1969) Transportmechanismen für Monocarboxylate im Erythrozyten existieren mussten. Deuticke et al. (1978) zeigten in Versuchen mit dem irreversiblen Inhibitor pCMBS (p-chlormercurobenzolsulfat) eine sättigbare Michaelis-Menten-Charakteristik des Carriers. Garcia et al. (1994) klärten die molekulare Struktur des von Ihnen benannten Monocarboxylattransporters 1 (MCT1) auf und konnten das Protein später klonieren. Die Aminosäuresequenz des membranständigen Transporters zeigt 12 transmembranäre Domänen, wobei N- und C-Terminus im Zytoplasma liegen. Das C-terminale Ende scheint der Substraterkennung und -bindung zu dienen, der N-Terminus vermutlich der Positionierung des Proteins in der Membran (Poole et al. 1996, Halestrap & Meredith 2004, Wilson et al. 2009).

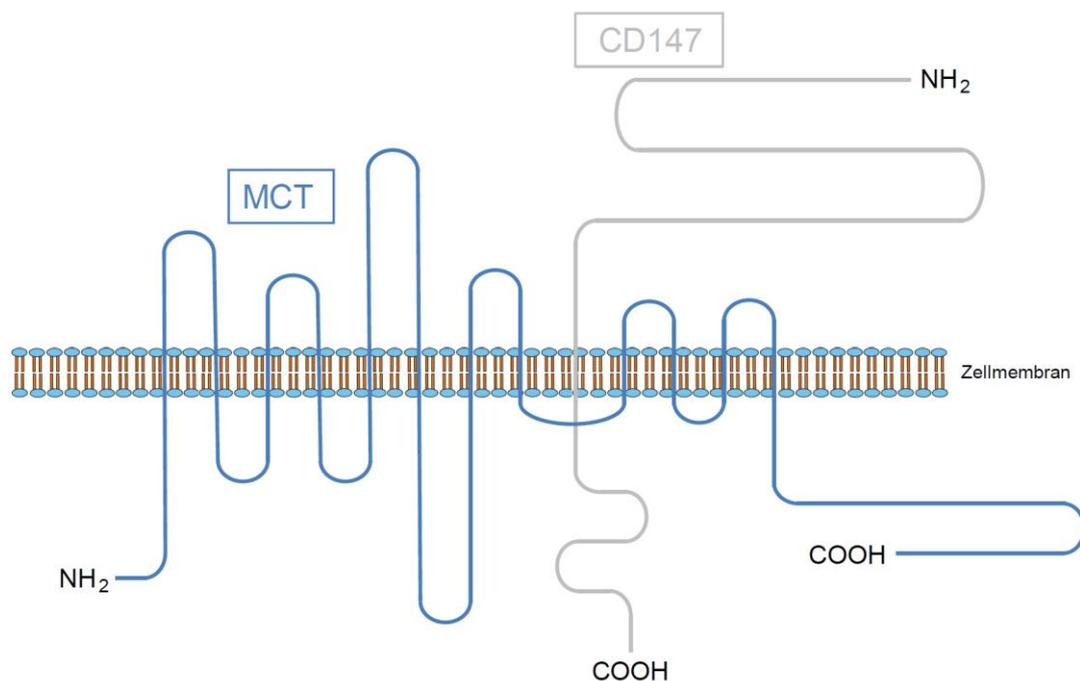


Abb.2: Schematische Darstellung des MCT1/MCT4 und CD147
(modifiziert nach Halestrap & Meredith (2004) und Wilson et al. (2009))

Gegenwärtig sind 14 Isoformen der SLC16 Genfamilie bekannt, wovon die MCT1- und MCT4-Proteine am detailliertesten beschrieben sind (Halestrap &

Meredith 2004, Morris & Felmler 2008). Zur korrekten Platzierung der MCT1 und der MCT4 in der Plasmamembran scheint eine Interaktion mit dem Chaperon CD147, einem Dimer mit einer transmembranären Domäne und einem kurzen zytoplasmatischen Teil, notwendig zu sein (Kirk et al. 2000, Wilson et al. 2002).

Es konnte gezeigt werden, dass es sich um einen stereoselektiven elektroneutralen Kotransport (Symport) eines Monocarboxylat-Ions mit einem Proton ohne Energieaufwand handelt. Dabei erfolgt zunächst die Bindung des Protons, anschließend die Bindung des L-Laktates mit einer konsekutiven Konformationsänderung des MCTs, wodurch die Substrate in Abhängigkeit vom transmembranären Konzentrationsgradienten und pH-Wert translozieren (Dubinsky & Racker 1978, Deuticke 1982, Deuticke 1989, Poole & Halestrap 1993, Juel 1997, Wilson et al. 1998). Das Plateau der hyperbolischen Reaktionskurve ist abhängig von der Anzahl der Transporter (Bonen et al. 1997).

Der schnelle Kotransport von Laktat und Protonen durch die Monocarboxylattransporter ist essentiell für den Stoffwechsel und die pH-Wert Regulation (Poole & Halestrap 1993, Juel 1995).

MCT1

Die Sequenzanalyse und Klonierung des MCT1 (SLC16A1) erfolgte 1994 (Garcia et al. 1994). Das Protein hat eine Molekularmasse von ~ 43 kDa bis ~ 54 kDa (Poole & Halstrap 1994, Bonen 2000a, Fishbein et al. 2002) und transportiert stereoselektiv L-Laktat mit einer K_m von ca. 3.0 – 8.3 mmol (Garcia et al. 1995, Poole & Halstrap 1993, Broer et al. 1998, Dimmer et al. 2000, Manning-Fox et al. 2000). Das Protein ist fast in allen humanen Geweben detektierbar, während in den Erythrozyten und den vaskulären Endothelzellen ausschließlich diese Isoform beschrieben ist (Pierre et al. 2000, Bergersen et al. 2001, Bergersen et al. 2002, Merezhinskaya & Fishbein 2009). In hauptsächlich oxidativ arbeitenden Zellen wie in der Herz- und der Typ1-Skelettmuskulatur ist überwiegend der MCT1 exprimiert, welcher vor allem für den Import von Laktat verantwortlich ist (Kirk et al.

2000, Bonen 2001). Subzellulär konnten die Proteine im Sarkolemm und in den T-Tubuli lokalisiert werden (Bonen et al. 2000a). Zwei Arbeitsgruppen haben in den vergangenen Jahren die Präsenz von MCT1 in den subsarkolemmalen Mitochondrien von Ratten und Menschen nachgewiesen (Brooks et al. 1999a, Brooks et al. 1999b, Dubouchaud et al. 2000, Butz et al. 2004, Benton et al. 2004, Hashimoto et al. 2005). Die subzelluläre Lokalisation des MCT1 wird in der Literatur kontrovers diskutiert (Johannsson et al. 2001, Rasmussen et al. 2002).

MCT4

Die Sequenzanalyse und Klonierung des MCT4 (SLC16A3) erfolgte 1998 (Price et al. 1998). Das Protein hat eine theoretische Molekularmasse von 49,5 kDa (Price et al. 1998) und eine gemessene Molekularmasse von ~ 33 kDa bis ~ 49 kDa (Bergersen et al. 1999, Bonen 2000a, Fishbein et al. 2002). Der MCT4 transportiert stereoselektiv L-Laktat mit einer K_m von ca. 17 – 34 mmol (Broer et al. 1998, Dimmer et al. 2000, Manning-Fox et al. 2000) und wird vorwiegend in Zellen mit hoher glykolytischer Aktivität wie Chondrozyten, Leukozyten, Astrozyten oder weißen Typ2-Skelettmuskelzellen exprimiert (McCullagh et al. 1996, Wilson et al. 1998, Price et al. 1998, Pilegaard et al. 1999b, Dimmer et al. 2000, Meredith et al. 2002, Bergersen et al. 2001, Pellerin et al. 2005). Da diese Zellen Laktat vorwiegend exportieren, wird davon ausgegangen, dass der MCT4 Laktat grundsätzlich eher aus der Zelle transportiert (Wilson et al. 1998, Juel & Halestrap 1999, Bonen et al. 2000a, Dimmer et al. 2000, Meredith & Christian 2008). Subzellulär konnten die Proteine im Sarkolemm, in den T-Tubuli und in einem intrazellulären Pool lokalisiert werden (Bonen et al. 2000a, Hashimoto et al. 2005).

Auch der MCT4 konnte in subsarkolemmalen Mitochondrien detektiert werden (Dubouchaud et al. 2000, Benton et al. 2004). Die subzelluläre Lokalisation des MCT4 ist in der Literatur ebenfalls umstritten (Rasmussen et al. 2002).

1.1.5 Laktattransport in den Erythrozyten

Erythrozyten werden wie alle Blutzellen aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen im Knochenmark unter dem Einfluss verschiedener Differenzierungs- und Wachstumsfaktoren und dem Hormon Erythropoetin (EPO) gebildet. Die reifen Zellen haben eine mittlere Lebensdauer von 120 Tagen. Sie besitzen eine bikonkave Form (Diskozyt) mit einem mittleren Durchmesser von 7,5 μm , einer zentralen Dicke von 1,0 μm und einer Randdicke von 2,5 μm . Durch diese Form ergibt sich eine vergrößerte Oberfläche von 140 μm^2 mit einem Volumen von 90 fl. Das Membranpotential von ca. -10 mV (Woodbury 1965, Lassen & Knudsen 1968) wird durch die unterschiedlichen Ionentransportprozesse, Ionenpermeabilitäten und das Gibbs-Donnan-Potential verursacht (Hoppe et al. 1982). Dieses Potential entsteht, wenn an einer semipermeablen Membran durch nicht diffundierbare Ionen (z. B. Hämoglobin) trotz Einstellung der Elektroneutralität und Ladungsgleichheit auf beiden Seiten der Membran ein Ungleichgewicht der Ionenverteilung entsteht. Diese ungleiche Verteilung führt zu Konzentrationsdifferenzen einzelner Ionen und osmotischem Druckgefälle (Donnan 1911).

Da die Erythrozyten keine Mitochondrien mehr besitzen, können sie ihren Energiebedarf nur über die Glykolyse (ca. 90%) und den Pentosephosphatweg (ca. 10%) im Zytosol decken. Die dazu notwendige Glukose wird aus dem Blutplasma durch die membranständigen Glukosetransporter 1 (GLUT1) über erleichterte Diffusion insulinunabhängig aufgenommen (Mueckler et al. 1985).

In den Erythrozyten sind nach dem aktuellen Stand der wissenschaftlichen Literatur drei Wege für den Transport von Laktat und Milchsäure bekannt:

1. Die nichtionische Diffusion bei hohen Konzentrationen der freien Säure.
2. Der Transport über den Anionenaustauscher 1 (AE1) bzw. Band-3-Protein, ein integrales 95 kDa Membranprotein, welches hauptsächlich HCO_3^- gegen Cl^- -Ionen austauscht (Jay 1996). Laktationen werden gegen Cl^- - oder HCO_3^- -Ionen ausgetauscht.

3. Die erleichterte Diffusion über den MCT1 (Deuticke et al. 1982, Halestrap 1976, Leeks & Halestrap 1978).

Anteilig beträgt der Transport des Laktates über den MCT1 ca. 90%, über Band-3 ca. 6% und über die nichtionische Diffusion ca. 4% (Deuticke et al. 1982, Poole & Halestrap 1993, Lindinger et al. 1995), wobei steigende Laktat- und Protonenkonzentrationen den Anteil des MCT-Transportes vermindern. Skelton et al. (1998) konnten bei in vitro Versuchen an Erythrozyten bei 41 mmol/l Laktat einen anteiligen Influx über MCT von ca. 76.5%, über Band-3 von ca. 12.0% und über die anionische Diffusion von ca. 11.5% messen.

Einfluss körperlicher Belastung auf den MCT1 in den Erythrozyten

In der Literatur liegen gegenwärtig drei Trainingsstudien zum Einfluss körperlicher Belastung auf die Expression des MCT1 in den Erythrozyten vor. Aoi et al. (2004) konnten in Ghosts aus Erythrozytenmembranen nach drei Wochen Schwimmtraining (1 h/d) eine signifikant höhere MCT1-Dichte (+18%) nachweisen als in denen der inaktiven Tiere. Die MCT1-Konzentration in jungen Erythrozyten war in der Schwimmgruppe ebenfalls höher (+22%) als in der inaktiven Gruppe.

Die Studien von Kreutz (2010) und Opitz (2011) zum Einfluss von Kraft- und Ausdauertraining auf die MCT-Proteinexpression in den Erythrozyten wurden mit Typ-2-Diabetikern durchgeführt und werden in der vorliegenden Arbeit unter 1.3.5 dargestellt.

1.1.6 Laktatverteilung im Blut

Bereits seit dem 19. Jahrhundert ist bekannt, dass das Laktatanion in den Kompartimenten des Blutes ungleichmäßig verteilt ist (Gaglio 1886, Berlinerblau 1887). Hill et al. (1924) konnten zeigen, dass die Laktatkonzentration in Ruhe und nach Belastung im Serum immer höher als im Vollblut ist, und Noshi (1929) gelang als Erstem die Konzentrationsbestimmung des Moleküls in den Erythrozyten unter Einbeziehung der Vollblut- und Serumwerte und des Hämatokrits.

$$[E] = \frac{[B] - [P](1 - \text{Hkt})}{\text{Hkt}}$$

Gleichung zur Berechnung der Laktatkonzentration in den Erythrozyten $[E]$ aus der Vollblutkonzentration $[B]$, der Plasmakonzentration $[P]$ und dem Hämatokrit (Hkt).

(modifiziert nach Decker & und Rosenbaum 1942)

Sowohl in Ruhe als auch nach körperlicher Belastung konnte Noshi im Plasma dabei immer höhere Konzentrationen als in den Erythrozyten messen, das Verhältnis (Ratio) der Laktatkonzentration in den Erythrozyten und im Plasma konnte er in Ruhe mit 0.83 und nach intensiver Belastung mit 0.45 bestimmen. In der Folge kamen andere Autoren zu ähnlichen Ergebnissen (Devadatta 1934, Decker & Rosenbaum 1942, Johnson et al. 1945, Huckabee 1956, Daniel et al. 1964, Harris & Dudley 1989, Juel et al. 1990, Lindinger et al. 1992, Bangsbo et al. 1997, Hildebrand et al. 2000, Böning et al. 2007, Wahl et al. 2010a, Wahl et al. 2010b, Zinner et al. 2011). Andere Autoren sehen zwar eine ungleiche Verteilung des Moleküls im Blut, aber keine Veränderung der Ratio unter Belastung (Foxdal et al. 1990, Smith et al. 1997a, Smith et al. 1997b, McKelvie et al. 1991).

Buono & Yeager (1986) wiederum sehen kaum einen Unterschied der Laktatkonzentrationen in Erythrozyten und Plasma. Nur bei Belastungen über 75% der $\text{VO}_{2\text{max}}$ berichten sie über einen höheren Laktatspiegel in den Erythrozyten als im Plasma.

Die unterschiedliche Verteilung des Laktatanions wird häufig mit der Barrierefunktion der Erythrozytenmembran und der Aufrechterhaltung der sog. Donnan-Gibbs-Verteilung (Johnson et al. 1944, Huckabee 1956, Daniel et al. 1964, Böning et al 2007) begründet. Wahl et al. (2010a) sehen darüber hinaus eine Limitierung des Laktat-Influx in die Erythrozyten in Abhängigkeit von der Dichte der Transportproteine, was bei kurzzeitigen maximalen körperlichen Belastungen ein limitierender Faktor sein könnte.

Auf die zahlreichen Untersuchungen der Laktatratio in verschiedenen Tierspezies (Aragno 1978, Aragno 1981, Räsänen et al. 1995, Skelton et al. 1995, Rainger et al. 1995, Väihkönen & Pösö 1998, Väihkönen et al. 1999, Väihkönen et al. 2001, Koho et al. 2002, Koho et al. 2006) wird in der

vorliegenden Arbeit nicht eingegangen, da sich das Compound der für den Laktattransport zuständigen Proteine in den Erythrozytenmembranen z.T. erheblich von denen beim Menschen unterscheidet.

Die Dynamik und Charakteristik der Verteilung des Laktations im Blut hat durch die Laktat-Shuttle-Theorie (siehe 1.1.9) an Bedeutung gewonnen, da die V_{\max} und die K_m des Influx in die Erythrozyten bestimmend für die Konzentrations-Gradienten zwischen produzierendem Gewebe, Blut und verbrauchenden Zellen ist. Bei einer Trainierbarkeit des Systems können sich Vorteile z.B. in der Muskulatur beim Netto-Release von Laktat, der pH-Wert-Regulation und der Wertigkeit des Blutes als Verteilungs- und Transportraum ergeben (Deuticke 1982, Roth 1991, Skelton et al. 1995, Wahl et al. 2010a).

1.1.7 Laktattransport in der Skelettmuskulatur

In der menschlichen Muskulatur werden die Monokarboxylattransporter 1 und 4 (Wilson et al. 1998, Bonen et al. 1998, Juel & Halestrap 1999, Pilegaard et al. 1999b) exprimiert, wobei die Verteilung der beiden Isoformen in den Fasertypen differiert. Der MCT1 wird überwiegend in den oxidativen Typ1 Fasern exprimiert (Garcia et al. 1994, McCullagh et al. 1996, Fishbein et al. 2002). Der MCT4 kann dagegen fast ausschließlich in den glykolytischen Typ2-Fasern detektiert werden (Garcia et al. 1994, McCullagh et al. 1996, Wilson et al. 1998).

Pilegaard et al. (1999b) publizierten abweichende Ergebnisse für die MCT-Verteilung nach Immunofluoreszenzmikroskopie an Muskelschnitten. Sie zeigten ähnliche Verteilungen der MCT1-Transporter sowohl in Typ1- als auch in Typ2-Fasern. Für die MCT4 fanden sie eine klar ausgeprägte Präferenz in der Membran der Typ2-Fasern, bei stark ausgeprägter inter-individueller Varianz. Die Autoren fanden auch abweichende Dichten der MCT- Proteine in den gleichen Fasern unterschiedlicher Muskeln.

Hashimoto et al. (2005) bestimmten an Ratten erstmals immunhistochemisch in oxidativen Fasern das Verhältnis von MCT1- zu MCT4-Proteinen (ca.

2.2:1.0); in den glykolytischen Fasern ist das Verhältnis nahezu umgekehrt (ca. 1.0:1.5).

Einfluss körperlicher Belastung auf MCT1 und MCT4 in der Skelettmuskulatur

Zahlreiche Studien an Tieren und Menschen belegen einen Einfluss von körperlicher Belastung auf die Expression der Monocarboxylattransporter MCT1 und MCT4 in der Skelettmuskulatur.

Tierstudien:

McCullagh et al. (1997) fanden nach einer Woche in elektrisch stimulierter Rattenmuskulatur eine signifikante Zunahme der MCT1 Proteine.

Baker et al. (1998) zeigte nach hochintensivem Training an Ratten ebenfalls einen Anstieg der MCT1-Dichte. Bonen et al. (2000b) konnten nach chronischer Stimulation an Rattenmuskulatur nach 1 – 3 Wochen nur Anstiege der MCT1-Dichte nachweisen, die MCT4-Proteine blieben unverändert.

Yoshida et al. (2004) trainierten Mäuse bis zu sechs Wochen mit moderater Intensität auf dem Laufband. Sie konnten nur erhöhte Dichten bei dem MCT1, nicht jedoch bei dem MCT4 finden.

Thomas et al. (2007) trainierten Ratten über fünf Wochen je fünfmal wöchentlich hochintensiv und konnten Anstiege der MCT1- und MCT4-Dichte sichern.

Einmalige Belastungsuntersuchungen an Ratten (Coles et al. 2004, Eydoux et al. 2000, Tonouchi et al. 2002) zeigten differierende Ergebnisse: Tonouchi und Mitarbeiter fanden eine signifikante Abnahme des MCT1 (-10%) und des MCT4 (-25%). Eydoux et al. untersuchten den MCT1 und konnten keine Änderungen messen. Coles et al. konnten je nach Muskelgruppe und Messzeitpunkt signifikante Steigerungen des MCT1 (+56% bis +193%) und des MCT4 (+41% bis +323%) zeigen.

Humanstudien:

Bickham et al. (2006), Burgomaster et al. (2007), Mohr et al. (2007) und Bishop et al. (2008) konnten nach hochintensivem Intervalltraining an jungen

Männern über 5 – 8 Wochen unterschiedliche Ergebnisse bzgl. der MCT-Dichte sichern. Die Gruppe um Burgomaster fand signifikante Anstiege beider Proteine. Die Gruppen um Bickham und Mohr konnten nur einen Anstieg der MCT1, aber keine Veränderung bei den MCT4 finden. Bishop und Mitarbeiter konnten weder bei den MCT1 noch bei den MCT4 Veränderungen nach dem Training messen. Juel et al. (2004a) trainierten mit jungen Männern bis zu acht Wochen einbeinige Kickbewegungen in sitzender Position und fanden signifikant erhöhte MCT1-Dichten im M. quadriceps femoris. Die leichten Anstiege der MCT4 konnten statistisch nicht gesichert werden. Pilegaard et al. (1999a) konnten nach einer achtwöchigen Trainingsstudie mit intensiver einbeiniger Fahrradergometrie an „giant vesicles“ nach Muskelbiopsien aus dem M. quadriceps femoris eine Steigerung der MCT1- und MCT4-Dichte zeigen.

Green et al. (2008a) testeten zwölf junge Männer an drei konsekutiven Tagen bei ~ 60% der VO_{2max} auf dem Fahrradergometer bis zur Erschöpfung oder maximal zwei Stunden lang. Signifikant erhöht war der MCT4 einen Tag nach dem dritten Test, der MCT1 am zweiten Tag nach Testende.

Perry et al. (2008) untersuchten fünf Männer und drei Frauen nach sechs Wochen hochintensivem Intervalltraining (HIT). Das Training wurde dreimal wöchentlich bei ~ 90% der VO_{2peak} auf dem Fahrradergometer durchgeführt. Nach dem Training konnten signifikante Steigerungen der MCT1- und MCT4-Proteine in Biopaten des m. vastus lateralis gemessen werden.

Nur drei im weiteren Sinn klassische Ausdauertrainingsstudien zum Einfluss auf die muskulären MCT finden sich aktuell in der Literatur:

Bonen et al. (1998) fanden bei sieben jungen Männern nach einer Woche Ausdauertraining auf dem Fahrradergometer mit jeweils zwei Stunden pro Tag bei 65% der VO_{2max} eine signifikante Steigerung des MCT1-Gehaltes im M. vastus lateralis von 18%.

Dubouchaud et al. (2000) trainierten neun junge Männer neun Wochen lang sechsmal wöchentlich jeweils eine Stunde bei 75% der VO_{2max} . Der Western-Blot an Homogenaten des M. vastus lateralis zeigte einen signifikanten Anstieg des MCT1.

Evertsen et al. (2001) verglichen Elite-Skilangläufer/-Innen nach fünfmonatigem, fast täglichem Ausdauertraining mit unterschiedlichen Intensitäten (80 – 90% bzw. 60 – 70% der VO_{2max}). Die hochintensiv trainierende Gruppe zeigte keine Veränderung der MCT-Proteindichte. Das Training mit der niedrigeren Intensität führte bei der MCT1-Dichte zu einem signifikanten Rückgang um 12%; der MCT4 blieb unverändert. Männer und Frauen wiesen keine Unterschiede auf.

Die Studien von Kreuz (2010) und Opitz (2011) zum Einfluss von Kraft- und Ausdauertraining auf die MCT-Proteinexpression in der Skelettmuskulatur wurden mit Typ-2-Diabetikern durchgeführt und werden in der vorliegenden Arbeit unter 1.3.5 dargestellt.

Einmalige Belastungsuntersuchungen am Menschen zeigten unterschiedlichen Ergebnisse: Bishop et al. (2007) konnten signifikante Abnahmen des MCT1 (- 24%) und des MCT4 (- 26%) messen, Green et al. (2002) und Thomas et al. (2005) fanden teilweise signifikante Anstiege von beiden Carriern. Bei Green et al. (2011) blieben die MCT1 und die MCT4 unverändert.

Green et al. (2008b) untersuchten zwölf untrainierte Männer während eines 16-stündigen Versuches. Jede Stunde mussten die Probanden sechs Minuten lang bei ~ 91% der VO_{2peak} auf einem Fahrradergometer fahren. Nach 9 und 16 Stunden konnte mit Western-Blot-Analysen ein signifikanter Anstieg der MCT4-Proteine im M. vastus lateralis gemessen werden. Die MCT1-Proteine blieben unverändert.

Die Abhängigkeit der Laktattransportkapazität von der MCT-Dichte konnten einige Arbeitsgruppen belegen: McCullagh et al. (1997) konnten nach Training an Rattenmuskulatur die erhöhte Laktataufnahme mit der gesteigerten MCT1-Dichte korrelieren. Bonen et al. (1998) konnten nach Training eine Verbesserung der Laktat-Freisetzung aus humaner Skelettmuskulatur ins Blut auf erhöhte MCT1-Dichte zurückführen. Pilegaard et al. (1999a) zeigten, dass humane Skelettmuskulatur nach Training eine gesteigerte Transportkapazität für Laktat und H^+ aufwies und sahen als Ursache die gesteigerte sarkolemmale MCT1- und MCT4-Dichte.

Dubouchaud et al. (2000) zeigten, dass der Gehalt an MCT1- und MCT4-Transportern im Sarkolemm positiv mit dem Laktat-Release bei Belastung korreliert. Evertsen et al. (2001) konnten für die MCT1-Dichte, nicht jedoch für die MCT4-Proteine, eine positive Korrelation zur Laktatkonzentration bei Belastung zeigen.

Bentley et al. (2009) konnten bei zehn ausdauertrainierten Radfahrern keinen Zusammenhang zwischen der MCT1-/MCT4-Dichte und der Ausdauerleistungsfähigkeit zeigen.

Obwohl die genannten Zusammenhänge von Laktat-Transportvermögen und MCT-Proteindichte nur indirekt nachgewiesen werden können und es weitere verantwortliche Mechanismen zur Laktat-Clearance gibt (z.B. Blutfluss und Kapillardichte), gehen Juel (2004a) und Messonnier et al. (2007) davon aus, dass Änderungen der MCT-Dichte von funktioneller Bedeutung sind.

1.1.8 Regulation der MCT-Expression

Es gibt aktuell zahlreiche Hinweise auf Regulationsmechanismen der MCT, die jedoch auf der molekularen Ebene der Signalwege und Genexpression erheblichen Forschungsbedarf aufzeigen. Es wurde gezeigt, dass die MCT's transkriptional, translational und post-translational reguliert werden (Cuff & Shirazi-Beechey 2002; Cuff et al. 2002; Enerson & Drewes 2003; Enoki et al. 2006; Chenal & Pellerin 2007; Hashimoto et al. 2007; Brooks et al. 2008).

Pilegaard et al. (1999a) sehen die Ursachen der gesteigerten Transporterdichte nach muskulärer Aktivität z.B. in dem Einwirken erhöhter Anschoppung von Laktat und H^+ auf die Translation der MCT-Proteine. Narumi et al. (2010) vermuten nach ihren Versuchen mit einem in vitro Skelettmuskelmodell (humane RD Zellen) eine Beteiligung des cAMP-vermittelten Proteinkinase-A-(PKA)-Signalweges bei der Expression von MCT1. Sie ziehen zusätzlich die Beteiligung der Proteinkinase C (PKC) bei der Aktivierung des PKA-Signalweges in Betracht.

Benton et al. (2008) konnten an Skelettmuskeln der Ratte demonstrieren, dass PGC-1 α , der Hauptregulator der mitochondrialen Biogenese (Kelly & Scarpulla 2004), auch die Expression von MCT1 und CD147 regulieren

kann. In ihren Experimenten dokumentierten sie nach Überexpression von PGC-1 α in vivo einen Anstieg von MCT1 und CD147 in Kombination mit einer erhöhten Laktataufnahme. Weiter belegten sie nach chronischen Muskelkontraktionen einen Anstieg sowohl von PGC-1 α als auch von MCT1 und CD147. Die Autoren konnten keinen Einfluss auf die Expression von MCT4 nachweisen.

Das Gegenteil kontraktile Aktivität, die völlige körperliche Inaktivität oder muskuläre Denervierung, führen zur Downregulation der MCT1- und MCT4-Proteinexpression und zu einer Abnahme des Laktattransportes (Wilson et al. 1998, Baker et al. 1998, Pilegaard & Asp 1998, Juel & Halestrap 1999).

Hashimoto et al. (2007) untersuchten den Einfluss von Laktat auf die MCT1-Expression und führten ein Screening an L6 (Ratten-Skelettmuskelzelllinie) Zellkulturen nach Laktat-sensitiven Genen durch. Sie konnten einen dosis-abhängigen Anstieg der MCT1-mRNA und -Proteinexpression nach einer Stunde Laktatinkubation messen. Die mitochondriale cytochrome-c-oxidase (COX) mRNA und Proteinexpression waren nach sechs Stunden erhöht. Die Arbeitsgruppe macht transkriptionale und posttranskriptionale Mechanismen dafür verantwortlich. Sie vermuten, dass die zur MCT1-Transkription führende Laktat-Signalkaskade über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) führen kann und Gemeinsamkeiten mit Signalwegen und Transkriptionsfaktoren der mitochondrialen Biogenese aufweisen.

Ullah et al. (2006) konnten nach Untersuchungen an HIF1 α -Knock-out Mäusen und verschiedenen Zelllinien unter einer hypoxischen Atmosphäre (1% O₂) nachweisen, daß die MCT4-Expression, nicht jedoch die MCT1-Expression über Hif1 α gesteuert wird. Perez de Heredia (2010) zeigten in humanen Adipozytenkulturen unter hypoxischer Atmosphäre (1% O₂) einen signifikanten Anstieg der MCT1- und MCT4-mRNA. Auch das MCT1-Protein stieg signifikant an; das MCT4-Protein blieb unverändert.

Bonen et al. (2000b) fanden in Rattenherzen eine bis zu siebenfach höhere Menge MCT1-Protein als in der Skelettmuskulatur. Die Menge an entsprechender MCT1-mRNA war dagegen nur 1.2 – 1.4 mal so groß. Sie schlossen daraus, dass besonders im Herzen posttranskriptionale

Mechanismen über einen großen intrazellulären Pool an MCT1-mRNA verfügen, um bei Bedarf größere Mengen des Proteins MCT1 herstellen zu können.

Auch andere Autoren berichten neben den membranös eingebundenen Proteinen von intrazellulären MCT1 und MCT4-Pools (Pilegaard et al. 1999a, Johannsson et al. 2001, Wang et al. 2003), aus denen analog dem GLUT4-Protein bei Bedarf Transporter in die Plasmamembran translozieren könnten. Tonouchi et al. (2002) gelang es jedoch nicht, diese Translokation aus dem Zytosol in die Membran bei MCT4-Proteinen nachzuweisen. Kreutz (2010) und Opitz (2011) konnten bei Erythrozyten von Typ-2-Diabetikern den indirekten Nachweis einer belastungsbedingten akuten und trainingsbedingten Translokation des MCT1-Proteins aus dem Zytosol in die Membran erbringen. Die Translokation könnte in der Interaktion mit dem Glykoprotein CD147 begründet sein (Kirk et al. 2000).

Es wird auch von funktionalen Kooperationen der MCT-Proteine mit anderen Proteinen berichtet: Becker et al. (2004) konnten nach Koexpression des MCT1 mit dem Natrium-Bikarbonat-Transporter (NBC) in Oozyten eine Verdoppelung des Laktattransportes messen. Die gleiche Arbeitsgruppe zeigte eine Steigerung des Transportes von Laktat über MCT1 (Becker et al. 2005; Becker & Deitmer 2008) und MCT4 (Becker et al. 2010) nach Koexpression der Monocarboxylattransporter und der extrazellulären Karboanhydrase II (CAII). Nach der Hypothese von Becker und seinen Mitarbeitern liegt diesem Mechanismus eine Regulation des Protonenflusses durch die CAII in unmittelbarer Nähe der MCT zugrunde.

1.1.9 Laktat-Shuttle-Theorien

Die herausragende Rolle der Monocarboxylattransporter bei der Steuerung der Protonen- und Laktatkonzentration mit essentiellen Auswirkungen auf den Energiestoffwechsel und die körperliche Leistungsfähigkeit, die kinetischen Eigenschaften und die gewebespezifische Verteilung der einzelnen MCT-Isoformen sowie die Signal-Wirkungen im gesamten Organismus haben zu den sog. Laktat-Shuttle-Theorien geführt (Brooks

1985). Als Kontrast zur traditionellen Ansicht, dass die Laktatbildung eine metabolische Sackgasse darstellt, ist die Shuttle-Theorie aktuell sehr weit ausdifferenziert und in weiten Teilen der Wissenschaft akzeptiert. Zentrale Bestandteile sind der sog. Zell-Zell-Shuttle und der intrazelluläre Shuttle (Brooks et al. 2008).

Die kinetischen Eigenschaften und die gewebe- und zellspezifische Verteilung der verschiedenen MCT-Proteine ermöglichen einen zielgerichteten Laktatfluss, der z.B. unter Belastung aus den glykolytischen Muskelfasern (MCT4) in die oxidativen Fasern (MCT1) führt, wo das Laktat oxidiert wird (Brooks 2002). Überschüssiges Laktat gelangt als sog. Netto-Release ins Blut und wird über die Zirkulation dem gesamten Organismus als mobiler Energieträger und Signalmolekül zur Verfügung gestellt. Mit steigender Intensität der Belastung nimmt der Anteil der Laktatoxidation an der Gesamtenergiegewinnung zu und schon bei moderater Intensität übertrifft der Laktatfluss den Glukosefluss (Brooks 1991, 2000). Dazu ist Laktat der wichtigste Prekursor der Glukoneogenese über den Cori-Zyklus (Cori & Cori 1929, Consoli et al. 1990, Brooks et al. 1991, Bergmann et al. 2000, Trimmer et al. 2002). Weitere Laktat-Shuttle werden schon länger z.B. für die Astrozyten und Neurone des Gehirns (Pellerin & Magistretti 1994, Kasischke et al. 2004, Pierre & Pellerin 2005), die Retina (Philp et al. 2003) und die Spermatogenese (Brauchi et al. 2005) diskutiert.

Wenn der arterielle Laktatspiegel steigt, vor allem bei Muskelarbeit, greifen andere Organe verstärkt, trotz suffizienter Glukosespiegel, auf Laktat als Energieträger zurück (Stanley 1991, Quistorff et al. 2008, van Hall et al. 2009 Rasmussen et al. 2011) (Abb. 3).

Einleitung

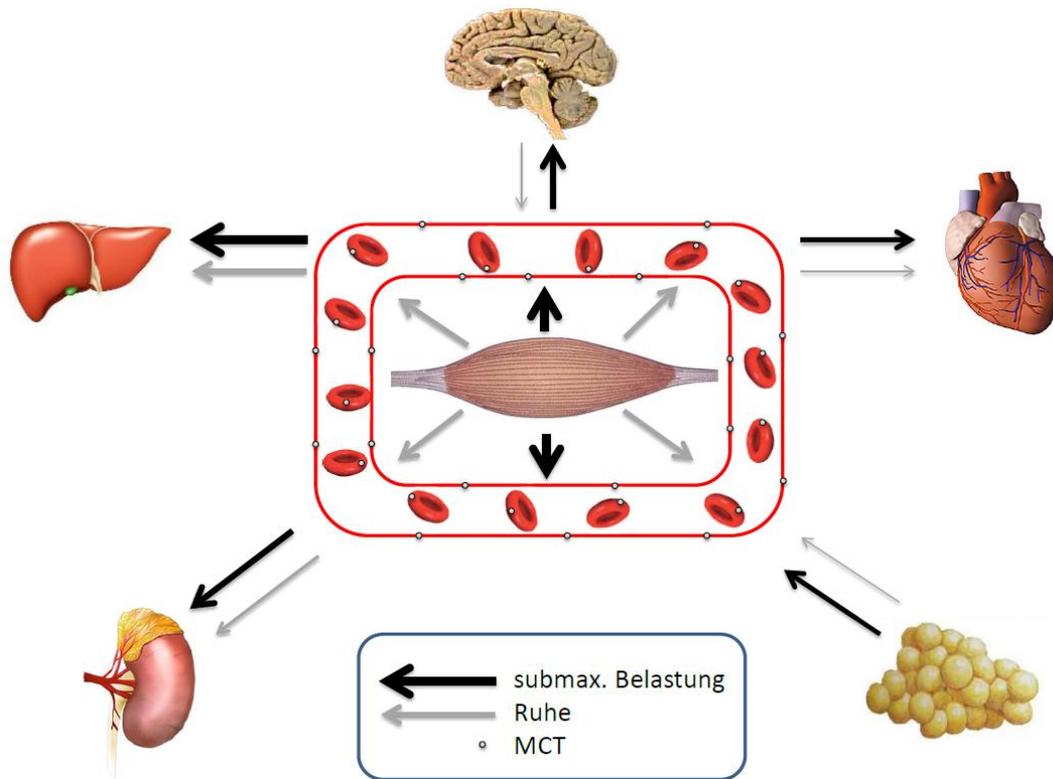


Abb. 3: Schematische Darstellung des Laktat-Shuttle anhand des Netto-Flusses über die Blutzirkulation von und zu den Organen in Ruhe (graue Pfeile) und submaximaler körperlicher Belastung (schwarze Pfeile). Die MCT in den Organen sind nicht dargestellt.

(modifiziert nach van Hall 2010)

Eine wesentliche Erweiterung des Zell-Zell-Shuttle wurde 1998 von der Arbeitsgruppe um Brooks präsentiert: der intrazelluläre Laktat-Shuttle. Basierend auf Hinweisen einer mitochondrialen Laktatdehydrogenase (Baba & Sharma 1971, Kline et al. 1986, Brandt et al. 1987) entwickelten Brooks und sein Team diese Hypothese kontinuierlich weiter, wonach eine direkte Oxidation des Laktat-Moleküls, nach dem Transport über MCT1, in den Mitochondrien stattfindet (Brooks 1998, Brooks et al. 1999a, Dubouchaud et al. 2000). Jüngste Veröffentlichungen der Arbeitsgruppe um Brooks gehen von einem sog. Laktatoxidationskomplex (LOK), bestehend aus MCT1, CD147, LDH und COX an der Außenseite der inneren Mitochondrienmembran aus. Nur Laktat, nicht Pyruvat, wird nach dieser Hypothese durch die äußere Mitochondrienmembran transportiert. Pyruvat entsteht dann erst bei der LDH-Reaktion im LOK und wird dann über MCT1 in den Krebszyklus

in der Matrix geschleust (Hashimoto et al. 2006; Hashimoto & Brooks 2008). Brooks (2009) sieht in der Koloalisation von MCT1 und COX die äußerst bedeutende Verbindung von oxidativem und glykolytischem Stoffwechsel. Laktat sieht er gleichzeitig als Produkt des glykolytischen und Substrat des oxidativen Metabolismus (Brooks 2002).

Während der Zell-Zell-Laktat-Shuttle wissenschaftlich etabliert ist (Gladden 2008a), treffen die von Brooks und seinen Arbeitsgruppen vertretenen Hypothesen zum intrazellulären Laktatshuttle in der Literatur teilweise auf starken Widerstand. Rasmussen et al. (2002) und Sahlin et al. (2002) bestreiten energisch die Existenz eines intrazellulären Shuttles, da LDH in Mitochondrien bisher nicht sicher nachgewiesen werden konnte und eine direkte Oxidation von Laktat thermodynamisch wegen des Redoxstatus (NAD^+/NADH -Ratio) nicht möglich wäre. Yoshida et al. (2007) finden ebenfalls keine Hinweise auf LDH in der Matrix und sehen keine Möglichkeit einer direkten Oxidation von Laktat in den Mitochondrien. Van Hall (2010) sieht die Ursache für die direkte Oxidierung von Laktat in der w.o. beschriebenen Kompartimentierung der Myozyten. Auch Gladden (2008b) findet in seinem Literatur-Review mit dem Schwerpunkt LDH eher Beweise gegen die direkte Laktat-Oxidation in den Mitochondrien.

1.2 Hypoxie

Die Verfügbarkeit von Sauerstoff ist für alle Vertebraten essentiell und wird durch ein im Laufe der Evolution entstandenes effektives, mehrfach abgesichertes, Transportsystem sichergestellt. Über 90% des aufgenommenen Sauerstoffs werden als terminaler Elektronenakzeptor durch die COX der Mitochondrien bei der oxidativen Phosphorylierung zur Generierung von ATP genutzt (Taylor, 2008). Das Zusammenspiel zwischen Lunge, Herz, Gefäßsystem und den hochspezialisierten Erythrozyten gewährleistet die Aufrechterhaltung des physiologisch notwendigen Sauerstoffdrucks von der Atemluft bis hin zu den O_2 -verbrauchenden molekularen Strukturen.

Der Sauerstoffanteil an den Gasen der Erdatmosphäre beträgt ca. 20.942 Vol% (ICAO Standardatmosphäre trockene Luft bei 1013.25 hPa, 15°C) und

nach dem Dalton-Gesetz für ideale Gase ergibt sich auf Meeresebene ein Sauerstoff-Partialdruck P_{O_2} von ca. 212 hPa (159 mmHg). Bei der Einatmung wird der O_2 -Druck nach der Alveolargasgleichung weiter bis auf ca. 100 mmHg in den Alveolen reduziert.

Alveolargasgleichung:

$$p_{A O_2} = F_i O_2 (p_B - p_{H_2O}) - \left(\frac{p_A C O_2}{R_Q} \right)$$

Bei physiologischen Bedingungen in Ruhe unter Normoxie existiert somit ein Sauerstoffdruckgradient von ca. 100 mmHg in den oberen Atemwegen bis hin zu ca. 5 mmHg in den Mitochondrien (Taylor, 2008).

Der Luftdruck nimmt in der Troposphäre mit der Höhe relativ linear ab (bis ca. 11000 m) und kann näherungsweise mit der internationalen Höhenformel bestimmt werden:

$$p(h) = 1013.25 \left(1 - \frac{0.0065 * h}{288.15} \right)^{5.255} \text{ hPa}$$

Aufenthalte in der Höhe bewirken je nach Dauer und Höhe komplexe akute und chronische Reaktionen des Organismus. Ungeachtet der multiplen Einflussfaktoren (geringere Schadstoffbelastung, verminderter Umgebungsdruck, Dichteabnahme der Luft, verstärkte Wirkungen der Sonnenstrahlung, niedrigere Temperatur, erhöhter Ozongehalt usw. als auf Meereshöhe) werden die beobachteten systemischen und zellulären Anpassungen vor allem auf den reduzierten Sauerstoffpartialdruck in der Atemluft (Hypoxie) zurück geführt (Knaupp et al. 1992).

Den akuten Anpassungen wie z.B. erhöhtes Atemminutenvolumen und Herzzeitvolumen folgt eine Hämokonzentration durch eine Verschiebung intravasaler Flüssigkeit ins Interstitium (Tannheimer et al. 2010). Im weiteren Verlauf kommt es zu einer gesteigerten Erythropoese mit einem Anstieg der Hämoglobin-Gesamtmasse (Berglund 1992). Diese Steigerung der O_2 -Transportkapazität kann zu einer Verbesserung der Ausdauerleistungsfähigkeit sowohl in der Höhe als auch auf Meeresebene führen.

Dem stehen jedoch mögliche Leistungsminderungen z.B. durch den Abfall der maximalen Sauerstoffaufnahme und der Mitochondriendichte nach intensiver Höhenexposition entgegen. Außerdem sind Trainingsumfänge reduziert und das Auftreten von Symptomen der Höhenkrankheit AMS (acute mountain sickness) beeinträchtigt die Leistungsfähigkeit und Belastbarkeit (Muza 2007).

1.2.1 Der Einfluss von Hypoxie auf den Kohlenhydratstoffwechsel

Bereits 1861 konnte Pasteur (1861) beobachten, dass Zellen unter Sauerstoffmangel nicht nur eine gesteigerte Laktatbildung aus der anaeroben Glykolyse zeigen, sondern auch vermehrt Glukose verbrauchen (Pasteur-Effekt). Dieser Befund konnte mehrfach bestätigt werden (Randle & Smith 1958, Morgan et al. 1959, Özand et al. 1962, Wheeler 1988, Cartee et al. 1991). Cartee et al. (1991) und Azevedo et al. (1995) erklären das im Weiteren mit einem insulinunabhängigen Signalweg, der identisch mit jenem sei, der durch Muskelkontraktion eine GLUT-4-Translokation auslöst (siehe Abb. 4). Mehrfach wurde auch publiziert, dass während körperlicher Belastung in größeren Höhen (4300 m) die Energie verstärkt aus Kohlenhydraten gewonnen wird (Brooks et al. 1991, Roberts et al. 1996). Friedmann et al. (2004) fanden bei ausdauertrainierten Sportlern erhöhte ‚Respiration Exchange Ratio‘ (RER)-Werte als Ausdruck verstärkter Kohlenhydratnutzung bei Belastung unter moderater Hypoxie ($FiO_2 = 0.15$). Katayama et al. (2010) untersuchten sieben gesunde Männer bei erschöpfenden Belastungstests auf dem Fahrradergometer unter Hypoxie (600 mmHg = 2000 m) oder Normoxie (742 mmHg). Auch sie fanden einen signifikant leicht erhöhten RER bei gleicher Belastung unter Hypoxie, was sie ebenfalls mit einer verstärkten Kohlenhydratverbrennung erklären. Der Blutglukosespiegel blieb unverändert, der Laktatspiegel zeigte einen tendenziellen Anstieg unter Hypoxie. Der beschriebene mögliche metabolische Shift könnte durch die verbesserte Ratio ATP/ O_2 -Verbrauch zu

einer Ökonomisierung des Energiestoffwechsels unter Hypoxie führen (Braun et al. 2000, Green et al. 1992, Mazzeo 2008).

Ebenfalls wurden Daten gesichert, die nach Training in moderaten Höhen oder unter moderater normobarer Hypoxie eine Verbesserung der Insulinsensitivität und der Glukosetoleranz belegen (Lundby & Van Hall 2002, Lee et al. 2003, Haufe et al. 2008).

Dagegen belegen Larsen et al. (1997) und Braun et al. (2001) nach akuten kurzfristigen Höhengaufenthalten (48 Stunden auf 4550 m) eine deutlich ausgeprägte Glukoseintoleranz bei gesunden Männern und Frauen, welche sich bei länger dauernden Aufenthalten in der Höhe wieder normalisierte (Brooks et al. 1991).

Andere Studien konnten auch keinen Shift zu vermehrter Kohlenhydratnutzung durch Höhengaufenthalte (4100 m) (Bouissou et al. 1987, Lundby & van Hall 2002) oder Hypoxie (Saltin 1996) belegen. Auch der respiratorische Quotient blieb bei anderen Untersuchungen durch Höhen über 3000 m oder ausgeprägte Hypoxie ($FiO_2 = 0.12$) unbeeinflusst (Jansson 1982, Beidleman et al. 2002).

Ein Indiz für eine verstärkte Nutzung der Kohlenhydrate unter akuten hypoxischen Bedingungen könnte ein erhöhter Laktatspiegel im Blut unter gegebener Belastungsstufe sein (Bärtsch & Saltin, 2008). Diese Linksverschiebung der Laktatleistungskurve bedeutet bei gleicher Belastung einen höheren Laktatspiegel unter Hypoxie, was als Zeichen einer verminderten Leistungsfähigkeit gedeutet werden kann.

Kontrovers wird dagegen das Verhalten des Blut-Laktatspiegels bei längeren Höhengaufenthalten diskutiert. Seit den ersten Beschreibungen durch Dill et al. (1931) und Edwards (1936) wurde wiederholt von erniedrigten Blut-Laktatspiegeln auf gegebener Belastungsstufe in größeren Höhen bei akklimatisierten Versuchspersonen berichtet (Übersicht bei West 2007). Dieses Phänomen wurde später (Hochachka 1988) als sog. Laktat-Paradox bezeichnet. Auch die maximalen Laktatspiegel fallen demnach linear mit der Höhe; ab ca. 7000 m soll kein Anstieg des Laktatspiegels durch Belastung

mehr erfolgen (Cerretelli & Samaja 2003). Andere Autoren bestreiten dagegen gänzlich die Existenz dieses Phänomens (van Hall 2007).

1.2.2 Hypoxie-induzierter Faktor (HIF)

Auf molekularer Ebene steht seit den Arbeiten von Semenza & Wang (1992) der hypoxia-inducible-factor-1 (HIF1) im Fokus der Forschung zum Sauerstoffsensor in den Zellen.

Der Transkriptionsfaktor HIF1 ist ein Heterodimer mit der konstitutiven HIF1 β - und der O₂-regulierten HIF1 α -Untereinheit (Wang & Semenza 1995). HIF1 α wird in der Zelle konstant exprimiert, ist bei der Anwesenheit von Sauerstoff aber instabil und wird sofort mit einer Halbwertszeit von unter fünf Minuten (Wang et al. 1995) degradiert (Yu et al. 1998, Jewell et al. 2001). Bei sinkender O₂-Konzentration wird HIF1 α entsprechend dem Ausmaß der Hypoxie stabilisiert und bindet nach der Translokation in den Zellkern an seine Zielgene. Über 100 dieser Gene sind bisher identifiziert worden und bis zu 2% (von ca. 24800 aller Gene) des menschlichen Genoms werden direkt oder indirekt durch HIF1 reguliert (Manalo et al. 2005, Semenza 2010). Dazu gehören Gene, die die Sauerstofftransportkapazität des Blutes verbessern können, wie Erythropoetin (EPO) (Semenza & Wang 1992), VEGF (Liu et al. 1995), oder die eNOS (Coulet et al. 2003).

Auf metabolischer Ebene werden insbesondere Enzyme der Glykolyse modifiziert und überexprimiert (Schofield & Ratcliffe 2004, Semenza 2010), sodass es zu einem Shift von oxidativer zu glykolytischer Energiegewinnung kommen kann. Die Pyruvatdehydrogenase-Kinase-1 (PDK1), welche die Pyruvatdehydrogenase durch Phosphorylierung inaktiviert, wird hochreguliert. Dadurch wird die Umwandlung von Pyruvat in AcetylCoA und die weitere Verstoffwechslung in den Mitochondrien verhindert. Die Konsequenz ist eine Verminderung des Sauerstoff-Verbrauchs der Mitochondrien (Kim et al. 2006, Papandreou et al. 2006, Pouyssegur & Mechta-Grigoriou 2006). Gleichzeitig wird die Umwandlung von Pyruvat in Laktat durch die gesteigerte Expression der Laktatdehydrogenase-A (LDH-5) begünstigt (Koukourakis et al. 2005). Die Transport-Proteine GLUT1, GLUT3

(Semenza 2002), GLUT4 (Silva et al. 2005) für Glukose und MCT4 (Ullah et al. 2006) für Laktat werden ebenfalls in Abhängigkeit von HIF1 α vermehrt exprimiert.

1.2.3 Der Einfluss von Hypoxie auf die Expression des MCT1 in den Erythrozyten

Juel et al. (2003) untersuchten den Einfluss chronischer Hypoxie auf die Expression des MCT1 in den Erythrozyten. Es zeigte sich nach der Western-Blot-Analyse bei den einheimischen Gebirgsbewohnern (4100 m) ein 324% höherer MCT1-Gehalt als bei Flachlandbewohnern vor dem Höhengaufenthalt. Bei Letzteren stieg die MCT1-Dichte nach zwei und acht Wochen Höhengaufenthalt (4100 m) jedoch signifikant um 230% bzw. 405% des Ausgangsniveaus an. Juel et al. vermuten die enorme Steigerung der MCT1-Dichte entweder durch den Anstieg der Proteindichte neuer Erythrozyten oder durch eine gesteigerte Erythropoese insgesamt.

Connes et al. (2004a) untersuchten in vitro die Erythrozyten fünfzehn ausdauertrainierter Sportler mit und ohne sog. belastungsinduzierter Hypoxämie (EIH). Sie konnten bei den Athleten, die unter der Belastungsuntersuchung eine EIH zeigten, einen höheren Laktatinfux in die Erythrozyten bestimmen (bei ähnlichen Plasmawerten). Weiterhin war der Anteil des MCT1-Proteins am Laktattransport bei diesen Probanden höher als bei denen ohne EIH. Connes und Mitarbeiter sehen in einer durch körperliche Belastung oder durch Umweltbedingungen verursachten Hypoxämie einen möglichen starken Reiz zur Anpassung des Laktattransportes in die Erythrozyten entweder durch erhöhte Proteinexpression oder funktionelle Aktivierung der MCT.

Die von Juel et al. (2003) dokumentierten Auswirkungen von Höhengaufenthalt auf Erythrozytenproteine veranlassten Connes et al. (2004b) und Rentsch et al. (2006), den Einfluss von rekombinantem EPO auf die Expression von Transporterproteinen in der Erythrozytenmembran zu untersuchen. Die Arbeitsgruppe Connes konnte signifikante Anstiege von VO_{2max} , Hämatokrit (Hkt), Hämoglobin (Hb) und der Retikulozytenfraktion

sichern. In vitro waren der totale Laktatinfux und der Transportanteil der MCT1-Proteine teilweise signifikant angestiegen. Rentsch und Mitarbeiter zeigten einen Anstieg der MCT1-Dichte in den Erythrozyten während der Phase der EPO-Injektionen und einen Abfall nach der letzten Injektion dauerhaft bis unter das Ausgangsniveau. Rentsch et al. sehen darin einen Hinweis, dass nur in den neu gebildeten Erythrozyten eine Steigerung der MCT1-Membrandichte stattfand.

1.2.4 Der Einfluss von Hypoxie auf die Expression des MCT1 und MCT4 in der Skelettmuskulatur

Die erste Publikation zum Einfluß von Hypoxie auf die MCT-Expression in der Skelettmuskulatur stammt von McClelland & Brooks (2002). Sie unterzogen Ratten am Ende eines achtwöchigen Aufenthaltes in hypobarer Hypoxie (entsprechend 4300 m Höhe) zwei 60-minütigen Belastungen bei 60% der VO_{2max} im Abstand von zwei Tagen. Unmittelbar nach der zweiten Belastung wurden die Versuchstiere getötet und Herz, Leber sowie M. soleus, M. plantaris und M. gastrocnemius entnommen. In den tiefgefrorenen Geweben wurden LDH, COX, MCT1 und MCT4 sowie die Mitochondriendichte bestimmt. Die Autoren konnten einen gewebe-spezifischen Einfluss der Hypoxie feststellen. Während im Herzen die MCT4-Dichte signifikant erhöht war (+34%), war sie im M. plantaris signifikant erniedrigt (-47%). Auch die MCT1-Dichte war im M. plantaris als einzigem Gewebe signifikant erniedrigt (-47%).

Py et al. (2005) untersuchten an Ratten die Auswirkungen von Hypoxie (21 Tage bei hypobarer Hypoxie entsprechend 5500 m) auf die Expression von MCT1 und MCT4 in den Membranen verschiedener Skelettmuskeln und die Laktataufnahme sarkolemmaler Vesikel. Die Versuche zeigen einen Anstieg der MCT4-Proteine und -mRNA im oxidativen M. soleus. Die MCT1-Dichte wurde durch die Hypoxie nicht verändert.

Ullah et al. (2006) untersuchten die Reaktion verschiedener Zelllinien auf die MCT1- und MCT4-Expression nach 48 Stunden in einer hypoxischen Atmosphäre (1% O_2). Dabei konnten sie einen signifikanten Anstieg des

MCT4-Proteins und der MCT4-mRNA beobachten. MCT1 wurde nicht hochreguliert. In weiteren Untersuchungen mit HIF1 α -Knock-out-Mäusen gelang ihnen der Nachweis, dass die MCT4-Expression, nicht jedoch die MCT1-Expression über HIF1 α gesteuert wird.

Die gegenwärtig einzige publizierte Humanstudie zum Einfluss von Höhe/Hypoxie auf die MCT-Expression stammt von Juel et al. (2003). Sie untersuchten den Einfluss eines achtwöchigen Höhengaufenthaltes (4100 m) auf die Expression von MCT1 und MCT4 im humanen M. vastus lateralis. Die Arbeitsgruppe konnte keine Veränderungen der muskulären MCTs messen. Auch EPO-Injektionen (Juel et al. 2007) hatten keinen Einfluß auf die MCT1- und MCT4-Dichte in Biopaten von humanem M. vastus lateralis.

1.2.5 Das intermittierende Hypoxietraining

Das der vorliegenden Studie zugrunde liegende Konzept der sog. Intermittierenden Hypoxie (IH) oder IHE (intermittend hypoxic exposure) beinhaltet die wiederholte Sauerstoffmangelexposition, die von normoxischen Phasen unterbrochen wird. Intensität und Dauer der Hypoxiephase sowie die Frequenz der Phasenwechsel Normoxie/Hypoxie können frei gewählt werden (Neubauer 2001). Notwendig ist dabei die differenzierte Betrachtung der IH in Ruhe oder unter körperlicher Belastung (IHT = intermittend hypoxic training) (Levine 2002), sowie die Differenzierung zwischen körperlich trainierten oder höhenangepassten Probanden (Burtscher 2005). Körperliche Belastung unter IH ist mit dem Modell LiveLow-TrainHigh (LL-TH) aus dem Leistungssport assoziiert. Der Grundgedanke ist eine synergistische Steigerung der Leistungsfähigkeit oder Belastbarkeit mit geringstmöglichem physischen und logistischem Aufwand bei gleichzeitiger Vermeidung unerwünschter Adaptationen (Vogt et al. 2005).

In der westlichen Literatur sind die Arbeiten von Garcia et al. (2000) richtungsweisend, da sie nach einer IH über zwölf Tage mit täglich zwei Stunden bei 13% O₂ ähnliche Ergebnisse bei der Atemregulation vorweisen konnten, wie bei einem kontinuierlichen Höhengaufenthalt von zwei Wochen.

Dufour et al. (2006) unterzogen achtzehn männliche Wettkampfausdauerläufer sechs Wochen lang zusätzlich zu ihren fünf wöchentlichen Trainingseinheiten einem IHT. Das IHT wurde zweimal pro Woche für 12 – 16 min bei ca. 80% der VO_{2max} entweder unter Normoxie (n = 9) oder unter einem O_2 -reduzierten Luftgemisch (n = 9) mit 14.5% Sauerstoffanteil durchgeführt.

Nur die Hypoxiegruppe zeigte signifikante Verbesserungen der VO_{2max} (+5%), der Laufgeschwindigkeit (+8%) und der Laufzeit bei VO_{2max} bis zur Erschöpfung (+35%).

Gegenwärtig sind in der wissenschaftlichen Literatur keine Studien publiziert, die den Einfluss einer intermittierenden Hypoxie auf die Monocarboxylattransporter 1 und 4 untersucht haben.

1.3 Diabetes-Mellitus-Typ-2

1.3.1 Epidemiologie

Diabetes Mellitus ist von den Vereinten Nationen in der Resolution 61/225 vom 20.12.2006 als erste nicht ansteckende Krankheit auf die Liste der weltweiten Gefahren für die Gesundheit der Menschen gesetzt worden.

Die International Diabetes Federation (2009) geht für 2010 global von ca. 285 Mio. Menschen mit Diabetes Mellitus aus. Hochgerechnet für 2030 werden ca. 438 Mio. Erkrankte erwartet. In Europa gibt es gegenwärtig ca. 55 Mio Diabetiker, wobei Deutschland hier die höchste Prävalenz bei den Erwachsenen (20 – 79 Jahre) mit 12% aufweist. Das sind ca. 7,5 Mio erwachsene Bundesbürger. Die jährliche Steigerung der Diabetes-Prävalenz um ca. 5% in Deutschland (Hauner et al. 2003) stellt eine enorme Herausforderung für das Gesundheitssystem und die Volkswirtschaft dar. Aus der KoDiM-Studie 2005 geht hervor, dass 2001 durch die Erkrankung alleine in Deutschland Gesamtkosten von ca. 60 Milliarden Euro entstanden sind (Köster et al. 2006). Dazu ist die Dunkelziffer der Erkrankung Diabetes-Typ-2 nach Erhebungen der ‚KORA Survey Studie 2000‘ erheblich; hier wurde bei 8.2% der untersuchten 55 – 74jährigen Personen ein Diabetes erstmalig diagnostiziert (Rathmann et al. 2003).

Ca. 90% aller Diabetiker (Giani et al. 2004) leiden am sog. Diabetes-Mellitus-Typ-2 (DT2). Der Begriff wurde erstmals von der American Diabetes Association (ADA 1997) vorgeschlagen und 1998 von der World Health Organisation (WHO) übernommen (Alberti & Zimmet 2008). Die bis dahin geläufigen Begriffe wie NIDDM (non-insulin-dependend Diabetes Mellitus) oder Altersdiabetes wurden durch die neue Nomenklatur abgelöst.

Kennzeichen aller Diabetesformen ist ein dauerhaft erhöhter Glukosespiegel (Hyperglykämie) über 126 mg/dl (7.0 mmol/l) im Nüchtern-Plasma oder 200 mg/dl (11.1 mmol/l) beim oralen Glukosetoleranztest (OGTT) nach den Richtlinien der WHO (Kerner et al. 2004).

Die Erkrankung DT2 ist multifaktoriell und Bestandteil eines Clusters aus Hyperglykämie, Insulinresistenz, gestörter Glukosetoleranz, Hyperinsulinämie, endothelialer Dysfunktion sowie assoziiert mit Adipositas, Dyslipidämie und Hypertonie (metabolisches Syndrom). Die Progredienz der Erkrankung äußert sich in Mikroangiopathien (Nephro- und Retinopathien), Makroangiopathien (kardiale und zerebrale vaskuläre Erkrankungen), peripheren Neuropathien und Stoffwechsellentgleisungen (Stratton et al. 2000, Köster et al. 2006), die die Lebensqualität der Betroffenen massiv beeinträchtigen. Über 70% der Menschen mit DT2 sterben an Herz-Kreislaufkrankungen (Alberti & Zimmet 2008).

Hauptregulator der Glukosehomöostase ist das in den β -Zellen des Pankreas sezernierte Hormon Insulin. Ein Anstieg des Insulinspiegels im Blut führt zu vermehrter Aufnahme und Speicherung von Glukose in insulinabhängigen Geweben – vor allem der Skelettmuskulatur – bei gleichzeitiger Inhibierung der hepatischen Glukoneogenese. Insulin steuert auch den Fettstoffwechsel, indem es die Freisetzung von Fettsäuren in der Leber und Triglyzeriden im Fettgewebe bewirkt (Cheatham & Kahn 1995).

Die Wirkung des Insulins wird mit der Bindung an den heterotetrameren Tyrosinkinase-Rezeptor, bestehend aus zwei α - und zwei β -Untereinheiten, die über Disulfidbindungen kovalent verbunden sind, ausgelöst. Die Bindung des Insulins an die extrazellulären α -Untereinheiten führt über eine Konformationsänderung zur Aktivierung der intrazellulären Tyrosinkinasen

der β -Untereinheiten mit konsekutiver Autophosphorylierung des Rezeptors. An den so aktivierten Rezeptor können intrazelluläre Adapter-Proteine mit SH2-Domänen (SRC Homologie 2 Domäne) binden und bestimmte Signalwege anschalten. Die Insulin-Rezeptor-Substrate 1 und 2 (IRS1, IRS2) sind nach derzeitiger Meinung die wichtigsten Adapter-Proteine zur intrazellulären Signalübertragung des Insulins (White 2003). Weitere sind die SHC-Proteine (src-homology-collagen) und GAB1 (grb-2 associated binder-1). Die Bindung des IRS1 mit GAB1 oder alternativ SHC etwa aktiviert über weitere Bindungsschritte den MAPK-Weg (mitogen activated protein-kinase), welcher Zellwachstum und -differenzierung steuert.

Die Interaktion von IRS1 mit der regulatorischen Untereinheit p85 der PI3-Kinase (Phosphatidylinositol-3-Kinase) führt über weitere Schritte zur Phosphorylierung und Aktivierung der Proteinkinase-B (PKB/AKT) und der Proteinkinase-C (PKC). Nach Translokation an die Zellmembran werden PKB und PKC von der PDK1 (phosphoinositol-dependent kinase 1) aktiviert und die GLUT4-Proteine (glucose transport protein 4) translozieren zur Glukose-Aufnahme in die Zellmembran (Kido et al. 2001, Saltiel & Kahn 2001) (s. Abb. 4).

Pathogenetisch beginnt der Diabetes-Mellitus-Typ-2 wahrscheinlich mit einer verminderten Insulinwirkung (Insulinresistenz) in den Leber-, Fett- und Skelettmuskelzellen. Die Ursache der Insulinresistenz kann im Bereich der gesamten dargestellten Signalkaskade lokalisiert sein, wobei sich die Hinweise in der Literatur verdichten, dass besonders die Phosphorylierung von Tyrosinbindungsstellen der Insulin-Rezeptor-Substrate betroffen ist, was die zu der GLUT4-Translokation notwendige Aktivierung der PI3-Kinase beeinträchtigen kann (Perseghin et al. 2003, Saini 2010).

Die Insulinresistenz führt zu verzögerter bzw. verminderter Glukoseaufnahme primär im Muskelgewebe bei gleichzeitig erhöhter Glukoneogenese in der Leber. Die konsekutive Hyperglykämie kann nur durch erhöhte Insulinausschüttung der β -Zellen des Pankreas reguliert werden. Die Hyperinsulinämie führt zur Betazell-dysfunktion mit wiederum verzögerter Insulinausschüttung und erhöhtem Anteil des wirkungslosen Pro-

Insulins. Aus der relativen Insulinresistenz des Typ-2-Diabetikers wird im Endstadium ein absoluter Insulinmangel mit der Notwendigkeit der Hormon-Substitution (Kahn 1994, Weyer et al. 1999, Schwab et al. 2005).

Die Hyperglykämie induziert über unterschiedliche Mechanismen die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies (ROS), die an zahlreichen Stellen am Pathomechanismus der Erkrankung DT2 beteiligt sind (Singh et al. 2009). Diese sog. Glukosetoxizität (Seufert et al. 1998) bewirkt neben der Schädigung der Betazellen die Expression inhibierender Transkriptionsfaktoren des Insulingens, Beeinträchtigungen der endothelialen NO-Produktion, die verstärkte Synthese vasokonstriktiver Substanzen und proatherogener Moleküle, z.B. den ‚Advanced glycation end products‘ (AGE) (Übersicht bei Creager et al. 2003). Eine Konsequenz der Beeinträchtigung der eNOS ist die endotheliale Dysfunktion, die wiederum häufig als Basis der zahlreichen Komorbiditäten des Diabetes-Mellitus-Typ-2 angesehen wird (Cosentino et al. 2003, Mulac 2005).

Die klassische Therapie des Diabetes-Mellitus-Typ-2 beruht auf drei Säulen: Medikamente, Gewichtsreduktion und körperliche Belastung. Diese drei Therapiebestandteile dienen dem übergeordneten Konzept einer Veränderung des gesamten Lebensstils, der neben einer genetischen Disposition als kausal für die Entwicklung eines Diabetes-Mellitus-Typ-2 gilt (Sigal et al. 2004, Halle et al. 2008).

1.3.2 Sport und Diabetes-Mellitus-Typ-2

Die Wirksamkeit körperlicher Aktivität im Rahmen der Primär- und Sekundärprävention des DT2 wurde in zahlreichen Primärstudien und Metaanalysen belegt (Boule et al. 2001, Tuomilehto et al. 2001, Boule et al. 2003, Lindstrom et al. 2006, Snowling et al. 2006, Engberg et al. 2010).

Große internationale Verbände haben darauf reagiert und der körperlichen Aktivität im Rahmen der Diabetestherapie eine herausragende Bedeutung zuerkannt. Die ADA etwa verleiht aerobem Ausdauer- und Kraftausdauertraining den Evidenzgrad A zur Verbesserung der glykämischen Stoffwechsellage. Die ADA empfiehlt bei Ausdauertraining

wöchentlich > 2,5 Stunden Training bei 40 – 60% der VO_{2max} oder 1,5 Stunden bei mehr als 60% der VO_{2max} , verteilt auf drei Trainingstage mit maximal zwei Tagen Unterbrechung. Bei Kraftausdauertraining sollen mindestens drei Einheiten wöchentlich mit je drei Durchgängen von 8 – 10 Wiederholungen bei submaximaler Intensität erfolgen (König et al. 2006, Sigal et al. 2006). Die Deutsche Diabetes Gesellschaft (DDG) empfiehlt an 3 – 4 Tagen wöchentlich Einheiten mit 30 – 60 Minuten Dauer bei 60 – 70% der VO_{2max} und zusätzlich die Implementierung von Alltagsaktivitäten wie Treppensteigen (Kemmer et al. 2009).

Die Qualität und Quantität der körperlichen Belastung im Rahmen der Therapie des DT2 sind auch aktuell Gegenstand der wissenschaftlichen Diskussion. Die traditionelle Präferenz für Ausdauertraining wird z.B. durch die Publikation von Cauza et al. (2005) relativiert, in der Krafttraining stärkere Auswirkungen auf die Insulinsensitivität, die Hyperglykämie und den Fettstoffwechsel hatte als Ausdauertraining. Sigal et al. (2007) und Zanuso et al. (2010) sehen eine Kombination aus Kraft- und Ausdauertraining als optimale Methode. Auch moderate Hypoxiereize als zusätzliche Trainingsmodifikation werden für den Diabetiker diskutiert (Bailey et al. 2000, Lee et al. 2003, Haufe et al. 2008, Katayama et al. 2010). Im Vordergrund steht dabei der w.o. beschriebene mögliche Shift zur Steigerung der Glykolyse mit vermehrtem Glukoseverbrauch zur Normalisierung der Hyperglykämie.

Holloszy & Narahara (1965) konnten als erste eine kontraktionsgesteuerte, insulinunabhängige, Glukoseaufnahme nachweisen, welche später in zahlreichen Arbeiten bestätigt werden konnte. Damit wurde das Potenzial körperlicher Belastung zur Reduktion der Hyperglykämie, des Leitsymptoms des Typ-2-Diabetikers, heraus gestellt (Übersicht bei: Holloszy 2005). Dabei überwiegen die Beobachtungen, dass die maximale Insulin- und Kontraktionsstimulation der Glukoseaufnahme in der Muskulatur additiv sind (Nesher et al. 1985, Constable et al. 1988) und über unterschiedliche Signalwege reguliert werden (Lee et al. 1995, Lund et al. 1995, Yeh et al. 1995). Einige Arbeitsgruppen sind der Auffassung, dass die unter-

schiedlichen Signalwege jeweils auch auf eigene GLUT4-Pools zugreifen (Douen et al. 1990, Coderre et al. 1995).

Initial bei der Kontraktionsstimulation ist einerseits vermutlich die Freisetzung von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum, was wiederum die CaMK (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase) aktiviert (Youn et al. 1991, Wright et al. 2004). Andererseits kann der Signalweg über die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK) zu der GLUT4-Translokation und Glukoseaufnahme führen. Die AMPK wird durch den AMP-Anstieg bei Muskelkontraktionen aktiviert und wird als Sensor des zellulären Energiestatus gesehen (Winder & Hardie 1999, Hayashi et al. 2000, Sakamoto & Goodyear 2002). Die weiteren Signale downstream der AMPK bis zu der GLUT4-Translokation sind zurzeit noch unbekannt (Hollooszy 2005), obwohl der Anstieg der GLUT4-Proteindichte durch körperliche Belastung und Training mehrfach nachgewiesen werden konnte (Friedman et al. 1990, Ploug et al. 1990, Lund et al. 1995). Auch andere Signalwege wie z.B. über die Bildung von NO bei körperlicher Belastung scheinen eine insulinunabhängige GLUT4-Translokation auszulösen (Jessen & Goodyear 2005). Die beschriebenen insulinunabhängigen Signalwege zur Internalisierung der Glukose in die Muskulatur sind auch in insulinresistenter Muskulatur oder beim Typ-2-Diabetiker intakt (Zierath et al. 1998, Kennedy et al. 1999) (siehe Abb. 4)

Zusätzlich zur dargestellten kontraktionsstimulierten Glukoseaufnahme konnten Richter et al. (1982) zeigen, dass körperliche Belastung die Insulinsensitivität steigert. Der Befund konnte ebenfalls in zahlreichen nachfolgenden Arbeiten bestätigt werden, jedoch sind die zellulären und molekularen Grundlagen der Steigerung der Insulinsensitivität durch körperliche Belastung noch nicht erforscht (Hollooszy 2005).

1.3.3 Laktat und Diabetes-Mellitus-Typ-2

Reaven et al. (1988) berichteten als Erste über signifikant erhöhte Ruhelaktatspiegel bei Typ-2-Diabetikern, wobei Patienten mit schwerem Diabetes Typ 2 (> 250 mg/dl Nüchtern Plasmaglukose) wiederum signifikant höhere Laktatlevel zeigten als Patienten mit milderem Ausmaß der Hyperglykämie (< 175 mg/dl). Ohlson et al. (1988) konnten nach Auswertung ihrer Längsschnittstudie, die 1963 – 1967 an fast 800 fünfzigjährigen Männern durchgeführt wurde, erhöhte Ruhelaktatspiegel als Prediktor und Risikofaktor für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes identifizieren. Auch Thorburn et al. (1990) konnten zeigen, dass normalgewichtige Typ-2-Diabetiker einen höheren Laktatspiegel aufwiesen als normalgewichtige Gesunde. Chen et al. (1993) verglichen den venösen Plasma-Laktatspiegel von normalgewichtigen Gesunden, übergewichtigen Gesunden und übergewichtigen Typ-2-Diabetikern. Die Arbeitsgruppe konstatiert, dass der Plasmalaktatspiegel unabhängig vom Körpergewicht proportional zu der Konzentration der Plasmaglukose ist.

Crawford et al. (2010) untersuchten 15 Jahre nach der Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Carotid MRI Studie im Jahr 1987 insgesamt 1749 Teilnehmer dieser Studie erneut und konnten signifikante Zusammenhänge zwischen der Höhe des ursprünglich gemessenen Blutlaktatspiegels und der späteren Prävalenz von Typ-2-Diabetes nachweisen. Die Autoren sehen global in der verminderten oxidativen Kapazität der Typ-2-Diabetiker einen Grund für den veränderten Laktatmetabolismus.

Metz et al. (2005a) untersuchten die Blutlaktatkonzentration von Typ-2-Diabetikerinnen bei einer Stufenbelastung auf dem Fahrradergometer. Sie konnten in Ruhe und unter Belastung signifikant erhöhte Laktatkonzentrationen bei den Diabetikerinnen im Vergleich zu Kontrollprobandinnen finden. Die ebenfalls gemessenen MCT1-Dichten und der Laktatflux in die Erythrozyten zeigten keine Unterschiede. Die Arbeitsgruppe sieht in der Studie Hinweise für eine verstärkte Kohlenhydratnutzung und Inhibierung der Lipidoxidation durch die erhöhten Blutlaktatspiegel bei den Diabetikerinnen.

Sandqvist et al. (2001) fanden bei normoglykämischen Verwandten ersten Grades von Typ-2-Diabetikern hypertrophierte abdominale Unterhautfettzellen und nach kontrollierter Hyperinsulinämie eine gesteigerte Laktatproduktion. Sie sehen darin einen weiteren Hinweis auf die pathologische Regulation des Metabolismus der Fettzellen von Verwandten der Typ-2-Diabetiker.

Der kausale Zusammenhang zwischen einem erhöhten Ruhelaktatspiegel und DT2 wird kontrovers diskutiert. Reaven et al. (1988) sind der Auffassung, dass die ebenfalls erhöhten Plasmaspiegel an freien Fettsäuren beim DT2 zu erhöhter Fettsäureoxidation mit konsekutiv verminderter PDH-Aktivität in Muskulatur und Leber führt. Die Folge der geänderten Enzymaktivität ist ihrer Meinung nach eine erhöhte Konversion von Glukose zu Laktat im Muskel und eine vermehrte Glukoneogenese in der Leber mit konsekutiver Hyperglykämie. Auch Chen et al. (1993) unterstützen die Auffassung, dass erhöhte Laktatspiegel im Blut die hepatische Glukoneogenese mit folgender Hyperglykämie fördern. Bei Gesunden im Nüchternzustand konnten Jensen et al. (1990) mit Laktatinfusionen keine Änderungen der hepatischen Glukoneogenese und des Plasmaglukosespiegels erreichen.

Avogaro et al. (1996) konnten bei sieben übergewichtigen nicht-insulinpflichtigen Typ-2-Diabetikern gegenüber sieben gesunden Kontrollpersonen einen signifikant erhöhten Ruhelaktatspiegel und eine stark erhöhte intramuskuläre Laktat/Pyruvat-Interkonversion messen. Obwohl die Arbeitsgruppe keinen Zusammenhang zwischen der erhöhten Interkonversion und den Ruhelaktatspiegeln sichern konnte, diskutieren sie die erhöhten intramuskulären Laktatkonzentrationen ebenfalls als Folge einer möglichen Dysfunktion der PDH der diabetischen Muskulatur.

Consoli et al. (1990) verglichen den Laktat- und Glukosespiegel von Gesunden und Typ-2-Diabetikern nach radioaktiv markierten Laktatinfusionen und konnten Laktat als wesentlichen Prekursor für die gesteigerte Glukoneogenese und die Hyperglykämie von DT2 bestimmen. Als ursächlich für den erhöhten Laktatspiegel im Plasma bei DT2 konnten sie die Muskulatur weitgehend ausschließen.

Py et al. (2001) dagegen fanden in sarkolemmalen Vesikeln von DT2-Rattenmuskulatur einen verminderten Laktat influx bei gleichzeitig reduzierten Dichten von MCT1 und MCT4 und schließen daraus auf eine verminderte muskuläre Laktatoxidation mit der Folge erhöhter Plasmalaktatspiegel.

Einige Arbeitsgruppen sehen im Fettgewebe der meist übergewichtigen Typ-2-Diabetiker die Hauptursache für den erhöhten Laktatspiegel, da bereits bei Übergewichtigen mit normaler Glukosetoleranz erhöhte Laktatkonzentrationen im Blut gemessen wurden (Doar et al. 1970a, 1970b, Vendsborg & Bach-Mortensen 1977, Marin et al. 1987, DiGirolamo et al. 1989, Lovejoy et al. 1990). Als ursächlich für die gesteigerte Laktatfreisetzung werden in der Literatur überwiegend ein verminderter Blutfluss im Fettgewebe und verlängerte Diffusionsstrecken in den hypertrophierten Adipozyten angesehen, was zu einer verringerten Sauerstoffversorgung mit konsekutiv vermehrter Laktatproduktion führt (DiGirolamo et al. 1989, DiGirolamo et al. 1992, Jansson et al. 1990, Sandqvist et al. 2001, Hosogai et al. 2007, Ye 2009, Perez de Heredia et al. 2010).

Henry et al. (1996) dagegen dokumentieren in ihren Versuchen an zwölf gesunden Versuchspersonen eher einen gesteigerten Blutfluss durch Insulin in den Adipozyten und eine gesteigerte Konversion von Glukose in Laktat bei Hyperglykämie und Hyperinsulinämie im Interstitium des Unterhautfettgewebes. Auch Ellmerer et al. (1998) sehen nach ihren Mikroperfusionsversuchen mit Insulin an Unterhautfettgewebe dieses Hormon als Verursacher einer erhöhten Laktatproduktion von Adipozyten. Auch Qvisth et al. (2007) konnten nachweisen, daß Insulin die Laktatfreisetzung in Adipozyten (und in der Muskulatur) stimuliert, allerdings berichten sie über eine verminderte Wirkung bei insulinresistenten Muskel- und Fettzellen.

Darüber hinaus wird das Konzept der Adipozyten-Hypoxie als mögliche Ursache für inflammatorische Prozesse, Makrophageninfiltration, Adiponectinreduktion, Leptinerhöhung, mitochondriale Dysfunktion und erhöhte Plasmaspiegel der freien Fettsäuren gesehen (Pasarica et al. 2009, Ye 2009, Perez De Heredia et al. 2010).

Da Übergewicht und DT2 mit Insulinresistenz assoziiert sind (DeFronzo 1987, Reaven 1988) und Lovejoy et al. (1992) eine inverse Korrelation zwischen Nüchtern-Laktatspiegel und Insulinsensitivität zeigen konnten, sind Überlegungen, Kausalitäten zwischen Laktatspiegel und Insulinresistenz aufzudecken, naheliegend (Vettor et al. 1997). Erhärtet wird dies durch Berichte, dass erhöhte Laktatspiegel die Glykolyse in der Muskulatur (Pearce & Connett 1980, Ferrannini et al. 1993, Vettor et al. 1997, Depre et al. 1998, Lombardi et al. 1999) und in der Lunge (Fisher & Dodia 1984) vermindern. An Rattenherzen konnte demonstriert werden, dass der kompetitive Shift im Kohlenhydratstoffwechsel zugunsten der Verstoffwechslung von Laktat zu gesteigerter Glykogensynthese und –speicherung führte (Williamson 1962, Russel et al. 1992). Lombardi et al. (1999) infundierten normalgewichtige Ratten mit DT2 (zucker rats) über einen Zeitraum von 24 Stunden mit Laktat. Dabei zeigte sich eine verminderte Glukoseaufnahme der Muskulatur, eine signifikante Abnahme der GLUT4-mRNA und des GLUT4-Proteins sowie eine Zunahme der PDH. In ähnlichen Versuchen konnten Choi et al. (2002) vor dem laktatinduzierten Abfall der Glukoseaufnahme eine Unterdrückung der insulinstimulierten Glykolyse beobachten.

Choi und Mitarbeiter demonstrieren in ihrer Studie, daß Laktat die Interaktion von IRS1 und IRS2 mit der PI3-Kinase verändern kann, sodass die downstream-Signaltransduktion zur GLUT4-Translokation beeinträchtigt ist. Sie vermuten einen Einfluss des Laktates auf die regulatorische Untereinheit p85 der PI3-Kinase (s. Abb. 4). Die GLUT4-Proteindichte fanden sie unverändert.

1.3.4 Hypoxie und Diabetes-Mellitus-Typ-2

Cartee et al. (1991) konnten in Tierversuchen erstmalig zeigen, dass in der Muskulatur der Glukosetransport insulinunabhängig durch Hypoxie stimuliert werden kann. Darüber hinaus gelang ihnen der indirekte Nachweis, dass Hypoxie über den gleichen Signalweg wie die Muskelkontraktion zur Translokation der GLUT4-Proteine führt (s. Abb. 4).

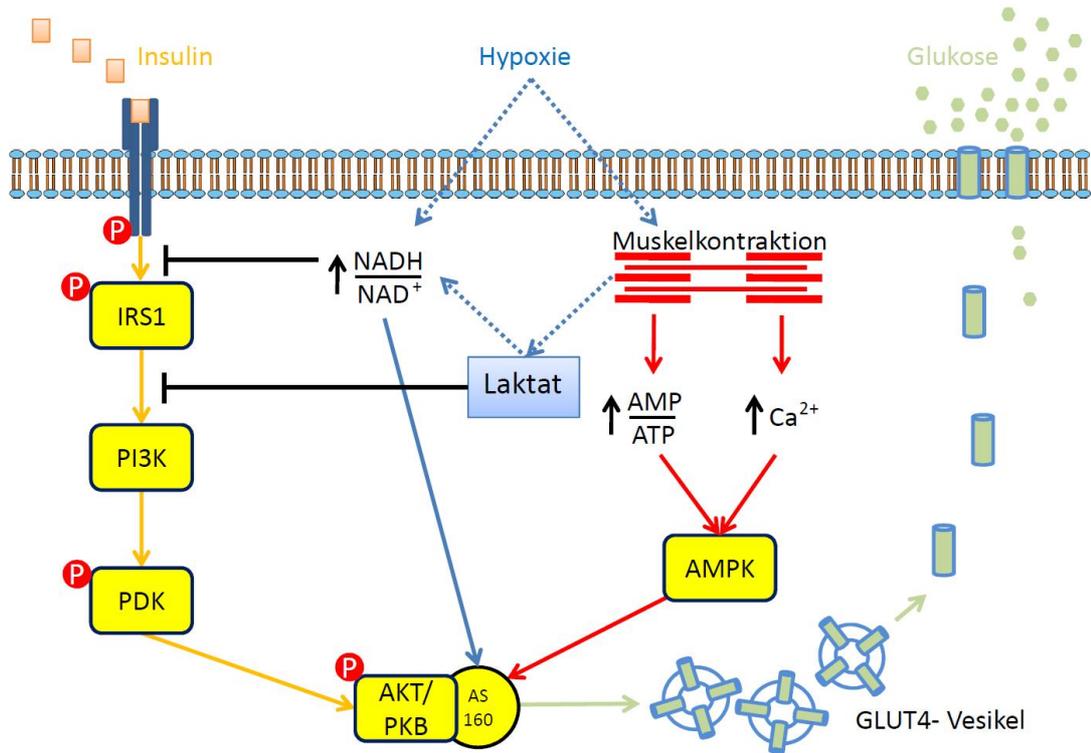


Abb.4: Die schematische Darstellung unterschiedlicher Signalwege zu der Glut4-Translokation mit konsekutivem Glukoseeinstrom in die Zelle. Orange: insulinabhängiger Signalweg; rot: kontraktionsabh. Glukoseinflux; blau: hypoxieabh. Glukoseinflux

Azevedo et al. (1995) wollten in ihren Untersuchungen mit hypoxischen Reizen den Nachweis führen, dass das eigentliche Glukosetransportsystem (im Gegensatz zum Insulinsignaling) in humaner insulinresistenter Muskulatur intakt ist. Die Arbeitsgruppe inkubierte isolierte Muskelfasern von elf normalgewichtigen sowie zehn übergewichtigen gesunden Frauen und fünf übergewichtigen Frauen mit nicht insulinpflichtigem Typ-2-Diabetes in 95% O₂ oder 95% N₂. Bei den normalgewichtigen Frauen war der hypoxieinduzierte Glukose-transport gleich dem Insulininduzierten. Bei den übergewichtigen Frauen sowie den Frauen mit DT2 war der hypoxieinduzierte Glukosetransport fast doppelt so hoch wie der insulininduzierte Transport. Azevedo und seine Mitarbeiter folgern daraus auf einen intakten Signalweg zur hypoxie-induzierten GLUT4-Translokation im insulinresistenten Muskel des Typ-2-Diabetikers.

Niklasson et al. (2000) untersuchten an neun Typ-2-Diabetikern im Vergleich zu neun Gesunden die Auswirkungen einer 18-minütigen Ischämie durch Unterbindung der Zirkulation auf den Kohlenhydratstoffwechsel in Muskulatur und Unterhautfettgewebe in einem Arm. Der Glukoseverbrauch und die Laktatbildung stiegen signifikant in beiden Gruppen vergleichbar während der Ischämie an. Niklasson und Mitarbeiter betonen die Relevanz der insulinunabhängigen Aktivierung der Glukoseaufnahme bei Typ-2-Diabetikern.

Mackenzie et al. (2011a) untersuchten die Plasmainsulin-, Glukose- und Laktatspiegel, die Insulinsensitivität und endogene Glukoseproduktion sowie die Betazellfunktion an acht übergewichtigen männlichen Typ-2-Diabetikern bei ~ 50 – 55% der individuellen VO_{2max} auf dem Fahrradergometer jeweils bei Normalatmosphäre und unter Hypoxie ($FiO_2 = 14.6$). Die Insulin- und Laktatspiegel zeigten kein unterschiedliches Verhalten. Die Glukosespiegel waren vor und nach der Belastungsuntersuchung unter Hypoxie signifikant im Vergleich zur Normoxie erniedrigt. Die Insulinsensitivität wurde unter Hypoxie und Belastung additiv verbessert. Die verbesserte Glukosetoleranz unter Hypoxie war auch 4 Stunden nach der Belastung noch messbar.

Glukoseintoleranz, Insulinresistenz und Diabetes-Typ-2 werden häufig im Zusammenhang mit Erkrankungen und Funktionsstörungen der Atemwege beobachtet. Chronisch obstruktive Lungenerkrankungen (COPD) in Verbindung mit Nikotinabusus, Mukoviszidose oder obstruktiver Schlafapnoe werden in zahlreichen Studien mit Hypoxie und Kohlenhydratstoffwechselstörungen in Verbindung gebracht. Der Nachweis einer Kausalität zwischen Hypoxie und Insulinresistenz oder Störungen der Glukosetoleranz konnte experimentell bisher jedoch nicht geführt werden (Übersichten bei Oltmanns et al. 2004, Tasali et al. 2008).

Der im Zusammenhang mit Diabetes erörterte Begriff der ‚hyperglykämischen Pseudohypoxie‘ (Williamson et al. 1993) betrifft die durch Hyperglykämie verursachte Erhöhung der zytosolischen NADH/NAD⁺ Ratio mit verstärkter Radikalenbildung als Kofaktor bei der Entstehung diabetischer Spätfolgen. Auch eine zelluläre Hypoxie mit verminderter

Oxidation von NADH zu NAD⁺ ist durch eine veränderte NADH/NAD⁺ Ratio charakterisiert und führt zur Bildung freier Radikale (McCord et al. 1985).

Regazzetti et al. (2009) zeigten in Untersuchungen an humanen Adipozyten unter Sauerstoffmangel (1% O₂) eine ausgeprägte Insulinresistenz durch Inhibierung der Insulinrezeptor- und IRS-Tyrosin Phosphorylierung, die sie mit der gesteigerten HIF1 α -Proteinexpression in Verbindung bringen.

1.3.5 MCT und Diabetes-Mellitus-Typ-2

Die Monocarboxylattransporter der Skelettmuskulatur wurden im Zusammenhang mit der Erkrankung Diabetes-Typ-2 bisher in zwei Studien an Ratten und bei drei Humanstudien untersucht.

Py et al. (2001) untersuchten an einem Rattenmodell für Typ-2-Diabetes (obese zucker rats) den Laktattransport und die MCT1- und MCT4-Expression. An sarkolemmalen Giant-Vesikeln der diabetischen Versuchstiere waren MCT1 und MCT4 im Vergleich zu gesunden Tieren erniedrigt und der Laktat-Influx je nach Muskel bis ca. 30% reduziert.

Metz et al. (2005b) untersuchten den Laktattransport und die MCT1/MCT4 Dichte ebenfalls an sarkolemmalen Vesikeln übergewichtiger Ratten mit Typ-2-Diabetes. Sie verglichen dabei gesunde mit untrainierten und ausdauertrainierten DT2-Ratten. Gegenüber den Kontrolltieren waren beide Transporter reduziert exprimiert. Durch das Ausdauertraining konnte die MCT1-Dichte normalisiert werden, während der MCT4 keine Auswirkungen zeigte. Auch die bei den erkrankten Tieren verminderte Laktattransportkapazität konnte nicht signifikant gesteigert werden, woraus Metz et al. folgerten, dass andere Mechanismen als eine verringerte muskuläre Laktatoxidation für den erhöhten Laktatspiegel in insulinresistenter Muskulatur verantwortlich sind.

Juel et al. (2004b) verglichen die MCT1- und MCT4-Proteinexpression an Biopäten der Beinmuskulatur von sieben Gesunden und zehn Typ-2-Diabetikern nach einem sechswöchigen, einbeinigen, Krafttraining (3 x 30 Minuten/Woche). Der MCT1-Gehalt in der Muskulatur der Typ-2-Diabetiker war vor dem Training 35% geringer als in der Muskulatur der Gesunden.

Durch das Training konnten beide Gruppen ähnliche, signifikante, Zuwächse der MCT1-Dichte verzeichnen, sodass die Autoren bei den Diabetikern von einer Normalisierung der Dichte sprechen. Das Ausgangsniveau der MCT4-Proteindichte war in beiden Gruppen gleich, allerdings konnten nur die Gesunden einen signifikanten Zuwachs der MCT4-Dichte (+32%) nach dem Training erzielen.

Kreutz (2010) verglich an Typ-2-Diabetikern den Einfluss eines dreimonatigen Ausdauer- und Krafttrainings auf die Expression der Monocarboxylattransporter 1 und 4 in den Erythrozyten und der Skelettmuskulatur. In der Skelettmuskulatur zeigte sich ein signifikanter Anstieg der MCT1-Dichte nach Kraft- und Ausdauertraining. Die MCT4-Proteindichte blieb unverändert. In den Erythrozyten konnte nach Krafttraining eine Zunahme der MCT1-Dichte nachgewiesen werden.

Opitz (2011) untersuchte die Wirkung eines dreimonatigen Ausdauertrainings auf die Expression der Monocarboxylattransporter 1 und 4 in den Erythrozyten und der Skelettmuskulatur von nicht-insulinpflichtigen Typ-2-Diabetikern. Im Sarkoplasma konnte nach dem Training eine Abnahme der MCT4-Dichte bei gleichzeitiger Zunahme der MCT1-Dichte nachgewiesen werden. Im Sarkolemm zeigten sich keine Änderungen der MCT-Dichte. In den Erythrozyten stieg die MCT1-Dichte nach dem Training signifikant an und es konnte unter akuter Belastung eine signifikante Reduktion der MCT1-Dichte gemessen werden. Opitz sieht darin einen Hinweis auf eine mögliche Translokation der MCT1-Proteine bei Belastung aus dem Zytoplasma in die Membran.

Metz et al. (2005a) beschrieben keinen Unterschied der MCT-Dichte in Erythrozyten von gesunden und an Typ-2-Diabetes erkrankten Frauen nach Western-Blot-Analyse.

Der Einfluss von Höhe oder Hypoxie auf die Expression der MCT1 und MCT4 beim DT2 wurde bisher wissenschaftlich nicht untersucht.

1.4 Fragestellung der vorliegenden Arbeit

Der planmäßige Einsatz von Höhe/Hypoxie ist Bestandteil zahlreicher Trainingspläne im Leistungs-, Breiten- und Gesundheitssport. Auch bei Typ-2-Diabetikern wird der dosierten Anwendung sauerstoffreduzierter Atemluft eine positive Wirkung zugeschrieben, obwohl nur vereinzelte wissenschaftliche Publikationen aus der Grundlagenforschung als Basis hinzugezogen werden können. Vor allem auf zellulärer und molekularer Ebene des Laktatstoffwechsels ist ein enormer Forschungsbedarf, dem in der vorliegenden Arbeit Rechnung getragen werden soll. Der Schwerpunkt der Betrachtung liegt auf der IH. Um einen praxisrelevanten Vergleich zur Wirksamkeit etablierter Trainingsformen zu ermöglichen, wurde die Hypoxieintervention in Dauer und Umfang der Ausdauer- und Referenzintervention gleichgesetzt.

Aus den genannten Sachverhalten ergaben sich folgende Fragestellungen:

1. Kann die intermittierende Hypoxie-Intervention die Stoffwechsellage und körperliche Leistungsfähigkeit beeinflussen?
2. Kommt es durch die IH zu einem Anstieg der MCT1- und MCT4-Proteinexpression in der Skelettmuskulatur?
3. Führt die IH zu einer gesteigerten MCT1-Proteinexpression in den Erythrozyten?
4. Beeinflusst das IHT die Quantität und Dynamik der Laktat- Aufnahme in den Erythrozyten als zentralen Bestandteil des Laktat-Shuttles?
5. Wie kann das IHT im Vergleich zu Ausdauertraining und einem unspezifischen Bewegungsprogramm, bezogen auf den therapeutischen Nutzen, eingestuft werden?

2. Methodik

2.1 Studiendesign

2.1.1 Probanden

Die Zielgruppe der übergewichtigen, männlichen, körperlich inaktiven, nicht insulinpflichtigen Typ-2-Diabetiker im Alter von über 30 Jahren wurde über Anzeigen in regionalen Zeitschriften und durch ausgelegtes Informationsmaterial bei Kölner Diabetologen angesprochen. Nicht teilnehmen konnten insulinpflichtige Typ1- und Typ-2-Diabetiker, Patienten mit akutem Koronarsyndrom, schweren mikro- und makrovaskulären Begleiterkrankungen, schwerer COPD, gravierenden orthopädischen Einschränkungen oder anderen relevanten Erkrankungen. Geeignete Interessenten wurden nach Aufnahme in einer Kartei und standardisierter Anamnese bei Informationsveranstaltungen an der Sporthochschule Köln umfänglich über den Ablauf der Studie und mögliche Risiken aufgeklärt.

	Referenz- gruppe	Ausdauer- gruppe	Hypoxie- gruppe	Gesamt
Anzahl (<i>n</i>)	19	24	12	55
Alter (<i>Jahre</i>)	58.6 ±10.6	60.7 ± 9.1	60.6 ±8.2	59.9 ±9.4
Größe (<i>cm</i>)	173.3 ±8.0	178.7 ± 7.1	174.7 ±5.2	176.0 ±7.3
Gewicht (<i>kg</i>)	98.0 ±15.7	99.9 ± 14.0	94.7 ±12.5	98.1 ±4.2
BMI (<i>kg/m²</i>)	32.6 ±4,6	31.2 ±3.5	31.1 ±4.2	31.6 ±4.0

Tab.1: Anthropometrische Daten der Probanden vor der Intervention (U1)

19 Teilnehmer der Referenzgruppe, 24 Teilnehmer der Ausdauergruppe und 12 Teilnehmer der Hypoxiegruppe konnten jeweils die gesamte Studie absolvieren.

2.1.2 Studienverlauf

Die Eingangsuntersuchung (U1) und die Ausgangsuntersuchung (U2) wurden im Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln durchgeführt. Jeder Teilnehmer wurde an drei Tagen vor der sechswöchigen Intervention untersucht. An einem Tag erfolgten die Nüchternblutabnahme, eine ausführliche Anamnese und die klinische Untersuchung. An einem weiteren Tag folgte die Belastungs-Spiro-Ergometrie, am dritten Tag wurde die Muskelbiopsie durchgeführt. Die Muskelbiopsien fanden in der Ambulanz der Deutschen Sporthochschule Köln statt. In der Woche nach den Untersuchungen starteten die Interventionen. Ausdauer- und Referenzgruppe trafen sich dreimal pro Woche an der Sporthochschule; eine Interventionseinheit wurde nach entsprechender Einweisung zu Hause durchgeführt. Die Einheiten der Hypoxiegruppe fanden viermal wöchentlich in den Räumen der Höhenbalance AG, Köln statt.

In der Woche nach der letzten Interventionseinheit wurden die Abschlussuntersuchung, die Muskelbiopsie und die Belastungs-Spiro-Ergometrie durchgeführt.

Die Studien wurden vor Beginn von der Ethikkommission der Deutschen Sporthochschule Köln nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki geprüft und genehmigt.

Jeder Teilnehmer wurde erneut ausführlich über die Inhalte, Maßnahmen, Untersuchungen und Risiken der Studie aufgeklärt und unterzeichnete vor der Eingangsuntersuchung die entsprechende Einverständniserklärung. Die Probanden konnten jederzeit ohne Angabe von Gründen ihre Teilnahme beenden. Der Studienverlauf ist in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

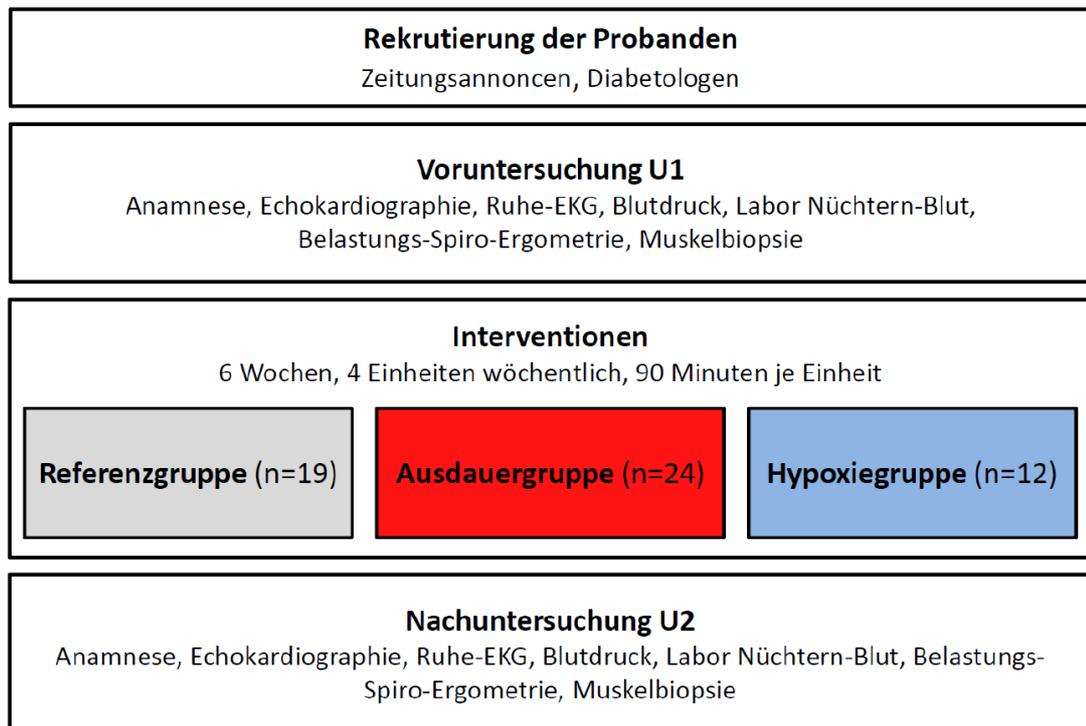


Abb. 5: Ablauf der Diabetes-Typ-2-Studien

2.2. Untersuchungen

2.2.1 Anthropometrische Daten

Alter, Körpergröße, Gewicht

Das Alter der Teilnehmer wurde bei der Eingangsuntersuchung festgestellt.

Das Körpergewicht wurde nach den standardisierten Vorgaben der IDIS (Laaser & Wolters 1989) auf einer Standwaage Typ Seca 761 (Vogel & Halke, Hamburg, D) ermittelt.

Die Körpergröße wurde mit einem geeichten Maßband Typ Seca 225 (Vogel & Halke, Hamburg, D) festgestellt. Der Proband befand sich hierbei ohne Schuhe in aufrechter Position rücklings an einer Wand.

Body-Mass-Index (BMI)

Der BMI wurde aus den ermittelten Werten für Körpergewicht und Größe nach der Formel:

BMI (kg/m^2) = Körpergewicht (kg)/ Körpergröße zum Quadrat (m^2) berechnet. Nach den Richtlinien der Deutschen Adipositas Gesellschaft ist ein BMI ≥ 25 kg/m^2 als Übergewicht; ein BMI von ≥ 30 kg/m^2 als Adipositas klassifiziert (Hauner et al. 2007).

Blutdruck

Die arterielle Blutdruckmessung erfolgte in Ruhe an einem Oberarm des Probanden indirekt nach Riva Rocci vollautomatisch mit dem ELAG BE 227 (Schwarzaupt, Köln, D) gemäß den Richtlinien der Deutschen Hochdruckliga (2008).

Ruhe-EKG

Das Ruhe-EKG wurde in absoluter Ruhe in Rückenlage mit dem MAC – 1200 (Medical Systems, Freiburg, D) aufgezeichnet. Es wurden die Extremitäten nach EINTHOFEN und GOLDBERGER sowie die Brustwand nach WILSON abgeleitet.

Echokardiographie

Die Echokardiographie wurde mit den Probanden in Ruhe in linker Halbseitenlage mit dem VIVID™ 3 (Medical Systems, Solingen, D) durchgeführt.

2.2.2 Nüchtern-Blutproben, Laborparameter

Die venöse Blutentnahme wurde morgens nüchtern aus einer Armvene mit einer Butterfly-Nadel in einen EDTA-Vacutainer (Becton-Dichinson Vacutainer Systems, Heidelberg, D) vorgenommen.

Glukose

Die Glukose wurde quantitativ mit dem ABX Pentra HK CP Reagenzsystem (ABX Diagnostics, Montpellier, F) bestimmt. Dabei wird eine enzymatische, kolorimetrische Methode angewendet. Die Messung erfolgt mit dem

photometrischen Zentrifugalanalyser Corbas Mira Plus System (Hoffmann - La Roche, Basel, CH).

Triglyzeride

Die Triglyzeride wurden quantitativ mit dem ABX Pentra Triglycerides CP Reagenzsystem (ABX Diagnostics, Montpellier, F) bestimmt. Dabei wird eine enzymatische, kolorimetrische Methode mit dem roten Farbstoff Chinonimin (CHOD-PAP-Methode) angewendet. Die Messung erfolgt mit dem photometrischen Zentrifugalanalyser Corbas Mira Plus System (Hoffmann-La Roche, Basel, CH).

Cholesterin

Das Cholesterin wurde quantitativ mit dem ABX Pentra Cholesterol CP Reagenzsystem (ABX Diagnostics, Montpellier, F) bestimmt. Dabei wird eine enzymatische, kolorimetrische Methode mit dem roten Farbstoff Chinonimin (CHOD-PAP-Methode) angewendet. Die Messung erfolgt mit dem photometrischen Zentrifugalanalyser Corbas Mira Plus System (Hoffmann-La Roche, Basel, CH).

HDL-Cholesterin

Das High-Density-Lipoprotein-Cholesterin wurde quantitativ mit dem ABX Pentra HDL Direct CP Reagenzsystem (ABX Diagnostics, Montpellier, F) bestimmt. Dabei wird eine enzymatische, kolorimetrische Methode angewendet. Die Messung erfolgt mit dem photometrischen Zentrifugalanalyser Corbas Mira Plus System (Hoffmann-La Roche, Basel, CH).

LDL-Cholesterin

Die Konzentration des Low-Density-Lipoprotein-Cholesterins wurde mit der FRIEDEWALD-Formel berechnet:

$$\text{LDL-Cholesterin} = \text{Gesamtcholesterin} - \text{Triglyzeride} / 5 - \text{HDL-Cholesterin}$$

2.2.3 Belastungs-Blutproben, Laborparameter

Venöses Vollblut zur MCT1-Bestimmung der Erythrozyten

Bei den Belastungsuntersuchungen (2.2.5) wurde mit einer Butterfly-Nadel in einen Heparin-Vakutainer (Becton-Dichinson Vacutainer Systems, Heidelberg, D) venöses Vollblut aus einer Kubitalvene jeweils unmittelbar vor der Belastung (T0), direkt nach Abbruch der Belastung (T1) und fünf Minuten nach Abbruch der Belastung (T5) zur späteren Bestimmung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten entnommen. Direkt im Anschluß wurden die Proben aliquotiert: zu je 200 µl EDTA-Vollblut wurde 200 µl Paraformaldehyd (PFA) in ein Eppendorf-Cup gegeben, vorsichtig gemischt und 20 Minuten inkubiert, um die Erythrozyten zu fixieren. Danach wurden die Proben drei Minuten lang bei 800 U/min mit der Rotixa-1200 (Hettich-Zentrifugen, Tuttlingen, D) bei 20°C zentrifugiert. Im Anschluß wurde der Überstand abpipettiert, zu dem Sediment mit den darin befindlichen Erythrozyten 200 µl PBS-Pufferlösung pipettiert und 2 – 3 Minuten bis zur erneuten Zentrifugation gewaschen. Nach dreiminütiger Zentrifugation wurde der Überstand abpipettiert und mit 800 µl PBS-Puffer zur weiteren Lagerung bei 4°C im Kühlschrank aufgefüllt.

Reagenzien

Phosphate buffered saline (PBS) – 0.1M

- ❖ 81 mmol $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$: 14.4 g/l Dinatrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) in 250 ml Aqua dest. lösen (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, D)
- ❖ 19 mmol $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$: 2.6 g/l Natrium-Dihydrogenphosphat-Monohydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) hinzugeben (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ 145 mmol Natriumchlorid: 8.766 g/l (Merck, Darmstadt, D) hinzufügen
- ❖ mit dem pH-mV-Meter (Mettler Toledo, Schwerzenbach, CH) mit HCL (Merck, Darmstadt, D) auf pH 7.4 einstellen
- ❖ mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen

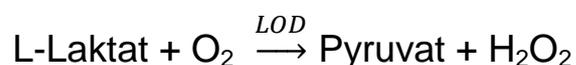
Paraformaldehyd (PFA) – 4%

- ❖ 4% Paraformaldehyd (Merck, Darmstadt, D): 4 g in 40 ml Aqua dest. (60° C) lösen
- ❖ mit 1n NaOH (Merck, Darmstadt, D) klären und filtrieren
- ❖ mit 50 ml 0.2 mmol PBS mischen und mit dem pH-mV-Meter (Mettler Toledo, Schwerzenbach, CH) mit HCL (Merck, Darmstadt, D) auf pH 7.4 einstellen
- ❖ mit Aqua dest. auf 100 ml auffüllen

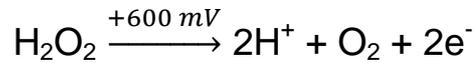
Kapillarblut für die Laktatbestimmung

Zur Erstellung der individuellen Laktatleistungskurven wurde den Probanden vor der Belastung, am Ende jeder Wattstufe (alle 2 Minuten), mit Abbruch der Belastung und fünf Minuten nach der Belastung arterialisiertes Kapillarblut am hyperämisierten Ohrläppchen entnommen. Nach dem Einstich mit einer sterilen Einmallinganzette (ASID Bonz, Herrenberg, D) wurde das Blut mit Hilfe einer 20 µl End-to-End-Kapillare (EKF-Diagnostik, Barleben, D) entnommen, in ein Eppendorf-Cup mit 1ml Systemlösung (Eppendorf, Hamburg, D) gegeben, ca. zehn Sekunden geschüttelt und bis zur Analyse bei 4°C im Kühlschrank deponiert.

Die Bestimmung der Laktatkonzentration wurde enzymatisch-amperometrisch mit dem Messgerät EBIO-plus (EKF Diagnostic Sales, Magdeburg, D) vorgenommen. Vor den Messungen wurden Standards zur Nullpunktbestimmung und Kalibrierung eingesetzt; vier weitere Lösungen mit definierten Laktatkonzentrationen dienten der Eichung, die in regelmäßigen Abständen automatisch wiederholt wurde. Zur Messung werden 200 µl Probenflüssigkeit mit einer automatisch gesteuerten Hohnadel aus den Eppendorf-Cups entnommen und in die elektrochemische Messzelle geleitet. Hier trifft das Probenlaktat auf eine Platinelektrode mit konstanter Spannung von 600 mV. Die Oberfläche der Elektrode enthält das Enzym Laktatoxidase (LOD), die Laktat zu Pyruvat oxidiert; dabei entsteht Wasserstoffperoxid:



Durch die anliegende Spannung oxidiert Wasserstoffperoxid zu Sauerstoff:



Bei der Oxidation werden Elektronen frei, die den Stromfluss proportional zur Laktatkonzentration der Probe erhöhen. Die Änderung des Stromflusses wird gemessen, in die zugehörige Laktatkonzentration transformiert und ausgedruckt.

Unter einer Konzentration von 0.5 mmol/l Laktat sind Messungen nicht möglich.

Kapillarblut für die Differentielle Laktatbestimmung

Für die getrennte Bestimmung der Laktatkonzentration in den Erythrozyten und im Plasma wurde den Probanden vor der Belastung (T0), unmittelbar nach Belastungsabbruch (T1) und fünf Minuten nach Belastungsabbruch (T5) arterialisiertes Kapillarblut am hyperämisierten Ohrläppchen entnommen. Nach dem Einstich mit einer sterilen Einmallinganzette (ASID Bonz, Herrenberg, D) wurde das Blut mit Hilfe einer heparinisierten 110 µl End-to-End-Kapillare (Kabe Labortechnik GmbH, Nümbrecht, D) entnommen und sofort 1 Minute bei 6000 U/min mit einer EBA20 (Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, D) zentrifugiert. Direkt im Anschluss wurden aus der Erythrozyten- und Plasmafraktion jeweils 20µl mit heparinisierten End-To-End-Kapillaren (EKF-Diagnostik, Barleben, D) aliquotiert und der oben beschriebenen Laktatdiagnostik zugeführt.

2.2.4 Immunhistochemie

Die Grundlage der Immunhistochemie ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion mit einer spezifischen Bindung des Antikörpers an den zu detektierenden Molekülbereich eines Antigens (Epitop). Bei der direkten Methode wird der Antikörper z.B. mit Enzymen gekoppelt, die dann in weiteren Schritten zu Farbreaktionen führen. So können die Bindungen für weitere Messungen

sichtbar gemacht werden. Bei der indirekten Methode wird zunächst ein Antikörper (Primärantikörper) gegen das Epitop gerichtet und anschließend ein zweiter Antikörper (Sekundärantikörper) genutzt, um an den Primärantikörper zu binden. Der sekundäre Antikörper ist wieder mit einem Enzym gekoppelt (Antikörperkonjugat), welches in einer Enzym-Substrat-Reaktion die messbare Färbung bewirkt.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine indirekte Methode mit biotinyliertem Sekundärantikörper (Strept-ABC-Methode) angewendet. Das Biotin des sekundären Antikörpers ist ein Vitamin mit vier spezifischen Bindungsstellen für das Protein Streptavidin, ein aus dem Bakterium *Streptomyces Avidinii* stammendes Glykoprotein. Nach der Zugabe eines Konjugates aus Streptavidin und Meerrettich-Peroxidase (HRP) besetzt Streptavidin die vier Bindungsstellen des Biotin. Durch Zugabe von 3,3-Diamino-Benzidin (DAB) werden die Bindungen in einer Enzym-Substrat-Reaktion visualisiert und so indirekt die Bindungen des primären Antikörpers an das zu detektierende Epitop messbar (Hsu et al. 1981).

Erythrozyten: Immunhistochemischer Nachweis des MCT1

Antikörper

- ❖ Rabbit Anti-Monocarboxylate Transporter 1 (MCT1)-AB3538P (Chemicon international, Temecula, USA)
- ❖ Goat Anti-Rabbit (GAR)-Ref.: E0432, (Dako Deutschland GmbH, Hamburg, D)
- ❖ Normal Goat-Serum (NGS)-Ref.: X0907, (Dako Deutschland GmbH, Hamburg, D)
- ❖ Horseradish-Peroxidase-Komplex (HRP)-RPN1051V, (GE Healthcare UK Limited, Bucks, GB)

Reagenzien

Phosphatpuffer (PB) 0.1 mol [pH 7.4]

- ❖ 81 mmol $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$: 14.4 g/l Dinatrium-Hydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) in 250 ml Aqua dest. lösen (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, D)

- ❖ 19 mmol $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$: 2.6 g/l Natrium-Dihydrogenphosphat-Monohydrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$) hinzugeben (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ Mittels pH-mV-Meter (Mettler Toledo, Schwerzenbach, CH) auf pH 7.4 einstellen
- ❖ Mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen; pH-Kontrolle

Trispuffer (TBS) 0.05 mol [pH 7.6]

- ❖ 50 mmol Tris: 6.057 g Tris (hydroxymethyl)-aminomethan (Merck, Darmstadt, D) in 250 ml Aqua dest. lösen
- ❖ 150 mmol NaCl: 8.766 g NaCl dazugeben (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ Mit 1n HCL (Merck, Darmstadt, D) und pH-mV-Meter (Mettler Toledo, Schwerzenbach, CH) auf pH 7.6 einstellen
- ❖ Mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen; pH-Kontrolle

Diaminobenzidin (DAB)-Lösung

- ❖ 0.1 mol PB: 15 ml [pH 7.4]
- ❖ 2.33 mmol Diaminobenzidin (DAB): 150 μl = 7.5 mg (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ 7.48 mmol Ammoniumchlorid NH_4Cl : 150 μl = 6.0 mg (Sigma-Aldrich, Steinheim, D)
- ❖ 1.68 mmol Nickel-II-Sulfat NiSO_4 : 300 μl = 0.05 mol (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ 11.1 mmol D-Glucose: 300 μl (Sigma-Aldrich, Steinheim, D)
- ❖ 0.0004% (w/v) Glucoseoxidase: 50 μl (Sigma-Aldrich, Steinheim, D)
- ❖ Lösung filtrieren und innerhalb 30 Minuten verbrauchen

Wasserstoffperoxid (3% H_2O_2 in Methanol)

- ❖ 20 ml Methanol (Merck, Darmstadt, D)
- ❖ 4.5 ml Aqua dest.
- ❖ 0.5 ml 30% H_2O_2 (Merck, Darmstadt, D)

Alkoholreihe

- ❖ Je 2 Minuten in
- ❖ 70% Ethanol (Hoffmann, Düsseldorf, D)
- ❖ 96% Ethanol (Hoffmann, Düsseldorf, D)
- ❖ 100% Ethanol (Hoffmann, Düsseldorf, D)
- ❖ Xylol (Quadflieg, Gelsenkirchen, D)

Das verwendete immunhistochemische Färbeprotokoll wurde in der Abteilung für zelluläre und molekulare Sportmedizin des Institutes für Sportmedizin und Kreislaufforschung der Deutschen Sporthochschule Köln entwickelt:

Zunächst wurden ca. 15 µl der Erythrozytensuspension (bei 4°C in PFA) aller venösen Vollblutproben abpipettiert, auf Glas-Objektträgern (Menzel, Braunschweig, D) ausgestrichen und über einem Bunsenbrenner vorsichtig kurz hitzefixiert. Nach der Kontrolle der Ausstriche unter dem Lichtmikroskop (Optech, München, D) wurden mit einem Fettstift (Dako, Hamburg, D) jeweils zwei voneinander getrennte Areale auf den Objektträgern festgelegt. Ein Analyse-Areal für die eigentliche Antigen-Antikörper-Reaktion mit dem Epitop des MCT1 und der DAB-Färbung, ein Areal für die immunhistologische Kontrolle (IHC) der Ansätze. Das zweite Areal wurde nicht wie das Erste mit dem primären Antikörper inkubiert. Hier war dann keine anschließende Färbung zu erwarten.

Die umrandeten Areale wurden mit TBS fünf Minuten inkubiert (gewaschen), um mögliche Verunreinigungen zu entfernen, und anschließend 45 Minuten bei 37°C mit dem Enzym Trypsin (Sigma-Aldrich, Steinheim, D) inkubiert. Dadurch sollten die Erythrozyten-Membranen perforiert und für die Antikörper permeabel werden, da das MCT1-Epitop intrazellulär lokalisiert ist. Danach wurde mit TBS fünf Minuten gewaschen und anschließend zweimal zwanzig Minuten die Lösung aus Methanol, Aqua-Dest und H₂O₂ aufgebracht, womit mögliche endogene Peroxidasen blockiert werden sollten. Anschließend wurde wieder mit TBS gewaschen und eine 3%ige Milchpulverlösung in TBS für 60 Minuten aufgebracht. Damit werden unspezifische Bindungsstellen für den ersten Antikörper blockiert. Im

Anschluss wurde ohne weitere Spülung der primäre MCT1-Antikörper nach Herstellerangaben (Verdünnung 1:1000 in 0.3%iger Milchpulverlösung) im ersten Areal aufgelegt. Das IHC-Areal wurde nur mit der 0.3%igen Milchpulverlösung inkubiert. Nach 60 Minuten erfolgte ein Waschgang mit TBS und anschließender 30-minütiger Inkubation mit dem 3%igen Normal-Goat-Serum zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen für den 2. Antikörper. Nach dem Absaugen wurde ohne weiteren Spülgang der zweite Antikörper (Goat-Anti-Rabbit) nach Herstellerangabe (Verdünnung 1:400 in TBS) für 30 Minuten auf beide Areale pipettiert. Vor dem anschließenden Inkubieren mit dem Streptavidin-Horseradish-Peroxidase-Komplexes (HRP 1: 150 in TBS) für 30 Minuten wird der Objektträger erneut gewaschen. Nach der Inkubation mit HRP wird wiederum gewaschen und die anschließende Färbung durch Auftragen und Bindung des DAB an den zweiten Antikörper erzielt. Diese Reaktion wurde permanent unter dem Mikroskop beobachtet, um nach dem Auftreten roter oder brauner Färbung die Reaktion stoppen zu können. Das Stoppen geschah durch mehrmaliges Auftragen und Absaugen von TBS.

Danach wurden die Objektträger in aufsteigender Reihenfolge in 70-, 96-, und 100-prozentigem Ethanol und anschließend in Xylol entwässert. Aus dem Xylol heraus wurden die Areale mit Entellan (Merck, Darmstadt, D) getränkt und mit einem Glas (VWR, Langenfeld, D) in das Entellan hinein abgedeckt. Nach dem Entlüften und Aushärten des Entellan war der Objektträger versiegelt und für die weitere Auswertung dauerhaft geschützt.

Digitalisierung und Auswertung der gefärbten Ausstriche

Mit dem Mikroskop KS 300 Axiphot (Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, D) wurde in 400-facher Vergrößerung jedes Präparat mit Hilfe der Software ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) standardisiert auf eine Graustufenhelligkeit von 215 ± 5 DU eingestellt. Kontrast, Vergrößerung und andere Bildeinstellungen wurden konstant gehalten und durch die an dem Mikroskop fest installierte CCD Kamera (Axio Cam, Jena, D) mit dem

Methodik

Softwareprogramm KS 300 3.0 (Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, D)
fotografiert und digital als JPG-Datei gesichert.



Abb.6: Immunhistochemische Kontrolle (IHC) der Erythrozyten bei 400-facher Vergrößerung

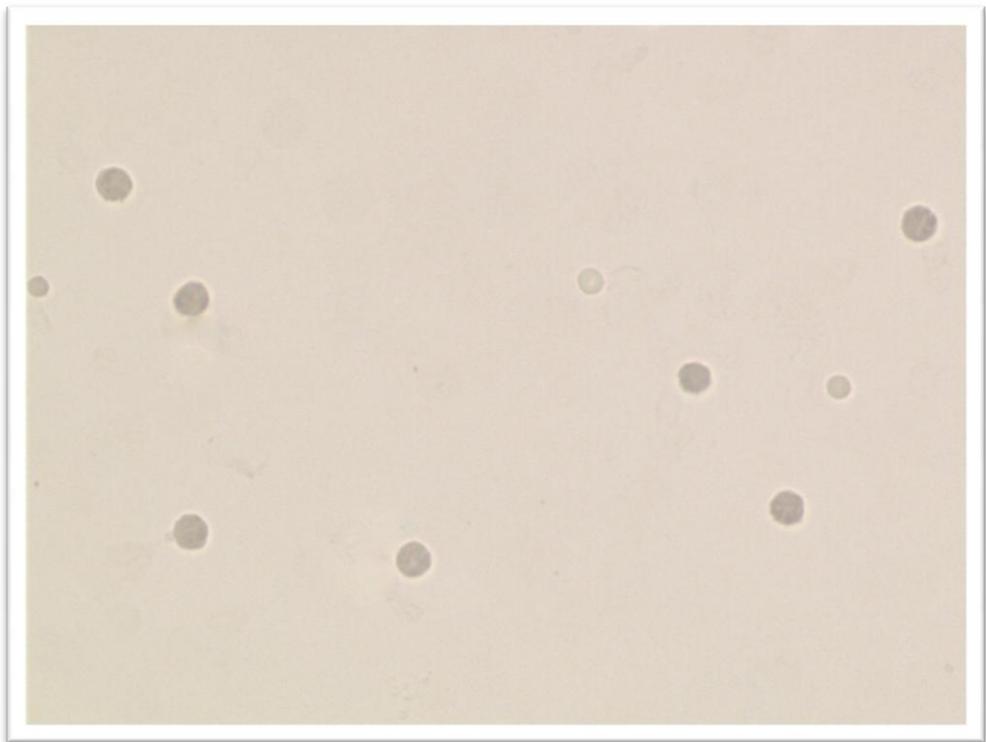


Abb.7: Immunhistochemische MCT1-Färbung der Erythrozyten bei 400-facher Vergrößerung

Die Färbungsintensität der digitalen Probenbilder konnte nach deren automatischer Umwandlung in 8-bit-Grautonbilder mit der Software ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) quantitativ densitometrisch erfolgen. Ein Grautonbild besteht aus einzelnen Bildpunkten (Pixel) und einer Bildtiefe. Jedes Pixel hat einen bestimmten Grauton (Grauwert); die Bildtiefe gibt an, wieviele Grauwerte ein Pixel haben kann. 8-Bit-Bilder haben $2^8 = 256$ Grauwerte, wobei 0 als schwarz und 256 als weiß interpretiert wird.

Der gemessene Grauton ist proportional den immunhistochemisch nachgewiesenen Bindungen des primären Antikörpers an das Protein MCT1. Je mehr Bindungen erfasst sind, umso niedriger (dunkler) ist der Grauwert.

Von allen Probanden wurden für jeden Zeitpunkt der Blutabnahme 50 Erythrozyten (40 Zellen aus dem Analyseareal und 10 Zellen aus dem IHC-Areal) densitometrisch ausgewertet. Mit dem Softwareprogramm Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) konnten die Mittelwerte der Differenzen der Graustufen der Erythrozyten und dem jeweiligen Hintergrund berechnet werden. Die Differenz der Werte der beiden Areale (Analyse-Areal – IHC-Areal) repräsentiert relativ die Dichte der gefärbten MCT1-Proteine in den Erythrozyten.

Skelettmuskulatur: Immunhistochemischer Nachweis von MCT1, MCT4 und MHC1 (myosin heavy chain 1)

Kryostatschnitte

Die bei der Muskelbiopsie (2.2.6) gewonnenen und bei -80°C (Heraeus Instruments, Osterode, D) gelagerten Muskelproben wurden unmittelbar vor der Bearbeitung in dem Kryostaten Leica CM 1900 (Reichert-Jung, Nussloch, D) bei -25°C gelagert. Dort wurden die in Tissue-Tec (Sakura, Zoeterwoude, NL) eingebetteten Proben auf einem Schneideteller fixiert und halbautomatisch Querschnitte mit $7\ \mu\text{m}$ Dicke angefertigt. Jeder Biopsiezeitpunkt jedes Probanden wurde durch zwei Objektträger (Menzel, Braunschweig, D) repräsentiert, auf dem jeweils zwei Areale vorgesehen

wurden. Die so vorliegenden vier Areale für jeden Zeitpunkt boten Platz zur Aufnahme von Schnitten für die Detektion mit den Antikörpern MCT1, MCT4, MHC1 und die IHC. Die Schnitte wurden konsekutiv angefertigt; jedes Areal erhielt 2 – 3 Schnitte. Die fertigen Objektträger wurden maximal 24 Stunden bei -80°C gelagert und dann immunhistochemisch weiter bearbeitet.

Antikörper

- ❖ Rabbit Anti-Monocarboxylate Transporter 1 (MCT1) – AB3538P; Verdünnung 1:1000 (Chemicon international, Temecula, USA)
- ❖ Rabbit Anti-Monocarboxylate Transporter 4 (MCT4) – sc-50329; Verdünnung 1:500 (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, USA)
- ❖ Anti-human (MHC 1) A4.840, partially purified; Verdünnung 1:200 (University of Stanford, Dept. of Molekular Pharmacology, Stanford, USA)
- ❖ Goat Anti-Rabbit (GAR) – Ref.: E0432; Verdünnung 1:400 (Dako Deutschland GmbH, Hamburg, D)
- ❖ Goat Anti-Mouse (GAM) – Ref.: E0433; Verdünnung 1:400 (Dako Deutschland GmbH, Hamburg, D)
- ❖ Horseradish-Peroxidase-Komplex (HRP) – RPN1051V; Verdünnung 1:150 (GE Healthcare UK Limited, Bucks, GB)

Reagenzien

Phosphatpuffer (PB) 0.1 M [pH 7.4]

- ❖ Siehe Kapitel 2.2.4 (Seite 56)

Trispuffer (TBS) 0.05 mol [pH 7.6]

- ❖ Siehe Kapitel 2.2.4 (Seite 57)

Diaminobenzidin (DAB)- Lösung

- ❖ Siehe Kapitel 2.2.4 (Seite 57)

Wasserstoffperoxid (3% H₂O₂ in Methanol)

- ❖ Siehe Kapitel 2.2.4 (Seite 57)

Bovine Serum Albumin (BSA)-Lösung

- ❖ 5% BSA in 0.05 mol TBS (PAA, Cölbe, D.)

Ammoniumchlorid-/ Triton-X- Lösung:

- ❖ 0.5 mol Ammoniumchlorid NH_4Cl : 0.59 g (Merck, Darmstadt, D.)
- ❖ 0.25% Triton X-100: 50 μl (Serva, Heidelberg, D.)
- ❖ 0.05 mol TBS: 20 ml

Alkoholreihe

- ❖ Siehe Kapitel 2.2.4 (Seite 58)

Das verwendete immunhistochemische Färbeprotokoll wurde in der Abteilung für zelluläre und molekulare Sportmedizin des Institutes für Sportmedizin und Kreislaufforschung der Deutschen Sporthochschule Köln entwickelt:

Die zusammengehörenden Schnitte jedes Areals wurden mit dem hydrophoben PAP-Pen Markerstift (Dano, Hamburg, D) als Barriere eingekreist, um die zur Analyse genutzten Flüssigkeiten im vorgesehenen Areal zu halten.

Zunächst wurden alle Areale dreimal für fünf Minuten mit TBS gewaschen und anschließend 20 Minuten mit der frischen Wasserstoffperoxidlösung (in TBS) inkubiert, um eine endogene Peroxidaseaktivität zu blockieren. Nach erneutem zweimaligem Waschen mit TBS wurde eine Ammoniumchlorid-/ TritonX-Lösung aufgelegt, die durch Auflösen von Aldehydvernetzungen das Gewebe demaskiert, die Zellmembranen perforiert und so einen Zugang der Antikörper zu Ihren Epitopen ermöglicht. Danach wurde wieder zweimal mit TBS gespült und 60 Minuten mit einer 5%-igen BSA-Lösung inkubiert, um unspezifische Bindungsstellen zu besetzen. Direkt anschließend wurden die Primärantikörper nach Herstellerangaben mit 0.8%iger BSA-Lösung verdünnt und auf die Areale pipettiert.

Die IHC-Areale wurden mit der 0.8%igen BSA-Lösung ohne Antikörper bedeckt. Alle Objektträger wurden dann über Nacht im Kühlschrank bei 4°C gelagert. Nach der Inkubation über Nacht wurden die Proben dreimal mit TBS gespült, um überschüssigen nicht gebundenen ersten Antikörper zu

entfernen. Daraufhin konnte der zweite Antikörper gegen die Tierspezies des ersten Antikörpers angewendet werden.

Vor dem anschließenden Inkubieren mit dem Streptavidin-Horseradish-Peroxidase-Komplex (HRP 1:150 in TBS) für 60 Minuten wurde der Objektträger erneut dreimal gewaschen. Nach der Inkubation mit HRP wurde wiederum gewaschen und die anschließende Färbung durch Auftragen und Bindung des DAB an den zweiten Antikörper erzielt. Diese Reaktion wurde permanent unter dem Mikroskop beobachtet, um nach dem Auftreten brauner Färbung die Reaktion stoppen zu können. Das Stoppen geschah durch mehrmaliges Auftragen und Absaugen von TBS.

Danach wurden die Objektträger in aufsteigender Reihenfolge in 70-, 96-, und 100-prozentigem Ethanol und anschließend in Xylol entwässert. Aus dem Xylol heraus wurden die Areale mit Entellan (Merck, Darmstadt, D) getränkt und mit einem Glas (VWR, Langenfeld, D) in das Entellan hinein abgedeckt. Nach dem Entlüften und Aushärten des Entellan war der Objektträger versiegelt und für die weitere Auswertung dauerhaft geschützt.

Digitalisierung und Auswertung der gefärbten Schnitte

Mit dem Mikroskop KS 300 Axiphot (Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, D) wurde in 200-facher Vergrößerung jedes Präparat mit Hilfe der Software ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) standardisiert auf eine Graustufenhelligkeit von 215 ± 2 eingestellt. Kontrast, Vergrößerung und andere Bildeinstellungen wurden konstant gehalten und durch die an dem Mikroskop fest installierte CCD Kamera (Axio Cam, Jena, D) mit dem Softwareprogramm KS 300 3.0 (Carl Zeiss Vision GmbH, Hallbergmoos, D) fotografiert und digital als JPG-Datei gesichert.

Methodik



Abb. 8: Immunhistochemische Kontrolle (IHC) der Muskelfasern bei 200-facher Vergrößerung

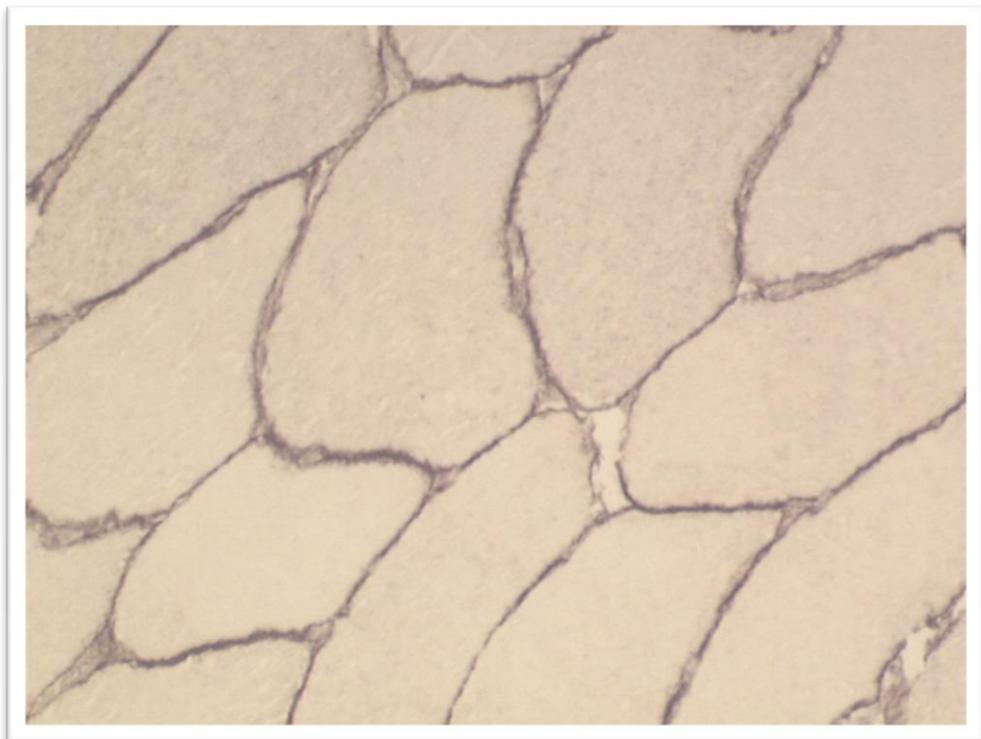


Abb. 9: Immunhistochemische Färbung der Muskelfasern bei 200-facher Vergrößerung

Die quantitative densitometrische Auswertung anhand der Färbungsintensität der digitalen Probenbilder erfolgte mit dem Softwareprogramm ImageJ1.38x (National Institute of Health, USA). Die gemessene Graustufenintensität ist hierbei proportional der Dichte der immunhistochemisch nachgewiesenen Bindungen der primären Antikörper an die zu detektierenden Ektope der Proteine MCT1, MCT4 und MHC1.

Relative membranöse MCT1- und MCT4-Dichte

Aus den Arealen zur MCT1-, MCT4- und IHC-Bestimmung wurden jeweils 40 Muskelfaserquerschnitte in der Auswertung berücksichtigt. Da Artefakte, Kapillaren oder Bindegewebsanteile nicht in die Graustufen-Messungen mit eingehen sollen, wurden sie mit dem Bildbearbeitungsprogramm Adobe Photoshop CS3 Extendet Version 10.0 (Adobe Systems Software, Dublin, IRL) markiert und weiß überblendet. Die Graustufenwerte des Hintergrundes (Areale ohne Gewebe) wurden jeweils ermittelt und bei den Berechnungen zur Proteindichte von den Graustufen in der Membran und im Zytosol abgezogen. Um eine Aussage über die gemessene Proteinexpression in Bezug zur gesamten Muskelfläche treffen zu können, wurden in einem weiteren Arbeitsschritt alle Flächen, die nicht mit Muskelgewebe bedeckt waren, ebenfalls weiß überblendet (s. Abb.: 10).



Abb. 10: Schnitt aus Abb. 9 nach Bearbeitung der Artefakte

Die bearbeiteten Bilder wurden mit der Software ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) in 8-bit- Grauwertbilder umgewandelt und mit der Graustufe 175 als Schwellenwert dargestellt. So konnte die membranöse Graustufenintensität erfasst werden (s. Abb.: 11).

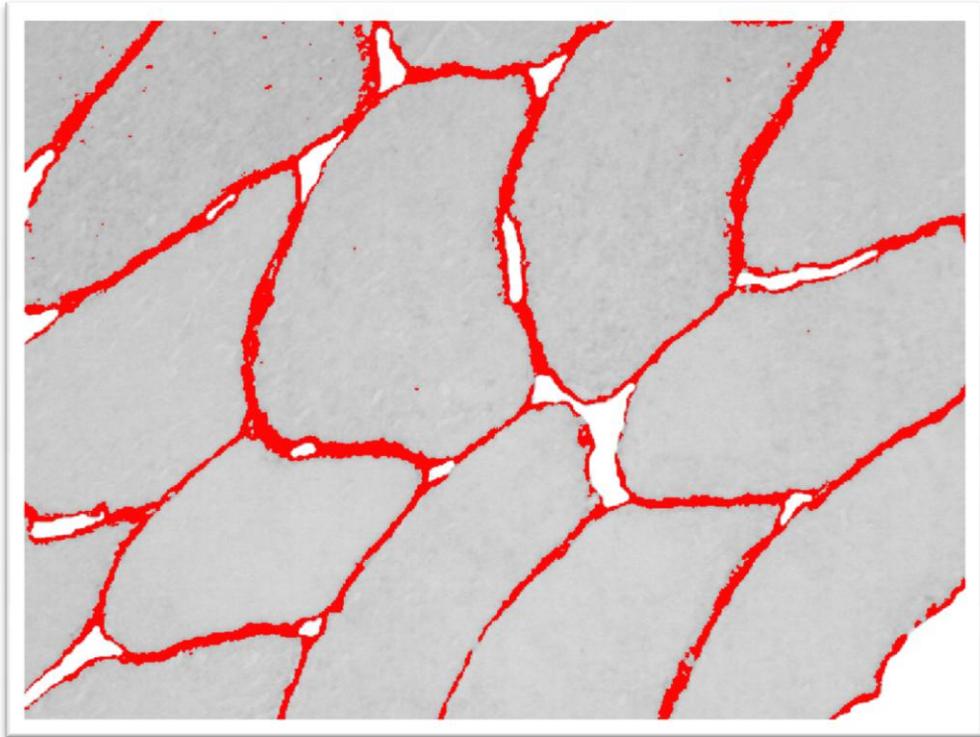


Abb. 11: Darstellung der gefärbten Muskelfaserschnitte mit dem Schwellenwert 175 DU

Um eine Aussage über die gemessene Proteinexpression in Bezug zur gesamten Muskelfläche treffen zu können, wurden in einem weiteren Arbeitsschritt alle Flächen, die nicht mit Muskelgewebe bedeckt waren, ebenfalls weiß überblendet. Die gesamte Muskelfläche konnte dann bei einem Schwellenwert von 245 rot markiert und mit der Software Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) berechnet werden (s. Abb.: 12).



Abb. 12: Darstellung der gefärbten Muskelfaserschnitte mit dem Grenzwert 245 DU

Zytoplasmatische MCT1- und MCT4-Dichte

Der zytoplasmatische Graustufenwert wurde an 50 Muskelzellen jedes Probanden bestimmt. Dazu wurden die einzelnen Zellen und der jeweilige Hintergrund an drei unterschiedlichen Stellen mit dem Softwareprogramm ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) gemessen und nach weiterer Berechnung mit Hilfe des Softwareprogramms Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) graphisch dargestellt.

Myosin-Schwerketten Muskelfasertypisierung

Die immunhistochemische Detektion der myosin heavy chain 1 (MHC 1) mit dem Antikörper A4.840 hinterlässt nach der Färbung der entsprechenden Areale gefärbte und nicht gefärbte Muskelfaserquerschnitte. Die dunkel gefärbten MHC1-Fasern können so anhand der digitalisierten mikroskopischen Bilder manuell im Vergleich zu den nicht gefärbten MHC2-Fasern ausgezählt werden. Alle Objektträger wurden so ausgezählt und der jeweilige mittlere Anteil der Fasern prozentual angegeben. Die Berechnung

und Visualisierung der Daten wurde mit dem Programm Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) durchgeführt.

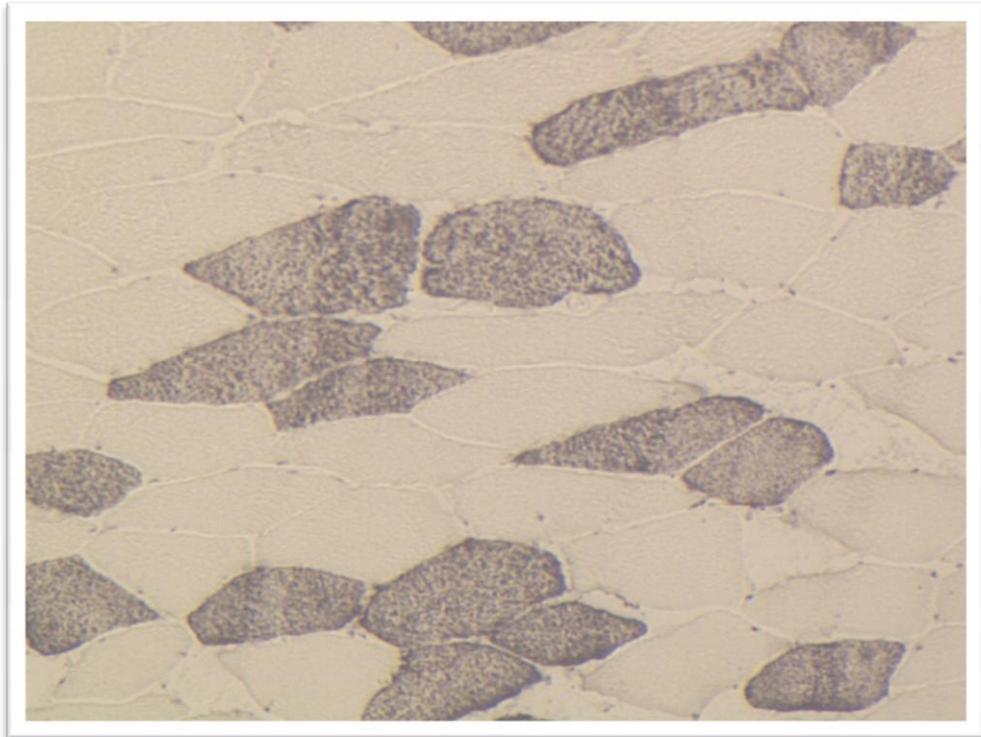


Abb 13: Immunhistochemische Färbung der MHC1-Muskelfasern (dunkel) in 100-facher Vergrößerung

Muskelfaserdurchmesser

Zur Bestimmung der Muskelfaserdicke wurden die digitalen Aufnahmen aus der Muskelfasertypisierung verwendet. 100 Typ-1-Fasern und 100 Typ-2-Fasern jedes Probanden wurden für die Vermessung mit dem Programm ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) verwendet. Der geringste Querschnitt jeder einzelnen Faser wurde erfasst, in eine Excel-Tabelle übertragen und die Mittelwerte mit den Standardabweichungen graphisch dargestellt.

2.2.5 Belastungs-Spiro-Ergometrie

Vor (U1) und nach (U2) der jeweiligen Intervention absolvierten die Probanden eine Belastungs-Spiro-Ergometrie zur Bestimmung der körperlichen Belastbarkeit und Ausdauerleistungsfähigkeit. Außerdem

wurden die Daten der Belastungsuntersuchung zur Erstellung des Trainingsplanes für die Teilnehmer der Ausdauergruppe genutzt. Es wurde das sog. WHO-Schema angewandt, ein stufenförmig ansteigender Belastungstest, der von 25 Watt ausgehend alle zwei Minuten bis zur subjektiven Ausbelastung – unter Berücksichtigung der allgemeinen Abbruchkriterien – des Probanden um 25 Watt gesteigert wird (Rost et al. 1995; Steinacker et al. 2002). Die Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (Trappe & Löllgen 2000) für solche Belastungsuntersuchungen wurden beachtet. Das benutzte Fahrradergometer (Ergoline Ergometrics 900, Bitz, D) konnte die Wattstufen drehzahlunabhängig regulieren. Vor, während und nach der Belastung wurde mit einem Sechskanal-EKG-Gerät (Ergoline Ergoscript EK3012, Bitz, D) kontinuierlich die Herzaktion abgeleitet, aufgezeichnet und auf einem Bildschirm dargestellt. Dazu wurden die Extremitäten nach Einthoven und Goldberger sowie die Brustwandableitungen nach Wilson gemessen.

Der Blutdruck wurde halbautomatisch nach Riva Rocci alle zwei Minuten gemessen, auf einem Bildschirm dargestellt und digital aufgezeichnet.

Zusätzlich wurden bei den Probanden die Atemgase mit dem Spirometriegerät ZAN 600 CPET (nSpire Health GmbH, Obertuhlba, D) kontinuierlich bis kurz nach dem Abbruch der Belastung gemessen (amperometrischer Festkörper Elektrolytsensor), über Echtzeit-Monitoring dargestellt und digital gespeichert. Vor dem Anlegen der Atemmasken (Halbmasken) mit dem Flowsensor (Differenzdruck-Prinzip) erfolgte eine Volumen- und Gaskalibration; Temperatur, Druck und Feuchte der Raumluft wurden automatisch über ein integriertes Umweltmodul gemessen und berücksichtigt. Zwei Minuten vor dem Beginn der Belastung erfolgten noch Ruhemessungen und Dichtigkeitsprüfungen.

Die gemessenen Daten (Sauerstoffaufnahme, Kohlendioxidabgabe, Respiratory Exchange Ratio (RER), Atemfrequenz, Atemminutenvolumen und Atemäquivalent) wurden ausgedruckt und später mit Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) bearbeitet.

Zur Laktatleistungsdiagnostik wurden vor und alle zwei Minuten während der Belastungsuntersuchung jeweils 20 µl Blut aus dem Ohrläppchen entnommen (siehe 2.2.3). Vor der Belastung (T0), direkt nach der Belastung (T1) und fünf Minuten nach Belastungsabbruch (T5) wurde mit 110 µl Kapillaren das Blut für die Differentielle Laktatanalyse aus dem Ohrläppchen entnommen und die venösen Blutabnahmen mit einer Butterfly-Nadel in eine Heparin-Vakuette (Becton-Dichinson Vacutainer Systems, Heidelberg, D) durchgeführt (siehe 2.2.3).

Das subjektive Empfinden der Probanden wurde bei der Belastung mit der sog. Borg-Skala überprüft und dokumentiert (Borg 1998, Löllgen 2004).

2.2.6 Muskelbiopsie

Die Muskelbiopsien (Evans et al. 1982) wurden bei den Probanden nach vorheriger Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung jeweils einmal vor und nach der Intervention aus dem Muskulus vastus lateralis durchgeführt.

Vor dem Eingriff wurde das betreffende Areal rasiert, desinfiziert und die Haut und der darunter liegende Bereich der Muskelfaszie über die Injektion einer 2%igen Xylocain-Lösung lokal anästhesiert. Es erfolgte die Eröffnung der Haut und der Faszie mit einem ca. 1 cm langen Schnitt zur Einführung der Biopsienadel in den Muskelbauch. Hier wurde über einen mit der Nadel verbundenen Schlauch manuell Unterdruck zur Ansaugung des Muskelgewebes in die Hohnadel erzeugt. Über einen innen liegenden Stanzzylinder wurde die Probe abgetrennt und konnte nach Ausführung der Nadel entnommen werden. Das Gewebe (50 – 100mg) wurde sofort in Tissue-Tec (Zakura, Zoeterwoude, NL) eingebettet und in flüssigem Stickstoff vor Ort tiefgefroren. Der Einschnitt wurde sofort nach Entfernen der Nadel aus dem Muskel adäquat mit einem Klammerpflaster verschlossen, zusätzlich abgedeckt und mit einem Kompressionsverband für mindestens 48 Stunden gesichert.

Die Proben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C im Kühlschrank (Heraeus Instruments, Osterode, D) gelagert.

2.3 Interventionen

Die vorliegende Arbeit untersucht den Einfluss verschiedener Interventionen auf den Stoffwechsel von Typ-2-Diabetikern. Die Interventionen wurden in unterschiedlichen Probandengruppen durchgeführt, jeweils sechs Wochen lang, viermal wöchentlich für 90 Minuten. Die sog. Referenzgruppe wurde einem allgemeinen, breit gefächerten Bewegungsprogramm unterzogen, in dem keine klassischen Trainingsadaptationen erzielt werden sollten. Die sog. Ausdauergruppe absolvierte ein systematisches, intensitätsgesteuertes Ausdauertraining auf Fahrradergometern. Die Teilnehmer der sog. Hypoxiegruppe erhielten das gleiche Bewegungsprogramm wie die Referenzgruppe, allerdings unter normobarer Hypoxie. Die fachliche Anleitung fand immer durch Diplomsportwissenschaftler und geschulte Diplomanden der Sportwissenschaften der Deutschen Sporthochschule Köln statt.

2.3.1 Referenzgruppe

Die Bewegungseinheiten in dieser Gruppe fanden witterungsabhängig auf dem Gelände der Deutschen Sporthochschule in Hallen, im Freien oder zuhause statt; in den ersten drei Wochen waren die Probanden drei mal jede Woche an der Sporthochschule, einmal in der Woche absolvierten Sie ein Heimprogramm nach Anweisung. Die letzten drei Wochen wurde jeweils zweimal an der Hochschule geübt und zweimal zuhause nach vorgegebenem Plan.

In den 90 Minuten währenden Einheiten wurde Wert auf große Variabilität in allen Formen motorischer Beanspruchungsformen gelegt. Die Probanden sollten die Vielfalt möglicher Bewegungsformen kennenlernen, sie wurden mit den Grundzügen von geeigneten Ausdauer-, Kraft-, Koordinations-, Beweglichkeits-, und Entspannungsformen vertraut gemacht. Die Prinzipien von Aufwärmung, Dehnung und Verletzungsprophylaxe wurden ausführlich erörtert und geübt. Ziel war insgesamt eine positiv besetzte Heranführung an einen aktiveren Lebensstil, ohne klassisches Kraft- oder Ausdauertraining durchzuführen. Die Erzielung ungewollter Trainingsadaptationen im Kraft-

und Ausdauerbereich wurde durch niedrige Belastungsintensitäten und laufenden Wechsel der Beanspruchungsformen in den einzelnen Einheiten vermieden.

2.3.2 Ausdauergruppe

In dieser Gruppe wurde sechs Wochen lang dreimal wöchentlich ein Ausdauer-Training im sog. Ergometerraum der Deutschen Sporthochschule Köln absolviert, einmal in der Woche absolvierten die Teilnehmer ein Heimprogramm nach Anweisung.

Das eigentliche Ausdauertraining wurde von anfangs 35 Minuten bis auf 60 Minuten gesteigert. Die verbleibende Zeit in den jeweils 90 Minuten-Einheiten wurde genutzt, den Probanden alternative Ausdauer-Trainingsformen wie Nordic-Walking oder Schwimmen näher zu bringen. Wesentliche Trainingsprinzipien wie Aufwärmen, Dehnen, Intensitätssteuerung mit der Herzfrequenz und die Schulung des persönlichen Belastungsempfindens wurden intensiv geschult. Ziel war insgesamt eine positiv besetzte Heranführung an einen aktiveren Lebensstil mit Hilfe des Ausdauertrainings auf Fahrradergometern und im Speziellen die individuelle Verbesserung der aeroben Grundlagenausdauer.

Die Durchführung des Trainings basierte auf den evidenzbasierten Leitlinien der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (Halle et al. 2008) und der Leitlinie zur körperlichen Aktivität zur Sekundärprävention und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen der Deutschen Gesellschaft für Prävention und Rehabilitation von Herz-Kreislaufkrankungen e.V. (Bjarnason-Wehrens et al. 2009)

Die Bestimmung der Trainingsintensitäten orientierte sich an den durchgeführten Belastungsuntersuchungen: Die Wattleistung im Bereich von 75% der VO_{2peak} wurde zu Beginn als Trainingswattstufe ausgewählt. Anhand von Blutdruckmessungen vor und nach der Belastung sowie EKG- und Herzfrequenzmessungen über Echtzeit-Monitoring während der Belastung wurde das Training überwacht. Zusätzlich wurde regelmäßig das subjektive Belastungsempfinden anhand einer modifizierten BORG-Skala (Borg 2004) erfragt, es sollte nicht über die Skalenwerte 11 – 14 hinausgehen.

20	
19	sehr, sehr anstrengend
18	
17	sehr anstrengend
16	
15	anstrengend
14	
13	etwas anstrengend
12	
11	leicht
10	
9	sehr leicht
8	
7	sehr, sehr leicht
6	

Tab. 2: Subjektive Belastungseinschätzung modifiziert nach Borg (2004)

Anhand aller aufgezeichneten Daten wurde das Training regelmäßig und zeitnah individuell angepasst.

Eine Trainingseinheit bestand aus 4 Phasen:

1. Aufwärmphase 1:

Das Training wurde 2 Minuten lang mit < 50% der individuellen Trainingswattlast gestartet.

2. Aufwärmphase 2:

Über die Dauer von 5 Minuten wird die Last kontinuierlich bis auf die Trainingswattlast gesteigert.

3. Trainingsphase:

Hier führen die Probanden bei Ihrer individuellen Trainingswattlast, entsprechend der Wattleistung bei 75% der VO_{2peak} , auf dem

Fahrradergometer. Von anfangs 25 Minuten wurde die Dauer in den ersten beiden Studienwochen individuell auf 50 Minuten gesteigert; dieses Schema wurde dann bis zum Ende der 6. Woche beibehalten.

4. Erholungsphase:

Der Pedal-Widerstand an den Ergometern wurde zügig bis auf < 25 Watt reduziert. Die Probanden konnten nach Erreichen normalisierter Blutdruck- und Herzfrequenzwerte das Rad verlassen.

Das wöchentliche Heimtraining wurde nach vorher festgelegtem Plan eigenverantwortlich durchgeführt. Zur Belastungssteuerung wurde die Trainingsherzfrequenz genutzt. In einem Trainingsprotokoll wurden Art des Trainings (Walking, Nordic-Walking, Radfahren), Dauer, Herzfrequenz und Werte auf der BORG-Skala dokumentiert. Dauer und Intensität entsprachen jeweils dem Training auf dem Fahrradergometer.

2.3.3 Hypoxiegruppe

Die Intervention fand in den Räumlichkeiten der Firma Höhenbalance AG, Köln statt. Dort wurde ein entsprechend konstruierter, ca. 16m² großer, Raum für die Hypoxieeinheiten zur Verfügung gestellt. Mit speziellen VPSA-Generatoren (b-cat, B.V. Tiel, NL) konnte die Atmosphäre in diesem Raum konstant mit einem definierten, reduzierten, Sauerstoffanteil bereitgestellt werden. Dazu wurden kontrolliert Sauerstoffmoleküle durch Stickstoffmoleküle ersetzt.

Viermal wöchentlich über einen Zeitraum von sechs Wochen absolvierten die Probanden in dem Hypoxieraum ein moderates Bewegungsprogramm, wobei der O₂-Volumenanteil in der ersten Woche bei 15.4%, in der zweiten Woche bei 14.5% und in den letzten vier Wochen bei 12.7% in der zur Verfügung gestellten Umgebungsluft lag.

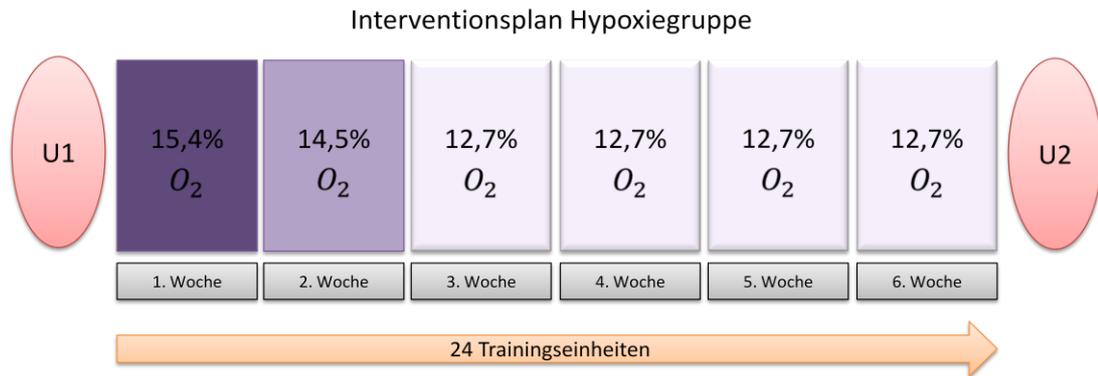


Abb. 14: Interventionsplan der Hypoxiegruppe

Jede Bewegungseinheit in dem Hypoxieraum war so strukturiert, dass drei Aufenthalte von jeweils 25 Minuten durch eine erste Pause von zehn Minuten und eine zweite Pause von fünf Minuten unterbrochen wurde. In diesen Pausen wurde der hypoxische Raum zur Erholung und zu Kontrollmessungen von Blutdruck, Herzfrequenz und Blutzucker verlassen.

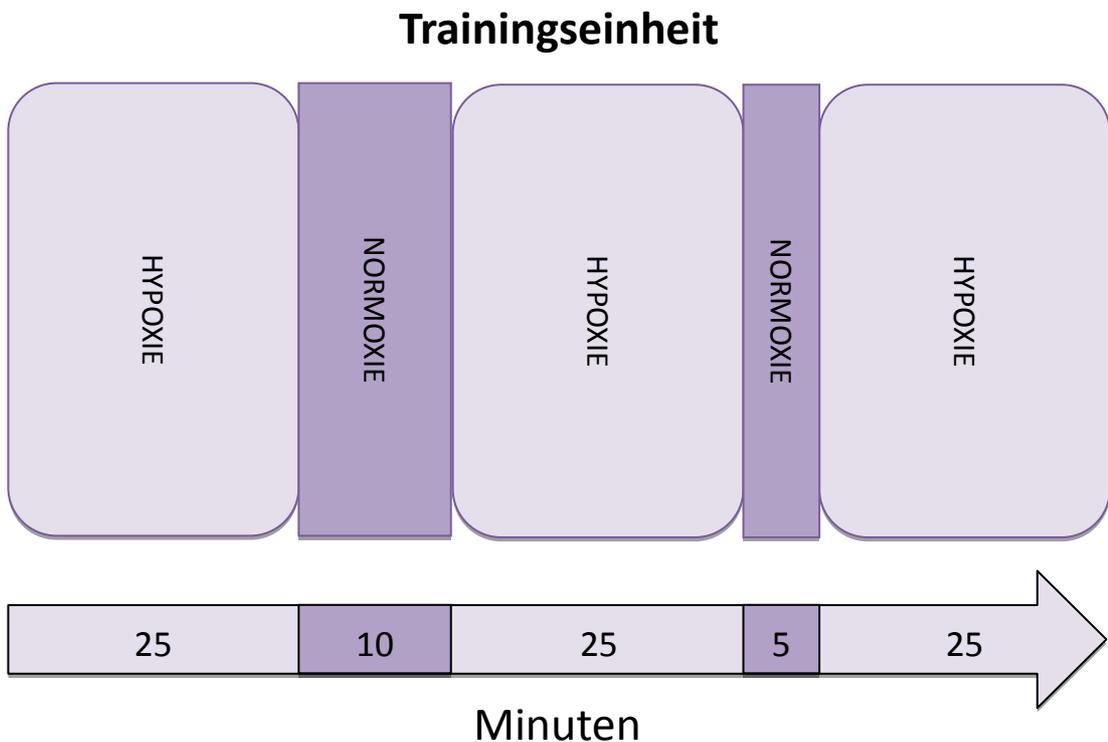


Abb. 15: Struktur einer Trainingseinheit der Hypoxiegruppe

Die Inhalte des Bewegungsprogramms waren gleich denen in der Referenzgruppe:

In den einzelnen Einheiten wurde Wert auf große Variabilität in allen Formen motorischer Beanspruchungsformen gelegt. Die Probanden sollten die Vielfalt möglicher Bewegungsformen kennen lernen; sie wurden mit den Grundzügen von geeigneten Ausdauer-, Kraft-, Koordinations-, Beweglichkeits-, und Entspannungsformen vertraut gemacht. Die Prinzipien von Aufwärmung, Dehnung und Verletzungsprophylaxe wurden ausführlich erörtert und geübt. Ziel war insgesamt eine positiv besetzte Heranführung an einen aktiveren Lebensstil, ohne klassisches Kraft- oder Ausdauertraining durchzuführen. Dazu wurde auf niedrige Belastungsintensitäten und laufenden Wechsel der Beanspruchungsformen in den einzelnen Einheiten geachtet.

2.4 Statistik

Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mit dem Programm Microsoft Excel 2007 (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, D) bestimmt und graphisch dargestellt. Die Prüfung auf Normalverteilung erfolgte mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test und der Lilliefors-Korrektur.

Die Mittelwertvergleiche und Signifikanzprüfungen wurden durch Anova-Varianzanalysen mit dem Statistik-Programm SPSS 17.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0.05$ festgelegt (Bühl 2006, Sachs 2009).

3. Ergebnisse

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse zur Ausdauergruppe und zur Referenzgruppe wurden teilweise bereits in der Dissertation von Opitz (2011) veröffentlicht.

3.1 Basischarakterisierung der Probanden

3.1.1 BMI

Aus dem Gewicht und der Körpergröße der Probanden wurde vor und nach dem Interventionszeitraum der Body-Mass-Index (BMI) errechnet. In allen drei Gruppen war der BMI im Mittel jeweils über 30 kg/m^2 , dem Grenzwert der WHO für Adipositas Grad 1 (WHO Technical Report Series 2000).

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des BMI wurden berechnet:

BMI (kg/ m^2)	U1	U2
Referenzgruppe	32.6 ± 4.6	32.3 ± 4.5
Ausdauergruppe	31.2 ± 3.5	31.2 ± 3.5
Hypoxiegruppe	31.1 ± 4.2	31.1 ± 4.2

Tab. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen des BMI

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.1.2 Ruheblutdruck

Bei Ruhebedingungen liegt der Normbereich des Blutdrucks unter $140 / 85 \text{ mmHg}$ (Bretzel et al. 2008). Die systolischen Werte waren in allen Gruppenuntersuchungen unter diesem Grenzwert. Die diastolischen Werte waren vor der Intervention in allen Gruppen über dem Grenzwert von

Ergebnisse

85 mmHg. Durch die Interventionen konnten die Werte in allen Gruppen gesenkt werden; in der Ausdauergruppe unter den Grenzwert. Die European Society of Hypertension (ESH) weist für Typ-2-Diabetiker bei gleichzeitigem Bluthochdruck wegen der dadurch stark erhöhten Inzidenz von kardiovaskulären Erkrankungen einen Zielbereich des Ruheblutdrucks von $< 130/80$ aus (ESH, 2007). Systolisch konnte dieser Bereich in der Ausdauer- und Hypoxiegruppe erreicht werden. Diastolisch konnte der Druck in keiner Gruppe unter 80 mmHg gesenkt werden.

Systolischer Blutdruck (Ruhe)

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des systolischen Blutdrucks in Ruhe vor dem WHO-Stufentest wurden berechnet:

sBP (mmHg)	U1	U2
Referenzgruppe	138.6 ± 19.5	132.5 ± 19.7
Ausdauergruppe	130.0 ± 17.6	122.4 ± 18.5
Hypoxiegruppe	128.8 ± 16.3	116.3 ± 14.8

Tab. 4: Mittelwerte und Standardabweichungen des systolischen Blutdrucks (Ruhe)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Senkungen U1 → U2 des systolischen Ruheblutdrucks waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

Ergebnisse

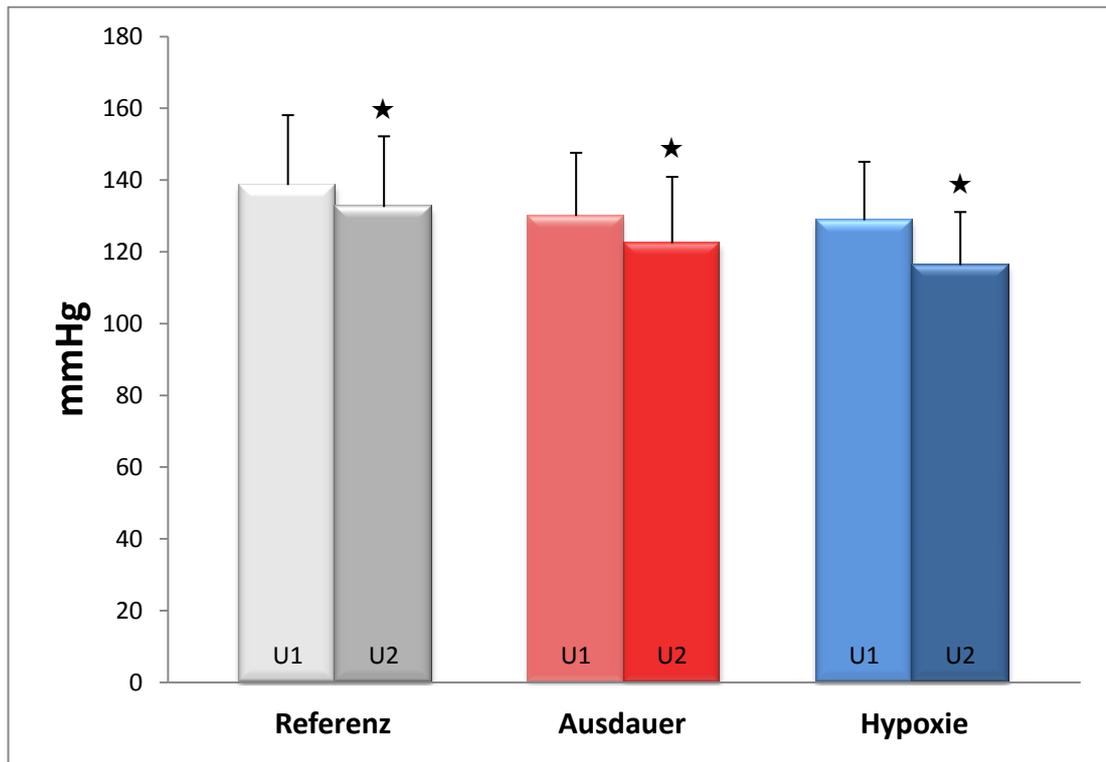


Abb. 16: Graphische Darstellung des systolischen Blutdrucks in Ruhe

(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

Diastolischer Blutdruck (Ruhe)

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des diastolischen Blutdrucks in Ruhe vor dem WHO-Stufentest wurden berechnet:

dBP (mmHg)	U1	U2
Referenzgruppe	93.0 ± 15.6	85.7 ± 15.3
Ausdauergruppe	87.1 ± 13.9	83.5 ± 12.9
Hypoxiegruppe	89.7 ± 8.3	87.7 ± 12.3

Tab. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen des diastolischen Blutdrucks (Ruhe)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden; die gemessenen Senkungen U1 → U2 des diastolischen Ruheblutdrucks waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

Ergebnisse

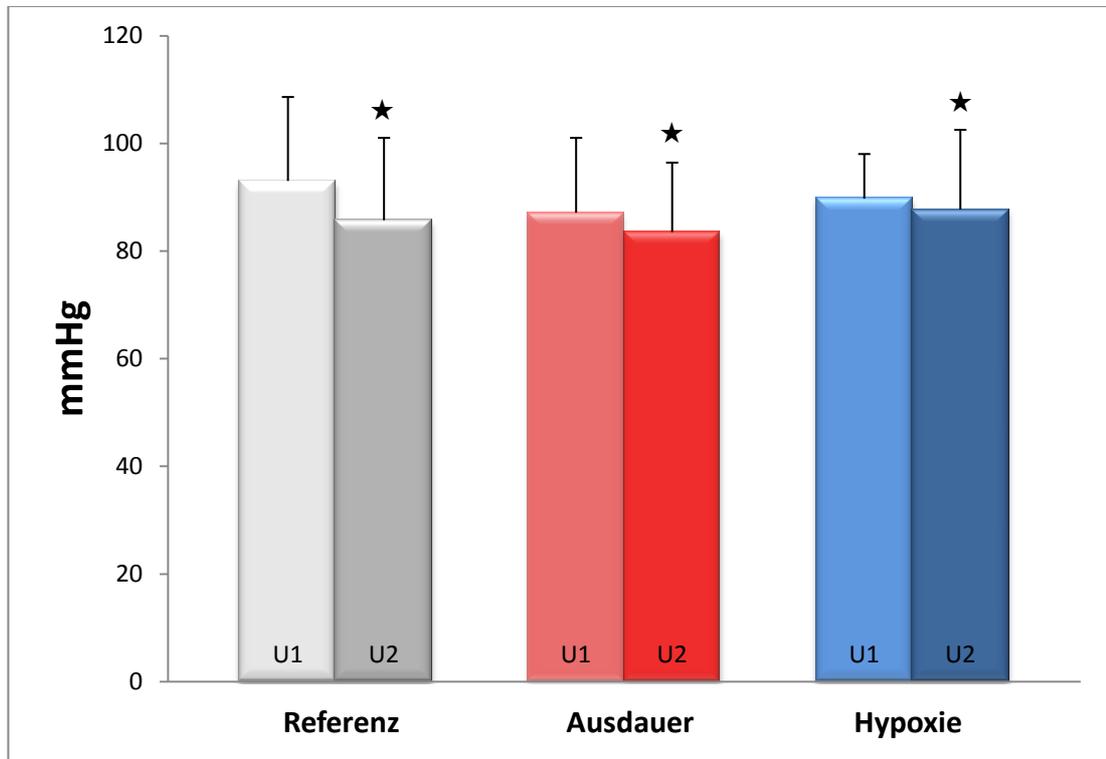


Abb. 17: Graphische Darstellung des diastolischen Blutdrucks in Ruhe
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.1.3 Herzfrequenz (Ruhe)

Die Ruhe-Herzfrequenz konnte in allen Gruppen durch die Interventionen gesenkt werden.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Herzfrequenz in Ruhe vor dem WHO-Stufentest wurden berechnet:

HR (1/min)	U1	U2
Referenzgruppe	86.8 ± 15.8	81.8 ± 14.1
Ausdauergruppe	81.1 ± 15.2	77.8 ± 12.7
Hypoxiegruppe	83.1 ± 14.9	79.5 ± 10.4

Tab. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Herzfrequenz (Ruhe)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Senkungen U1 → U2 der Ruhe-Herzfrequenz waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

3.2 Stoffwechselfparameter

3.2.1 Blutzucker

Der Normbereich für die Konzentration des Blutzuckers (Nüchtern-Serumglukose) liegt bei 70 – 99 mg/ dl (IDF 2007).

Der Grenzwert zur Diagnose des Diabetes Mellitus Typ 2 liegt bei 126 mg/dl (Kerner et al. 2004). Dieser Wert wurde in allen drei Gruppen vor und nach der Intervention deutlich überschritten.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des Blutzuckers wurden berechnet:

Blutzucker (mg/dl)	U1	U2
Referenzgruppe	153.1 ± 39.4	149.3 ± 43.4
Ausdauergruppe	161.6 ± 38.1	143.0 ± 38.3
Hypoxiegruppe	157.8 ± 69.5	169.3 ± 60.7

Tab. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen des Blutzuckers

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$).

In der Ausdauergruppe war die 11.5%ige Reduktion nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$); der 7.3%ige Anstieg in der Hypoxiegruppe und der 2.5%ige Abfall in der Referenzgruppe waren statistisch nicht signifikant.

Ergebnisse

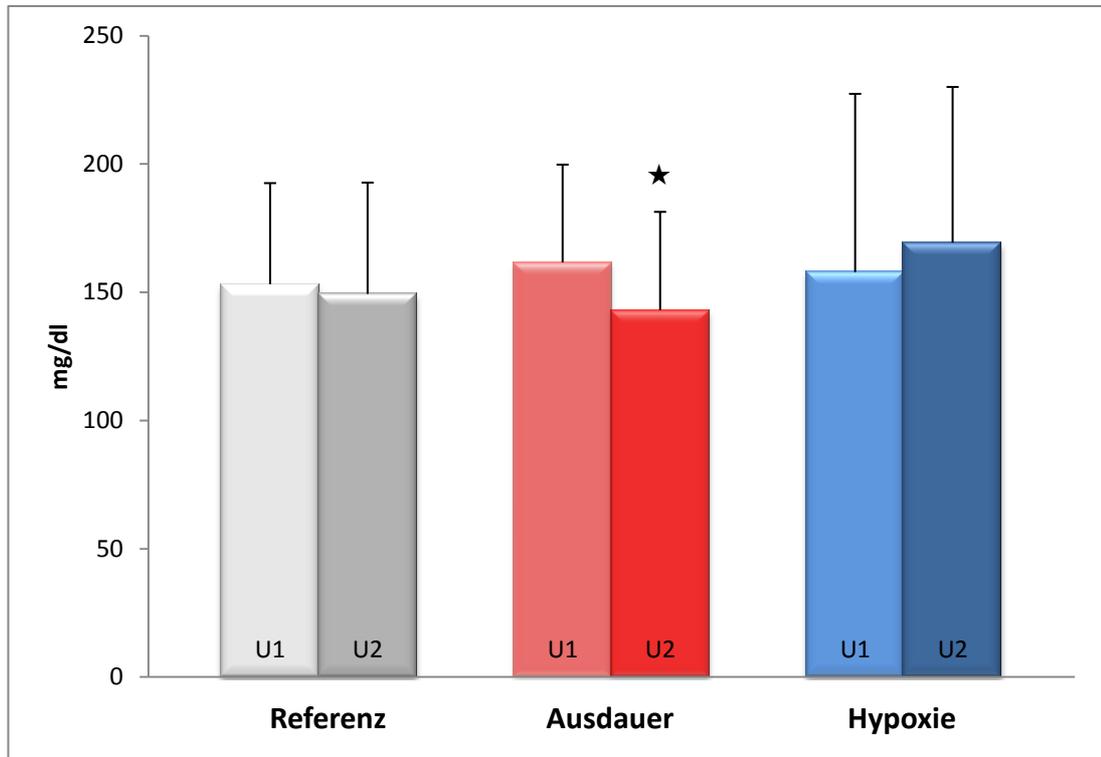


Abb. 18: Graphische Darstellung der Serumglukose
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.2.2 Cholesterin

Der Normbereich für das Gesamt-Cholesterin im Serum liegt unter 200 mg/dl (ADA, 2010).

In der Referenz- und in der Ausdauergruppe wurden im Mittel Werte leicht unter 200 mg/dl gemessen; in der Hypoxiegruppe Werte leicht darüber.

Ergebnisse

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des Gesamt-Cholesterins wurden berechnet:

Ges.-Cholesterin (mg/dl)	U1	U2
Referenzgruppe	187.9 ± 35.8	187.6 ± 34.1
Ausdauergruppe	186.9 ± 32.6	189.6 ± 30.7
Hypoxiegruppe	208.2 ± 22.9	200.9 ± 29.1

Tab. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen des Gesamt- Cholesterin

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.2.3 HDL- Cholesterin

Der Normbereich für die High-Density-Lipoproteine liegt über 40 mg/dl (DGFF, 2009). Dieser Wert wurde zu allen Untersuchungszeitpunkten in allen Gruppen im Mittel erreicht.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des HDL-Cholesterins wurden berechnet:

HDL-Cholesterin (mg/dl)	U1	U2
Referenzgruppe	43.2 ± 11.7	41.9 ± 13.6
Ausdauergruppe	43.5 ± 11.6	41.9 ± 9.6
Hypoxiegruppe	42.1 ± 9.9	41.0 ± 7.0

Tab. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen des HDL- Cholesterin

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.2.4 LDL - Cholesterin

Die Low-Density-Lipoproteine wurden rechnerisch nach der Formel $\text{LDL-Chol.} = \text{Ges.-Chol.} - \text{HDL-Chol.} - \text{Triglyceride} / 5$ bestimmt (Friedewald et al., 1972).

Bei Typ-2-Diabetikern werden je nach Risikoeinschätzung für kardiovaskuläre Ereignisse Werte unter 100 mg/dl angestrebt. In allen Gruppen wurden im Mittel Werte geringfügig über diesem Zielbereich gemessen.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des LDL-Cholesterins wurden berechnet:

LDL-Cholesterin (mg/dl)	U1	U2
Referenzgruppe	103.6 ± 24.5	106.7 ± 25.1
Ausdauergruppe	108.3 ± 25.3	107.7 ± 27.8
Hypoxiegruppe	122.5 ± 14.2	114.0 ± 22.9

Tab. 10: Mittelwerte und Standardabweichungen des LDL- Cholesterin

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.2.5 Triglyzeride

Der Normbereich für die Triglyzeride liegt unter 150 mg / dl (DGFF, 2009).

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Triglyzeride wurden berechnet:

Triglyzeride (mg/dl)	U1	U2
Referenzgruppe	192.1 ± 99.3	192.9 ± 138.5
Ausdauergruppe	167.9 ± 70.0	195.5 ± 109.4
Hypoxiegruppe	222.5 ± 118.4	229.4 ± 111.7

Tab. 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der Triglyzeride

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.2.6 Laktat (Ruhe)

Unter Ruhebedingungen liegt der Normbereich des Laktats in kapillärem Vollblut bei < 1.8 mmol/l (Biedler & Mertzluft 1995). Bei Typ-2-Diabetikern soll der Ruhelaktatwert erhöht sein (Lovejoy et al. 1992).

Ruhe-Laktat (mmol/l)	U1	U2
Referenzgruppe	1.2 ± 0.4	1.3 ± 0.4
Ausdauergruppe	1.5 ± 0.6	1.5 ± 0.4
Hypoxiegruppe	1.5 ± 0.5	1.7 ± 0.6

Tab. 12: Mittelwerte und Standardabweichungen des Ruhelaktates

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.3 Leistungsphysiologische Parameter

Bei der Auswertung der Belastungsspiroergometrie wurden folgende Parameter berücksichtigt: Maximale Leistung, Leistung bei 2- und 4 mmol/l Laktat; Herzfrequenz, Blutdruck, Laktat und VO_2 bei maximaler Wattstufe.

3.3.1 Leistung bei 2 mmol/l Laktat

Aus den am Ende jeder Stufe der Belastungs-Spiro-Ergometrie entnommenen Laktatproben konnte die Leistung bei 2 mmol/l Laktat berechnet werden. Sie ist ein Maß für die aerobe Leistungsfähigkeit.

Leistung (Watt)	U1	U2
Referenzgruppe	72.9 ± 29.8	77.3 ± 36.1
Ausdauergruppe	72.7 ± 34.4	87.1 ± 36.3
Hypoxiegruppe	71.3 ± 38.2	83.9 ± 34.9

Tab. 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der Leistung bei 2 mmol/l Laktat

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Steigerungen der Leistungen bei 2 mmol/l Laktat U1 → U2 waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

Ergebnisse

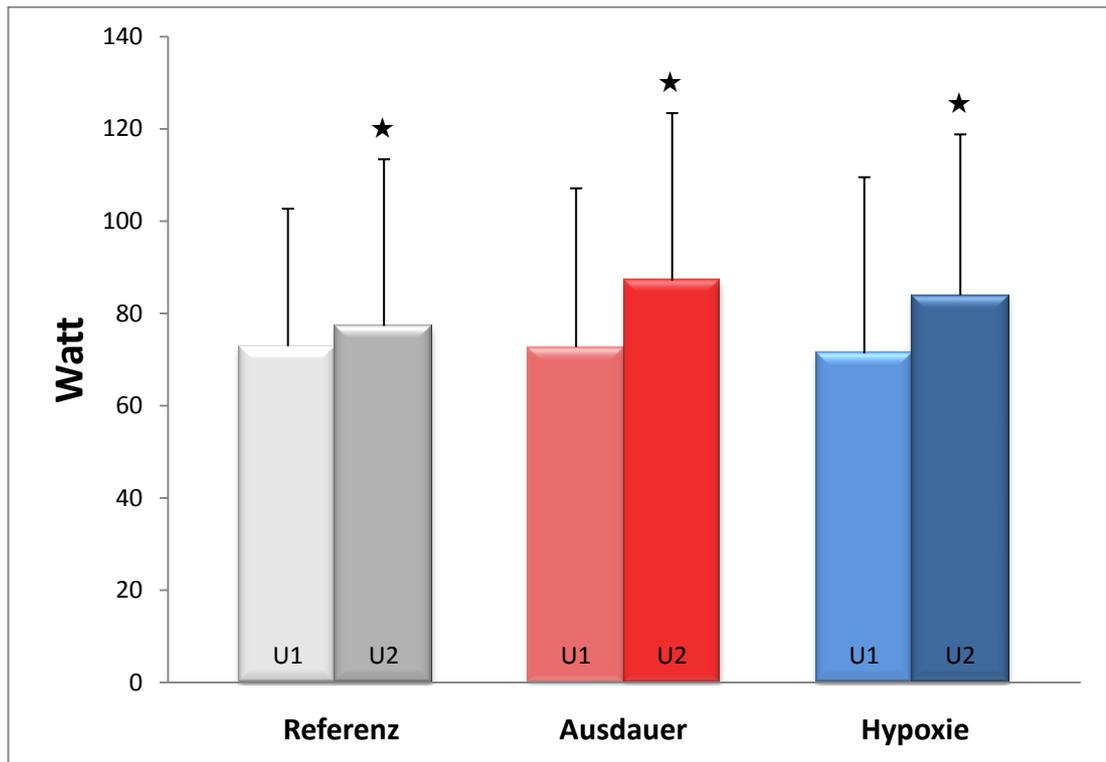


Abb. 19: Graphische Darstellung der Leistung bei 2 mmol/l Laktat

(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.3.2 Leistung bei 4 mmol/l Laktat

Aus den am Ende jeder Stufe der Belastungs-Spiro-Ergometrie entnommenen Laktatproben konnte die Leistung bei 4 mmol/l Laktat berechnet werden. Sie ist ein Maß für die aerobe Leistungsfähigkeit und kennzeichnet die sog. aerob-anaerobe Schwelle (Mader et al. 1976).

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Leistung bei 4 mmol/l Laktat wurden berechnet:

Leistung (Watt)	U1	U2
Referenzgruppe	131.3 ± 38.3	140.5 ± 43.6
Ausdauergruppe	130.8 ± 36.0	138.0 ± 36.1
Hypoxiegruppe	113.8 ± 26.1	138.3 ± 31.1

Tab. 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der Leistung bei 4 mmol/l Laktat

Ergebnisse

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Steigerungen der Leistungen bei 4 mmol/l Laktat U1 → U2 waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

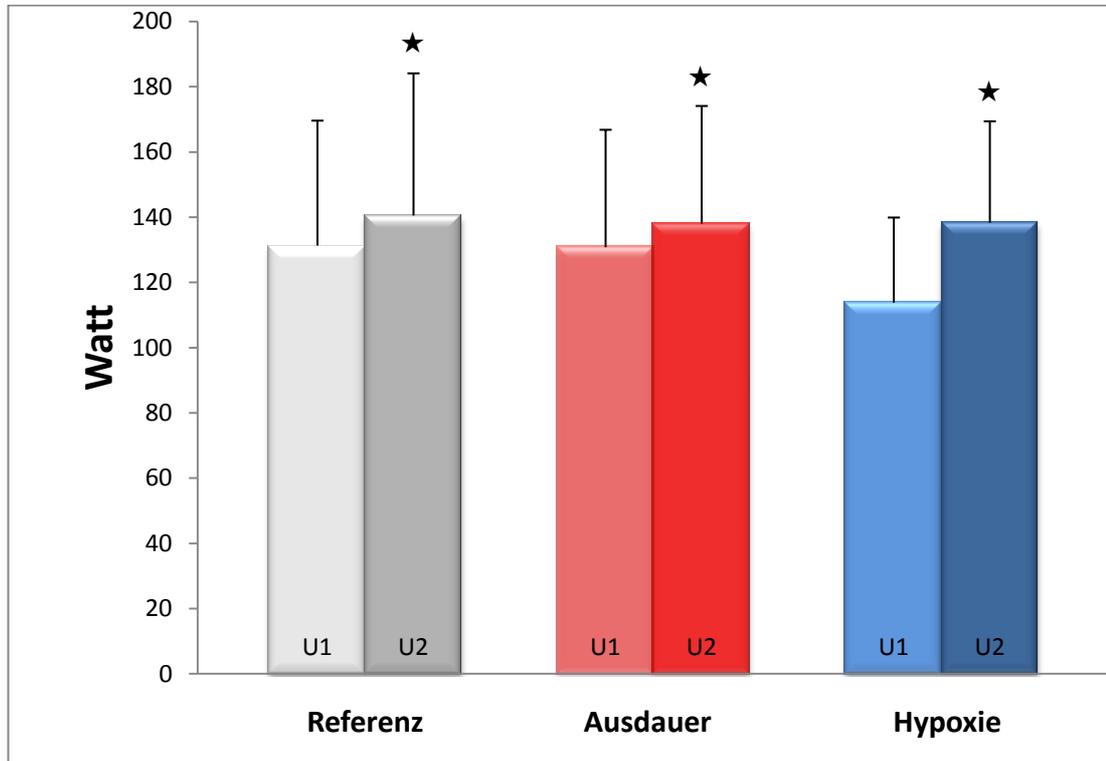


Abb. 20: Graphische Darstellung der Leistung bei 4 mmol/l Laktat
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.3.3 Laktat (maximal)

Das maximale Laktat bezeichnet den Wert, der bei der Belastungs-Spiro-Ergometrie am Ende der höchsten vollständig absolvierten Stufe gemessen wurde.

Ergebnisse

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der maximal erreichten Laktatwerte beim WHO-Stufentest wurden berechnet:

Max.-Laktat (mmol/l)	U1	U2
Referenzgruppe	4.4 ± 1.6	4.5 ± 1.8
Ausdauergruppe	5.1 ± 1.8	5.5 ± 1.9
Hypoxiegruppe	6.1 ± 1.8	5.9 ± 1.2

Tab. 15: Mittelwerte und Standardabweichungen des Laktat (maximal)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.3.4 Herzfrequenz (maximal)

Die maximale Herzfrequenz bezeichnet den Wert, der bei der Belastungs-Spiro-Ergometrie am Ende der höchsten vollständig absolvierten Stufe gemessen wurde.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Herzfrequenz auf maximaler Belastungsstufe beim WHO-Stufentest wurden berechnet:

Max.-HR (1/min)	U1	U2
Referenzgruppe	147.1 ± 21.9	141.6 ± 26.8
Ausdauergruppe	138.5 ± 39.7	157.3 ± 39.3
Hypoxiegruppe	150.0 ± 28.2	164.6 ± 37.6

Tab. 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der Herzfrequenz (maximal)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.3.5 Belastungsblutdruck

Systolischer Blutdruck (maximal)

Der maximale systolische Blutdruck bezeichnet den Wert, der bei der Belastungs-Spiro-Ergometrie am Ende der höchsten vollständig absolvierten Stufe gemessen wurde.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des systolischen Blutdrucks auf maximaler Belastungsstufe beim WHO-Stufentest wurden berechnet:

sBP (mmHg)	U1	U2
Referenzgruppe	215.7 ± 22.7	218.5 ± 20.7
Ausdauergruppe	213.0 ± 20.0	208.4 ± 26.9
Hypoxiegruppe	218.7 ± 27.0	215.3 ± 25.6

Tab. 17: Mittelwerte und Standardabweichungen des syst. Blutdrucks (maximal)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Diastolischer Blutdruck (maximal)

Der maximale diastolische Blutdruck bezeichnet den Wert, der bei der Belastungs-Spiro-Ergometrie am Ende der höchsten vollständig absolvierten Stufe gemessen wurde.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen des diastolischen Blutdrucks auf maximaler Belastungsstufe beim WHO-Stufentest wurden berechnet:

Ergebnisse

dBp (mmHg)	U1	U2
Referenzgruppe	95.1 ± 14.0	89.6 ± 18.1
Ausdauergruppe	94.6 ± 13.8	90.8 ± 17.5
Hypoxiegruppe	100.5 ± 16.1	97.8 ± 14.2

Tab. 18: Mittelwerte und Standardabweichungen des diast. Blutdrucks (maximal)

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.3.6 Leistung (maximal)

Die maximale Leistung bezeichnet den Wert, der bei der Belastungs-Spiro-Ergometrie am Ende der höchsten vollständig absolvierten Stufe gemessen wurde. Beginnend mit 25 Watt wurde alle 2 Minuten bis zum Abbruch der Belastung um 25 Watt gesteigert.

In allen Gruppen konnte nach der Intervention im Mittel eine Steigerung der maximal erreichten Wattleistung erzielt werden (Referenzgruppe: +4.0%, Ausdauergruppe: +13.6%, Hypoxiegruppe: +9.7%)

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der beim WHO-Stufentest absolvierten höchsten Wattstufe wurden berechnet:

Max. Leistung (Watt)	U1	U2
Referenzgruppe	130.3 ± 39.6	135.5 ± 36.6
Ausdauergruppe	138.5 ± 39.7	157.3 ± 39.3
Hypoxiegruppe	150.0 ± 28.2	164.6 ± 37.6

Tab. 19: Mittelwerte und Standardabweichungen der maximalen Leistung

Ergebnisse

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Steigerungen der maximalen Leistung U1 → U2 waren insgesamt statistisch signifikant ($p < 0.01$).

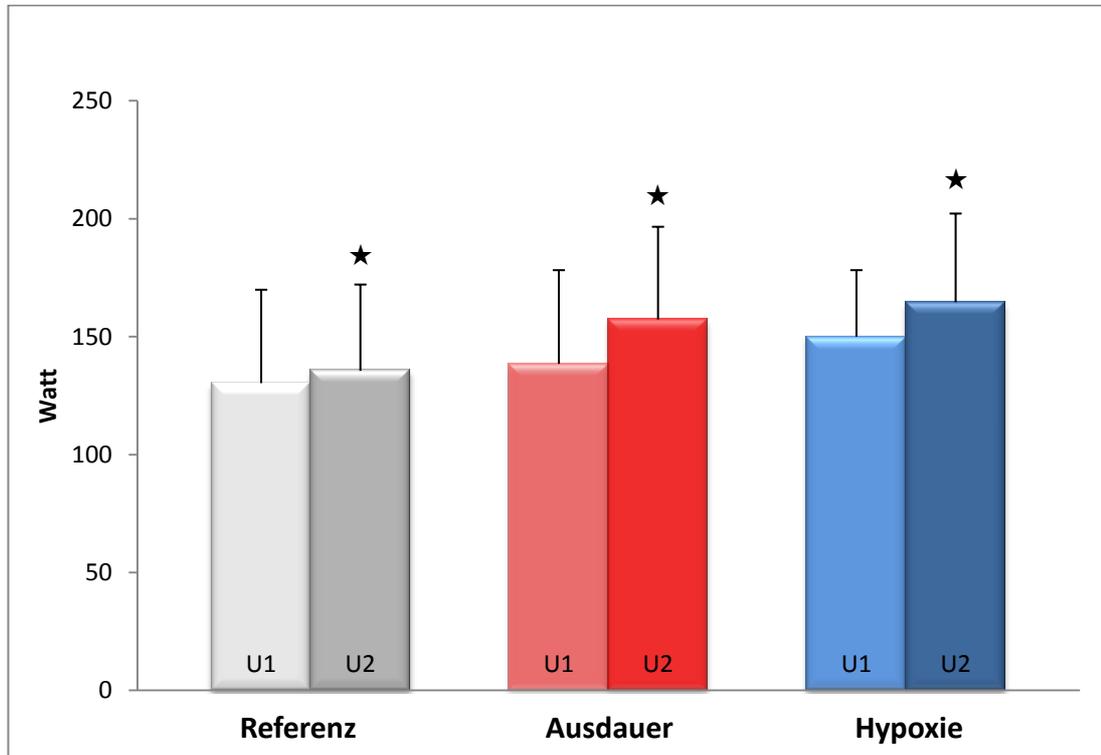


Abb. 21: Graphische Darstellung der maximalen Leistung

(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.3.7 Maximale Sauerstoffaufnahme VO_{2peak}

Die maximale Sauerstoffaufnahme ist das Hauptkriterium zur Bestimmung der maximalen aeroben körperlichen Leistungsfähigkeit.

Die Normwerte der VO_{2max} liegen im mittleren Lebensalter bei 30 – 50 ml/min/kg (Meyer und Kindermann 1999). Typ-2-Diabetiker weisen reduzierte Werte von im Mittel 22.4 ml/min/kg vor (Boule et al. 2003).

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der VO_{2peak} wurden berechnet:

Ergebnisse

VO_{2peak} (ml/min/kg)	U1	U2
Referenzgruppe	20.2 ± 4.8	21.1 ± 4.4
Ausdauergruppe	20.5 ± 4.9	22.2 ± 5.2
Hypoxiegruppe	20.3 ± 4.4	23.0 ± 5.3

Tab. 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der VO_{2peak}

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden

Die gemessenen Steigerungen der VO_{2peak} U1 → U2 waren insgesamt statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

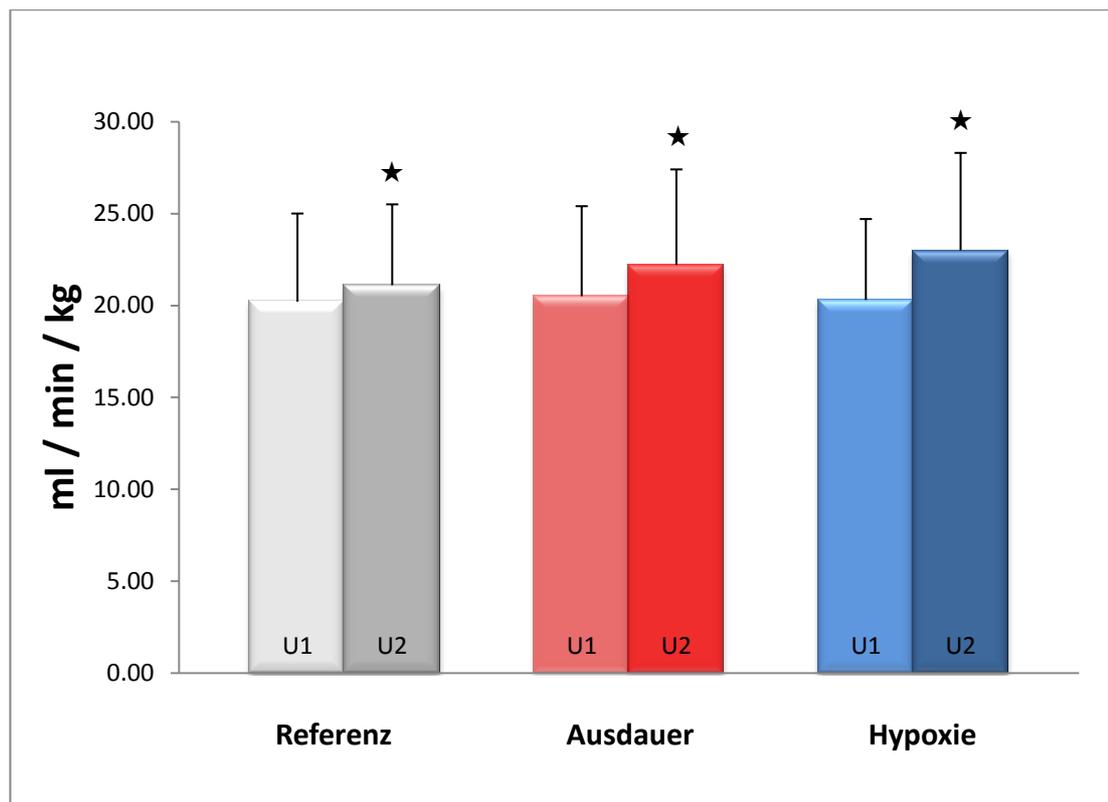


Abb. 22: Graphische Darstellung der VO_{2peak}
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.4 Immunhistochemie der Skelettmuskulatur

Aus den Biopdaten am Muskulus vastus lateralis der Probanden wurden die folgenden Daten erhoben: MCT1 und MCT4 im Sarkoplasma und im Sarkolemm, MHC1, MHC2 und der Muskelfaserdurchmesser:

3.4.1 Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Sarkoplasma

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Änderungen gegenüber dem Basalwert (U1) des MCT1 im Sarkoplasma wurden berechnet:

MCT1 Sarkoplasma ($\Delta\%$)	U1	U2
Referenzgruppe	0	+ 2.35 \pm 19.98
Ausdauergruppe	0	+ 53.44 \pm 7.01
Hypoxiegruppe	0	- 16.79 \pm 86.34

Tab. 21: Mittelwerte und Standardabweichungen U1-U2 $\Delta\%$ der MCT1-Dichte im Sarkoplasma

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war der 53.44%ige Anstieg nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Änderungen in der Referenzgruppe (+2.35%) und in der Hypoxiegruppe (-16.79%) waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Ergebnisse

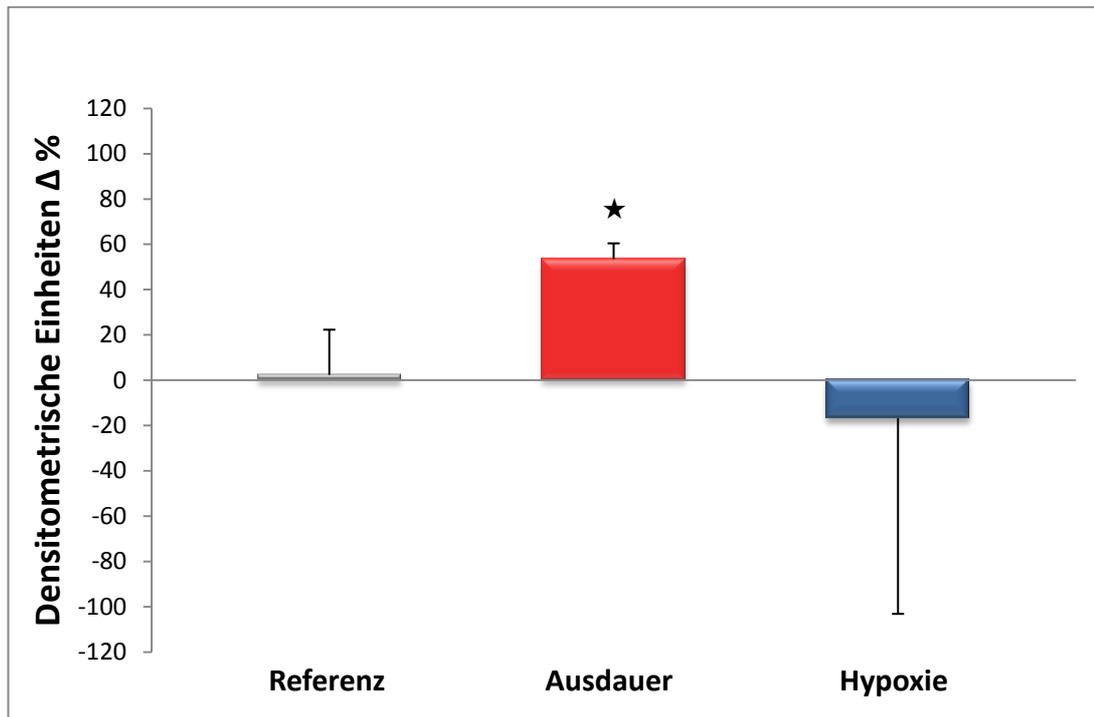


Abb. 23: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte im Sarkoplasma nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1) (★: $p \leq 0.05$)

3.4.2 Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Sarkolemm

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Änderungen gegenüber dem Basalwert (U1) des MCT1 im Sarkolemm wurden berechnet:

MCT1 Sarkolemm (Δ %)	U1	U2
Referenzgruppe	0	+ 28.28 \pm 56.87
Ausdauergruppe	0	- 10.77 \pm 44.15
Hypoxiegruppe	0	+135.57 \pm 248.8

Tab. 22: Mittelwerte und Standardabweichungen U1-U2 Δ % der MCT1-Dichte im Sarkolemm

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Ergebnisse

Die gemessenen Änderungen $U1 \rightarrow U2$ waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

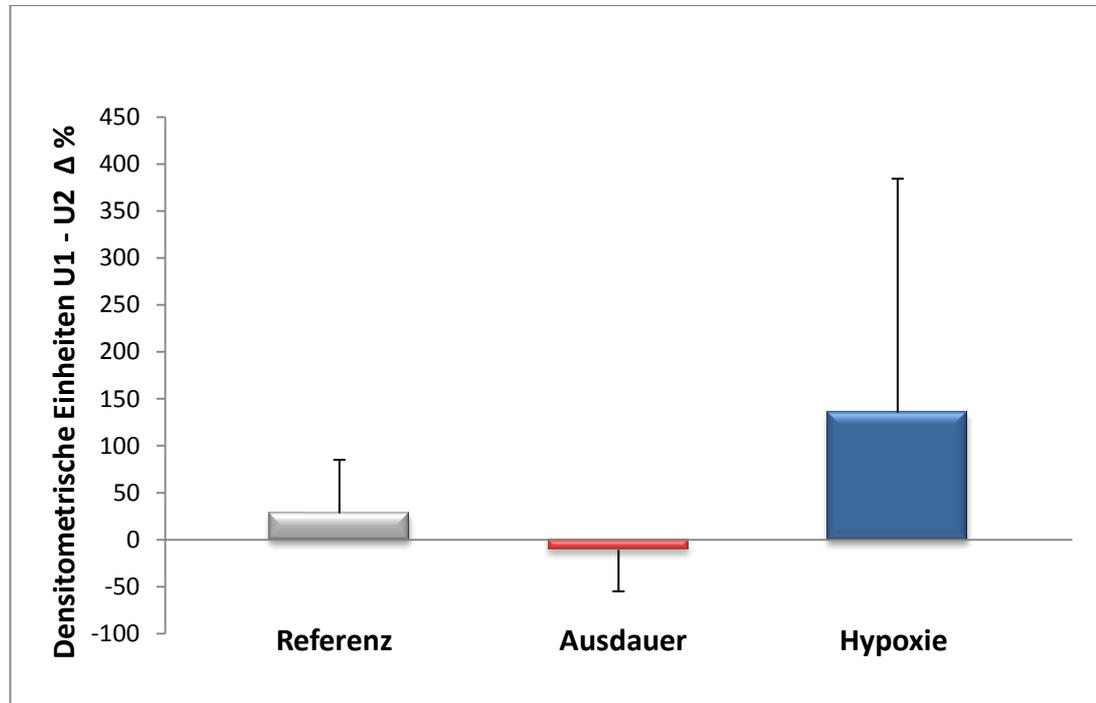


Abb. 24: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte im Sarkolemm nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1) ($p > 0.05$)

3.4.3 Immunhistochemischer Nachweis des MCT4 im Sarkoplasma

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Änderungen gegenüber dem Basalwert (U1) des MCT4 im Sarkoplasma wurden berechnet:

MCT4 Sarkoplasma (Δ%)	U1	U2
Referenzgruppe	0	+ 10.37 ± 13.40
Ausdauergruppe	0	-14.62 ± 5.20
Hypoxiegruppe	0	-15.26 ± 43.28

Tab. 23: Mittelwerte und Standardabweichungen $U1-U2 \Delta \%$ der MCT4-Dichte im Sarkoplasma

Ergebnisse

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war die 14.62%ige Abnahme nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Änderungen in der Referenzgruppe (+10.37%) und in der Hypoxiegruppe (-15.26%) waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

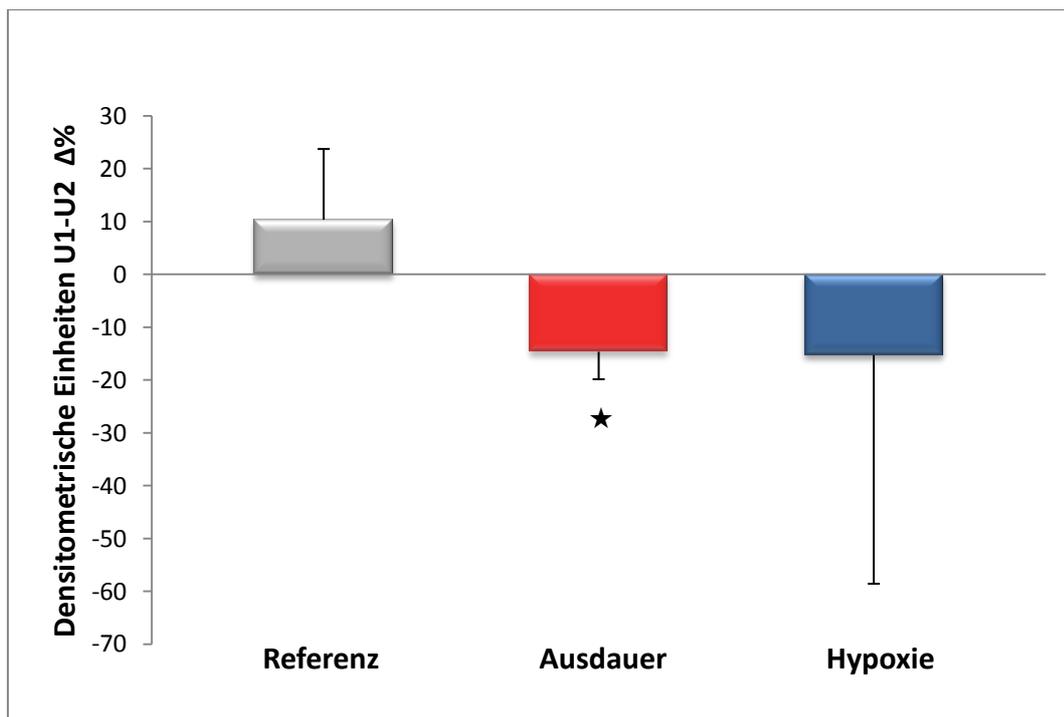


Abb. 25: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der MCT4-Dichte im Sarkoplasma nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1) (★: $p \leq 0.05$)

3.4.4 Immunhistochemischer Nachweis des MCT4 im Sarkolemm

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Änderungen gegenüber dem Basalwert (U1) des MCT4 im Sarkolemm wurden berechnet:

Ergebnisse

MCT4 Sarkolemm ($\Delta\%$)	U1	U2
Referenzgruppe	0	- 7.12 \pm 36.96
Ausdauergruppe	0	- 8.01 \pm 59.45
Hypoxiegruppe	0	+0.12 \pm 63.28

Tab. 24: Mittelwerte und Standardabweichungen U1-U2 $\Delta\%$ der MCT4-Dichte im Sarkolemm

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 \rightarrow U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

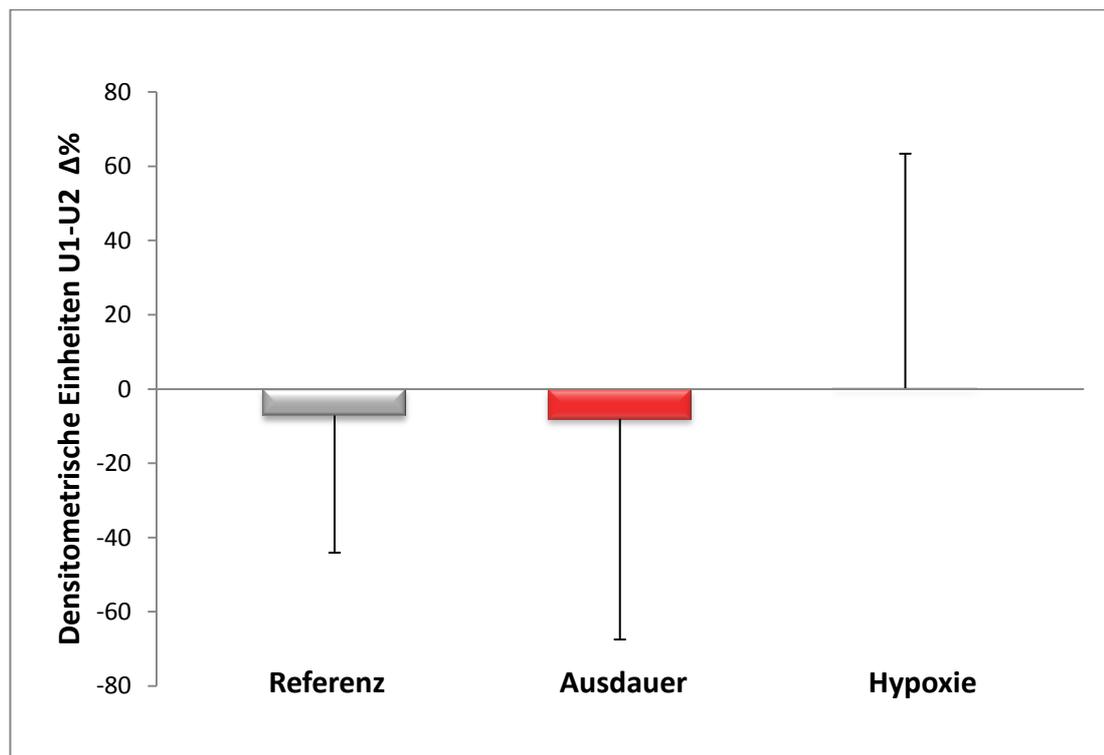


Abb. 26: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der MCT4-Dichte im Sarkolemm nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1) ($p > 0.05$)

3.4.5 Immunhistochemischer Nachweis der MHC1 (Typ1-Muskelfaser)

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Anteile (MHC1 - MHC2) der MHC1 wurden berechnet:

MHC1 (%)	U1	U2
Referenzgruppe	44.5 ± 12.1	42.5 ± 9.3
Ausdauergruppe	42.4 ± 10.4	49.3 ± 9.8
Hypoxiegruppe	45.4 ± 4.7	46.0 ± 10.0

Tab. 25: Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Anteile (MHC1 - MHC2) der MHC1

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war die 16.27%ige Zunahme nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Änderungen in der Referenzgruppe (-4.49%) und in der Hypoxiegruppe (+1.32%) waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Ergebnisse

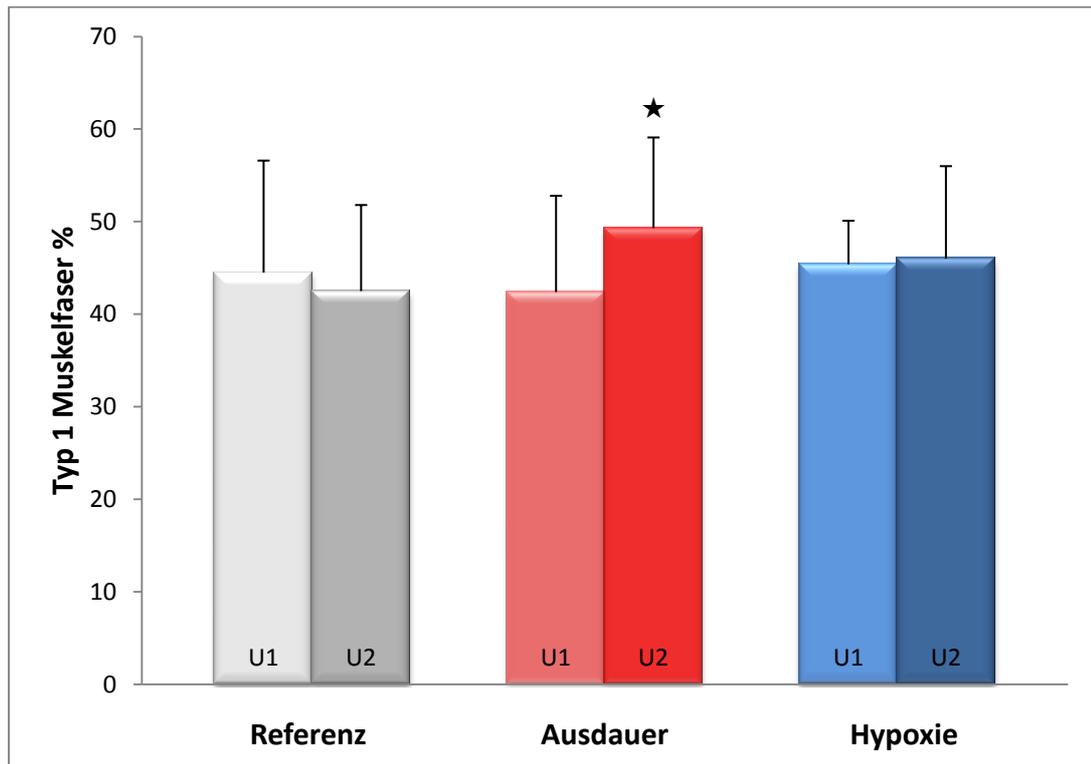


Abb. 27: Graphische Darstellung der prozentualen Anteile (MHC1 - MHC2) der MHC1
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.4.6 Immunhistochemischer Nachweis der MHC2

(Typ 2- Muskelfaser)

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Anteile der MHC2 wurden berechnet:

MHC2 (%)	U1	U2
Referenzgruppe	55.5 ± 12.1	57.5 ± 9.3
Ausdauergruppe	57.6 ± 10.4	50.7 ± 9.8
Hypoxiegruppe	54.6 ± 4.7	54.0 ± 10.0

Tab. 26: Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Anteile (MHC1 - MHC2) der MHC2

Ergebnisse

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war die 16.27%ige Abnahme nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Änderungen in der Referenzgruppe (+4.49%) und in der Hypoxiegruppe (-1.32%) waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

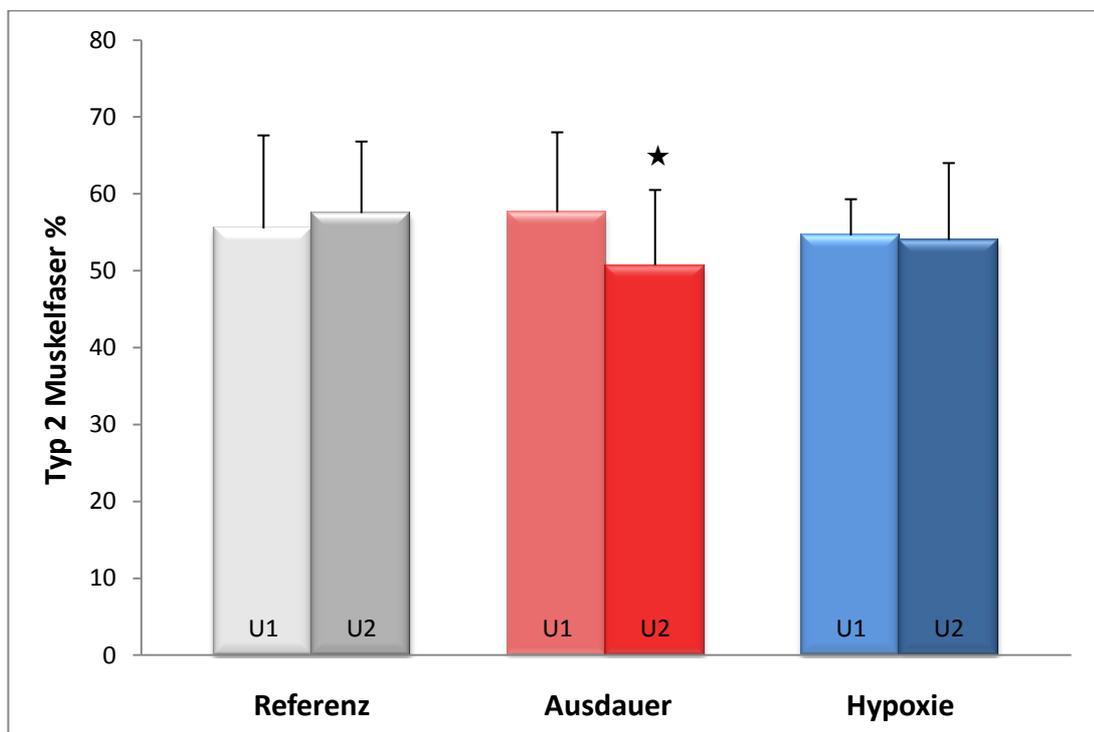


Abb. 28: Graphische Darstellung der prozentualen Anteile (MHC1 - MHC2) der MHC2
(★: $p \leq 0.05$ U1 versus U2)

3.4.7 Muskelfaserdurchmesser

Typ1-Muskelfasern

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Durchmesser der Typ1-Skelettmuskelfasern wurden berechnet:

Ergebnisse

MHC1 (µm)	U1	U2
Referenzgruppe	55.96 ± 8.24	60.04 ± 10.39
Ausdauergruppe	59.71 ± 8.68	58.86 ± 6.85
Hypoxiegruppe	61.76 ± 9.26	58.44 ± 3.71

Tab. 27: Mittelwerte und Standardabweichungen der Durchmesser der Typ1-Muskelfasern

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Typ2-Muskelfasern

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Durchmesser der Typ2-Skelettmuskelfasern wurden berechnet:

MHC2 (µm)	U1	U2
Referenzgruppe	55.91 ± 8.15	58.40 ± 7.90
Ausdauergruppe	60.38 ± 7.94	62.70 ± 7.95
Hypoxiegruppe	58.01 ± 7.99	57.11 ± 3.23

Tab. 28: Mittelwerte und Standardabweichungen der Durchmesser der Typ2-Muskelfasern

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

3.5 Blut

3.5.1 Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Erythrozyten

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der prozentualen Änderungen nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1) des MCT1 in den Erythrozyten wurden berechnet:

MCT1 Erythrozyten ($\Delta\%$)	U1	U2
Referenzgruppe	0	+49.17 \pm 78.39
Ausdauergruppe	0	+73.80 \pm 22.88
Hypoxiegruppe	0	-64.29 \pm 75.10

Tab. 29: Mittelwerte und Standardabweichungen U1-U2 $\Delta\%$ der MCT1-Dichte in den Erythrozyten

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war die 73.80%ige Zunahme nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Änderungen in der Referenzgruppe (+49.17%) und in der Hypoxiegruppe (-64.29%) waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Ergebnisse

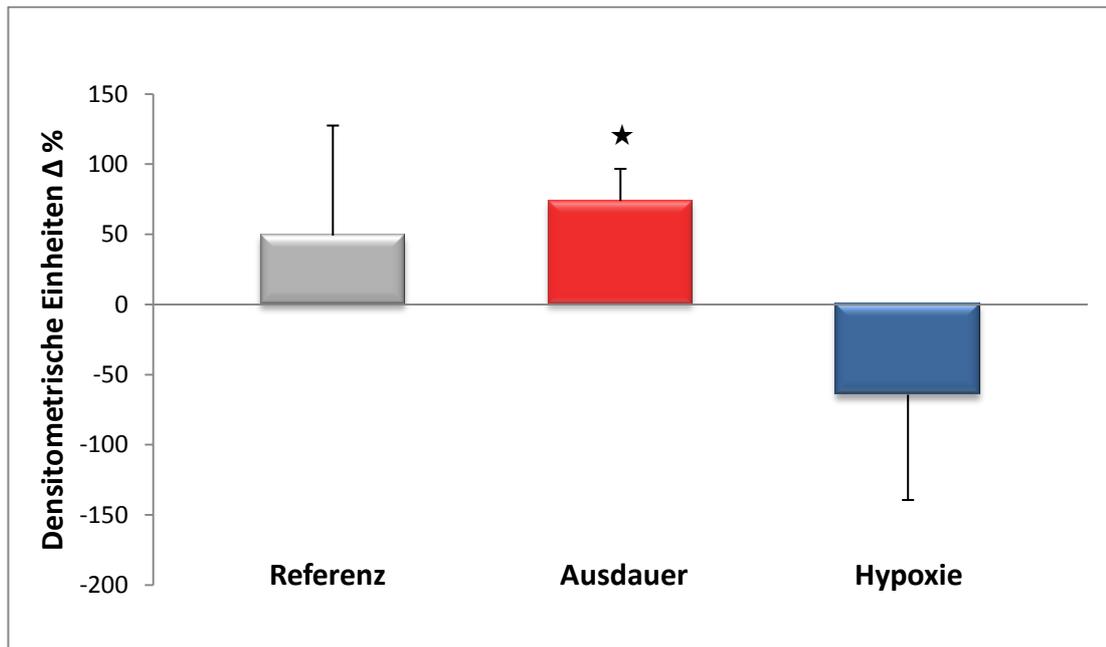


Abb. 29: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten nach der Intervention (U2) gegenüber dem Basalwert (U1)
(★: $p \leq 0.05$)

3.5.2 Immunhistochemischer Nachweis des MCT1 im Erythrozyten unter Belastung

Unmittelbar vor der Belastungsspiroergometrie (T0) sowie eine Minute (T1) und fünf Minuten (T5) nach dem Abbruch der Belastung wurde den Probanden jeweils vor (U1) und nach der Intervention (U2) venöses Blut zur Bestimmung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten entnommen.

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der densitometrischen Einheiten des MCT1 in den Erythrozyten wurden berechnet:

Ergebnisse

Erythrozyten MCT1 (DU)	T0	T1	T5
Referenzgruppe U1	4.84 ± 2.20	6.45 ± 3.09	5.40 ± 3.45
Referenzgruppe U2	7.22 ± 5.66	6.73 ± 3.24	3.18 ± 1.28
Ausdauergruppe U1	6.64 ± 3.64	5.65 ± 2.86	6.41 ± 2.60
Ausdauergruppe U2	11.54 ± 2.64	4.41 ± 2.14	5.68 ± 2.87
Hypoxiegruppe U1	6.86 ± 6.05	5.39 ± 5.75	2.59 ± 1.43
Hypoxiegruppe U2	2.45 ± 1.84	2.29 ± 2.34	2.52 ± 1.38

Tab. 30: Mittelwerte und Standardabweichungen der densitometrischen Einheiten des MCT1 in den Erythrozyten vor der Belastungsuntersuchung (T0), eine Minute (T1) und fünf Minuten (T5) nach Abbruch der Belastung

Statistisch konnte ein signifikanter Gruppenunterschied gesichert werden ($p \leq 0.05$):

In der Ausdauergruppe war die Zunahme der basalen MCT1-Dichte nach der Trainingsintervention signifikant ($p \leq 0.05$). Darüber hinaus war nach dem Training (U2) unter Belastung die Abnahme (T0 versus T1) der MCT1-Dichte signifikant ($p \leq 0.05$). Der folgende Wiederanstieg der MCT1-Dichte (T1 versus T5) konnte statistisch nicht gesichert werden.

Die Änderungen der MCT1-Dichte in der Referenzgruppe und in der Hypoxiegruppe waren statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Ergebnisse

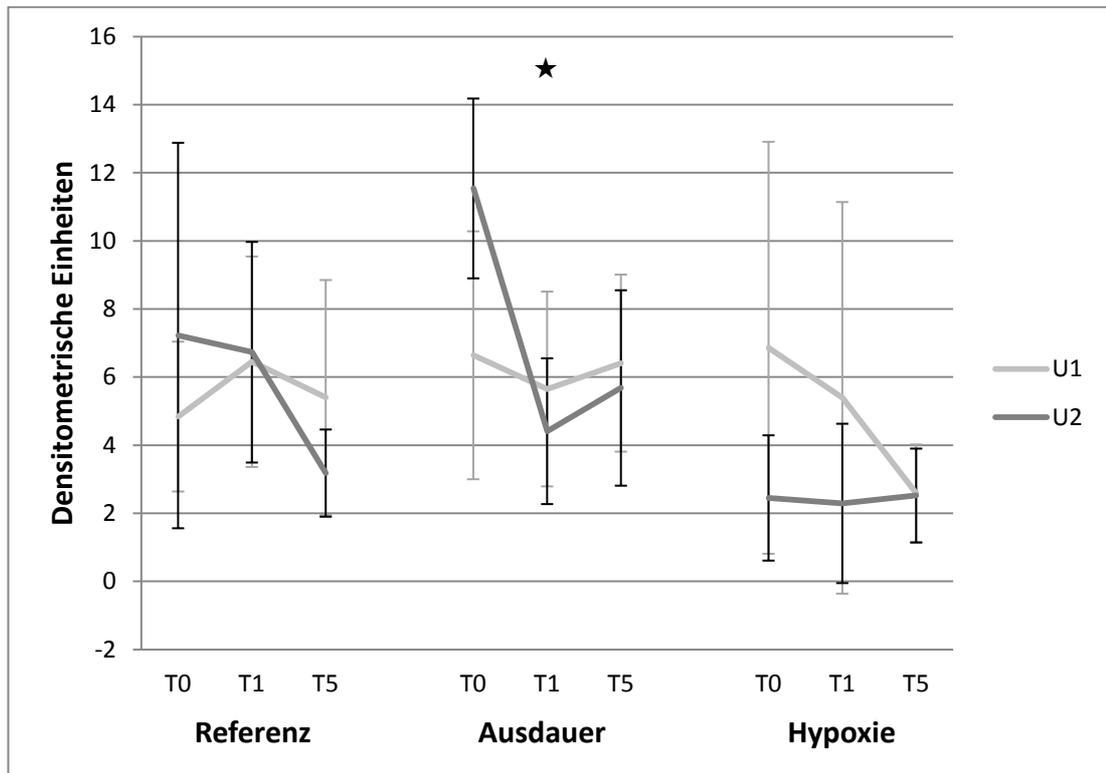


Abb. 30: Graphische Darstellung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten vor der Belastungsuntersuchung (T0), 1 Minute (T1) und 5 Minuten (T5) nach Belastung (★: $p \leq 0.05$ Ausdauer T0_U1 versus T0_U2 und T0 versus T1 in U2)

3.5.3 Differentielle Laktatanalyse

Unmittelbar vor der Belastungsspiroergometrie (T0) sowie eine Minute (T1) und fünf Minuten (T5) nach dem Abbruch der Belastung wurde den Probanden 115 μ l Kapillarblut aus dem Ohrläppchen zur Analyse der Ratio aus dem Laktat Erythrozyt (mmol/l) / Laktat Plasma (mmol/l) entnommen:

Folgende Mittelwerte und Standardabweichungen der Laktatratio wurden berechnet:

Ergebnisse

Laktatratio	T0	T1	T5
Referenzgruppe U1	0.73 ± 0.18	0.48 ± 0.08	0.53 ± 0.09
Referenzgruppe U2	0.55 ± 0.13	0.38 ± 0.13	0.46 ± 0.11
Ausdauergruppe U1	0.55 ± 0.10	0.50 ± 0.07	0.52 ± 0.06
Ausdauergruppe U2	0.61 ± 0.10	0.51 ± 0.05	0.56 ± 0.05
Hypoxiegruppe U1	0.63 ± 0.07	0.49 ± 0.04	0.57 ± 0.07
Hypoxiegruppe U2	0.60 ± 0.04	0.49 ± 0.03	0.53 ± 0.09

Tab. 31: Mittelwerte und Standardabweichungen der Laktatratio vor der Belastungsuntersuchung (T0), eine Minute (T1) und fünf Minuten (T5) nach Belastung

Statistisch konnte kein Gruppenunterschied gesichert werden.

Die gemessenen Änderungen U1 → U2 waren ebenfalls statistisch nicht signifikant ($p > 0.05$).

Die Werte der Laktatratio im Zeitverlauf sind in allen Gruppen statistisch signifikant ($p \leq 0.05$).

Die Messzeitpunkte T0, T1 und T5 unterscheiden sich signifikant voneinander. $T0 > T1$, $T1 < T5$, $T0 > T5$. ($p \leq 0.05$).

Ergebnisse

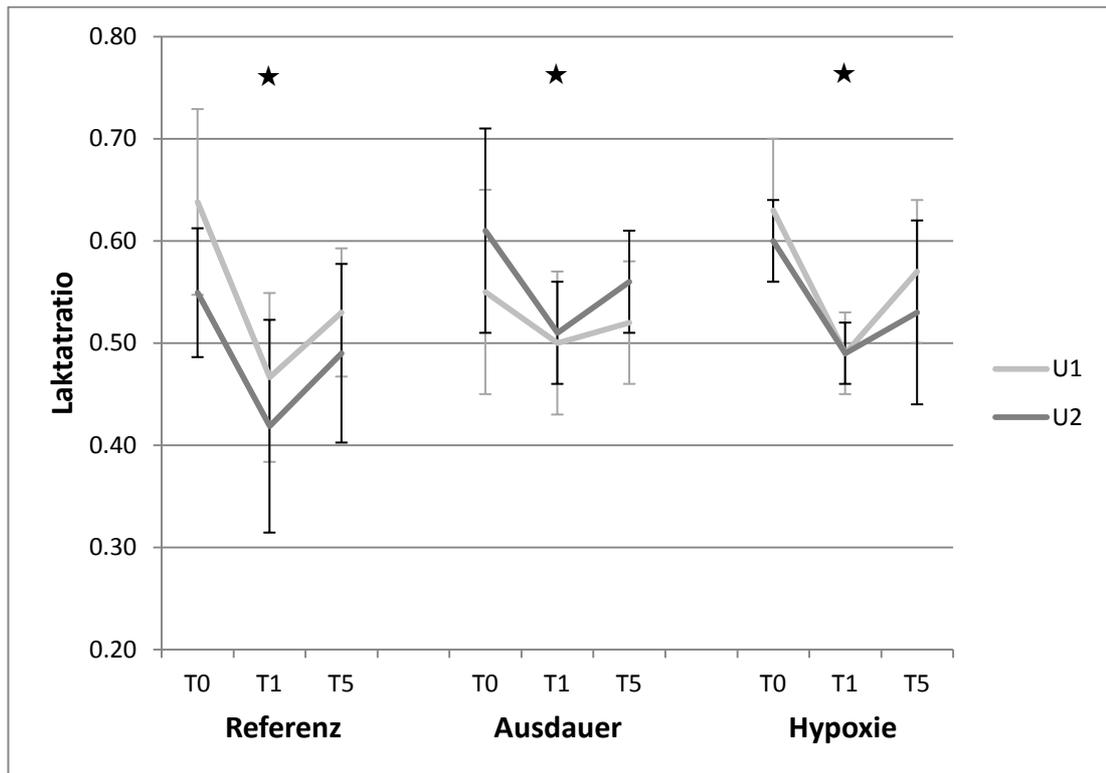


Abb. 31: Graphische Darstellung der Laktatratio vor der Belastungsuntersuchung (T0), eine Minute (T1) und fünf Minuten (T5) nach Belastung
(★: $p < 0.01$ T0 > T1 < T5 in U1 und U2)

Die Werte der Laktatratio im Zeitverlauf sind in allen drei Gruppen statistisch signifikant ($p \leq 0.05$). Die Unterschiede im Verlauf sind nicht signifikant ($p > 0.05$). Alle Messzeitpunkte T0-T1, T0-T5, T1-T5 unterscheiden sich signifikant voneinander ($p \leq 0.05$). Die Unterschiede vor (U1) und nach (U2) der Intervention sind in allen Gruppen nicht signifikant ($p > 0.05$).

4 Diskussion

Die Sporttherapie im Bereich der Erkrankung Diabetes-Typ-2 steht vor großen Herausforderungen, die nur durch grundlegende Forschungsarbeiten in der Sportwissenschaft bewältigt werden können. Die vorliegende Arbeit leistet einen Beitrag zur Aufklärung der Rolle des Laktatmoleküls und seiner Transportproteine, den MCT, im Stoffwechsel des Typ-2-Diabetikers.

Durch alle drei Interventionsformen konnte die körperliche Leistungsfähigkeit der Patienten signifikant verbessert werden, wobei in der Ausdauergruppe die Effekte am deutlichsten waren. Die MCT-Proteindichten in der Skelettmuskulatur zeigten in der Hypoxiegruppe tendenzielle Veränderungen, die nicht statistisch gesichert werden konnten. Im Sarkoplasma verminderten sich die MCT1- und die MCT4-Proteindichte, wogegen es im Sarkolemm zu einem Anstieg der MCT1-Dichte kam. Die MCT4-Dichte blieb im Sarkolemm unverändert.

In der Ausdauergruppe konnte im Sarkoplasma ein signifikanter Anstieg der MCT1-Dichte bei gleichzeitigem Abfall der MCT4-Proteindichte gemessen werden. Im Sarkolemm konnten keine Änderungen festgestellt werden.

In der Ausdauergruppe wurde ein signifikanter Shift von Typ2- zu Typ1-Muskelfasern gemessen.

In den Erythrozyten kam es durch die Ausdauerintervention zu einem signifikanten Anstieg der MCT1-Proteindichte, wogegen es in der Hypoxiegruppe zu einem Abfall der MCT1-Proteindichte kam, der jedoch nicht signifikant war. Unter akuter körperlicher Belastung zeigte sich nach dem Ausdauertraining ein signifikantes Absinken der MCT1-Dichte in den Erythrozyten.

Die Verteilung des Laktatanions im Blut der Typ-2-Diabetiker zeigte sowohl in Ruhe als auch unter körperlicher Belastung keine Unterschiede in den drei Interventionsgruppen, weder vor noch nach den Maßnahmen.

4.1 Der Einfluss des intermittierenden Hypoxie- trainings auf Stoffwechsel- und Leistungs- parameter

In der vorliegenden Studie zeigte sich durch die intermittierende Hypoxieintervention eine signifikante Verbesserung der körperlichen Leistungsfähigkeit durch den Anstieg der maximalen Wattleistung, der Leistung bei 2 mmol/l Laktat und bei 4 mmol/l Laktat sowie dem Anstieg der relativen maximalen Sauerstoffaufnahme. Diese Ergebnisse könnten auf eine gesteigerte Erythropoese (Bernardi et al. 2001) zurückgeführt werden. Die bekannte Abnahme der Mitochondriendichte bei chronischer ausgeprägter Hypoxie um ca. 20% (Hoppeler et al. 1990) ist bei der IH nicht wahrscheinlich, da dies zu einem Rückgang der VO_{2peak} geführt hätte. Auch andere Untersuchungen belegen einen Anstieg der VO_{2peak} bzw. VO_{2max} nach Interventionen mit intermittierender Hypoxie (Burtscher et al. 2004, Dufour et al. 2006).

Eine Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit ist mit einer Verbesserung der diabetischen Stoffwechsellage verbunden und korreliert mit einer Reduktion des Risikos kardiovaskulärer Ereignisse (Wing 2010).

In der Referenz- und Ausdauergruppe zeigten sich gleichartige signifikante Veränderungen, es konnten statistisch keine Gruppenunterschiede festgestellt werden. Damit sind die Effekte des unspezifischen Bewegungsprogramms der Referenzgruppe und die der IH-Intervention in der vorliegenden Arbeit dem klassischen Ausdauertraining in seiner Wirksamkeit auf die genannten Parameter vergleichbar, auch wenn in der Tendenz das Ausdauertraining Vorteile zeigt. Für die Sport-Therapie des Diabetes-Typ-2 bedeutet es, dass in der initialen Phase des notwendigen Wechsels hin zu einem körperlich aktiveren Lebensstil alle drei Interventionsformen in der Wertigkeit vergleichbar sind. Durch die Auffächerung der Therapiemöglichkeiten können somit insgesamt mehr Patienten zu einer Intervention motiviert und die Drop-Out Rate reduziert werden. Inwieweit dieser Trend auch über den Interventionszeitraum von

sechs Wochen hinausgeht, kann nicht vorher gesagt werden. Es kann vermutet werden, dass die Anpassungen der körperlichen Leistungsfähigkeit in allen Gruppen messbar waren, weil die Probanden vor den Studien körperlich inaktiv waren, sodass auch die in der Hypoxie- und der Referenzgruppe gewählten sehr moderaten Bewegungsintensitäten zu den gezeigten Anpassungen geführt haben. Die Verbesserung der Belastbarkeit der Patienten zeigte sich auch am Ruheblutdruck, der in der IH-Gruppe signifikant gesenkt werden konnte. Diese Reduktion könnte durch eine verminderte Sensitivität der Beta-Adrenozeptoren und eine Verminderung des Sympathikotonus nach intermittierender Hypoxie hervorgerufen worden sein (Meerson et al. 1991, Bernardi et al. 2001). Die Blutdruckreduktion führt zu einer Verminderung des kardialen Sauerstoffverbrauchs (Raven & Potts 1998) und einer Senkung des Risikos kardiovaskulärer Ereignisse (Schrader 2001, Stimpel 2001). Eine Senkung des Blutdruckes kann mit der Besserung einer endothelialen Dysfunktion verbunden sein (Westhoff 2010). In der Referenz- und der Ausdauergruppe konnten der systolische und diastolische Blutdruck ebenfalls und in vergleichbarem Ausmaß signifikant gesenkt werden. Es konnten keine Gruppenunterschiede gesichert werden. Inwieweit die Blutdrucksenkungen in der vorliegenden Arbeit durch eine positive Beeinflussung der Endothelfunktion der Typ-2-Diabetiker durch die Interventionen verursacht wurden, muss in weiteren Studien geprüft werden. Die gezeigten Verbesserungen der körperlichen Leistungsfähigkeit können in der Hypoxiegruppe nicht mit Änderungen der Faserzusammensetzung und der Faserdicke in der Skelettmuskulatur in Verbindung gebracht werden, da keine Anpassungen gemessen werden konnten. In Übereinstimmung damit konnten Green et al. (1989) bei acht Probanden nach 40 Tagen chronischer hypobarer Hypoxie entsprechend einer Höhe bis zu maximal 8800 Metern keine Änderung der Faserverteilung Typ1/Typ2 nachweisen. Bei der gleichen Studie konnten MacDougall et al. (1991) durch die Hypoxie insgesamt eine Abnahme der Typ1-Muskelfasern um 26% und der Typ2-Fasern um 25% nachweisen.

Bezüglich der Faserdicke berichten Hoppeler et al. (1990) nach achtwöchiger Hypoxie (> 5000 Meter) von einer Reduktion um ca. 20%. Da in diesen und anderen Hypoxiestudien gleichzeitig die Kapillaranzahl unverändert blieb, wird mit der Abnahme des Muskelvolumens die Kapillardichte erhöht und die Sauerstoffversorgung der Muskulatur durch die Verkürzung der Diffusionsstrecken verbessert (Hoppeler & Vogt 2001). Es ist zu vermuten, dass in der vorliegenden Studie die hypoxischen Reize nicht ausreichend waren, eine Abnahme der Faserdicke und damit eine Verbesserung der O₂-Versorgung zu bewirken.

Dem gegenüber zeigte sich in der Ausdauergruppe der vorliegenden Studie die in der Literatur nach Ausdauertraining hinreichend beschriebene Zunahme der Typ1-Muskelfasern bei gleichzeitiger Abnahme der Typ2-Fasern (Putman et al. 2004). Da die Typ1-Fasern gegenüber den Typ2-Fasern neben einer erhöhten Mitochondriendichte auch eine höhere GLUT4-Proteindichte aufweisen, kann dies zu einer Verbesserung der glykämischen Stoffwechselsituation von Typ-2-Diabetikern beitragen (König et al. 2006). Das konnte in der Ausdauergruppe durch eine signifikante Senkung der Serumglukose untermauert werden. Die Ergebnisse stimmen mit anderen Analysen überein (Boule et al. 2001, Snowling et al. 2006, Zanuso et al. 2010) und unterstreichen die Wertigkeit des Ausdauertrainings in der Therapie des Diabetes-Typ-2.

In der Referenzgruppe und der Hypoxiegruppe dagegen kam es zu keinen signifikanten Änderungen des Blutzuckerspiegels, wobei das Verhalten des Blutzuckers bei den Teilnehmern der Hypoxiegruppe sehr inhomogen war, wie die relativ hohe Standardabweichung belegt. Die Ursache könnte mit der von Chapman et al. (1998) erstmals beschriebenen sog. Responder- und Non-Responder-Hypothese nach Höhentraining erklärt werden. Die Autoren stellten nach Trainingsmaßnahmen mit Ausdauertrainierten in verschiedenen Höhen ausgeprägte interindividuelle Unterschiede bei den Anpassungsreaktionen von EPO, totalem Erythrozytenvolumen und der VO_{2max} fest. Diese Befunde konnten später mehrfach bestätigt werden. Ähnliche individuelle Variationen wurden bei der Atmungsanpassung und der

Querschnittsregulation der Lungengefäße unter Hypoxie beobachtet (Übersicht bei Brooks et al. 2009). Spezifische Betrachtungen individuell unterschiedlicher Reaktionen des Blutzuckerspiegels von Typ-2-Diabetikern unter Hypoxie sind in der Literatur nicht beschrieben.

Bezüglich des Fettstoffwechsels zeigten die untersuchten Parameter HDL-, LDL-, Gesamtcholesterin und die Triglyzeride keine signifikanten Änderungen durch die Interventionen. Auch der BMI blieb in allen Gruppen unverändert. Möglicherweise war die Interventionsdauer zu gering für messbare Anpassungen, da andere Untersuchungen mit Typ-2-Diabetikern teilweise signifikante Verbesserungen des Lipidprofils nach längerem Ausdauertraining zeigten (Thomas et al. 2006, Kelley et al. 2007). Darüber hinaus können diese Ergebnisse die gute Compliance unserer Probanden während der Interventionen belegen, da die Ernährungsgewohnheiten nicht verändert und Maßnahmen zur Gewichtsreduktion vermieden werden sollten, um die Anpassungen durch die Interventionen selektiv bewerten zu können. Die in der Literatur häufig beschriebene mögliche Gewichtsreduktion durch Hypoxieinterventionen wegen verminderter Nahrungsaufnahme und erhöhtem Grundumsatz (Neubauer 2010) konnte nicht bestätigt werden.

Der Ruhelaktatspiegel ist nach der Auffassung einiger Autoren bei Typ-2-Diabetikern erhöht (Perez de Heredia et al. 2010) und könnte ein Risikofaktor bei der Entstehung der Krankheit sein (Crawford et al. 2010). In den Untersuchungen waren die Werte im Referenzbereich unter 1.8 mmol/l (Biedler & Mertzluft 1995) und es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des Laktatspiegels nach den Interventionen. Diese Ergebnisse decken sich mit den Aussagen der Trainingsstudien von Kreutz (2010) und Opitz (2011), die nach 12 Wochen Kraft- oder Ausdauertraining mit Typ-2-Diabetikern keine Änderungen der Ruhelaktatspiegel messen konnten. Trainingsstudien zum Einfluss intermittierender Hypoxie auf den Ruhelaktatspiegel bei DT2 liegen nicht vor. Mehrere Autoren sehen die Ursache erhöhter Laktatspiegel bei DT2 in der erhöhten Laktatbildung durch hypertrophierte Adipozyten im viszeralen Fettgewebe übergewichtiger Typ-2-Diabetiker (Perez de Heredia et al. 2010). Da durch die Interventionen der

vorliegenden Studie keine Änderungen des BMI festgestellt werden konnten, könnte das ein Hinweis auf unveränderte Fettreserven als Ursache für die ebenfalls unveränderten Laktatspiegel sein.

4.2 Der Einfluss des intermittierenden Hypoxie-trainings auf den MCT im Skelettmuskel

Die immunhistochemischen Untersuchungen an der Skelettmuskulatur der Typ-2-Diabetiker zeigten weder im Sarkoplasma noch im Sarkolemm signifikante Veränderungen der MCT1- und der MCT4-Proteindichte in Folge der intermittierenden Hypoxieintervention. Auch in der Referenzgruppe zeigten sich keine signifikanten Änderungen. In der Ausdauergruppe hingegen konnte im Sarkoplasma ein signifikanter Anstieg der MCT1-Proteindichte bei analoger Reduktion der MCT4-Proteindichte gesichert werden, die sarkolemmalen Proteindichten blieben unverändert.

Obwohl eine systemische Hypoxie ebenso wie akute Muskelkontraktion zu lokalen Hypoxiearealen in der Skelettmuskulatur führen (Richardson et al. 1995, 2006), bewirkte die Hypoxieintervention in der vorliegenden Arbeit keine Anpassung der MCT-Proteindichten. Da es unter Sauerstoffmangel über den HIF1 α -Signalweg zu einer vermehrten Expression insbesondere des MCT4-Proteins in der Muskulatur kommt (Ullah et al. 2006), ist zu vermuten, dass der intrazelluläre Sauerstoffpartialdruck im M. vastus lateralis durch die Intervention in der Hypoxiegruppe nicht hinreichend vermindert war. Allerdings wurden die Ergebnisse der Versuche von Ullah et al. unter unphysiologisch niedrigen O₂-Drücken gewonnen (1% O₂ in der Umgebungsathmosphäre), die mit der vorliegenden Arbeit nicht vergleichbar sind.

Es liegt gegenwärtig nur eine weitere Publikation vor, in der der Einfluss von Hypoxie auf die MCT in humaner Skelettmuskulatur beobachtet wurde. Juel et al. (2003) untersuchten dabei die MCT1- und MCT4-Dichte in der Skelettmuskulatur von acht gesunden Flachlandbewohnern nach acht Wochen Aufenthalt in 4100 m Höhe im Vergleich zu acht einheimischen

Gebirgsbewohnern. Die MCT-Proteine zeigten weder vor noch nach dem Höhengedächtnis Unterschiede in den beiden Untersuchungsgruppen. Die Versuchspersonen absolvierten kein körperliches Bewegungsprogramm. In Tierversuchen (McClelland & Brooks 2002, Py et al. 2005) und Versuchen mit Zellkulturen (Ullah et al. 2006) konnten dagegen Änderungen der MCT-Proteindichte nach Hypoxieexposition gemessen werden. Die Arbeitsgruppe um McClelland & Brooks setzte weibliche Ratten einer achtwöchigen hypobaren Hypoxie (entsprechend ca. 4300 m Höhe) aus und fand danach im Myokard einen Anstieg der MCT4-Dichte und eine Reduktion der MCT1-Dichte sowie eine 47% Reduktion der MCT1- und der MCT4-Proteine im M. plantaris. In anderen untersuchten Muskeln konnten keine Änderungen der MCT-Proteindichte festgestellt werden, so dass die Autoren von einer stark gewebeabhängigen Regulation der Proteinexpression unter Hypoxie ausgehen. In der vorliegenden Arbeit wurden ausschließlich Biopsate aus dem M. vastus lateralis untersucht, so dass eine Veränderung der MCT-Proteinexpression in anderen Muskeln nicht ausgeschlossen werden kann. Die Reduktion der MCT-Proteine im M. plantaris könnte bei den Tieren durch eine hypoxiebedingte Abnahme der körperlichen Aktivität zu erklären sein, da körperliche Inaktivität zur Dichteabnahme dieser Transporter führt (Wilson et al. 1998, Baker et al. 1998, Pilegaard & Asp 1998, Juel & Halestrap 1999). Py et al. (2005) führten Versuche an männlichen Ratten in hypobarer Hypoxie (entsprechend 5500 m Höhe) durch. Sie konnten nach dreiwöchigem Aufenthalt in der Höhenkammer einen signifikanten Anstieg der MCT4-Proteine im M. soleus messen. Im M. plantaris wurden keine Änderungen festgestellt. Die MCT1-Proteindichte blieb in den beiden Muskeln unverändert. Die Ergebnisse stimmen somit nicht mit denen der Studie von McClelland & Brooks überein. Py et al. sehen die möglichen Ursachen dafür in der kürzeren Dauer der Intervention und dem unterschiedlichen Geschlecht der Versuchstiere. Die hypoxiebedingte Anorexie der Tiere mit einem damit verbundenen Gewichtsverlust führte nicht zu einem Einfluss auf die MCT-Proteindichte. In keiner der genannten

Studien wurden differenzierende Messungen der MCT-Proteindichten im Sarkolemm und im Sarkoplasma durchgeführt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit sind teilweise kongruent mit den Studien zur MCT-Proteinexpression in der Literatur, obwohl es keine vergleichbaren Untersuchungen mit Typ-2-Diabetikern gibt. Der Vergleich lässt vermuten, dass die Intensität und der Umfang der vorliegenden Hypoxieintervention nicht ausreichend waren, um in Abhängigkeit von dem HIF1 α -Signalweg zu Adaptationen der MCT-Proteindichte zu führen. Möglicherweise verfügten die Patienten über ausreichende respiratorische und kardiovaskuläre Kompensationsmöglichkeiten, um den physiologischen intramuskulären Sauerstoffpartialdruck aufrechtzuerhalten, obwohl die Regulation des regionalen Blutflusses über das Endothel (Kingwell et al. 2003) und die Erythrozyten (Sprague et al. 2010) bei Typ-2-Diabetikern beeinträchtigt ist.

Als weitere Erklärung für die unveränderten MCT-Dichten, vor allem der MCT1-Proteine, könnte gesehen werden, dass der Ruhe-Laktatspiegel durch die Interventionen unverändert blieb. So konnte es nicht zu der von Hashimoto et al. (2007) beschriebenen dosisabhängigen Anpassung der MCT1- mRNA und -Proteine an erhöhte Laktatkonzentrationen kommen.

Eine mögliche Steigerung des Laktatverbrauchs als Surrogat bei eingeschränkter Glukoseverfügbarkeit der Diabetiker mit entsprechendem Anstieg der Transportproteine muss so als wenig wahrscheinlich betrachtet werden. Auch die Steigerung der individuellen körperlichen Aktivität hat nicht, wie in der Literatur berichtet (Pilegaard et al. 1999a), zu vermehrter MCT-Expression in der vorliegenden Arbeit geführt. Obwohl es hier zu einer signifikanten Leistungssteigerung bei definierten Laktatkonzentrationen kam (2- und 4 mmol/L Laktat), nahm die MCT1-Proteindichte als Ausdruck eines gestiegenen intramuskulären Laktattransportes mit verbesserter Laktatoxidation in den Typ1-Muskelfasern nicht zu. Es ist möglich, dass die verminderte Laktatfreisetzung in die Zirkulation bei körperlicher Belastung durch funktionale Kooperationen der MCT-Proteine mit anderen Transportern, wie dem NBC (Becker et al. 2005) oder der Karboanhydrase II

(Becker et al. 2010) verursacht wird. Juel et al. (2003) z. B. konnten signifikante Anstiege der NBC und der Karboanhydrase IV nach zwei, respektive acht Wochen Aufenthalt in 4100 m Höhe nachweisen.

Dass in der Hypoxie- und der Referenzgruppe weder im Sarkoplasma noch im Sarkolemm Veränderungen der MCT-Dichte festgestellt werden konnten, ist ein Hinweis darauf, dass es neben transkriptionalen und translationalen auch zu keinen posttranslationalen Modifikationen gekommen ist. Ebenfalls kann dadurch die Vermutung von Translokationsvorgängen aus intrazellulären MCT-Pools (Pilegaard et al. 1999a, Bonen et al. 2000b, Johansson et al. 2001, Wang et al. 2003, Tonouchi et al. 2002, Kreutz 2010, Opitz 2011) nicht bestätigt werden. Allerdings kann nicht ausgeschlossen werden, dass die interindividuellen Variationen (Responder/Non-Responder) bei den Anpassungen der MCT1- und MCT4-Proteindichten in der Hypoxiegruppe statistisch signifikante Ergebnisse verhindert haben. Die differentielle Betrachtung der einzelnen Patientendaten lieferte keine Hinweise auf eine systematische Variation der individuellen Reaktion der MCT-Proteine. Für valide Aussagen müssen weitere Untersuchungen mit höheren Probandenzahlen durchgeführt werden. Brooks et al. (2009) konnten in vitro an den Lymphozyten von zehn gesunden Probanden individuell unterschiedliche Ausprägungen der Reaktionen HIF-induzierter Gene bei definierten Hypoxiegraden messen. Die Autoren vermuten auch genetisch bedingte Variationen im HIF-System selbst für die interindividuellen Variationen bei den Anpassungen an Hypoxie. Es ist naheliegend zu vermuten, dass diese Variationen bei Typ-2-Diabetikern durch die genetische Determinante der Erkrankung, die Lebensweise, die Medikation und die unterschiedliche Krankheitsdauer noch deutlicher ausgeprägt sein können als bei Gesunden. Die Hypothese der Responder- bzw. Non-Responder ist nicht nur im Bereich der Hypoxieinterventionen jedoch wissenschaftlich sehr umstritten. Da Gene in komplexen Netzwerken mit einer ausgeprägten Redundanz agieren, wird die Suche nach linearen Ursache-Wirkungsbeziehungen auf der molekularen Ebene physiologischer

Adaptationen nach Interventionen als simplifizierend angesehen (Booth & Laye 2010, Timmons 2011).

Die Änderungen der MCT1- und MCT4-Proteinexpression in der Ausdauergruppe stimmen überwiegend mit der Literatur überein und können mit dem Fasershift in der Skelettmuskulatur erklärt werden. Die Zunahme der Typ1-Fasern mit relativ hoher MCT1-Dichte bei gleichzeitiger Abnahme der Typ2-Fasern mit relativ hoher MCT4-Dichte resultiert netto in einem Anstieg der MCT1-Proteindichte und einer Reduktion der MCT4-Proteindichte in der Skelettmuskulatur (Kreutz 2010, Opitz 2011). Die Zunahme spricht für eine erhöhte Aufnahme und Verwertung von Laktat aus der Zirkulation, obwohl die in der Studie gemessenen basalen Laktatspiegel keine Veränderung zeigen. Möglicherweise ist der beschriebene Nachschub des energiereichen Laktatmoleküls aus dem viszeralen Fettgewebe der Diabetiker (DiGirolama et al. 1992, Hosogai et al. 2007, Ye 2009, Perez de Heredia et al. 2010) zu nachhaltig, um eine dauerhafte Senkung des Blutlaktatspiegels durch das Ausdauertraining zu bewirken.

Neben dem Interventionsdesign könnte auch die generelle Gefäßsituation der Typ-2-Diabetiker die Anpassung an die Hypoxie beeinflusst haben. Durch die endotheliale Dysfunktion mit eingeschränkter NO-Freisetzung kann es auch zu Beeinträchtigungen bei der Sauerstoffversorgung der Skelettmuskulatur kommen, da eine Anpassung der Gefäße an erhöhten Sauerstoffverbrauch nur noch eingeschränkt möglich ist (Frisbee 2001, Behnke et al. 2002, Padilla et al. 2006). Diese Insuffizienz könnte zu einer chronisch erhöhten HIF1 α -Expimierung und dem Anstieg der MCT-Proteine führen, was mögliche Anpassungen durch die IH maskieren würde. Durch die bei DT2 häufig beobachtete Schlafapnoe könnte dieser Effekt noch verstärkt werden. Dem widerspricht allerdings die Tatsache, dass in der Skelettmuskulatur von Typ-2-Diabetikern (Juel et al. 2004b) und an DT2-Ratten (Py et al. 2001) erniedrigte MCT-Proteindichten gemessen wurden.

4.3 Der Einfluss des intermittierenden Hypoxie-trainings auf den MCT1 im Erythrozyten

Die immunhistochemischen Untersuchungen der Erythrozyten der Typ-2-Diabetiker zeigten keine signifikanten Veränderungen der MCT1-Proteindichte durch die intermittierende Hypoxieintervention. Weder unter akuter Belastung noch im Vergleich U1 zu U2. Auch in der Referenzgruppe zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. In der Ausdauergruppe stieg die basale MCT1-Proteindichte durch das Training signifikant um 73.80%, und nach der Intervention kam es unter Belastung zu einer signifikanten Reduktion der MCT1-Dichte um 61,79%.

In der einzigen weiteren wissenschaftlichen Studie zum Einfluss von Hypoxie auf die MCT-Proteinexpression in den Erythrozyten konnten Juel et al. (2003) bei acht gesunden Flachlandbewohnern nach zwei Wochen Aufenthalt in 4100 m Höhe einen signifikanten Anstieg der MCT1-Dichte um 230% und nach acht Wochen um 405% gegenüber dem Basalwert nachweisen. Die Probanden absolvierten kein körperliches Bewegungsprogramm. Die Arbeitsgruppe erklärt den Anstieg der Proteindichte mit einer gesteigerten Erythropoese und einer höheren MCT-Dichte in den neuen Erythrozyten im Vergleich zu den alten Erythrozyten vor dem Höhengaufenthalt. Nach den Berechnungen der Autoren muss es, um die gemessenen Anstiege der Proteindichten zu erzielen, zu einer fast 30-fachen Steigerung der MCT1-Dichten in neuen gegenüber älteren Erythrozyten kommen, wenn eine physiologische Erythropoese bei einer Lebensdauer von 120 Tagen und ein unverändertes Blutvolumen angenommen werden. Da es in der vorliegenden Arbeit zu keinem Anstieg der MCT1-Dichte durch die Hypoxieintervention kam, war vermutlich die Dauer der Exposition insgesamt (30 Stunden) und in den einzelnen Interventionseinheiten (75 Minuten) zu kurz. Relativ einheitlich gehen Berichte davon aus, dass die Erythropoetin-Produktion erst ab 84 – 120 Minuten Exposition bei einem Sauerstoffgehalt der Atemluft von unter 13% gesteigert wird (Eckardt et al. 1989, Schmidt et al. 1991, Knaupp et al. 1992). Durch die mindestens 24 Stunden Pausen unter Normoxie zwischen den

Interventionseinheiten ist es möglich, daß die zur erhöhten Proteinexpression notwendigen Transkriptionsfaktoren, insbesondere HIF1 α , wieder auf normoxische Level gesunken waren und es zu keiner längerfristigen Anpassung der MCT-Proteindichte kommen konnte. Die Messungen in der Studie von Juel et al. wurden nach ca. zwei Wochen (336 Stunden) Aufenthalt in der Höhe durchgeführt, was im direkten Vergleich eine mehr als 11-fache ununterbrochene Hypoxiedosis bedeutet. Die Hypothese von Juel et al., dass die gesteigerte MCT1-Dichte mit durch eine gesteigerte Erythropoese verursacht wird, wurde in Nachfolgestudien (Connes et al. 2004b, Rentsch et al. 2006) mit Injektionen von rekombinatem EPO über vier Wochen überprüft. Connes et al. sicherten an 16 ausdauertrainierten Athleten nach der Intervention einen Anstieg des Laktatinfux in die Erythrozyten von bis zu 27.9%. Obwohl weder eine Westernblot-Analyse noch eine Immunhistochemie zur Bestimmung der MCT1-Dichte genutzt wurde, erklären die Autoren die gesteigerte Transportkapazität mit einem Anstieg der MCT1- Dichte in den Erythrozyten. Der Anstieg wird durch einen erhöhten Anteil an Retikulozyten und neuen Erythrozyten an der gesamten Erythrozytenpopulation aufgrund der gesteigerten, Epo-induzierten Erythropoese erklärt, da die Transportprotein-Dichte mit dem Alter der Zellen abnimmt (Ferroni et al. 1991, Piomelli & Seaman 1993). Rentsch et al. konnten an 13 Versuchspersonen mit Westernblot-Analysen den Nachweis führen, dass nach der EPO-Intervention der insgesamt bis zu 50%- ige Anstieg der MCT1-Dichte in den Erythrozyten auf einen erhöhten Anteil junger Erythrozyten mit relativ höheren MCT1-Dichten gegenüber älteren Erythrozyten zurückzuführen ist. Die Frage, ob die MCT1-Dichte in Retikulozyten und jungen Erythrozyten grundsätzlich erhöht sind oder die Dichte z.B. über den Transkriptionsfaktor HIF1 α reguliert und moduliert werden kann, konnte in den genannten Studien nicht geklärt werden und muss in weiteren Untersuchungen geprüft werden.

Die Steigerungen der MCT1-Proteindichte nach Höhengaufenthalt könnten zusätzlich auch durch die von Kreutz (2010) und Opitz (2011) nach Kraft- und Ausdauertraining nachgewiesene Translokation zytosolischer MCT1-

Proteine in die Membran möglich sein. Danach ist die Steigerung der Membranproteine nicht ausschließlich durch eine de novo Erythrozytenproduktion erklärbar. Diesen Ansatz konnten Juel und Mitarbeiter nicht prüfen, da sie ihre Ergebnisse durch Westernblot-Analysen an den Erythrozytenmembranen gewonnen haben. Mögliche zytosolische MCT1-Pools sind bei dieser Art der Probenverarbeitung verloren gegangen.

In der vorliegenden Studie wurden keine Messungen bzgl. HIF1, EPO, Hkt, Retikulozytenzahl oder Blutvolumen durchgeführt. Es kann daher kein Zusammenhang zwischen der unveränderten MCT1-Dichte und dem Einfluss dieser Faktoren festgestellt werden.

In der Ausdauergruppe der vorliegenden Arbeit konnten die Ergebnisse von Kreutz (2010) und Opitz (2011) bzgl. der Anstiege der MCT1-Dichte in den Erythrozyten bestätigt werden. Ob der Anstieg der basalen Werte ebenfalls durch eine gesteigerte Erythropoese verursacht wird, konnte nicht geprüft werden. Es gibt Hinweise, dass hämatologische Anpassungen nach Ausdauertraining auch auf eine gesteigerte Erythropoese zurückzuführen sind (Schmidt et al. 1998, Schmidt et al. 1991, Aoi et al. 2004). Aoi et al. (2004) konnten an Ratten nicht nur den Befund bestätigen, dass junge Erythrozyten eine höhere MCT1-Dichte aufweisen als Ältere, sondern dass die unter dem Einfluss eines Ausdauertrainings (drei Wochen jeweils fünfmal wöchentlich eine Stunde Schwimmen) gebildeten Erythrozyten höhere MCT1-Dichten in der Membran haben als neu gebildete Erythrozyten bei Ratten, die kein Training absolvierten. Nach einer Woche konnte die Arbeitsgruppe diesen Unterschied bereits an erythroiden Zellen im Knochenmark der Versuchstiere nachweisen. Ob diese Steigerungen der Erythropoese und der gezielten Steigerung der MCT1-Dichte in den unter Ausdauertraining gebildeten Erythrozyten-Membranen über den HIF-Signalweg reguliert werden, wurde nicht analysiert. Unter körperlicher Belastung wurden Senkungen des arteriellen Sauerstoffdruckes und der Hämoglobinsättigung (Dempsey et al. 1984, Miyachi & Katayama 1999) sowie des intramuskulären O₂-Druckes gemessen (Richardson et al. 1995, Wagner 2012). Ameln et al. (2005) konnten als Erste in Bioplaten des M.

vastus lateralis einen Anstieg des HIF1 α -Proteins nach akuten Änderungen der O₂- Verfügbarkeit aufgrund körperlicher Belastung nachweisen. Gleichzeitig gelang ihnen der Nachweis gesteigerter mRNA-Expression der HIF1-Zielgene VEGF und EPO.

Der in der Ausdauergruppe nachgewiesene Abfall der MCT1-Proteindichte unter körperlicher Belastung stimmt mit den Ergebnissen von Kreutz (2010) und Opitz (2011) überein und könnte mit einer Laktat- und H⁺-induzierten Translokation der Proteine aus intrazellulären Pools in die Zellmembran der Erythrozyten erklärt werden. Die Translokation der MCT-Proteine aus dem Zytosol in die Membran führt bei der immunhistochemischen DAB-Färbung zu einer Aufhellung des Zytosols, da hier die MCT-Dichte abnimmt. Gleichzeitig kann die Zunahme der MCT-Dichte in der Membran wegen der bikonkaven Form und der zweidimensionalen Darstellung der Erythrozyten nicht adäquat gemessen werden. Netto resultiert daraus eine Abnahme der Färbeintensität in den Erythrozyten (Kreutz 2010). Warum die mögliche Translokation in der Referenz- und der Hypoxiegruppe nicht nachgewiesen werden konnte, muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

4.4 Der Einfluss des intermittierenden Hypoxie-trainings auf die Laktatverteilung im Blut

Die Untersuchung der Laktatverteilung im Blut anhand des Quotienten aus der Laktatkonzentration im Blutplasma und der Laktatkonzentration in den Erythrozyten (Laktatratio) der Typ-2-Diabetiker zeigte bei der Belastungsuntersuchung in allen Gruppen einen signifikanten Verlauf, ohne Gruppenunterschied. Unter Belastung kam es jeweils zu einem signifikanten Abfall und nach der Belastung in der Erholungsphase zu einem signifikanten Anstieg der Laktatratio (LR). Zu jeder Zeit der Messungen war die Konzentration des Laktates im Plasma höher als in den Erythrozyten. Es konnte durch keine der untersuchten Interventionen eine signifikante Änderung des Verhaltens der LR im Vergleich zu den Ausgangswerten festgestellt werden.

Laktatratio in Ruhe

Bereits in zahlreichen wissenschaftlichen Studien wurde die Laktatverteilung in den Kompartimenten des Blutes beschrieben und im Einklang mit der vorliegenden Untersuchung überwiegend eine ungleiche Verteilung des Moleküls mit höheren Konzentrationen im Plasma gegenüber denen in den Erythrozyten bestimmt. Die dabei berechneten LR-Werte in Ruhe bewegen sich in einem Bereich von 0.50 – 0.80 (Noshi 1929, Devadatta 1934, Decker & Rosenbaum 1942, Johnson et al. 1945, Huckabee 1956, Daniel et al. 1964, Harris & Dudley 1989, Juel et al. 1990, Lindinger et al. 1992, Smith et al. 1997a, Smith et al. 1997b, Bangsbo et al. 1997, Böning et al. 2007, Wahl et al. 2010a, Wahl et al. 2010b, Zinner et al. 2011). Der Gradient der Laktatkonzentration im Blut zwischen dem Plasma und den Erythrozyten wird häufig mit der Donnan-Verteilung des Laktat-Anions über die Erythrozyten-Membran (Johnson et al. 1945, Huckabee 1956, Böning et al. 2007) oder durch das Membranpotential erklärt (Daniel et al. 1964, Juel et al. 1990). Die Donnan-Verteilung wird stark von den aktiven und passiven Ionen-Transportvorgängen in den Blutkompartimenten beeinflusst. Laktat wird zu ca. 90% über den MCT1, zu ca. 6% über das Band-3-Protein und zu ca. 4% nichtionischer Diffusion über die Erythrozytenmembran transportiert (Deuticke et al. 1982, Poole & Halestrap 1993, Lindinger et al. 1995). Eine Änderung der MCT1-Dichte könnte die Verteilung der transportierten Ionen und die Dynamik des Transportes beeinflussen. Die möglicherweise unterschiedlichen Transport-Proteindichten der Versuchspersonen in den durchgeführten Studien könnten die relativ geringen, aber nachgewiesenen Unterschiede der LR in der Literatur erklären.

Die vorliegende Arbeit betrachtet als bisher einzige die LR bei Patienten mit Diabetes-Typ-2. Die dabei ermittelten Werte sind im Bereich der publizierten Untersuchungen und zeigen somit keinen Unterschied zu gesunden Versuchspersonen. Lediglich Buono & Yeager (1986) sowie die Arbeitsgruppe Hildebrand et al. (2000) dokumentierten unter Ruhebedingungen eine gleichmäßige Verteilung des Laktat-Anions im Blut (LR = 1.00). Die differierenden Ergebnisse haben mehrere Ursachen.

Zunächst lässt die Messgenauigkeit bei manchen Analysemethoden mit sinkenden Laktat-Konzentrationen nach, so dass unter 0.5 mmol/L teilweise keine Bestimmungen mehr möglich sind (Eppendorf 2000). Dieser Fehler betrifft vor allem die Messungen bei den im Vergleich zu körperlicher Belastung niedrigen Konzentrationen in Ruhe. Weitere Ursachen für die Abweichungen der Ergebnisse liegen in der unterschiedlichen Art und dem Ort der Probenentnahme. Venöse, arterielle und kapilläre Blutproben sind unterschiedlich mit dem Laktat-Anion beladen, was auch zu einer Beeinflussung der LR führen kann. Lindinger et al. (1992), die bei ihren Messungen in Ruhe die relativ niedrigste LR von 0.18 ermittelten, benutzten zur Analyse Blut aus der punktierten A. brachialis.

Die Technik der Blutentnahme im Rahmen kapillärer bzw. venöser Blutabnahmen kann zu mechanischer Belastung der Erythrozyten und anschließender Vermischung von Plasma- und Erythrozytenlaktat führen. Die Dauer von der Entnahme bis zur Analyse muss so kurz wie möglich und standardisiert sein, um Ionenaustauschprozesse und eine in vitro Laktatproduktion in den Erythrozyten nach der Probennahme zu minimieren (Böning et al. 2007). Eine sofortige Zentrifugation der Proben zur Trennung der Kompartimente mit unmittelbar anschließender Fixierung ist dazu notwendig. Hildebrand et al. (2000) zentrifugierten die entnommenen Blutproben vor der Analyse 25 Sekunden lang bei 4°C mit 25000 G im Vergleich zu ca. 3400 G in der vorliegenden Arbeit. Durch die wesentlich höheren Zentrifugalkräfte bei den Messungen der Arbeitsgruppe Hildebrand könnte es zu einer Hämolyse und Vermischung von Plasma mit Zellflüssigkeit aus den Erythrozyten gekommen sein. Dadurch könnte der fehlende Gradient der Laktatkonzentration zwischen Plasma und Erythrozyten ($LR = 1$) in der Arbeitsgruppe erklärt werden. Der fehlende Gradient in den Ruhemessungen bei Buono & Yeager (1986) kann nicht diskutiert werden, da in der Publikation keine genaue Beschreibung der Analyse vorliegt. Da die Laktatkonzentration entweder rechnerisch aus Plasma- und Vollblutwerten, oder wie bei der vorliegenden Arbeit und bei Böning et al. (2007), Wahl et al. (2010a), Wahl et al. (2010b) und Zinner et

al. (2011) direkt bestimmt wurden, kann es zu geringfügigen Unterschieden kommen. Beide Methoden können als zuverlässig und valide betrachtet werden.

Laktatratio unter körperlicher Belastung

Unter körperlicher Belastung konnte in Übereinstimmung mit den meisten Arbeiten eine signifikante Senkung der LR und ein Wiederanstieg in der Erholungsphase beobachtet werden (Böning et al. 2007, Wahl et al. 2010a, Wahl et al. 2010b). Dieser Verlauf kann als Indiz der Verzögerung bei der Wiederherstellung des Equilibriums nach der Störung durch erhöhte Anschoppung von Laktat ins Blut durch körperliche Aktivität gesehen werden (Hildebrand et al. 2000). Im Detail bestehen jedoch Unterschiede in der Ausprägung der Ratioschwankungen und in den Belastungsprotokollen. Grundsätzlich kamen bei der Ermittlung der LR Stufenbelastungen und kurzfristige Maximalbelastungen zur Anwendung. Mit der vorliegenden Arbeit sind die Untersuchungen von Buono & Yeager (1986), Harris & Dudley (1989), Foxdal et al. (1990), Smith et al. (1997b), Hildebrand et al. (2000), und Böning et al. (2007) bzgl. des stufenförmigen Belastungsprotokolls relativ gut vergleichbar. Unmittelbar nach Belastungsende zeigte sich bei Böning et al. eine Senkung der LR im Mittel von 0.78 auf 0.40, bei Hildebrand et al. von 1.00 auf 0.37, und bei Buono & Yeager von 1.00 auf 0.85. Die Ergebnisse von Böning et al. sind im Einklang mit der vorliegenden Studie, in der 13 junge gesunde Männer mit einem mittleren BMI von 22.8 getestet wurden. Die Methoden bei der Probenentnahme und Weiterverarbeitung waren vergleichbar. Die Gegenüberstellung mit dieser Studie bietet keine Hinweise, dass die Regulation der Laktatverteilung im Blut bei Diabetikern-Typ-2 beeinträchtigt ist.

Bei Smith et al., Foxdal et al. sowie Harris & Dudley blieb die LR konstant. Das könnte darin begründet sein, dass venöse Blutproben genutzt wurden und die Zeit bis zur Trennung der Kompartimente durch Zentrifugation zu lange war. Dadurch konnte das Equilibrium wiederhergestellt werden und ein möglicher Unterschied zu der Ruhe-LR war nicht mehr nachzuweisen. Die Möglichkeit, dass stufenförmige Belastungsuntersuchungen grundsätzlich

keine Änderungen der LR sichtbar machen (Wahl et al. 2010a) wird durch die vorliegende Studie sowie die Arbeiten von Buono & Yeager (1986), Hildebrand et al. (2000) und Böning et al. (2007) nicht bestätigt.

In den Untersuchungen von Juel et al. (1990), Smith et al. (1997a), Wahl et al. (2010a), Wahl et al. (2010b) und Zinner et al. (2011) wurden kurze maximale Belastungen bis zur Erschöpfung der Versuchspersonen durchgeführt. Die LR sank unter die Werte bei den Stufenbelastungen auf 0.34 – 0.20. Das erhärtet die Erklärung, dass für die Absenkung der LR unter körperlicher Belastung die Dynamik der Anschoppung von Laktat im Plasma mit ausschlaggebend ist, da die Grenze der Kapazität der entsprechenden Transport-Proteine in den Erythrozyten erreicht ist (Wahl et al. 2010).

Lindinger und Mitarbeiter sehen in den Erythrozyten einen wichtigen Faktor zur Regulation der Ionenhomöostase in Plasma, Interstitium, und Zytosol. Durch die Aufnahme von Laktat in die Erythrozyten wird der Plasmaspiegel gesenkt und der Konzentrationsgradient zur Muskulatur erhöht. Das könnte die Funktion aktiver Muskeln durch gesteigerten Laktatefflux länger aufrecht erhalten (Lindinger 1992, 1995). Außerdem könnte dadurch insgesamt mehr Laktat im Blut transportiert und über das Zell-Zell-Shuttle-System die Verteilung und Lieferung des energiereichen Laktats an die verbrauchenden Organe und Muskeln verbessert werden (Brooks 2009).

Ob die LR durch die Erkrankung Diabetes-Typ-2, durch körperliches Training oder durch intermittierende Hypoxie beeinflusst wird, kann zum jetzigen Zeitpunkt nicht beurteilt werden, da die vorliegende Arbeit die einzige Interventionsstudie dieser Art in der wissenschaftlichen Literatur ist.

Lediglich aus der Arbeit von Bangsbo et al. (1997) lassen sich Hinweise zu körperlicher Belastung und Hypoxie entnehmen: Sie konnten bei Belastung unter Hypoxie (14% O₂) eine signifikant höhere LR messen (24 – 60%) als unter Normoxie. Die Arbeitsgruppe sieht die Ursache evtl. in einem unterschiedlichen Membranpotential der Erythrozyten bei Normoxie und Hypoxie. Als weitere Ursache sehen sie eine möglicherweise gleichzeitig erhöhte Protonenkonzentration unter Hypoxie im Plasma, da nach Roos (1975), Roth (1991), Smith et al. (1997b) und Böning et al. (2007) die

Laktatratio invers an die Protonenratio gekoppelt ist. Eine solche Änderung des Protonengefälles würde allerdings gegen die anerkannte SID-Theorie (Stewart 1983) sprechen, in der die Protonen zu den abhängigen Ionen gerechnet werden. Gegen die inverse Kopplung der Protonenkonzentration bzgl. des Laktatinfux in die Erythrozyten könnte auch sprechen, dass in den Untersuchungen von Harris & Dudley (1989) keine Kopplung der Protonen- und Laktatratio erkennbar war.

Der mögliche Effekt einer akut erhöhten LR unter Hypoxie hat in der vorliegenden Arbeit nicht zu einer dauerhaften Anpassung in Bezug auf diese geführt. Im Vergleich der U1 zu der U2 konnten keine signifikanten Unterschiede im Verlauf der LR gesichert werden.

Wie in der vorliegenden Arbeit wurde in den Studien, die unter Belastung eine Abnahme der LR sichern konnten, in der Erholungsphase ein Wiederanstieg der LR gemessen (Juel et al. 1990, Hildebrand et al. 2000, Böning et al. 2007, Wahl et al. 2010a, Wahl et al. 2010b und Zinner et al. 2011). Nach 5 – 15 Minuten Erholungszeit war die LR wieder auf dem Ausgangsniveau (Juel et al. 1990, Wahl et al. 2010a, Wahl et al. 2010b).

Da in beinahe allen Untersuchungen zur Laktatverteilung im Blut die $LR \leq 1.00$ ist, kann davon ausgegangen werden, dass die Laktatkonzentration in den Erythrozyten immer niedriger ist als im Plasma. Das gilt auch für die Erholungsphase nach körperlicher Belastung, wenn Laktat und Protonen aus dem Plasma in die verbrauchenden Zellen transportiert werden. In dieser Situation muss das Laktatanion gegen eine höhere Konzentration im Plasma aus den Erythrozyten transportiert werden. Wahl et al. (2011) vermuten, dass die negative intrazelluläre Ladung der Erythrozytenmembran die Laktatanionen am Einstrom hindert bzw. den Ausstrom in das Blutplasma verursacht. Das ist mit den derzeit bekannten Eigenschaften und Möglichkeiten der MCT- Proteine nicht vereinbar. Die MCT transportieren ohne Energieverbrauch in Richtung der geringeren Laktatkonzentration (Deuticke 1989, Poole & Halestrap 1993, Juel 1997, Wilson et al. 1998). Der Transport gegen das Konzentrationsgefälle würde Energie benötigen. Der Transport über das Band-3-Protein und die nichtionische Diffusion sind

ebenfalls nicht gegen das Konzentrationsgefälle möglich. Die Kopplung der Transportrichtung an ein Protonengefälle ist unwahrscheinlich, da in dem Moment des Laktatausstroms aus den Erythrozyten das Konzentrationsgefälle der Protonen die Richtung ändern müsste. Außerdem sind auch andere Transporter aktiv an der pH-Regulation wie z.B. der Na^+/H^+ Austauscher (NHE) oder die Ca^{2+} -ATPase, die eine Umkehr des Protonengefälles verhindern, beteiligt (Brugnara 1997).

Die genannten Fakten implizieren für den Fall des Laktatausstroms aus den Erythrozyten gegen eine höhere Laktatkonzentration im Plasma einen bisher unbekanntem Transportmechanismus. Denkbar ist dabei ein spannungsabhängiger aktiver selektiver Laktattransporter, der über das Donnanpotential gesteuert wird, da dieses Potential maßgeblich für alle geladenen Moleküle und Ionen ist.

Durch die Beteiligung an der Regulation der Konzentrationsverhältnisse ist das Donnanequilibrium auch essentiell für die Rheologie des Blutes, da Störungen des Equilibriums zu osmotischen Flüssigkeitsverschiebungen mit Volumenänderungen insbesondere der Erythrozyten führen könnten. Smith et al. (1997b) konnten bei einem erhöhten Einstrom von Laktat in die Erythrozyten eine Abnahme deren Flexibilität nachweisen.

Änderungen der Transportproteine durch Anpassungen an Sauerstoffmangel oder erhöhtes Laktataufkommen durch körperliches Training sind biologisch sinnvoll, wenn die Geschwindigkeit der Regulation durch erhöhte Proteindichte gesteigert werden kann. Trainingsstudien zum Verhalten der LR sind hier ein klares Forschungsdefizit. Die selektive Erhöhung der relativen Transportkapazität der Erythrozyten gegenüber dem Plasma, messbar an dem Verhalten der LR, wäre physiologisch kontraproduktiv, da es über die Änderung der Flexibilität und des Fließverhaltens der Erythrozyten zu gravierenden Nachteilen beim Stoffaustausch im Kapillarbett kommen könnte (Davis 1988, Smith et al. 1997b). Weitere Forschung zu den Transportvorgängen und Wechselwirkungen zwischen den Erythrozyten und dem Endothel im Kapillarbereich von Typ-2-Diabetikern ist notwendig.

5 Zusammenfassung

Das Laktatanion als ein energiereiches Molekül und der Transport zwischen Zellen und Geweben über die Monocarboxylattransporter (MCT) sind im pathologischen Stoffwechsel der Diabetes-Typ-2-Patienten noch wenig erforscht. Einerseits wird ein erhöhter Ruhelaktatspiegel als eigenständiger Risikofaktor für DT2 gesehen, andererseits könnte die Oxidation von Laktat als Surrogat bei einer eingeschränkten Glukoseverwertung infolge der Insulinresistenz die Energieversorgung vor allem unter körperlicher Belastung sicherstellen. Die Forschungsergebnisse zu erhöhtem Glukoseverbrauch (Pasteur-Effekt) sowie Hinweise auf einen Anstieg der MCT-Proteindichte unter Hypoxie lassen ein Synergiepotential erkennen, welches durch belastungsbedingten zellulären Sauerstoffmangel begünstigt werden kann. Insbesondere Patienten mit einer hyperglykämischen Stoffwechsellage könnten so ihr kardiovaskuläres Risikoprofil verbessern. Die vorliegende Arbeit untersuchte daher die Wirkung eines moderaten Bewegungsprogramms unter intermittierender normobarer Hypoxie in der Gegenüberstellung mit einem Ausdauertraining und einem moderaten Bewegungsprogramm an zuvor körperlich inaktiven männlichen nicht-insulinpflichtigen Typ-2-Diabetikern ($n = 55$, Alter 59.9 ± 9.4 Jahre, BMI 31.6 ± 4.0). Es wurde immunhistochemisch überprüft, ob die sechswöchigen Interventionen in der Skelettmuskulatur und den Erythrozyten zu Anpassungen der MCT-Proteindichten führen. Außerdem wurden mögliche Veränderungen der Muskelfaserzusammensetzung und Faserdicke sowie der Verteilung des Laktatanions im Blut untersucht.

Alle Interventionen führten zu einem signifikanten Anstieg von Parametern der körperlichen Leistungsfähigkeit: Die relative maximale Sauerstoffaufnahme, die maximale Wattleistung und die Leistung bei 2 mmol/l- sowie 4 mmol/l Laktat wurden bei gleichzeitiger Reduktion des Ruheblutdruckes verbessert. Die Muskelfaserdicke blieb in allen Gruppen unverändert.

Das Verhalten der Verteilung des Laktatanions im Blut in Ruhe und unter körperlicher Belastung wurde durch keine der Interventionsformen verändert

und es zeigten sich keine Unterschiede im Vergleich zu Ergebnissen in Studien mit gesunden Probanden.

Nur in der Ausdauergruppe konnten signifikante Änderungen der MCT-Proteindichten und der Muskelfaserzusammensetzung gesichert werden: Im Sarkoplasma stieg die MCT1-Proteindichte bei gleichzeitiger Abnahme der MCT4-Dichte und es kam zu einer prozentualen Zunahme der Typ1-Muskelfasern gegenüber den Typ2-Fasern. In den Erythrozyten bewirkte das Ausdauertraining eine basale Zunahme der MCT1-Proteindichte und nach der Intervention konnte unter akuter körperlicher Belastung eine Abnahme der MCT1-Dichte nachgewiesen werden.

Die Änderungen der MCT-Proteindichten in der Skelettmuskulatur könnten durch den Fasershift erklärt werden, da in den Typ1-Fasern mehr MCT1-Proteine exprimiert werden als in den Typ2-Muskelfasern. Der Abfall der MCT1-Proteindichte in den Erythrozyten unter Belastung könnte ein Hinweis auf eine Translokation der MCT1-Proteine aus dem Zytosol in die Membran sein.

Obwohl es in der Hypoxiegruppe weder in der Muskulatur noch in den Erythrozyten zu signifikanten Änderungen der MCT-Proteindichten kam, ist ein moderates Bewegungsprogramm unter intermittierender normobarer Hypoxie in der initialen Phase zu einer körperlich aktiveren Lebensweise von Typ-2-Diabetikern eine wirksame alternative Therapieform.

Weitere Forschungen zu den Regulationsmechanismen auf zellulärer und molekularer Ebene sind notwendig, um dadurch gezielter mit sportherapeutischen Interventionsmaßnahmen gegen die Progredienz dieser Erkrankung vorzugehen und die Lebensqualität der Typ-2-Diabetiker nachhaltig zu verbessern.

6 Abstract

The role of lactate as a metabolic fuel and its transport via monocarboxylate transporters (MCTs) are only partially investigated in connection with the pathological metabolism of diabetes-type-2. On the one hand, increased resting lactate values are considered to be a risk factor in type-2-diabetes, on the other hand the oxidation of lactate could provide the energy (during physical activity) which is lacking from restricted glucose uptake due to insulin resistance. As glucose uptake into the cell is one major problem in type-2-diabetes, possibilities or interventions increasing this uptake or alternative pathways (lactate metabolism) could be beneficial. Studies showed that hypoxia and/or exercise increase glucose metabolism and the expression of MCTs. It can be speculated that these hypoxia/exercise induced changes could be beneficial for patients with a hyperglycemic status. Therefore the present study investigated the effects of six weeks of moderate exercise under intermittent normobaric hypoxic conditions. As a reference, a second group performed the same moderate exercise under normoxia, and a third group performed moderate endurance training in normoxic conditions. All subjects were sedentary male non-insulin-dependent type-2-diabetics ($n = 55$, age 59.9 ± 9.4 years, BMI 31.6 ± 4.0 kg/m²). Before and after the interventions, fibre type distribution, cross sectional area and MCT-density in skeletal muscle and red blood cells (RBC) were investigated. Furthermore the lactate distribution between plasma and RBC under resting and exercise conditions was analyzed.

All interventions showed a significant increase in endurance capacity (VO_{2peak} , peak power and lactate threshold) and a reduction in resting blood pressure, without differences between the groups. Skeletal muscle MCT1-density showed a significant increase accompanied by a significant decrease of MCT4 in the endurance group only. Furthermore the percentage of type-1 muscle fibres increased. The density of MCT1 in RBC under resting conditions was significantly higher; under exercise conditions MCT-density significantly decreased after the endurance training only. Lactate distribution between plasma and RBC was not altered in any group.

Abstract

The changes in skeletal muscle MCT might be explained by the fibre type shift, as type-1 fibres express more MCT1. The decrease of MCT1 in RBC after exercise might give a hint of a possible translocation of lactate transporters. Even though the changes in lactate transport and fibre type composition were present in the endurance group only, all training regimes showed beneficial effects on endurance performance. These results show that moderate exercise with or without hypoxia could be a promising alternative to conventional endurance training in the initial phase of a more active life style of type-2-diabetes-patients.

7 Literaturverzeichnis

ADA (1997): American Diabetes Association: clinical practice recommendations 1997. *Diabetes Care* 20 (Suppl 1), 1-70

ADA (2010): American Diabetes Association: Standards of medical care in diabetes – 2010. *Diabetes Care* 33, 11-61

Alberti KG, Zimmet PZ (2008): Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetes Med* 15, 539-553

Allen DG, Lamb GD, Westerblad H (2008): Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev* 88, 287-332

Ameln H, Gustafsson T, Sundberg CJ, Okamoto K, Jansson e, Poellinger L, Makino Y (2005): Physiological activation of hypoxia inducible factor-1 in human skeletal muscle. *FASEB J* 19, 1009-1011

Aoi W, Iwashita S, Fujie M, Suzuki M (2004): Sustained swimming increases erythrocyte MCT1 during erythropoiesis and ability to regulate pH homeostasis in rat. *Int J Sports Med* 25, 339-344

Aragno R (1978): Distribution of lactate in blood of resting or exercised rats. *J Sports Med Phys Fitness* 18, 215-219

Aragno R (1981): The effect of catecholamines or sodium lactate on blood lactate distribution in the rat. *J Sports Med Phys Fitness* 21, 7-14

Avogaro A, Toffolo G, Miola M, Valerio A, Tiengo A, Cobelli C, Del Prato S (1996): Intracellular lactate- and pyruvate- interconversion rates are increased in muscle tissue of non- insulin- dependent diabetic individuals. *J Clin Invest* 98, 108-115

Azevedo JL, Carey JO, Pories WJ, Morris PG, Dohm GL (1995): Hypoxia stimulates Glucose Transport in Insulin-Resistant Human Skeletal Muscle. *Diabetes* 44, 695-698

Baba N, Sharma HM (1971): Histochemistry of lactate dehydrogenase in heart and pectoralis muscles of rat. *J Cell Biol* 51, 621-635

Bärtsch P, Saltin B (2008): General introduction to altitude adaptation and mountain sickness. *Scand J Med Sci Sports* 18 Suppl 1, 1-10

Bailey DM, Davies B, Baker J (2000): Training in hypoxia: modulation of metabolic and cardiovascular risk factors in men. *Med Sci Sports Exerc* 32, 1058-1066

Baker SK, McCullagh KJA, Bonen A (1998): Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT1 in heart and muscle. *J Appl Physiol* 84, 987-994

Bangsbo J, Juel C, Hellsten Y, Saltin B (1997): Dissociation between lactate and proton exchange in muscle during intense exercise in man. *J Physiol* 504, 489-499

Bangsbo J, Juel C (2006): Counterpoint: lactic acid accumulation is a disadvantage during muscle activity. *J Appl Physiol* 101, 1412-1413

Becker HM, Hirnet D, Fecher-Trost C, Sültemeyer D, Deitmer JW (2005): Transport activity of MCT1 expressed in *Xenopus* oocytes is increased by interaction with carbonic anhydrase. *J Biol Chem* 280, 39882-39889

Becker HM, Deitmer JW (2008): Nonenzymatic proton handling by carbonic anhydrase II during H⁺- lactate cotransport via monocarboxylate transporter 1. *J Biol Chem* 283, 21655-21667

Becker HM, Klier M, Deitmer JW (2010): Nonenzymatic Augmentation of Lactate Transport via Monocarboxylate Transporter Isoform 4 by Carbonic Anhydrase II. *J Membrane Biol* 234, 125-135

Behnke BJ, Kindig CA, McDonough P, Poole DC, Sexton WL (2002): Dynamics of microvascular oxygen pressure during rest-contraction transition in skeletal muscle of diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 283, H926-H932

Beidlemann BA, Rock PB, Muza SR, Fulco CS, Gibson LL, Kamimori GH, Cymerman A (2002): *Med Sci Sports Exerc* 34, 430-437

Bentley DJ, Roels B, Thomas C, Ives R, Mercier J, Millet G, Cameron-Smith D (2009): The relationship between monocarboxylate transporters 1 and 4 expression in skeletal muscle and endurance performance in athletes. *Eur J Physiol* 106, 465-471.

Benton CR, Campbell SE, Tonouchi M, Hatta H, Bonen A (2004): Monocarboxylate transporters in subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Biochem Biophys Res Com* 323, 249-253

Benton CR, Yoshida Y, Lally L, Han XX, Hatta H, Bonen A (2008): PGC-1 alpha increases skeletal muscle lactate uptake by increasing the expression of MCT1 but not MCT2 or MCT4. *Physiol Genomics* 17, 45-54

Bergersen L, Johannsson E, Veruki ML, Nagelhus EA, Halestrap A, Sejersted OM, Ottersen OP (1999): Cellular and subcellular expression of monocarboxylate transporters in the pigment epithelium and retina of the rat. *Neuroscience* 90, 319-331

Bergersen L, Waerhaug O, Helm J, Thomas H, Laake P, Davies AJ, Wilson MC, Halestrap AP, Ottersen OP (2001): *Exp Brain Res* 136, 523-534

Bergersen L, Rafiki A, Ottersen OP (2002): Immunogold cytochemistry identifies specialized membrane domains for monocarboxylate transport in the central nervous system. *Neurochem Res* 27, 89-96

Berglund B (1992): High-altitude training. Aspects of haematological adaptation. *Sports Med* 14, 289-303

Bergmann BC, Horning MA, Casazza GA, Wolfel EE, Butterfield GE, Brooks GA (2000): Endurance training increases gluconeogenesis during rest and exercise in men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278, E244-E251

Berlinerblau J (1887): Über das Vorkommen der Milchsäure im Blute und ihre Entstehung im Organismus. *Arch exp pathol pharm* 23, 333-346

Bernardi L, Passino C, Serebrovskaya Z, Serebrovskaya T, Appenzeller O (2001): Respiratory and cardiovascular adaptations to progressive hypoxia; effect of interval hypoxic training. *Eur Heart J* 22, 879-886

Berzelius JJ (1808): Föreläsningar över Djurkemien. Marquard, Stockholm

Bickham DC, Bentley DJ, Le Rossignol PF, Cameron-Smith D (2006): The effects of short-term sprint training on MCT expression in moderately endurance-trained runners. *Eur J Appl Physiol* 96, 636-634

Biedler A, Mertzluft F (1995): Die Messung der Laktatkonzentration mit Elektroden. *Anästhesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie* 30 (Suppl.1), 24-26

Bishop D, Edge J, Thomas C, Mercier J (2007): High-intensity exercise acutely decreases the membrane content of MCT1 and MCT4 and buffer capacity in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 102, 616-621

Bishop D, Edge J, Thomas C, Mercier J (2008): Effects of high-intensity training on muscle lactate transporters and postexercise recovery of muscle

lactate and hydrogen ions in women. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 295, R1991-R1998

Bjarnason-Wehrens B (2009): Leitlinie körperliche Aktivität zur Sekundärprävention und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen. Deutsche Gesellschaft für Prävention und Rehabilitation von Herz-Kreislauferkrankungen e.V. (DGPR). *Clin Res Cardiol Suppl* 4, 1-44

Bonen A, Baker, SK, Hatta H (1997): Lactate transport and lactate transporters in skeletal muscle. *Can J Appl Physiol* 22, 531-552

Bonen A, Mc Cullagh KJ, Putman CT, Hultman E, Jones NL, Heigenhauser GJ (1998): Short-term training increases human muscle MCT1 and femoral venous lactate in relation to muscle lactate. *Am J Physiol* 274, E102-E107

Bonen A, Miskovic D, Tonouchi M, Lemieux K, Wilson MC, Marette A, Halestrap AP (2000a): Abundance and subcellular distribution of MCT1 and MCT4 in heart and fast-twitch skeletal muscles. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278, E1067-E1077

Bonen A, Tonouchi M, Miskovic D, Hedde C, Heikkila JJ, Halestrap AP (2000b): Isoform-specific regulation of the lactate transporters MCT1 and MCT4 by contractile activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 279, E1131-E1138

Bonen A (2001): The expression of lactate transporters (MCT1 and MCT4) in heart and muscle. *Eur J Appl Physiol* 86, 6-11

Bonetti DL, Hopkins WG (2009): Sea-level exercise performance following adaptation to hypoxia: a meta analysis. *Sports Med* 39, 107-127

Böning D, Klarholz C, Himmelsbach B, Hütler M, Maassen N (2007): Causes of differences in exercise-induced changes of base excess and blood lactate. *Eur J Appl Physiol* 99, 163-171

Böning D, Maassen N (2008): Point: Lactic acid is the only physicochemical contributor to the acidosis of exercise. *J Appl Physiol* 105, 358-359

Böning D, Schmidt W (1991): Neue Aspekte der Höhenanpassung. In Bernett P und Jeschke D, Hrsg.: Sport und Medizin Pro und Contra. Zuckschwerdt-Verlag, München, 835-838

Booth FW, Laye MJ (2010): The future: genes, physical activity and health. *Acta Physiol* 199, 549-556

- Borg G** (2004): Anstrengungsempfinden und körperliche Aktivität. *Dtsch Arzteb* 101, A1016-A1021
- Bouissou P**, Guezennec CY, Defer G, Pesquies P (1987): Oxygen consumption, lactate accumulation, and sympathetic response during prolonged exercise under hypoxia. *Int J Sports Med* 8, 266-269
- Boule NG**, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ (2001): Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *Journal of the American Medical Association* 286, 1218-1227.
- Boule NG**, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ (2003): Meta-analysis of the effect of structured exercise training on cardiorespiratory fitness in type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia* 46, 1071-1081.
- Brandt RB**, Laux JE, Spainhour SE, Kline ES (1987): Lactate dehydrogenase in rat mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 259, 412-422
- Brauchi S**, Rauch MC, Alfaro IE, Cea C, Concha II, Benos DJ, Reyes JG (2005): Kinetics, molecular basis, and differentiation of I-lactate transport in spermatogenic cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 288, C523-C534
- Braun B**, Mawson JT, Muza SR, Dominick SB, Brooks GA, Horning MA, Rock PB, Moore LG, Mazzeo RS, Ezeji-Okoye SC, Butterfield GE (2000): Women at altitude: carbohydrate utilization during exercise at 4300m. *J Appl Physiol* 88, 246-256
- Braun B**, Rock PB, Zamudio S, Wolfel GE, Mazzeo RS, Muza SR, Fulco CS, Moore LG, Butterfield GE (2001): Woman at altitude: short-term exposure to hypoxia and/or alpha(1)-adrenergic blockade reduces insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 91, 623-631
- Bretzel RG**, Landgraf R, Janka HU, Mann J, Philipp T, Ritz E (2008): Hypertonie beim Diabetes mellitus. In: Scherbaum WA (Hrsg): Praxis-Leitlinien der Deutschen Diabetes- Gesellschaft(DDG). *Diabetologie und Stoffwechsel* 3 (Suppl.2), 141-142
- Bröer S**, Schneider HP, Bröer A, Rahman B, Hamprecht B, Deitmer JW (1998): Characterisation of the monocarboxylate transporter 1 expressed in *Xenopus laevis* oocytes by changes in cytosolic pH. *Biochem J* 341, 529-535
- Brooks GA**, (1985): Lactate: glycolytic end product and oxidative substrate during sustained exercise in mammals- the "Lactate Shuttle". Circulation, respiration, and metabolism (ed. By R. Gilles) Springer Verlag Berlin Heidelberg

Brooks GA (1991): Current concepts in lactate exchange. *Med Sci Sports Exerc* 23, 895-906

Brooks GA (1998): Mammalian fuel utilization during sustained exercise. *Comp Biochem Physiol* 120, 89-107

Brooks GA, Dubouchaud H, Brown M, Sicurello JP, Butz CE (1999a): Role of mitochondrial lactate dehydrogenase and lactate oxidation in the intracellular lactate shuttle. *Proc Natl Acad Sci* 96, 1129-1134

Brooks GA, Brown MA, Butz CE, Sicurello JP, Dubouchaud H (1999b): Cardiac and skeletal muscle mitochondria have a monocarboxylate transporter MCT1. *J Appl Physiol* 87, 1713-1718

Brooks GA (2000): Intra- and extra-cellular lactate shuttles. *Med Sci Sports Exerc* 32, 790-799

Brooks GA (2002): Lactate shuttles in Nature. *Biochem Soc Trans* 30, 258-264

Brooks GA, Brooks TG, Brooks S (2008): Laktat als metabolisches Signal der Genexpression. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 59, 280-286

Brooks GA (2009): Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *J Physiol* 587, 5591-5600

Brooks JT, Elvidge GP, Glenny L, Gleadle JM, Liu C, Ragoussis J, Smith TG, Talbot NP, Winchester L, Maxwell PH, Robbins PA (2009): Variations within oxygen- regulated gene expression in humans. *J Appl Physiol* 106, 212-220

Brown MA, Brooks GA (1994): Trans-stimulation of lactate transport from rat sarcolemmal membrane vesicles. *Arch Biochem Biophys* 313, 22-28

Bruognara C (1997): Erythrocyte membrane transport physiology. *Curr Opin Hematol* 4, 122-127

Bruton JD, Lännergren J, Westerblad H (1998): Mechanisms underlying the slow recovery of force after fatigue: importance of intracellular calcium. *J Appl Physiol* 162, 285-293

Buono MJ, Yeager JE (1986): Intraerythrocyte and plasma lactate concentrations during exercise in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 55, 326-329

Burgomaster KA, Cermak NM; Phillips SM, Benton CR, Bonen A, Gibala MJ (2007): Divergent response of metabolite transport proteins in human

skeletal muscle after sprint interval training and detraining. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292, R1970-R1976

Burtscher M, Pachinger O, Ehrenbourg I, Mitterbauer G, Faulhaber M, Pühringer R, Tkatchouk E (2004): Intermittend hypoxia increases exercise tolerance in elderly men with and without coronary artery disease. *Int J Cardiol* 96, 247-254

Butz CE, McClelland GB, Brooks GA (2004): MCT1 confirmed in rat striated muscle mitochondria. *J Appl Physiol* 97, 1059-1066

Cartee GD, Douen AG, Ramlal T, Klip A, Holloszy (1991): Stimulation of glucose transport in skeletal muscle by hypoxia. *J Appl Physiol* 70, 1593-1600

Cauza E, Hanusch-Enserer U, Strasser B, Kostner K, Dunky A, Haber P (2005): Strength and endurance training lead to different post exercise glucose profiles in diabetic participants using a continuous subcutaneous glucose monitoring system. *Eur J Clin Invest* 35, 745-751

Cerretelli P, Samaja M (2003): Acid- base balance at exercise in normoxia and in chronic hypoxia. Revisiting the "lactate paradox". *Eur J Appl Physiol* 90, 431-448

Chapman RF, Stray-Gundersen J, Levine BD (1998): Individual variation in response to altitude training. *J Appl Physiol* 85, 1448-1456

Chatham JC, Des Rosiers C, Forder JR (2001): Evidence of separate pathways for lactate uptake and release by the perfused rat heart. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281, E794-E802 Kahn 1995

Chen YD, Varasteh BB, Reaven GM (1993): Plasma lactate concentration in obesity and type 2 diabetes. *Diabete Metab* 19, 348-354

Cheatham B, Kahn CR (1995): Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr Rev* 16, 117-142

Chenal J, Pellerin L (2007): Noradrenaline enhances the expression of the neuronal monocarboxylate transporter MCT2 by translational activation via stimulation of PI3K/AKT and the mTOR/S6K pathway. *J Neurochem* 102, 389-397

Choi CS, Kim YB, Lee FN, Zabolotny JM, Kahn BB, Youn JH (2002): Lactate induces insulin resistance in skeletal muscle by suppressing glycolysis and impairing insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283, E233-240

- Coderre L**, Kandror KV, Vallega G, Pilch PF (1995): Identification and characterization of an exercise- sensitive pool of glucose transporters in skeletal muscle. *J Biol Chem* 270, 27584-27588
- Coles L**, Litt J, Hatta H, Bonen A (2004): Exercise rapidly increases expression of the monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4 in rat muscle. *J Physiol* 561, 253-261
- Connes P**, Bouix D, Py G, Caillaud C, Kippelen P, Varray A, Prefaud C, Mercier J (2004a): Does exercise-induced hypoxemia modify lactate influx into erythrocytes and hemorheological parameters in athletes. *Am J Physiol* 97, 1053-1058
- Connes P**, Caillaud C, Mercier J, Bouix D, Casties JF (2004b): Injections of recombinant human erythropoietin increases lactate influx into erythrocytes. *J Appl Physiol* 97, 326-332
- Connett RJ**, Gayeski TE, Honig CR (1984): Lactate accumulation in fully aerobic, working, dog gracilis muscle. *Am J Physiol* 246, H120-H128
- Connett RJ**, Honig CR, Gayeski TE, Brooks GA (1990): Defining hypoxia: a systems view of VO_2 , glycolysis, energetic, and intracellular PO_2 . *J Appl Physiol* 68, 833-842
- Consoli AN**, Nurjhan JJ, Reilly JR, Bier DM, Gerich JE (1990): Contribution of liver and skeletal muscle to alanine and lactate metabolism in humans. *Am J Physiol* 259, 677-684
- Constable SH**, Favier RJ, Cartee GD, Young DA, Holloszy JO (1988): Muscle glucose transport: interactions of in vitro contractions, insulin, and exercise. *J Appl Physiol* 64, 2329-2332
- Cori CF**, Cori GR (1929): Glykogen formation in the liver from d- and l-lactic acid. *J Biol Chem* 81, 389-403.
- Cosentino F**, Eto M, de Paolis P, van der Loo B, Bachschmid M, Ullrich V, Kouroedov A, Gatti CD, Joch H, Volpe M, Lüscher TF (2003): High glucose causes upregulation of cyclooxygenase 2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells. *Circulation* 107, 1017-1023
- Coulet F**, Nadaud S, Agrapart M, Soubrier F (2003): Identification of hypoxia-response element in the human endothelial nitric-oxide synthase gene promoter. *J Biol Chem* 278, 46230-46240
- Crabtree HG** (1929): Observations on the carbohydrate metabolism of tumors. *Biochem J* 23, 536-545

Creager MA, Lüscher TF, Cosentino F, Beckman JA (2003): Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: Part I. *Circulation* 108, 1527-1532

Crawford SO, Hoogeveen RC, Brancati FL, Astor BC, Ballantyne CM, Schmidt MI, Young JH (2010): *Int J Epidemiol* 39, 1647-1655

Cuff MA, Lambert DW, Shirazy-Beechey SP (2002): Substrate-induced regulation of the human colonic monocarboxylate transporter, MCT1. *J Physiol* 539, 363-371

Cuff MA, Shirazy-Beechey SP (2002): The human monocarboxylate transporter MCT1: genomic organization and promoter analysis. *Biochem Biophys Res Commun* 292, 1048-1056

Cuff MA, Shirazy-Beechey SP (2005): The human monocarboxylate transporter MCT1: gene structure and regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289, G977-G999

Daniel SS, Morishima HO, James LS, Adamsons K (1954): Lactate and pyruvate gradients between red blood cells and plasma during acute asphyxia. *J Appl Physiol* 19, 1100-1104

Daniel SS, Morishima HO, James LS, Adamsons K (1964): Lactate and pyruvate gradients between red blood cells and plasma during acute asphyxia. *J Appl Physiol* 19, 1100-1104

Decker DG, Rosenbaum JD (1942): The distribution of lactic acid in human blood. *Am J Physiol* 138, 7-11

DeFronzo RA (1987): Effect of physical training on insulin action in obesity. *Diabetes* 36, 1379-1385

Dempsey JA, Hanson PG, Henderson KS (1984): Exercise-induced arterial hypoxemia in healthy human subjects at sea level. *J Physiol* 355, 161-175

Depocas F, Minaire Y, Chatonnet J (1969): Rates of formation and oxidation of lactic acid in dogs at rest and during moderate exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 47, 603-610

Depre C, Ponchaut S, Deprez J, Maisin L, Hue L (1998): Cyclic AMP suppresses the inhibition of glycolysis by alternative oxidizable substrates in the heart. *J Clin Invest* 101, 390-397

Deuticke B, Rickert I, Beyer E (1978): Stereoselective, sh-dependent transfer of lactate in mammalian erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 507, 137-155

Deuticke B (1982): Monocarboxylate transport in erythrocytes. *J Membrane Biol* 70, 89-103

Deuticke B, Beyer E, Forst B (1982): Discrimination of three parallel pathways of lactate transport in the human erythrocyte membrane by inhibitors and kinetic properties. *Biochim Biophys Acta* 684, 96-110

Deuticke B (1989): Monocarboxylate transport in red blood cells: kinetics and chemical modification. *Methods Enzymol* 173, 300-329

Deutsche Hochdruckliga (2008): Leitlinien zur Behandlung der arteriellen Hypertonie. Deutsche Hochdruckliga e.V. DHL- Deutsche Hypertonie Gesellschaft, Heidelberg

Devadatta SC (1934): Distribution of lactate between the corpuscles and the plasma in blood. *Q J Exp Physiol* 24, 295-303

DiGirolamo M, Newby FD, Hill JO (1989): Blood lactate levels in human obesity. *Int J Obes* 13, 394

DiGirolamo M, Newby FD, Lovejoy J (1992): Lactate production in adipose tissue: a regulated function with extra-adipose implications. *FASEB J* 6, 2405-2412

Dill DB, Edwards HT, Fölling A, Oberg SA, Pappenheimer AM, Tabott JH (1931): Adaptations of the organism to changes in oxygen pressure. *J Physiol* 71, 47-63

Dimmer KS, Friedrich B, Lang F, Deitmer JW, Bröer S (2000): The low affinity monocarboxylate transporter MCT4 is adapted to the export of lactate in highly glycolytic cells. *Biochem J* 350, 219-227

Doar JW, Cramp DG (1970a): The effects of obesity and maturity-onset diabetes mellitus on L(+) lactic acid metabolism. *Clin Sci* 39, 271-279

Doar JW, Cramp DG, Maw DS, Seed M, Wynn V (1970b): Blood pyruvate and lactate levels during oral and intravenous glucose tolerance tests in diabetes mellitus. *Clin Sci* 39, 259-269

Donnan FG (1911): Theory of membrane equilibrium and membrane potentials in the presence of nondialyzable electrolytes. A contribution to physical-chemical physiology. *Zeitschrift für Elektrochemie*, 17, 572

- Donovan CM**, Brooks GA (1983): Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am J Physiol* 244, 83-92
- Douen AG**, Ramlal T, Rastoqi S, Bilan PJ, Cartee GD, Vranic M, Holloszy JO, Klip A (1990): Exercise induces recruitment of the 'insulin-responsive glucose transporter'- evidence for distinct intracellular insulin-and exercise-recruitable transporter pools in skeletal muscle. *J Biol Chem* 265, 13427-13430
- Dubinsky WP**, Racker E (1978): The mechanism of lactate transport in human erythrocytes. *J Membr Biol* 44, 25-36
- Dubouchaud H**, Butterfield GE, Wolfel EE, Bergmann BC, Brooks GA (2000): Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278, E571-E579
- Dufour SP**, Ponsot E, Zoll J, Doutreleau S, Lonsdorfer-Wolf E, Geny B, Lampert E, Flück M, Hoppeler H, Billat V, Mettauer B, Richard R, Lonsdorfer J (2006): Exercise training in normobaric hypoxia in endurance runners. I. Improvement in aerobic performance capacity. *J Appl Physiol* 100, 1238-1248
- Eckardt KU**, Boutellier U, Kurtz A, Schopen M, Koller EA, Bauer C (1989): Rate of erythropoietin formation in humans in response to acute hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 66, 1785-1788
- Edwards HT** (1936): Lactic acid in rest and work at high altitude. *Am J Physiol* 116, 367-375
- Ellmerer M**, Schaupp L, Sendlhofer G, Wutte A, Brunner GA, Trajanoski Z, Skrabal F, Wach P, Pieber TR (1998): Lactate metabolism of subcutaneous adipose tissue studied by open flow microperfusion. *J Clin Endocrinol Metab* 83, 4394-4401
- Enerson BE**, Drewes LR (2003): Molecular features, regulation and function of monocarboxylate transporters: implications for drug delivery. *J Pharm Sci* 92, 1531-1544
- Enoki T**, Yoshida Y, Lally J, Hatta H, Bonen A (2006): Testosterone increases lactate transport, monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in rat skeletal muscle. *J Physiol* 577, 433-443
- Eppendorf** (2000): Bedienungsanleitung EBIO Plus Glukose/ Laktat-Analysator. Eppendorf AG, Hamburg

Evans WJ, Phinney SD, Young VR, Suction applied to a muscle biopsy maximizes sample size. *Med Sci Sports Exerc* 14, 101-102

Evertsen F, Medbo JI, Bonen A (2001): Effect of training intensity on muscle lactate transporters and lactate threshold of cross-country skiers. *Acta Physiol Scand* 173, 195-205

Eydoux N, Dubouchaud H, Py G, Granier P, Prefaut C, Mercier J (2000): Lactate transport in rat sarcolemmal vesicles after a single bout of submaximal exercise. *Int J Sports Med* 21, 393-399

Engberg S, Glümer C, Witte DR, Jorgensen T, Borch-Johnsen K (2010): Differential relationship between physical activity and progression to diabetes by glucose tolerance status: The Inter99 Study. *Diabetologia* 53, 70-78

Ferrannini E, Natali A, Brandi LS, Bonadonna R, De Kreutzberg SV, DelPrato S, Santoro D (1993): Metabolic and thermogenetic effects of lactate infusion in humans. *Am J Physiol* 265, E504-E512

Ferroni R, Giuliani A, Marini S, Caprari P, Salvati AM, Condo SC, Ramacci MT, Giardina B (1991): A new monoclonal antibody to an age sensitive band 3 transmembrane segment. *Adv Exp Med Biol* 307, 351-356

Fishbein WN, Merezhinskaya N, Foellmer JW (2002): Relative distribution of three major lactate transporters in frozen human tissue and their localization in unfixed skeletal muscle. *Muscle Nerve* 26, 101-112

Fisher AB, Dodia C (1984): Lactate and regulation of lung glycolytic rate. *Am J Physiol* 246, E426-E429

Fitts RH (1994): Cellular mechanism of muscle fatigue. *Physiol Rev* 74, 49-94

Fletcher WM, Hopkins FG (1907): Lactic acid in amphibian muscle. *J Physiol* 35, 247-309.

Foxdal P, Sjödin B, Sjödin A, Östman B (1990): The validity and accuracy of blood lactate measurements for prediction of maximal endurance running capacity. *Int J Sports Med* 15, 89-95

Friedewald WT, Levy RI, Fredricksson DS (1972): Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without the use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18, 499-522

- Friedman JE**, Sherman WM, Reed MJ, Elton CW, Dohm GL (1990): Exercise-training increases glucose transporter protein GLUT4 in skeletal muscle of obese Zucker (fa/fa) rats. *FEBS Lett* 268, 13-16
- Friedmann B**, Bauer T, Menold E, Bärtsch P (2004): Exercise with the intensity of the individual anaerobic threshold in acute hypoxia. *Med Sci Sports Exerc* 36, 1737-1742
- Frisbee JC** (2001): Impaired dilation of skeletal muscle microvessels to reduced oxygen tension in diabetic obese Zucker rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281, H1568-H1574
- Gaglio G** (1886): Die Milchsäure des Blutes und ihre Ursprungsstätten. *Arch Anat Physiol Abt* 10, 400-414.
- Garcia C**, Goldstein JL, Pathak RK, Anderson RG, Brown MS (1994): Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. *Cell* 76, 865-873
- Garcia N**, Hopkins SR, Powell FL (2000): Intermittent vs continuous hypoxia: effects on ventilation and erythropoiesis in humans. *Wilderness Environ Med* 11, 172-179
- Gevers W**, (1977): Generation of protons by metabolic processes in heart cells. *J Mol Cell Cardiol* 9, 867-874
- Giani G**, Janka HU, Hauner H, Standl E, Schiel R, Neu A, Rathmann W, Rosenbauer J (2004): Epidemiologie und Verlauf des Diabetes Mellitus in Deutschland. In: Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG. Scherbaum WA, Lauterbach KW, Renner R (Hrsg.). 1. Auflage. Deutsche Diabetes-Gesellschaft 2000.
- Gladden LB** (2004a): Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 558, 5-30.
- Gladden LB** (2004b): Lactate Metabolism during Exercise. *Med Sport Sci* 46, 152-196.
- Gladden LB** (2008a): A "lactic" perspective on metabolism. *Med Sci Sports Exerc* 40, 477-485
- Gladden LB** (2008b): 200th anniversary of lactate research in muscle. *Exerc Sport Sci Rev* 36, 109-115

Green HJ, Sutton JR, Cymerman A, Young PM, Houston CS (1989): Operation everest II: adaptations in human skeletal muscle. *J Applied Physiol* 66, 2454-2461

Green HJ, Sutton JR, Wolfel EE, Reeves JT, Butterfield GE, Brooks GA (1992): Altitude acclimatization and energy metabolic adaptations in skeletal muscle during exercise. *J Appl Physiol* 73, 2701-2708

Green HJ, Halestrap A, Mockett C, O'Toole D, Grant S, Ouyang J (2002): Increases in muscle MCT are associated with reductions in muscle lactate after a single exercise session in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282, E154- E160

Green HJ, Bombardier E, Duhamel TA, Stewart RD, Tupling AR, Ouyang J (2008a): Metabolic, enzymatic and transporter responses in human muscle to consecutive days of exercise and recovery. *Am J Physiol* 295, R1238-R1250

Green HJ, Duhamel TA, Holloway GP, Moule JW, Ranney DW, Tupling AR, Ouyang J (2008b): Rapid upregulation of Glut-4 and MCT-4 expression during 16 h of heavy intermittent cycle exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 294, R594-R600

Green HJ, Duhamel TA, Smith IC, Rich SM, Thomas MM, Ouyang J, Yau JE (2011): Muscle metabolic, enzymatic and transporter responses to a session of prolonged cycling. *Eur J Appl Physiol* 111, 827-837

Halestrap AP, Denton RM (1974): Specific inhibition of pyruvate transport in rat liver mitochondria and human erythrocytes by alpha-cyano-4-hydroxycinnamate. *Biochem J* 138, 313-316

Halestrap AP (1976): Transport of pyruvate and lactate into human erythrocytes. Evidence for the involvement of the chloride carrier and a chloride-independent carrier. *Biochem J* 15, 193-207

Halestrap AP, Meredith D (2004): The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 447, 619-628

van Hall G (2007): Counterpoint: the lactate paradox does not occur during exercise at high altitude. *J Appl Physiol* 102, 2399-23401

van Hall G, Stromstad M, Rasmussen P, Jans O, Gam C, Quistorff B, Secher NH, Nielsen HB (2009): Blood lactate is an important energy source for the human brain. *J Cereb Blood Flow Metab* 29, 1121-1129

van Hall G (2010): Lactate kinetics in human tissues at rest and during exercise. *Acta Physiol* 199, 499-508

Halle M, Kemmer F, Stumvoll M, Thurm U, Zimmer P (2008): Körperliche Aktivität und Diabetes Mellitus. In: Scherbaum W, Haak T, eds.: Evidenzbasierte Leitlinie der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) 1-37.

Harley YX, Kohn TA, Gibson AC, Noakes TD, Collins M (2009): Skeletal muscle monocarboxylate transporter content is not different between black and white runners. *Eur J Appl Physiol* 105, 623-632

Harris RT, Dudley GA (1989): Exercise alters the distribution of ammonia and lactate in blood. *J Appl Physiol* 66, 313-317

Hashimoto T, Masuda S, Taguchi S, Brooks GA (2005): Immunohistochemical analysis of MCT1, MCT2 and MCT4 expression in rat plantaris muscle. *J Physiol* 567, 121-129

Hashimoto T, Hussien R, Brooks GA (2006): Colocalisation of MCT1, CD147, and LDH in mitochondrial inner membrane of L6 muscle cells: evidence of a mitochondrial lactate oxidation complex. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 290, E1237-E1244

Hashimoto T, Hussien R, Oommen S, Gohil K, Brooks GA (2007): Lactate sensitive transcription factor network in L6 cells: activation of MCT1 and mitochondrial biogenesis. *FASEB J* 21, 2602-2612

Hashimoto T, Brooks GA (2008): Mitochondrial Lactate Oxidation Complex and an Adaptive Role for Lactate Production. *Med Sci Sports Exerc* 40, 486-494

Haufe S, Wiesner S, Engeli S, Luft FC, Jordan J (2008): Influences of normobaric hypoxia training on metabolic risk markers in human subjects. *Med Sci Sports Exerc* 40, 1939-1944

Hauner H, Köster I, von Ferber L (2003): Prevalence of diabetes mellitus in Germany 1998-2001- secondary data analysis of a health insurance sample of the AOK in Hessen. *Dtsch Med Wschr* 128, 2632-2637

Hauner H, Buchholz G, Hamann A, Husemann B, Koletzko B, Liebermeister H, Wabitsch M, Westenhöfer J, Wirth A, Wolfram G (2007): Evidenzbasierte Leitlinien. Prävention und Therapie der Adipositas. Deutsche Adipositas-Gesellschaft, Deutsche Diabetes-Gesellschaft, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin, 6

- Hayashi T**, Hirshman MF, Fujii N, Habinowski SA, Witters LA, Goodyear LJ (2000): Metabolic stress and altered glucose transport: activation of AMP-activated protein kinase as a unifying coupling mechanism. *Diabetes* 49, 527-531
- Heck H**, Beneke R (2008): 30 Jahre Laktatschwellen – was bleibt zu tun? *Dtsch Z Sportmed* 59, 297-302
- Hein TW**, Xu W, Kuo L (2006): Dilation of retinal arterioles in response to lactate: role of nitric oxide, guanylyl cyclase, and ATP-sensitive potassium channels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47, 693-699
- Henderson AH**, Craig RJ, Gorlin R, Sonnenblick EH (1969): Lactate and pyruvate kinetics in isolated perfused rat hearts. *Am J Physiol* 217, 1752-1756
- Henry S**, Schneiter P, Jéquier E, Tappy L (1996): Effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on lactate release and local blood flow in subcutaneous adipose tissue of healthy humans. *J Clin Endocrinol Metab* 81, 2891-2895
- Hermansen L** (1981): Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise. In CIBA Foundation Symposium 82 (ed. Porter R, Whelan J, Pitman Medical, London). *Human Muscle Fatigue: Physiological Mechanisms*, 75-88
- Hildebrand A**, Lormes W, Emmert J, Liu Y, Lehmann M, Steinacker JM (2000): Lactate concentration in plasma and red blood cells during incremental exercise. *Int J Sports Med* 21, 463-468
- Hill AV** (1913): The energy degraded in the recovery processes of stimulated muscles. *J Physiol (Lond)* 46, 28-80.
- Hill AV**, Long CNH, Lupton H (1924): Muscular Exercise, Lactic Acid, and the Supply and Utilisation of Oxygen.- Parts I – III. *Proc Roy Soc B* 96, 438-475
- Hochachka PW** (1988): The lactate paradox: analysis of underlying mechanisms. *Ann Sports Med* 4, 184-188
- Holloszy JO**, Narahara HT (1965): Studies of tissue permeability.X. Changes in permeability to 3-methylglucose associated with contraction of isolated frog muscle. *J Biol Chem* 240, 3493-3500
- Holloszy JO** (2005): Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *J Appl Physiol* 99, 338-343

Hoppe W, Lohmann W, Markl H, Ziegler H (1982): *Biophysik*. Springer Verlag, Berlin Heidelberg New York, 471-475

Hoppeler H, Kleinert E, Schlegel C, Claassen H, Howald H, Kayar SR, Cerretelli P (1990): Morphological adaptations of human skeletal muscle to chronic hypoxia. *Int J Sports Med* 11 (Suppl 1), 3-9

Hoppeler H, Vogt M (2001): Muscle tissue adaptations to hypoxia. *J Exp Biol* 204, 3133-3139

Hosogai N, Fukuhara A, Oshima K, Miyata Y, Tanaka S, Seqawa K, Furukawa S, Tochino Y, Komuro R, Matsuda M, Shimomura I (2007): Adipose tissue hypoxia in obesity and its impact on adipocytokine dysregulation. *Diabetes* 56, 901-911

Hsu SM, Raine L, Fanger H (1981): Use of avidin- biotin- peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29, 577-580

Huckabee WE (1956): Control of concentration gradients of pyruvate and lactate across cell membranes in blood. *J Appl Physiol* 9, 163-170

Hunt TK, Aslam RS, Beckert S, Wagner S, Ghani QP, Hussain MZ, Roy S, Sen CK (2007): Aerobically derived lactate stimulates revascularisation and tissue repair via redox mechanism. *Antioxid Redox Signal* 9, 1115-1124

IDF (2007): Leitlinie für die postprandiale Diabeteseinstellung. International Diabetes Federation, Brüssel

Irisawa T (1892): Über die Milchsäure im Blut und Harn. *Z Physiol Chem* 17, 340-352

Jansson E, Dudley GA, Norman B, Tesch PA (1990): Evidence for lactate production by human adipose tissue in vivo. *Acta Physiol Scand* 33, 147-152

Jay DG (1996): Role of band 3 in homeostasis and cell shape. *Cell* 86, 853-854

Jenssen T, Nurjhan N, Consoli A (1990): Failure of substrate-induced gluconeogenesis to increase overall glucose appearance in normal humans. *J Clin Invest* 86, 489-497

Jessen N, Goodyear LJ (2005): Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 99, 330-337

Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M (2001): Induction of HIF-1 α in response to hypoxia is instantaneous. *FASEB J* 15, 1312-1314

Jöbsis FF, Stainsby WN (1968): Oxidation of NADH during contractions of circulated mammalian skeletal muscle. *Respir Physiol* 4, 292-300

Johnson RE, Edwards HT, Dill DB, Wilson JW (1945): Blood as a physicochemical system XIII. The distribution of lactate. *J Biol Chem* 157, 461-473

Johannsson E, Lunde PK, Heddle C, Sjaastad I, Thomas MJ, Bergersen L, Halestrap AP, Blackstad TW, Ottersen OP, Sejersted OM (2001): Upregulation of the cardiac monocarboxylate transporter MCT1 in a rat model of congestive heart failure. *Circulation* 104, 729-734

Juel C, Bangsbo J, Graham T, Saltin B (1990): Lactate and potassium fluxes from human skeletal muscle during and after intense, dynamic, knee extensor exercise. *Acta Physiol Scand* 140, 147-159

Juel C (1997): Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiol Rev* 77, 321-358

Juel C, Halestrap AP (1999): Lactate transport in skeletal muscle – role and regulation of the monocarboxylate transporter. *J Physiol* 517, 633-643

Juel C (2001): Current aspects of lactate exchange: lactate/H⁺ transport in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 86, 12-16

Juel C, Lundby C, Sander M, Calbet JA, van Hall G (2003): Human skeletal muscle and erythrocyte proteins involved in acid-base homeostasis: adaptations to chronic hypoxia. *J Physiol* 548, 639-648

Juel C (2004a): Laktattransport im Skelettmuskel: Trainingsinduzierte Anpassung und Bedeutung bei körperlicher Belastung. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 55, 157-160

Juel C, Holten MK, Dela F (2004b): Effects of strength training on muscle lactate release and MCT1 and MCT4 content in healthy and type 2 diabetic humans. *J Physiol* 556, 297-304

Juel C, Thomsen JJ, Rentsch RL, Lundby C (2007): Effects of prolonged recombinant human erythropoietin administration on muscle membrane transport systems and metabolic marker enzymes. *Eur J Appl Physiol* 102, 41-44

Juel C (2008): Regulation of pH in human skeletal muscle: adaptations to physical activity. *Acta Physiol* 193, 17-24

Kahn CR (1994): Insulin action, diabetogenesis and the cause of type 2 diabetes. *Diabetes* 43, 1066-1073

Kasischke KA, Vishwasrao HD, Fisher PJ, Zipfel WR, Webb WW (2004): Neural activity triggers neuronal oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis. *Science* 305, 99-103

Katayama K, Goto K, Ishida K, Ogita F (2010): Substrate utilization during exercise and recovery at moderate altitude. *Metab Clin Exp* 59, 959-966

Kelley GA, Kelley KS (2007): Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins in adults with type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized-controlled trials. *Public Health* 121, 643-655

Kelly DP, Scarpulla RC (2004): Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 18, 357-368

Kemmer W, Halle M, Stumvoll M, Thurm U, Zimmer P (2009): Diabetes, Sport und Bewegung. *Diabetologie* 4, 183-186

Kennedy JW, Hirshman MF, Gervino EV, Ocel JV, Forse RA, Hoenig SJ, Aronson D, Goodyear LJ, Horton ES (1999): Acute exercise induces GLUT4 translocation in skeletal muscle of normal human subjects with type 2 diabetes. *Diabetes* 48, 1-6

Kennedy KM, Dewhirst MW (2010): Tumor metabolism of lactate: the influence and therapeutic potential for MCT and CD147 regulation. *Future Oncol* 6, 127-148

Kerner W, Brückel J, Böhm BO (2004): Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. In: Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG. Scherbaum WA, Lauterbach KW, Joost HG (Hrsg.). 1. Auflage. Deutsche Diabetes-Gesellschaft 2001.

Kido Y, Nakae J, Accili D (2001): The insulin receptor and its targets. *J Clin Endocrin Metab* 86, 972-979

Kim JW, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV (2006): HIF-1 mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab* 3, 177-185

Kingwell BA, Formosa M, Muhlmann M, Bradley SJ, McConell GK (2003): Type 2 diabetic individuals have impaired leg blood flow responses to

exercise: Role of endothelium- dependent vasodilation. *Diabetes Care* 26, 899-904

Kirk P, Wilson MC, Heddle C, Brown MH, Barclay AN, Halestrap AP (2000): CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression. *Eur J Mol Biol Org* 19, 3896-3904

Kline ES, Brandt RB, Laux JE, Spainhour SE, Higgins ES, Roggers KS, Tinsley SB, Waters MG (1986): Localisation of L-lactate dehydrogenase in mitochondria. *Arch Biochem Biophys* 246, 673-680

Knaupp W, Khilnani S, Sherwood J, Scharf S, Steinberg H (1992): Erythropoietin response to acute normobaric hypoxia in humans. *J Appl Physiol* 73, 837-840

Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Polychronidis A, Sivridis E (2005): *Clin Exp Metastasis* 22, 25-30

König D, Deibert P, Dickhuth HH, Berg A (2006): Bewegungstherapie bei Diabetes mellitus Typ II – metabolische Grundlagen und evidenzbasierte Empfehlungen. *Dtsch Z Sportmed* 57, 242-247

Köster I, Hauner H, von Ferber L (2006): Heterogenität der Kosten bei Patienten bei Diabetes mellitus: Die KoDiM-Studie. *Dtsch med Wochenschr* 131, 804-810

Koho NM, Väihkönen LK, Pösö AR (2002): Lactate transport in red blood cells by monocarboxylate transporters. *Equin Vet J* 34, 555-559

Koho NM, Hyyppä S, Pösö AR (2006): Monocarboxylate transporters (MCT) as lactate carriers in equine muscle and red blood cells. *Equin Vet J* 36, 354-358

Kreutz T (2010): Der Einfluss einer sporttherapeutischen Trainingsintervention auf die Dichte der Monocarboxylattransporter in Skelettmuskulatur und Erythrozyten bei nicht-insulinpflichtigen Typ 2 Diabetikern. *Dissertation, Deutsche Sporthochschule Köln*

Laaser U, Wolters P (1989): Public health sciences graduate study at the Bielefeld University in the framework of comparative endeavours. *Soz Präventivmed* 34, 223-226

Larsen JJ, Hansen JM, Olsen NV, Galbo H, Dela F (1997): The effect of altitude hypoxia on glucose homeostasis in men. *J Physiol* 504, 241-249

Lassen UV, Knudsen OS (1968): Direct measurement of membrane potential and membrane resistance of human red cells. *J Physiol* 195, 681-696

Lee AD, Hansen PA, Holloszy JO (1995): Wortmannin inhibits insulin-stimulated but not contraction-stimulated glucose transport activity in skeletal muscle. *FEBS Lett* 361, 51-54

Lee WC, Chen JJ, Ho HY, Hou CW, Liang MP, Shen YW, Kuo CH (2003): Short-term altitude mountain living improves glycemic control. *High Alt Med Biol* 4, 81-91

Leeks DR, Halestrap AP (1978): Chloride-independent transport of pyruvate and lactate across the erythrocyte membrane (proceedings). *Biochem Soc Trans* 6, 1963-1966

Leite TC, Da Silva D, Guimaraes Coelho R, Zancan P, Sola-Penna M (2007): Lactate favours the dissociation of skeletal muscle 6-phosphofructo-1-kinase tetramers down-regulating the enzyme and muscle glycolysis. *Biochem J* 408, 123-130

Leite TC, Coelho RG, Da Silva D, Coelho WS, Marinho-Carvalho MM (2011): Lactate downregulates the glycolytic enzymes hexokinase and phosphofructokinase in diverse tissues from mice. *FEBS Lett* 585, 92-98

Levine BD (2002): Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High Alt Med Biol* 3, 177-193

Lindinger MI, Heigenhauser GJ, McKelvie RS, Jones NL (1992): Blood ion regulation during repeated maximal exercise and recovery in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 262, R126-R136

Lindinger MI, McKelvie RS, Heigenhauser GJ (1995): K⁺ and Lac⁻ distribution in humans during and after high-intensity exercise: role in muscle fatigue attenuation? *J Appl Physiol* 78, 765-777

Lindinger MI, Kowalchuk JM, Heigenhauser JF (2005): Applying physicochemical principles of skeletal muscle acid-base status. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 289, R891-R894

Lindinger MI, Heidenhauser GJ (2008): Counterpoint: Lactic acid is not the only physicochemical contributor to the acidosis of exercise. *J Appl Physiol* 105, 359-361

Lindstrom J, Ilane-Parikka P, Peltonen M, Aunola S, Eriksson JG, Hemio K, Hamalainen H, Harkonen P, Keinanen-Kiukaanniemi S, Laakso M,

Louheranta A, Mannelin M, Paturi M, Sundvall J, Valle TT, Uusitupa M, Tuomilehto J (2006): Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: Follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. *Lancet* 368, 1673-1679.

Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S (1995): Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5' enhancer. *Circ Res* 77, 638-643

Lohmann K (1934): Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatinphosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion. *Biochem Z* 271, 264-277.

Lombardi AM, Fabris R, Bassetto F, Serra R, Leturque A, Federspil G, Girard J, Vettor R (1999): Hyperlactatemia reduces muscle glucose uptake and GLUT-4 mRNA while increasing (E1 α)PDH gene expression in rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 276, E922-E929

Lovejoy J, Mellen B, DiGirolamo M (1990): Lactate generation following glucose ingestion: relation to obesity, carbohydrate tolerance and insulin sensitivity. *Int J Obesity* 14, 843-855

Lovejoy J, Newby FD, Gebhart SS, DiGirolamo M (1992): Insulin resistance in obesity is associated with elevated basal lactate levels and diminished lactate appearance following intravenous glucose and insulin. *Metabolism* 41, 22-27

Lund S, Holman GD, Schmitz O, Pedersen O (1995): Contraction stimulates translocation of glucose transporter GLUT4 in skeletal muscle through a mechanism distinct from that of insulin. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 5817-5821

Lundby C, Van Hall G (2002): Substrate utilization in sea level residents during exercise in acute hypoxia and after 4 Weeks of acclimatization to 4100 m. *Acta Physiol Scand* 176, 195-201

MacDougall JD, Green HJ, Sutton JR, Goates G, Cymerman A, Young P, Houston CS (1991): Operation everest II: structural adaptations in skeletal muscle in response to extreme simulated altitude. *Acta Physiol Scand* 142, 421-427

Mackenzie R, Maxwell N, Castle P, Brickley G, Watt P (2011a): Acute hypoxia and exercise improve insulin sensitivity (S(I) (2)) in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 27, 94-101

- Mackenzie R**, Elliott B, Maxwell N, Brickley G, Watt P (2011b): The effect of hypoxia and work intensity on insulin resistance in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*
- Mader A**, Liesen H, Heck H, Philippi H, Rost R, Schürch P, Hollmann W (1976): Zur Beurteilung der sportartspezifischen Ausdauerleistungsfähigkeit im Labor. *Sportarzt Sportmed* 4+6, 80-88.
- Manning-Fox JE**, Meredith D, Halestrap AP (2000): Characterisation of human monocarboxylate transporter 4 substantiates its role in lactic acid efflux from skeletal muscle. *J Physiol* 529, 285-293
- Manalo DJ**, Rowan A, Lavoie T, Natarajan L, Kelly BD, Ye SQ, Garcia JG, Semenza GL (2005): Transcriptional regulation of vascular endothelial cell responses to hypoxia by HIF-1. *Blood* 105, 659-669
- Marin P**, Rebuffe-Scrive M, Smith U, Björntorp P (1987): Glucose uptake in human adipose tissue. *Metabolism* 36, 1154-1160
- Mazzeo RS** (2008): Physiological responses to exercise at altitude. *Sports Med* 38, 1-8
- McClelland GB**, Brooks GA (2002): Changes in MCT1, MCT4 and LDH expression are tissue specific in rats after long-term hypobaric hypoxia. *J Appl Physiol* 92, 1573-1584
- McCord JM** (1985): Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312, 159-163
- McCullagh KJ**, Poole RC, Halestrap AP, O'Brien M, Bonen A (1996): Role of the lactate transporter (MCT1) in skeletal muscles. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 271, E143-E150
- McCullagh KJ**, Poole RC, Halestrap AP, Tipton KF, O'Brien M, Bonen A (1997): Chronic electrical stimulation increases MCT1 and lactate uptake in red and white skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 273, E239-E246
- McKelvie RS**, Lindinger MI, Heigenhauser GJ, Jones NL (1991): Contribution of erythrocytes to the control of the electrolyte changes of exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 69, 984-993
- Meerson FZ**, Kopylov IN, Baldenkov GN (1991): Increase of alpha 1-adrenoreactivity of the rat heart in adaptation to periodic hypoxia. *Bull Exp Biol Med* 111, 570-572

- Meredith D**, Bell P, McClure B, Wilkins R (2002): Functional and molecular characterization of lactic acid transport in bovine articular chondrocytes. *Cell Physiol Biochem* 12, 227-234
- Meredith D**, Christian HC (2008): The SLC16 monocarboxylate transporter family. *Xenobiotica* 38, 1072-1106
- Merezhinskaya N**, Fishbein WN (2009): Monocarboxylate transporters: Past, present, future. *Histol Histopathol* 24, 243-264
- Messonnier L**, Kristensen M, Juel C, Denis C (2007): Importance of pH regulation and lactate/H⁺ transport capacity for work production during supramaximal exercise in humans. *J Appl Physiol* 102, 1936-1944
- Metz L**, Sirvent P, Py G, Brun JF, Fedou C, Raynaud E, Mercier J (2005a): Relationship between blood lactate concentration and substrate utilization during exercise in type 2 diabetic postmenopausal women. *Metab Clin Exp* 54, 1102-1107
- Metz L**, Vermaelen M, Lambert K, Broca C, Sirvent P, Raynaud E, Mercier J (2005b): Endurance training increases lactate transport in male Zucker fa/fa rats. *Biochem Biophys Res Comm* 331, 1338-1345
- Meyer T**, Kindermann W (1999): Die maximale Sauerstoffaufnahme VO_{2max}. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 50, 285-286
- Meyerhoff O** (1920): Die Energieumwandlungen im Muskel. I. Über die Beziehungen der Milchsäure zur Wärmebildung und Arbeitsleistung des Muskels in der Anaerobiose. *Pflügers Arch Ges Physiol Mensch Tiere* 182, 232-283.
- Meyerhoff O** (1942): A Symposium on Respiratory Enzymes. Madison, University of Wisconsin Press, xii, 281
- Miyachi M**, Katayama K (1999): Effects of maximal interval training on arterial oxygen desaturation and ventilation during heavy exercise. *Jpn J Physiol* 49, 401-407
- Mohr M**, Krstrup P, Nielsen JJ, Nybo L, Rasmussen MK, Juel C, Bangsbo J (2007): Effect of two different intense training regimens on skeletal muscle ion transport proteins and fatigue development. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 292, R1594-R1602
- Morgan HE**, Randle PJ, Regen DM (1959): Regulation of glucose uptake by muscle. 3. The effects of insulin, anoxia, salicylate and 2:4-dinitrophenol on

membrane transport and intracellular phosphorylation of glucose in the isolated rat heart. *Biochem J* 73, 573-579

Mori K, Nakaya Y, Sakamoto S, Hayabuchi Y, Matsuoka S, Kuroda Y (1998): Lactate- induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca²⁺-activated K⁺ channels. *J Mol Cell Cardiol* 30, 349-356

Morris ME, Felmler MA (2008): Overview of the proton-coupled MCT (SLC16A) family of transporters: characterization, function and role in the transport of the drug of abuse gamma-hydroxybutyric acid. *AAPS J* 10, 311-321

Mueckler M, Caruso C, Baldwin SA, Panico M, Blench I, Morris HR, Allard WJ, Lienhard GE, Lodish HF (1985): Sequence and structure of a human glucose transporter. *Science* 229, 941-945

Mulac K (2005): Pathomechanismus der Atherosklerose bei Diabetes mellitus. *J Kardiol* 12, 9-14

Muza SR (2007): Military applications of hypoxic training for high-altitude operations. *Med Sci Sports Exerc* 39, 1625-1631

Narumi K, Furugen A, Kobayashi M, Otake S, Itagaki S, Iseki K (2010): Regulation of monocarboxylate transporter 1 in skeletal muscle cells by intracellular signaling pathways. *Biol Pharm Bull* 33, 1568-1573

Nesher R, Karl IE, Kipnis DM (1985): Dissociation of effects of insulin and contraction on glucose transport in rat epitrochlearis muscle. *Am J Physiol* 249, C226-C232

Neubauer JA (2001): Invited review: physiological and pathophysiological responses to intermittent hypoxia. *J Appl Physiol* 90, 1593-1599

Neubauer SM (2010): Auswirkungen hypobarer Hypoxie auf das „Metabolische Syndrom“. *Dissertation*. Ludwig-Maximilians-Universität München

Nielsen OB, de Paoli F, Overgaard K (2001): Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle. *J Physiol* 536, 161-166

Niklasson M, Holmäng A, Sjöstrand M, Strindberg L, Lönnroth P (2000): Muscle glucose uptake is effectively activated by ischemia in type 2 diabetic subjects. *Diabetes* 49, 1178-1185

Noshi K (1929): Studien über die Milchsäure im Blute. *J Biochem* 11, 307-331

- Özand P**, Narahara HAT, Cori CF (1962): Studies of tissue permeability. VIII. The effect anaerobiosis on glucose uptake in frog Sartorius muscle. *J Biol Chem* 237, 3037-3043
- Ohlson LO**, Larsson B, Björntorp P, Eriksson H, Svärdsudd K, Welin L, Tibblin G, Wilhelmsen L (1988): Risk factors for Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Thirteen and one-half years of follow-up of the participants in a study of Swedish men born in 1913. *Diabetologia* 31, 798-805
- Oltmanns KM**, Gehring H, Rudolf S, Schultes B, Rook S, Schweiger U, Born J, Fehm HL, Peters A (2004): Hypoxia causes glucose intolerance in humans. *Am J Respir Crit Care Med* 169, 1231-1237
- Opitz D** (2011): Der Einfluss einer Ausdauerinterventionsmaßnahme auf die Proteinexpression des Monocarboxylat- Transporters und CD147 im Erythrozyten und der Skelettmuskulatur bei nicht insulinpflichtigen Diabetes Typ- 2- Patienten. *Dissertation, Deutsche Sporthochschule Köln*
- Padilla DJ**, McDonough P, Behnke BJ, Kano Y, Hageman KS, Musch TI, Poole DC (2006): Effects of Type II diabetes on capillary hemodynamics in skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 291, H2439-H2444
- Pagliassotti MJ**, Donovan CM (1990): Role of cell type in net lactate removal by skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 258, E635-E642
- Papandreou I**, Cairns RA, Fontana L, Lim AL, Denko NC (2006): HIF-1 mediates adaptation to hypoxia by actively downregulation mitochondrial oxygen consumption. *Cell Metab* 3, 187-197
- Pasarica M**, Tchoukalova YD, Heilbronn LK, Fang X, Albu JB, Kelley DE, Smith SR, Ravussin E, Look Ahead Adipose Research Group (2009): Differential effect of weight loss on adipocyte size subfractions in patients with type 2 diabetes. *Obesity (Silver Spring)* 17, 1976-1978
- Pasteur L** (1861): Experiences et vues nouvelles sur la nature des fermentations. *Comp Rend Acad Sci* 52, 1260-1264
- Pasteur L** (1863): Recherches sur putrefaction. *Compt Rend* 56, 1189-1194
- Pate E**, Bhimani M, Franks-Skiba K, Cooke R (1995): Reduced effect of pH on skinned rabbit psoas muscle mechanics at high temperature: implications for fatigue. *J Physiol* 486, 689-694
- Pearce FJ**, Connett RJ (1980): Effect of lactate and palmitate on substrate utilization of isolated rat soleus. *Am J Physiol* 238, C149-C159

- Pedersen TH**, Nielsen OB, Lamb GD, Stephenson DG (2004): Intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle. *Science* 305, 1144-1147
- Pellerin L**, Magistretti PJ (1994): Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 10625-10629
- Pellerin L**, Bergersen LH, Halestrap AP, Pierre K (2005): Cellular and subcellular distribution of monocarboxylate transporters in cultured brain cells and in the adult brain. *J Neuroscience Res* 79, 55-64
- Perez de Heredia F**, Wood IS, Trayhurn P (2010): Hypoxia stimulates lactate release and modulates monocarboxylate transporter (MCT1, MCT2, and MCT4) expression in human adipocytes. *Plügers Arch* 459, 509-518
- Perry CG**, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL (2008): High intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab* 33, 1112-1123
- Perseghin G**, Petersen K, Shulman GI (2003): Cellular mechanism of insulin resistance: potential links with inflammation. *Int J Obes Relat Metab Disord* 27 (Suppl 3), 6-11
- Philp NJ**, Ochrietor JD, Rudoy C, Muramatsu T, Linser PJ (2003): Loss of MCT1, MCT3, and MCT4 expression in the retinal pigment epithelium and neural retina of the 5A11/Basigin null mouse. *Invest Ophthal Vis Sci* 44, 1305-1311
- Philp A**, MacDonald AL, Watt PW (2005): Lactate – a signal coordinating cell and systemic function. *J Exp Biol* 208, 4561-4575
- Pierre K**, Pellerin L, Debernardi R, Riederer BM, Magistretti PJ (2000): Cell-specific localization of monocarboxylate transporters, MCT1 and MCT2, in the adult mouse brain revealed by double immunohistochemical labeling and confocal microscopy. *Neuroscience* 100, 617-627
- Pierre K**, Pellerin L (2005): Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. *J Neurochem* 94, 1-14
- Pilegaard H**, Asp S (1998): Effect of prior eccentric contractions on lactate/H⁺ transport in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 274, E554-E559

Pilegaard H, Domino K, Noland T, Juel C, Hellstein Y, Halestrap AP, Bangsbo J (1999a): Effect of high-intensity exercise training on lactate/H⁺ transport capacity in human skeletal muscle. *Am J Physiol* 276, 255-261

Pilegaard H, Terzis G, Halestrap A, Juel C (1999b): Distribution of the lactate/H⁺ transporter isoforms MCT1 and MCT4 in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 276, E843-E848

Piomelli S, Seaman C (1993): Mechanism of red blood cell aging: relationship of cell density and cell age. *Am J Hematol* 42, 46-52

Ploug T, Stallknecht BM, Pedersen O, Kahn BB, Ohkuwa T, Vinten J, Galbo H (1990): Effect of endurance training on glucose transport capacity and glucose transporter expression in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 259, E778-E786

Poole RC, Halestrap AP (1993): Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *Am J Physiol* 264, 761-782

Poole RC, Halestrap AP (1994): N-terminal sequence analysis of the rabbit erythrocyte lactate transporter suggests identity with the cloned monocarboxylate transport protein MCT1. *Biochem J* 303, 755-759

Poole RC, Sansom CE, Halestrap AP (1996): Studies of the membrane topology of the rat erythrocyte H⁺/lactate cotransporter (MCT1). *Biochem J* 320, 817-824

Posterino GS, Dutka TL, Lamb GD (2001): L(+)-lactate does not affect twitch and titanic responses in mechanically skinned mammalian muscle fibres. *Pflügers Arch* 442, 197-203

Pouyssegur J, Mechta-Grigoriou F (2006): Redox regulation of the hypoxia-inducible factor. *Biol Chem* 387, 1337-1346

Price NT, Jackson VN, Halestrap AP (1998): Cloning and sequencing of four new mammalian monocarboxylate transporter (MCT) homologues confirms the existence of a transporter family with an ancient past. *Biochem J* 329, 321-328

Putman CT, Xu X, Gillies E, MacLean IM, Bell GJ (2004): Effects of strength, endurance and combined training on myosin heavy chain content and fibre-type distribution in humans. *Eur J Appl Physiol* 92, 376-384

Py G, Lambert K, Perez-Martin A, Raynaud E, Prefaud C, Mercier J (2001): Impaired sarcolemmal vesicle lactate uptake and skeletal muscle MCT1 and

MCT4 expression in obese Zucker rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281, E1308-E1315

Py G, Eydoux N, Lambert K, Chapot R, Koulmann N, Sanchez H, Bahi L, Peinnequin A, Mercier J, Bigard AX (2005): Role of hypoxia-induced anorexia and right ventricular hypertrophy on lactate transport and MCT expression in rat muscle. *Metab Clin Exp* 54, 634-644

Quistorff B, Secher NH, Van Lieshout JJ (2008): Lactate fuels the human brain during exercise. *FASEB J* 22, 3443-3449

Qvist V, Hagström-Toft E, Moberg E, Sjöberg S, Bolinder J (2007): Lactate release from adipose tissue and skeletal muscle in vivo: defective insulin regulation in insulin-resistant obese women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292, E709-E714

Rainger JE, Evans DL, Hodgson DR, Rose RL (1995): Distribution of lactate in plasma and erythrocytes during and after exercise in horses. *Br Vet J* 151, 299-310

Randle PJ, Smith GH (1958): Regulation of glucose uptake by muscle.2. The effects of insulin, anaerobiosis and cell poisons on the penetration of isolated rat diaphragm by sugars. *Biochem J* 70, 501-508

Rasmussen HN, Van Hall G, Rasmussen U (2002): Lactate dehydrogenase is not a mitochondrial enzyme in human and mouse vastus lateralis muscle. *J Physiol* 541, 557-580

Rasmussen P, Wyss MT, Lundby C (2011): Cerebral glucose and lactate consumption during cerebral activation by physical activity in humans. *FASEB J* 25, 2865-2873

Räsänen LA, Lampinen KJ, Pösö AR (1995): Responses of blood and plasma lactate and plasma purine concentrations to maximal exercise and their relation to performance in standardbred trotters. *Am J Vet Res* 56, 1651-1656

Rathmann W, Haastert B, Icks A, Löwel H, Meisinger C, Holle R, Giani G (2003): High prevalence of undiagnosed diabetes mellitus in Southern Germany: target populations for efficient screening. The KORA survey 2000. *Diabetologia* 46, 182-189

Raven PB, Potts JT (1998): Cardiovascular responses to exercise and training. In: Harries M, Williams C, Stanish WD, et al. editors. *Oxford Textbook of Sports Medicine*. Oxford: University Press, 32-45

- Reaven GM**, Hollenbeck C, Jeng CY, Wu MS (1988): Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate and insulin for 24 h in patients with NIDDM. *Diabetes* 37, 1020-1024
- Regazzetti C**, Peraldi P, Gremeaux T, Najem-Lendom R, Ben-Sahra I, Cormont M, Bost F, Le Marchand-Brustel Y, Tanti JF, Giorgetti-peraldi S (2009): Hypoxia decreases insulin signaling pathways in adipocytes. *Diabetes* 58, 95-103
- Rentsch RL**, Damsgaard R, Lundby C, Juel C (2006): Effects of darbepoetin injections on erythrocyte membrane transport protein expressions in humans. *J Appl Physiol* 101, 164-168
- Richardson RS**, Noyszewski EA, Kendrick KF, Leigh JS, Wagner PD (1995): Myoglobin O₂ desaturation during exercise: evidence of limited O₂ transport. *J Clin Invest* 96, 1916-1926
- Richardson RS**, Duteil S, Wary C, Wray DW, Hoff J, Carlier PG (2006): Human skeletal muscle intracellular oxygenation: the impact of ambient oxygen availability. *J Physiol* 571, 415-424
- Richter EA**, Garetto LP, Goodman MN, Ruderman NB (1982): Muscle glucose metabolism following exercise in the rat. Increased sensitivity to insulin. *J Clin Invest* 69, 785-793
- Robergs RA**, Amann M (2003): Belastungsbedingte metabolische Azidose: Woher kommen die Protonen? *Österr J Sportmed* 3, 11-25
- Roberts AC**, Butterfield GE, Cymerman A, Reeves JT, Wolfel EE, Brooks GA (1996): Acclimatization to 4,300-m altitude decreases reliance on fat as a substrate. *J Appl Physiol* 81, 1762-1771
- Roos A** (1975): intracellular pH and distribution of weak acids across cell membranes. A study of D- and L-lactate and of DMO in rat diaphragm. *J Physiol* 249, 1-25
- Rost R** (1995): Sport- und Bewegungstherapie bei inneren Erkrankungen. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln
- Roth DA** (1991): The sarcolemmal lactate transporter: transmembrane determinants of lactate flux. *Med Sci Sports Exerc* 23, 925-934
- Russel RR**, Van Nguyen TB, Mrus JM (1992): Fasting and lactate unmask insulin responsiveness in isolated working rat heart. *Am J Physiol* 263, E556-E561

Wing RR (2010): Long-term effects of a lifestyle intervention on weight and cardiovascular risk factors in individuals with type 2 diabetes mellitus: four-year results of the Look AHEAD trial. *Arch Intern Med* 170, 1566-1575

Sahlin K (1992): Metabolic factors in fatigue. *Sports Med* 13, 99-107

Sahlin K, Fernström M, Svensson M, Tonkonogi M (2002): No evidence of an intracellular lactate shuttle in rat skeletal muscle. *J Physiol* 541, 569-574

Saini V (2010): Molecular mechanism of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 15, 68-75

Sakamoto K, Goodyear LJ (2002): Invited review: intracellular signaling in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* 93, 369-383

Saltiel AR, Kahn CR (2001): Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414, 799-806

Saltin B (1996): Exercise and the environment: focus on altitude. *Res Q Exerc Sport* 67 (Suppl 3), 1-10

Sandqvist MM, Eriksson JW, Jansson PA (2001): Increased lactate release per fat cell in normoglycemic first-degree relatives of individuals with type 2 diabetes. *Diabetes* 50, 2344-2348

Scheele CW (1780): in Benninga H (1990): A History of Lactic Acid Making: A Chapter in the History of Biotechnology. Boston MA, Kluwer Academic Publishers.

Schmidt W, Eckardt KU, Hilgendorf A, Strauch S, Bauer C (1991): Effects of maximal and submaximal exercise under normoxic and hypoxic conditions on serum erythropoietin level. *Int J Sports Med* 12, 457-461

Schmidt W, Maasen N, Trost F, Böning D (1988): Training induced effects on blood volume, erythrocyte turnover and hemoglobin oxygen binding properties. *Eur J Appl Physiol* 57, 490-498

Schrader J (2001): Risiko hoher Blutdruck. H. Hoffmann GmbH Verlag, Berlin

Schwab S, Suter S, Müller B, Diem P (2005): Orale Antidiabetika heute – Substanzen, Indikationen, Perspektiven. *Schweiz Med Forum* 5, 993-999

Schofield CJ, Ratcliffe PJ (2004): Oxygen sensing by HIF hydroxylases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 5, 343-354

Semenza GL, Wang GL (1992): A nuclear factor induced by hypoxia via de novo protein synthesis binds to the human erythropoietin gene enhancer at a site required for transcriptional activation. *Mol Cell Biol* 12, 5447-5454

Semenza GL (2002): Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Pharmacol* 64, 993-998

Semenza GL (2010): HIF1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 20, 51-56

Serebrovskaya TV (2002): Intermittend hypoxia research in the former soviet union and the commonwealth of independent states: history and review of the concept and selected applications. *High Alt Med Biol* 3, 205-221

Seufert J, Weir GC, Habener JF (1998): Differential expression of the insulin gene transcriptional repressor cca/enhancer-binding protein beta and transactivator islet duodenum homeobox-1 in rat pancreatic beta cells during the development of diabetes mellitus. *J Clin Invest* 101, 2528-2539

Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornborstel H, Waller HD (1992): Lehrbuch der Inneren Medizin. Thieme-Verlag, 131-145.

Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C (2004): Physical activity/exercise and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 27, 2518-2539.

Sigal RJ, Kenny GP, Wasserman DH, Castaneda-Sceppa C, White RD (2006): Physical activity/exercise and type 2 diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 29, 1433-1438.

Sigal RJ, Kenny GP, Boule NG, Wells GA, Prudhomme D, Fortier M, Reid R,D, Tulloch H, Coyle D, Phillips P, Jennings A, Jaffey J (2007): Effects of aerobic and resistive training on glucose disposal and skeletal muscle metabolism in older men. *Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 61, 480-487.

Silva JL, Giannocco G, Furuya DT, Lima GA, Moraes PA, Nachev S, Bordin S, Britto LR, Nunes MZ, Machado UF (2005): NF-kappaB, MEF2A, MEF2D, and HIF1- α involvement on insulin- and contraction-induced regulation of GLUT4 gene expression in soleus muscle. *Mol Cell Endocrinol* 240, 82-93

Singh PP, Mahadi F, Roy A, Sharma P (2009): Reactive oxygen species, reactive nitrogen species and antioxidants in etiopathogenesis of diabetes mellitus type-2. *Ind J Clin Biochem* 24, 324-342

Skelton MS, Kremer DE, Smith EW, Gladden LB (1995): Lactate influx into red blood cells of athletic and nonathletic species. *Am J Physiol* 268, R1121-R1128

Skelton MS, Kremer DE, Smith EW, Gladden LB (1998): Lactate influx into red blood cells from trained and untrained human subjects. *Med Sci Sports Exerc* 30, 536-542

Smith EW, Skelton MS, Kremer DE, Pascoe DD, Gladden LB (1997a): Lactate distribution in the blood during progressive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 29, 654-660

Smith JA, Telford RD, Kolbuch-Braddon M, Weidemann MJ (1997b): Lactate/H⁺ uptake by red blood cells during exercise alters their physical properties. *Eur J Appl Physiol* 75, 54-61

Snowling NJ, Hopkins WG (2006): Effects of different modes of exercise training on glucose control and risk factors for complications in type 2 diabetic patients: a meta-analysis. *Diabetes Care* 29, 2518-2527

Sola-Penna M (2008): Metabolic Regulation by Lactate. *IUBMB Life* 60, 605-608

Sprague RS, Goldmann D, Bowles EA, Achilleus D, Stephenson AH, Ellis CG, Ellsworth ML (2010): Divergent effects of low- O₂ tension and iloprost on ATP release from erythrocytes of humans with type 2 diabetes: implications for O₂ supply to skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 299, H566-H573

Stanley WC (1991): Myocardial lactate metabolism during exercise. *Med Sci Sports Exerc* 23, 920-924

Stewart PA (1983): Modern quantitative acid-base chemistry. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 1444-1461

Steinacker JM, Wang L, Lormes W, Reißnecker S, Liu Y (2002): Strukturanpassungen des Skelettmuskels auf Training. *Dtsch Z Sportmed* 53, 354-360

Stimpel M (2001): Arterielle Hypertonie. Differentialdiagnose und -therapie. 2. Auflage. Steinkopff Verlag, Darmstadt

Stratton IM, Adler AI, Neil HA, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR (2000): Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 321, 405-412

- Tannheimer M**, Fusch C, Böning D, Thomas A, Engelhardt M, Schmidt R (2010): Changes of hematocrit and hemoglobin concentration in the cold himalayan environment in dependence on total body fluid. *Sleep Breath* 14, 193-199
- Tasali E**, Mokhlesi B, Van Cauter E (2008): Obstructive sleep apnea and type 2 diabetes: interacting epidemics. *Chest* 133, 496-506
- Taylor CT** (2008): Mitochondria and cellular oxygen sensing in the HIF pathway. *Biochem J* 409, 19-26
- Thomas C**, Perrey S, Lambert K, Hugon G, Mornet D, Mercier J (2005): Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *J Appl Physiol* 98, 804-809
- Thomas C**, Bishop D, Moore-Morris T, Mercier J (2007): Effects of high-intensity training on MCT1, MCT4, and NBC expressions in rat skeletal muscles: influence of chronic metabolic alkalosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 293, E916-E922
- Thomas D**, Elliott E, Naughton G (2006): Exercise for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. Chichester, UK. Wiley Issue 3
- Thorburn AW**, Gumbiner B, Bulacan F, Wallace P, Henry RR (1990): Intracellular glucose oxidation and glycogen synthase activity are reduced in non-insulin-dependent (type II) diabetes independent of impaired glucose uptake. *J Clin Invest* 85, 522-529
- Timmons JA** (2011): Variability in training- induced skeletal muscle adaptation. *J Appl Physiol* 110, 846-853
- Tonouchi M**, Hatta H, Bonen A (2002): Muscle contraction increases lactate transport while reducing sarcolemmal MCT4, but not MCT1. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282, E1062-E1069
- Trabold O**, Wagner S, Wicke C, Scheuenstuhl H, Hussain MZ, Rosen N, Seremetiev A, Becker HD, Hunt TK (2003): Lactate and oxygen constitute a fundamental regulatory mechanism in wound healing. *Wound Repair Regen* 11, 504-509
- Trappe HJ**, Löllgen H (2000): Leitlinien zur Ergometrie. *Z Kardiol* 89, 821-837

Trimmer JK, Schwarz JM, Casazza GA, Horning MA, Rodriguez N, Brooks GA (2002): Measurement of gluconeogenesis in exercising men by mass isotopomer distribution analysis. *J Appl Physiol* 93, 233-241

Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M (2001): Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *The New England Journal of Medicine* 344, 1343-1350

Ullah MS, Davies AJ, Halestrap AP (2006): The plasma membrane lactate transporter MCT4, but not MCT1, is up-regulated by hypoxia through a HIF-1 α -dependent mechanism. *J Biol Chem* 281, 9030-9037

Väihkönen LK, Pösö AR (1998): Interindividual variation in total and carrier-mediated lactate influx into red blood cells. *Am J Physiol* 274, R1025-R1030

Väihkönen LK, Hyypä S, Reeta Pösö A (1999): Factors affecting accumulation of lactate in red blood cells. *Equine Vet J Suppl* 30, 443-447

Väihkönen LK, Heinonen OJ, Hyypä S, Nieminen M, Pösö AR (2001): Lactate-transport activity in RBCs of trained and untrained individuals from four racing species. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281, R19-R24

Vendsborg PB, Bach-Mortensen N (1977): Fat cell size and blood lactate in humans. *Scand J Clin Lab Invest* 37, 317-320

Vettor R, Lombardi AM, Fabris R, Pagano C, Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Federspil G, Jeanrenaud B (1997): Lactate infusion in anesthetized rats produces insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Metabolism* 46, 684-690

Vlassenko AG, Rundle MM, Raichle ME, Mintun MA (2006): Regulation of blood flow in activated human brain by cytosolic NADH/NAD⁺ ratio. *Proc Natl Acad Sci USA* 7, 1964-1969

Vogt M, Montagne J, Hoppeler H (2005): Live low – train high: muskuläre Aspekte und Leistungsfähigkeit. *Schweiz Zeitschr Sportmed Sportraum* 47, 125-128

Wagner PD (2012): Muscle intracellular oxygenation during exercise: optimization for oxygen transport, metabolism, and adaptive change. *Eur J Appl Physiol* 112, 1-8

Wahl P, Frese S, Zinner C, Lenzen E, Mester J, Bloch W (2010a): Determination of lactate influx rates into erythrocytes after maximal exercise. *German Research Centre of Elite Sport Cologne-eJournal* 1, 24-35

Wahl P, Zinner C, Yue Z, Bloch W, Mester J (2010b): Warming-up affects performance and lactate distribution between plasma and red blood cells. *J Sports Sci Med* 9, 1-9

Wang GL, Semenza GL (1995): Purification and characterisation of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 270, 1230-1237

Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL (1995): Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 5510-5514

Wang Y, Tonouchi M, Miskovic D, Hatta H, Bonen A (2003): T₃ increases lactate transport and the expression of MCT4, but not MCT1, in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285, E622-E628

Warburg O, Posener K, Negelein E (1924): Über den Stoffwechsel der Karzinomzelle. *Biochem Zeitschr* 152, 309-344

Watts DJ, Randle PJ (1967): Evidence for the existence of a pyruvate permease in rat-heart muscle. *Biochem J* 104, 51

West JB (2007): Point: the lactate paradox does/ does not occur during exercise at high altitude. *J Appl Physiol* 102, 2398-2399

Westerman K, McIlroy MB (1964): Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiol* 14, 844-852

Westerblad H, Bruton JD, Lännergren J (1997): The effect of intracellular pH on contractile function of intact, single fibres of mouse muscle declines with increasing temperature. *J Physiol* 500, 193-204

Westerblad H, Allen DG, Lännergren J (2002): Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause? *News Physiol Sci* 17, 17-21

Westhoff N (2010): Kardiovaskuläre Effekte eines aeroben Ausdauertrainings bei Patienten mit isolierter systolischer Hypertonie und Patienten unter Betablockade. *Dissertation. Charité – Universitätsmedizin Berlin*.

Weyer C, Begardus C, Mott DM, Pratley RE (1999): The natural history of insulin secretion dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104, 787-794

Wheeler TJ (1988): Translocation of glucose transporters in response to anoxia in heart. *J Biol Chem* 263, 19447-19454

White MF (2003): Insulin signaling in health and disease. *Science* 302, 1710-1721

Williamson JR (1962): Effects of insulin and diet on the metabolism of L(+)-lactate and glucose by the perfused rat heart. *Biochem J* 83, 377-383

Williamson JR , Chang K, Frangos M, Hasan K, Ido Y, Kawamura T, Nyengaardt JR, Van Den Enden M, Kilo C, Tilton RG (1993): Hyperglycemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes* 42, 801-813

Wilson MC, Jackson VN, Hedle C, Price NC, Pilegaard H, Juel C, Bonen A, Montgomery I, Hutter OF, Halestrap AP (1998): Lactic acid efflux from white skeletal muscle is catalysed by the monocarboxylate transporter MCT3. *J Biol Chem* 273, 15920-15926

Wilson MC, Meredith D, Bunnun C, Sessions RB, Halestrap AP (2009): Studies on the DIDS-binding site of monocarboxylate transporter 1 suggest a homology model of the open conformation and a plausible translocation cycle. *J Biol Chem* 284, 20011-20021

Winder WW, Hardy DG (1999): AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol* 277, E1-E10

Wing RR, Rosen RC, Fava JL, Bahnson J, Brancati F, Gendrano IN, Kitabchi A, Schneider SH, Wadden TA (2010): Effects of weight loss intervention on erectile function in older men with type 2 diabetes in the Look AHEAD trial. *J Sex Med* 7, 156-165

Wisemann RW, Beck TW, Chase PB (1996): Effect of intracellular pH on force development depends on temperature in intact skeletal muscle from mouse. *Am J Physiol* 271, C878-C886

Woodbury JW (1965): The cell membrane: ionic and potential gradients and active transport. *Physiology and Biophysics*, 1-25

Wright DC, Hucker KA, Holloszy JO, Han DH (2004): Ca²⁺ and AMPK both mediate stimulation of glucose transport by muscle contraction. *Diabetes* 53, 330-335

Yeh JI, Gulve EA, Rameh L, Birnbaum MJ (1995): The effects of wortmannin on rat skeletal muscle. Dissociation of signaling pathways for insulin- and contraction-activated hexose transport. *J Biol Chem* 270, 2107-2111

Ye J (2009): Emerging role of adipose tissue hypoxia in obesity and insulin resistance. *Int J Obes* 33, 54-66

Yoshida Y, Holloway GP, Ljubcic V, Hatta H, Spriet LL, Hood DA, Bonen A (2007): Negligible direct lactate oxidation in subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria obtained from red and white rat skeletal muscle. *J Physiol* 582, 1317-1335

Youn JH, Gulve EA, Holloszy JO (1991): Calcium stimulates glucose transport in skeletal muscle by a pathway independent of contraction. *Am J Physiol* 260, C555-C561

Yu AY, Frid MG, Shimoda LA, Wiener CM, Stenmark K, Semenza GL (1998): Temporal, spatial, and oxygen-regulated expression of hypoxia-inducible factor-1 in the lung. *Am J Physiol* 275, 818-826

Zanuso S, Jimenez A, Pugliese P, Corigliano G, Balducci S (2010): Exercise for the management of type 2 diabetes: a review of the evidence. *Acta Diabetol* 47, 15-22

Zierath JR, Krook A, Wallberg-Henriksson H (1998): Insulin action in skeletal muscle from patients with NIDDM. *Mol Cell Biochem* 182, 153-160

Zinner C, Wahl P, Achtzehn S, Sperlich B, Mester J (2011): Effects of bicarbonate ingestion and high intensity training on lactate and H⁺-ion distribution in different blood compartments. *Eur J Appl Physiol* 111, 1641-1648

8 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosindiphosphat
AE1	Anionen-Austauscher 1
AG	Ausdauergruppe
AKT	Proteinkinase B
Aqua dest	destilliertes Wasser
AMPK	Adenosinmonophosphat-Proteinkinase
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body-Mass-Index
BSA	Bovine Serum Albumin
C	Kohlenstoff
Ca	Kalzium
ca.	circa
CA	Karboanhydrase
CaMK	calmodulin-dependent protein kinase
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CD147	cluster of differentiation 147
Cl	Chlor
cm	Zentimeter
COOH	Carboxylgruppe
COPD	chronic obstructive pulmonary disease

Abkürzungsverzeichnis

COX	cytochrome-c-oxidase
d	Tag
DAB	Diaminobenzidin
DDG	Deutsche Diabetes Gesellschaft
dl	Deziliter
DSHS	Deutsche Sporthochschule Köln
DT2	Diabetes-mellitus-Typ-2
EIH	belastungsinduzierte Hypoxämie
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoff-Monoxyd-Synthase
EPO	Erythropoetin
et al.	und andere
fl	Femtoliter
G	Zentrifugalbeschleunigung
GAB	grb-2 associated binder
GAM	Goat Anti-Mouse
GAR	Goat Anti-Rabbit
GLUT	Glukosetransporter
GRB	growth factor receptor-bound protein
h	Stunde
H ⁺	Wasserstoff-Ion
Hb	Hämoglobin
HCO ₃	Bikarbonat
H ₂ O	Wasser

Abkürzungsverzeichnis

H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HCL	Chlorwasserstoff
HDL	High Density Lipoprotein
HIF	Hypoxia-inducible-Factor
HIT	high intensity training
Hkt	Hämatokrit
hPa	hekto-Pascal
HRP	Horseradish Peroxidase
IH	intermittierende Hypoxie
IHC	Immunhistochemische Kontrolle
IHT	intermittierendes Hypoxietraining
IRS	Insulin-Rezeptor-Substratkomplex
KDa	kilo-Dalton
Kg	Kilogramm
Km	Michaelis-Menten-Konstante
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
LL-TH	LiveLow-TrainHigh
LOD	Laktatoxidase
LOK	Laktatoxidationskomplex
LR	Laktatratio
M	Molarität
m	Meter
m ²	Quadratmeter

Abkürzungsverzeichnis

M.	musculus
MAPK	mitogen-activated protein-kinase
max.	maximal
MCT	Monocarboxylattransporter
MHC	myosin heavy chain
min.	minimal
Min	Minute
mio	Million
ml/kg/min	Mililiter pro Kilogramm pro Minute
mmol/L	Millimol pro Liter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mRNA	messenger-ribonuclein-acid
mV	Millivolt
n	Anzahl
NAD	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid
NBC	Natrium-Bikarbonat-Transporter
NGS	Normal-Goat-Serum
NIDDM	non-insulin-dependent-diabetes-mellitus
N	Stickstoff
NO	Stickstoffmonoxyd
O	Sauerstoff
OGTT	oraler Glukosetoleranztest
p	Signifikanzniveau
PB	Phosphatebuffer

Abkürzungsverzeichnis

PBS	Phosphate buffered saline solution
PCMBS	p-chlormercurobenzolsulfat
PDH	Pyruvatdehydrogenase
PDK	Pyruvatdehydrogenase-Kinase
PFA	Paraformaldehyd
PFK	Phosphofruktokinase
PGC	peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator
pH-Wert	Negativer dekadischer Logarithmus der H ⁺ -Ionenkonzentration
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PKA	Proteinkinase A
PKB	Proteinkinase B
PKC	Proteinkinase C
PO ₂	Sauerstoffpartialdruck
RER	respiratory-exchange-ratio
ROS	reaktive Sauerstoff-Spezies
SD	Standard Deviation
Sek.	Sekunden
SHC	src-homology-collagen
SID	strong-ion-difference
sog.	sogenannten
Std.	Stunden
Submax.	submaximal
Tab.	Tabelle
TBS	Tris-buffered saline

Abkürzungsverzeichnis

T1	Entnahmezeitpunkt 1
U1	Voruntersuchung
U2	Nachuntersuchung
U/min	Umdrehungen je Minute
USA	United States of America
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VO _{2max}	maximale Sauerstoffaufnahme
VO _{2peak}	maximale Sauerstoffaufnahme am Ende einer Belastung
W	Watt
WHO	World Health Organisation
w.o.	wie oben
z.B.	zum Beispiel
°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer

9 Abbildungsverzeichnis

Abb.	Bezeichnung	Seite
1	Die Laktatdehydrogenasereaktion	5
2	Schematische Darstellung des MCT1/MCT4 und CD147	10
3	Schematische Darstellung des Laktat-Shuttle	24
4	Schematische Darstellung unterschiedlicher Signalwege zur GLUT4-Translokation	43
5	Ablauf der Diabetes-Typ-2 Studien	50
6	Immunhistochemische Kontrolle (IHC) der Erythrozyten	60
7	Immunhistochemische MCT1-Färbung der Erythrozyten	60
8	Immunhistochemische Kontrolle (IHC) der Muskelfasern	65
9	Immunhistochemische Färbung der Muskelfasern	65
10	Abb.9 nach Bearbeitung der Artefakte	67
11	Darstellung der gefärbten Muskelfaserschnitte mit dem Grenzwert 245 DU	68
12	Darstellung der gefärbten Muskelfaserschnitte mit dem Schwellenwert 175 DU	69
13	Immunhistochemische Färbung der MHC1-Muskelfasern	70
14	Interventionsplan der Hypoxiegruppe	77
15	Struktur einer Trainingseinheit der Hypoxiegruppe	77
16	Darstellung des systolischen Ruhe-Blutdruckes	81
17	Darstellung des diastolischen Ruhe-Blutdruckes	82
18	Darstellung der Serumglukose	84
19	Darstellung der Leistung bei 2 mmol/l Laktat	89
20	Darstellung der Leistung bei 4 mmol/l Laktat	90
21	Darstellung der maximalen Leistung	94
22	Darstellung der VO_{2peak}	95
23	Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte im Sarkoplasma	97

Abbildungsverzeichnis

24	Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte im Sarkolemm	98
25	Darstellung der prozentualen Änderung der MCT4-Dichte im Sarkoplasma	99
26	Darstellung der prozentualen Änderung der MCT4-Dichte im Sarkolemm	100
27	Darstellung der prozentualen Anteile (MHC1-MHC2) der MHC1	102
28	Darstellung der prozentualen Anteile (MHC1-MHC2) der MHC2	103
29	Darstellung der prozentualen Änderung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten	106
30	Darstellung der MCT1-Dichte in den Erythrozyten bei der Belastungsuntersuchung	108
31	Darstellung der Laktatratio bei der Belastungsuntersuchung	110

Lebenslauf

Lebenslauf

Name		Edward Lenzen
Geburtsdatum		18.01.1958
Geburtsort		Euskirchen
Staatsangehörigkeit		Deutsch
Schulbildung	1964 - 1967	Grundschule Stephan-Lochner in Köln
	1967 - 1977	Apostel-Gymnasium in Köln Abschluss Abitur
Studium	1978 - 1983	Deutsche Sporthochschule Köln Vordiplom
Zivildienst	1983 - 1985	Klinik Roderbirken LVA Leichlingen
Studium	1985 - 1989	Deutsche Sporthochschule Köln Abschluss Diplom-Sportlehrer
	1990 - 1993	Fernuniversität Hagen Zusatzstudium Sportökonomie
	2004 - 2012	Deutsche Sporthochschule Köln Promotionsstudium Abschluss Doktor der Sportwissenschaft

Köln, den 24.01.2012 Edward Lenzen