

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin  
Der Deutschen Sporthochschule Köln  
Abteilung Molekulare und Zelluläre Sportmedizin  
Geschäftsführender Leiter: Universitätsprofessor Dr. med. W. Bloch

Prof. Dr. W. Bloch

Auswirkungen eines Hypoxietrainings auf die  
migratorischen Eigenschaften von  
Mesenchymalen Stammzellen  
und die physiologische Leistungsfähigkeit

Inaugural Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Hohen Medizinischen Fakultät  
der Universität zu Köln

vorgelegt von  
Markus de Marées  
aus Hannover

Promoviert am 18. November 2009

Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität zu Köln

Druckjahr: 2009

Druck und Verarbeitung : copy team cologne GmbH, Köln



---

Die in dieser Arbeit angegebenen Experimente sind nach entsprechender Anleitung durch Frau Privatdozentin Dr. A. Schmidt von mir selbst ausgeführt worden.

---

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. W. Bloch danke ich für die Überlassung des interessanten Themas, seine Geduld bei der Betreuung, sein blitzschnelles Korrekturlesen der Manuskripte und die Möglichkeit diese Dissertation, am Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin Abteilung Molekulare und Zelluläre Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln, schreiben zu dürfen.

Hier gilt mein Dank den Mitgliedern der Arbeitsgruppe Mesenchymale Stammzellen, in besonderem Maße PD. Dr. A. Schmidt, Dr. Carolin Steingen, Annika Voss und Mojgan Ghilav.

Ganz besonders danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. J. Mester für seinen freundschaftlichen Zuspruch, die wertvollen Hinweise und konstruktiven Vorschläge und vor allem für die Nutzung des Labors im Institut für Trainingswissenschaft und Sportinformatik an der Deutschen Sporthochschule Köln, in dem alle Leistungstests dieser Arbeit durchgeführt werden konnten.

Ebenso bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Institutes für ihre wertvolle und ausdauernde Mithilfe, hier vor allem bei, Silvia Achtzehn, Sarah Kunth, Tanja Sommerhäuser, Sonja Tandi, Sebastian Buitrago, Frank Suhr, Patrik Wahl und Christoph Zinner.

Für die freundschaftliche Unterstützung, nicht nur bei der Fertigstellung der Arbeit, bedanke ich mich bei meinen Freunden, Ulf und Kerstin Uteg und Eva Engelmeyer.

Für den aufmunternden Rat und das beruhigende Gefühl, sie jeder Zeit um Rat fragen zu dürfen, bedanke ich mich bei meiner Schwester und Ihrem Mann.

Nicht zu Letzt bedanke ich mich bei meinen Eltern für Ihre Liebe und große Hingabe bei meiner Erziehung, ohne welche meine Ausbildung, das Studium und die Dissertation nicht möglich gewesen wären.

---

Widmung

Meiner Familie

**Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung	1
2	Darstellung des aktuellen Forschungsstands	3
2.1	Anpassungsprozesse unter Hypoxie	3
2.1.1	Akute Anpassung	6
2.1.1.1	Atmung	6
2.1.1.2	Herzfrequenz	7
2.1.2	Chronische Anpassung	9
2.1.2.1	Hypoxie Induzierbarer Faktor -1 (HIF-1)	9
2.1.2.2	Erythropoese	11
2.1.2.3	Muskuläre Anpassung	12
2.2	Hypoxietraining	13
2.3	Stammzellen	20
2.3.1	Stammzellen Grundlagen	20
2.3.2	Mesenchymale Stammzellen (MSC)	24
2.3.2.1	Isolierung von Mesenchymalen Stammzellen	26
2.3.2.2	Differenzierungspotential Mesenchymaler Stammzellen	27
2.3.2.3	Klinische Verwendung Mesenchymaler Stammzellen	28
2.3.2.4	Nischen Mesenchymaler Stammzellen	30
2.3.2.5	Migration Mesenchymaler Stammzellen	31
2.3.3	Assoziierte Wachstumsfaktoren Mesenchymaler Stammzellen	31
2.3.3.1	Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)	31
2.3.3.2	Erythropoetin (EPO)	32
2.3.3.3	Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)	33
3	Material und Methoden	35
3.1	Athleten	35
3.2	Studiendesign	36
3.3	Untersuchungsmethoden	37
3.3.1	Leistungsdiagnostik	37
3.3.1.1	Blutentnahmen/Blutverarbeitung	37
3.3.1.2	Trainingsprotokolle	38
3.3.2	Leistungsdiagnostik	38
3.3.2.1	Spirometrie	38
3.3.2.2	Laktatanalyse	39
3.3.2.3	Fahrradergometrie	39

3.3.2.4	Herzfrequenzmessung	39
3.4	Zellkultur	39
3.4.1	Gewinnung mononuklärer Zellen aus dem Knochenmark	40
3.4.2	Isolierung Mesenchymaler Stammzellen	41
3.4.3	Passagieren Mesenchymaler Stammzellen	41
3.4.4	Migration Mesenchymaler Stammzellen	43
3.5	Analytik	44
3.5.1	Blutbild und Retikulozyten	44
3.5.2	Wachstumsfaktor- und Hormonanalyse	44
3.6	Statistik	45
3.6.1	Varianzanalyse	46
4	Ergebnisse	47
4.1	Physiologische Leistungsentwicklung	47
4.1.1	Metabolische Schwellen	47
4.1.2	Maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ )	49
4.1.3	Schwimmleistung	51
4.2	Hämatologische Parameter	53
4.2.1	Hämoglobin	53
4.2.2	Hämatokrit	55
4.2.3	Retikulozyten	57
4.2.4	Ferritin	59
4.2.5	Löslicher Transferrin- Rezeptor	61
4.3	Mesenchymale Stammzellen	63
4.3.1	Migration	63
4.3.2	Basic Fibroblast Growth Factor	66
4.3.3	Vascular Endothelial Growth Factor	68
4.3.4	Erythropoetin	70
5	Diskussion	72
5.1	Physiologische Leistungsentwicklung	72
5.1.1	Metabolische Schwellen	72
5.1.2	Maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ )	74
5.1.3	Schwimmleistung (LEN-Punkten)	75
5.2	Hämatologische Parameter	76
5.2.1	Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hct)	76
5.2.2	Retikulozyten	77
5.2.3	Ferritin/ löslicher Transferrin-Rezeptor (sTfR)	78

5.3	Mesenchymale Stammzellen	79
5.3.1	Migration	79
6	Zusammenfassung	87
7	Literaturverzeichnis	89
8	Vorabveröffentlichungen	106

### Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Darstellung der Unterdruckkammer von Paul Bert	4
Abb. 2: Auftretende Symptome bei akuter Hypoxieexposition	5
Abb. 3: Zeitliches Auftreten verschiedener Akklimatisations- und Adaptionprozesse	6
Abb. 4: Veränderung der Ruhe- und der maximalen Herzfrequenz auf verschiedenen Höhen	8
Abb. 5: Prozessierung des HIF- $\alpha$ bei Normoxie und Hypoxie	10
Abb. 6: Mögliche Entwicklungswege der Stammzellen	20
Abb. 7: Gewinnung von Embryonalen Stammzellen und deren weitere Entwicklung im Labor	21
Abb. 8: Mobilisation der MSC (Modifiziert nach Bloch [96])	22
Abb. 9: Schematische Darstellung einer sich bewegenden Zelle [97]	23
Abb. 10: Differenzierungspotential der MSC aus [121]	27
Abb. 11: Übersicht des Studiendesigns und der Blutentnahmen	36
Abb. 12: Dichtegradientenzentrifugation: Schematische Darstellung der verschiedenen Schichten innerhalb der Knochenmark-Ficoll-Suspension	41
Abb. 13: Zählkammer-Objektträger mit aufgelegtem Deckglas	42
Abb. 14: Schematischer Aufbau der Neubauer-Zählkammer	42
Abb. 15: Migration: Darstellung des Versuchsaufbaus und der verwandten Materialien	44
Abb. 16: Entwicklung der Leistung bei 4 mmol/l Laktat	47
Abb. 17: Entwicklung der $VO_{2max}$ während des Höhentrainingslagers	49
Abb. 18: Veränderung der Schwimmleistung in LEN Punkten	51
Abb. 19: Veränderung der Hämoglobinwerte der Höhengruppe	53
Abb. 20: Veränderung der Hämoglobinwerte	54
Abb. 21: Veränderung der Hämatokritwerte	55
Abb. 22: Veränderung der Hämatokritwerte	56
Abb. 23: Veränderung der Retikulozytenwerte	57

Abb. 24: Veränderung der Retikulozytenwerte	58
Abb. 25: Veränderung der Ferritinwerte	59
Abb. 26: Veränderung der Ferritinwerte	60
Abb. 27: Veränderung der Werte des löslichen Transferrin-Rezeptors	61
Abb. 28: Veränderung der Werte des löslichen Transferrin-Rezeptors	62
Abb. 29: Veränderung der Werte der Anzahl der migrierten Zellen	63
Abb. 30: Veränderung der Zahl der migrierten Mesenchymalen Stammzellen	64
Abb. 31: Zusammenfassung der prä- und post-Tests	65
Abb. 32: Zusammenfassung der prä- und post-Tests	66
Abb. 33: Veränderung der Werte des bFGF	66
Abb. 34: Veränderung der Werte für den Basic Fibroblast Growth Factor	67
Abb. 35: Veränderung der Werte des VEGF	68
Abb. 36: Veränderung der Werte für den Vascular Endothelial Growth Factor.	69
Abb. 37: Veränderung der Erythropoetinwerte	70
Abb. 38: Veränderung der Werte für EPO	71
Abb. 39: Zusammenfassung der Einflussgrößen der migratorischen Aktivität der MSC	86

**Tabellenverzeichnis**

Tab. 1: Übersicht der HIF-1 Zielgene [18]	11
Tab. 2: Übersicht LH-TH	17
Tab. 3: Übersicht LH-TL	18
Tab. 4: Übersicht LL-TH	19
Tab. 5: Zusammenfassung der Anforderungskriterien von MSC [104]	25
Tab. 6: Anthropometrische Daten der Probanden	35
Tab. 7: Rahmentrainingsplan	38
Tab. 8: Übersicht über Hersteller und Analyseverfahren der determinierten Parameter	45
Tab. 9: Leistungen bei 4 mmol/l Laktat von Höhen- und Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlechtern	48
Tab. 10: VO <sub>2</sub> max-Werte von Höhen- und Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlechtern	50
Tab. 11: Veränderung der Schwimmleistung in LEN Punkte	52
Tab. 12: Hb der Höhengruppe	53
Tab. 13: Hb der Kontrollgruppe	54
Tab. 14: Hämatokrit der Höhengruppe	55
Tab. 15: Hämatokrit der Kontrollgruppe; Angaben in %	56
Tab. 16: Retikulozyten der Höhengruppe; Angaben in %	57
Tab. 17: Retikulozyten der Kontrollgruppe; Angaben in %	58
Tab. 18: Ferritin der Höhengruppe; Angaben in [ng/ml].	59
Tab. 19: Ferritin der Kontrollgruppe; Angaben in ng/ml	60
Tab. 20: Lösli. Transferritin-Rezeptor der Höhengruppe; Angaben in mg/l	61
Tab. 21: Lösli. Transferritin-Rezeptor der Kontrollgruppe; Angaben in mg/l	62
Tab. 22: Migrierte MSC der Höhen- und Kontrollgruppe und Darstellung der Differenzen vor und nach der jeweiligen Leistungsdiagnostik (prä, post)	65

**Abkürzungsverzeichnis**

2,3-DPG	2,3-Diphosphoglyzerat
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
AM	Adrenomedullin
AMS	Acute Mountain Sickness
AMV	Atemminutenvolumen
ATP	Adenosintriphosphat
bFGF	Basic Fibroblast Growth Factor
BL	Baseline
CO <sub>2</sub>	Kohlenstoffdioxid
CRH	Corticotropin Releasing Hormon
D	Deutschland
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
e-Nos	Endothelial Nitric Oxide Synthase+
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPO	Erythropoetin
FCS	Fetal calf serum
FE	Ferritin
FiO <sub>2</sub>	Prozentualer Sauerstoffgehalt der Umgebungsluft
H <sup>+</sup>	Wasserstoff-Ion
HBS	Hypoxic Binding Site
HBSS	Hank's balanced salt solution
HPH	HIF-1 $\alpha$ -Prolylhydrolase
HRE	Hypoxic Response Element
HSC	Hematopoietic Stem Cells
HG	Höhengruppe
Hb	Hämoglobin
hGH	Human Growth Hormone
HIF-1	Hypoxia Inducible Factor-1, Hypoxie induzierbarer Faktor-1
Hct	Hämatokrit
HMV	Herzminutenvolumen
HR	Herzfrequenz
HRmax	Maximale Herzfrequenz
IGF-1	Insulin-like Growth Factor-1

IGFBP-1	IGF Bindungsprotein 1
KG	Kontrollgruppe
MEM	Modified Eagle Medium
MNC	Mononuclear Cell
MMP	Matrixmetalloproteasen
MSC	Mesenchymale Stammzellen
m/s	Meter pro Sekunde
MW	Mittelwert
n	Stichprobenzahl
NT	National Team
NN	Normal Null (Normoxie)
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
ODD	O <sub>2</sub> abhängige Degradationsdomäne
P	Phosphor
PBS	Phosphat-Buffered-Salina
PFA	Paraformaldehyd
pVHL	Von Hippel Lindau Tumorsuppressor Protein
pO <sub>2</sub>	Sauerstoff-Partialdruck
SaO <sub>2</sub>	Sauerstoffsättigung
SH – TH	Sleep high – train high
SH – TL	Sleep high – Train low
SL – TH	Sleep low – Train high
ST	Stufentest
STD	Standardabweichung
sTfR	Löslicher Transferrin-Rezeptor
TF	Transferrin
TP	Gesamtspektralenergie (total power)
Ub	Ubiquitin
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VO <sub>2max</sub>	Maximale Sauerstoffaufnahme

### 1 Einleitung

Das körperliche Training, wie es von Sportlern im Allgemeinen geplant und gezielt durchgeführt wird, stellt für den menschlichen Organismus einen nachhaltigen Reiz für den Prozess der Gewebsregeneration und Umstrukturierung dar. Hierzu zählt auch das Höhenttraining. Diese Trainingsform ist in den Trainingsplänen von Ausdauersportlern fest verankert. Von der Durchführung eines Hypoxietrainings versprechen sich Hochleistungssportler große Zuwächse der Hämoglobinmasse und der damit gesteigerten Sauerstofftransportkapazität, welche Grundlage auch für eine Verbesserung der aeroben Leistungsfähigkeit auf Meeresniveau darstellen soll. Dass dieses Prinzip seine Berechtigung findet, wird durch die Tatsache gestützt, dass bei den Olympischen Spielen von Peking mehr als 60% der Medaillen auf den Mittel- und Langstrecken der Leichtathleten von Läufern, welche in Höhenlagen leben, gewonnen wurden. Unabhängig davon gibt es eine große Zahl von Studien, die sich mit den Wirkungen eines Höhenttrainings auseinandersetzen.

Auf Grund der veränderten Umweltbedingungen (geringerer  $O_2$ -Partialdruck, trockene Luft, Temperaturschwankungen etc.) stellt das Höhenttraining eine besondere Herausforderung an die körperliche Leistungsfähigkeit und die regenerative Kapazität des Athleten dar. Wesentlich für die Regenerationsprozesse ist u.a. die Interaktion peripherer Stammzellen mit den Geweben. Konnte der Zusammenhang von Gewebsniedergang und dem Auftreten von Mesenchymalen Stammzellen (MSC) schon in einer Reihe von klinischen Studien belegt werden, so ist deren kausale Verknüpfung mit körperlicher Belastung erst in jüngster Zeit belegt worden [178].

Bei den verschiedenen Arten peripherer Stammzellen nehmen die Mesenchymalen Stammzellen, auf Grund ihrer Fähigkeit, sich in eine Vielzahl von Geweben differenzieren zu können (Muskel, Knochen, Knorpel und Epithelgewebe), eine herausragende Stellung ein. Konnte in mehreren klinischen Studien der positive Verlauf einer Stammzelltherapie mit Mesenchymalen Stammzellen bei verschiedenen Erkrankungen (Ostitogenesis imperfecta, Duchenne-Krankheit) dargestellt werden, so ist naheliegend, dass sie auch bei Regenerations- und Adaptationsprozessen, wie sie bei Trainingsinterventionen auftreten, im Fokus stehen.

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, in wie weit es zu Veränderungen in der Aktivität von MSC unter körperlicher Belastung in Höhe im Vergleich zum Flachland kommt.

In diesem Zusammenhang werden folgende Thesen aufgestellt:

1. Körperliche Belastung unter Hypoxiebedingungen in der Höhe wirkt sich positiv auf physiologische Kenngrößen wie  $VO_2\text{max}$ , Laktatschwellen und Schwimmleistung aus.
2. Körperliche Belastung unter Hypoxiebedingungen in der Höhe führt zu erhöhten Parametern des roten Blutbildes (Hämoglobin, Hämatokrit, Retikulozyten, Ferritin, löslicher Transferrinrezeptor).
3. Körperliche Belastung unter Hypoxiebedingungen in der Höhe verstärkt die migratorischen Eigenschaften Mesenchymaler Stammzellen.
4. Körperliche Belastung unter Hypoxiebedingungen in der Höhe führt zu einer Zunahme der Plasmaspiegel der Wachstumsfaktoren VEGF und bFGF, welche die migratorischen Eigenschaften der Mesenchymalen Stammzellen beeinflussen.

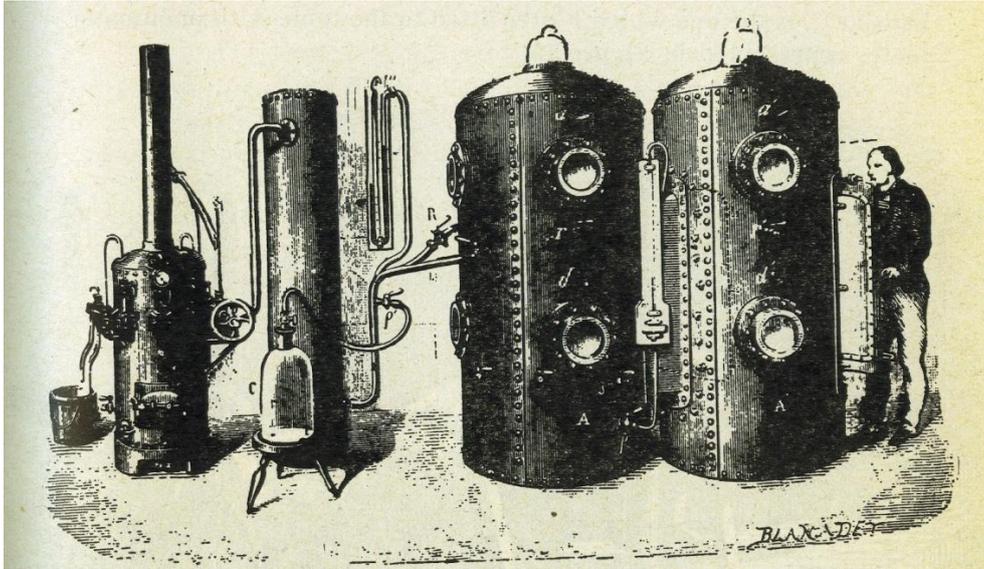
## **2 Darstellung des aktuellen Forschungsstands**

Kapitel 2. beschäftigt sich mit der Darstellung des aktuellen Forschungsstandes der Anpassungsmechanismen, welche unter Hypoxieexposition im menschlichen Organismus ablaufen. Hier werden akut auftretende von chronischen Prozessen unterschieden. Im Weiteren wird die aktuelle Datenlage im Hinblick auf die verschiedenen Höhentrainingsformen erörtert. Anschließend werden Stammzellen vorgestellt und besonders ausführlich auf die MSC eingegangen. Zum Schluss des Kapitels werden die Wachstumsfaktoren und Zytokine, welche im Zusammenhang mit Steuerungsprozessen der MSC von besonderer Bedeutung sind, beschrieben.

### **2.1 Anpassungsprozesse unter Hypoxie**

Der folgende Abschnitt befasst sich mit den Effekten von Hypoxie auf den menschlichen Organismus. Diese werden ihrem zeitlichen Erscheinen nach in akute und chronische Reaktionen unterschieden und differenziert beschrieben.

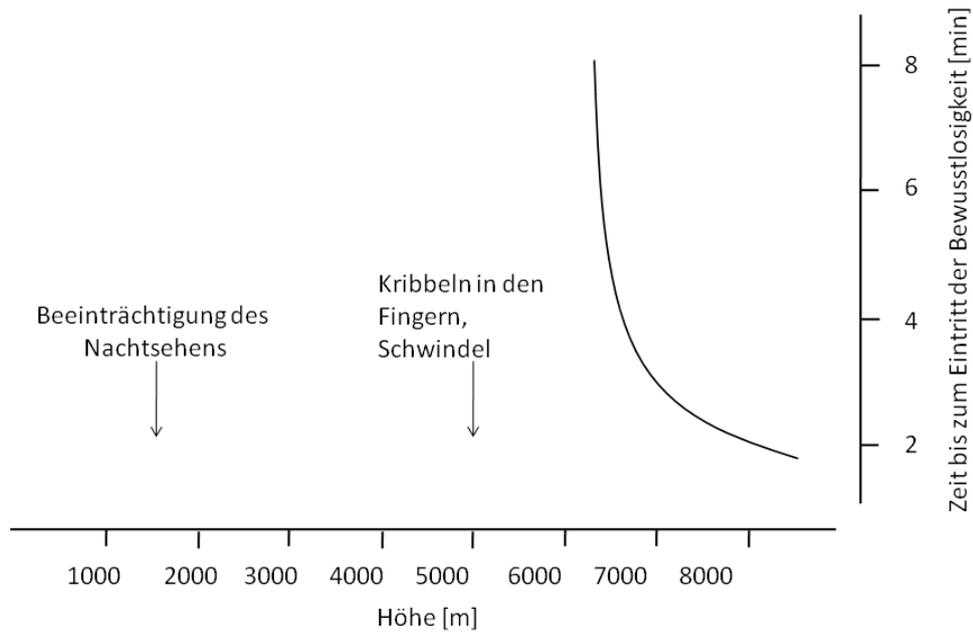
Erste Hinweise auf einen Zusammenhang von einem Höhengedächtnis und deren Auswirkungen auf den menschlichen Organismus sind in einer chinesischen Chronik zu finden. Hier wird über den, während eines Aufenthalts in den Chien Han Shu Bergen, auftretenden Kopfschmerz berichtet [4]. Diesen Bericht kann man als erste Beschreibungen einer leichten Form der akuten Bergkrankheit (acute mountain sickness AMS) betrachten. Besonders durch die Entwicklung der Heißluftballonfahrt wurden weitere Erkenntnisse über das Verhalten des menschlichen Körpers unter Hypoxieeinfluss gefunden. Hervorzuheben ist hier der Bericht von Tissandier über die Fahrt mit ihrem Heißluftballon Zenith von 1875. Bei diesem Flug erreichten sie eine Höhe von ca. 7500m und obwohl auf Hinweise von Paul Bert Sauerstoff mitgenommen wurde, starben auf dieser Fahrt die Ballonpioniere Joseph Cocé-Spinelli und Theodore Sivel an den Folgen der starken Hypoxiebelastung [200]. Paul Bert war es auch, der eine Unterdruckkammer konstruierte, in welcher er den geringen Sauerstoffpartialdruck der Bergluft herstellen und dessen Einfluss auf den menschlichen Körper untersuchen konnte. Bei seinen Experimenten erkannte er die Hypoxie als Auslöser der Höhenkrankheit und belegte durch seine Beobachtungen, dass durch Sauerstoffgabe deren Symptome gelindert werden können.



**Abb. 1: Darstellung der Unterdruckkammer von Paul Bert [11]**

Bei der weiteren Betrachtung müssen drei Begriffe genauer definiert werden: Akklimationisation, Adaptation und Deterioration. *Akklimatisation* bezeichnet die Summe aller physiologischen Prozesse, welche bei Hypoxieexposition auftreten und die Sauerstoffversorgung entgegen des niedrigen Sauerstoffgehaltes der Luft aufrechterhalten. Unter *Adaptation* versteht man alle biologischen Veränderungen, welche sich über Generationen hinweg bei Bergbewohnern entwickelt haben und einen evolutionären Selektionsvorteil darstellen. *Deterioration* bezeichnet den Zustand, welcher nach mehrwöchigem Aufenthalt in Höhen über 5500m oder nach einigen Tagen auf über 8000m auftritt, und von Symptomen wie Übelkeit, Appetitlosigkeit, Gewichtsverlust, Erschöpfung, Verlangsamung der kognitiven Leistungsfähigkeit und ein eingeschränktes Beurteilungsvermögen, gekennzeichnet ist.

Betrachtet man nun zunächst die akuten Reaktionen des menschlichen Organismus auf eine Hypoxieexposition, so sind in Abhängigkeit vom Grad der Hypoxie eine zunehmende Ruhetachykardie und Hyperventilation zu verzeichnen. Neben dem Cardiorespiratorischen System ist aber vor allem das zentrale Nervensystem in seiner Funktion beeinträchtigt. So machen sich schon ab ca. 1500m ein vermindertes Nachtsehen bemerkbar [158]. Bei 4000-5000m tritt neben einem leichten Kribbeln an den Fingern und in der Mundregion auch Schwindel auf. Bei weiter steigendem Grad der Hypoxie tritt schon ab 5000m bei einigen und oberhalb von 7000m bei den meisten nicht akklimatisierten Probanden eine Bewusstlosigkeit auf [186]. In Abbildung 2 ist das Auftreten der erwähnten Symptome schematisch dargestellt.



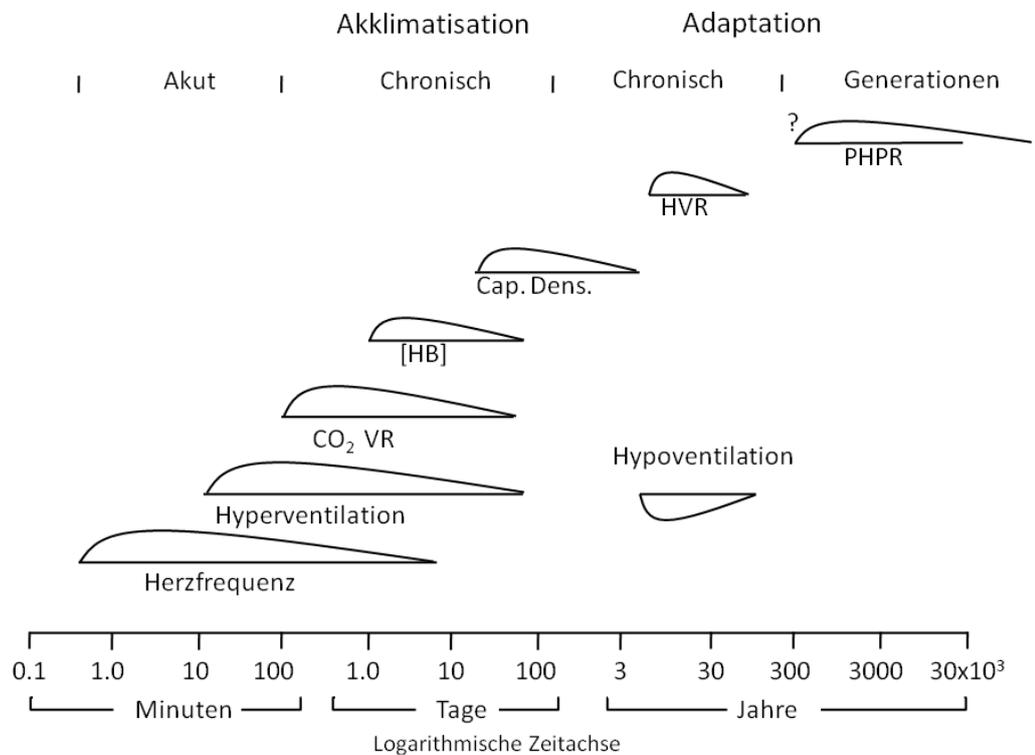
**Abb. 2: Auftretende Symptome bei akuter Hypoxieexposition.**

**Die Kurve am rechten Rand der Abbildung symbolisiert die bis zum Eintreten der Bewusstlosigkeit verstreichende Zeit. (modifiziert nach West et al [211])**

Diese Befunde stehen im starken Gegensatz zu der Tatsache, dass Bergsteiger nicht nur in der Lage sind, in extremen Höhen, etwa auf dem Nanga Parbat (8126m), dem K2 (8611m) oder dem Mount Everest (8848m), bei Bewusstsein zu bleiben, sondern vielmehr sich zusätzlich extremen körperlichen Strapazen auszusetzen und eben diese Berge, zum Teil ohne zusätzlichen Sauerstoff, zu ersteigen. Um in der Höhe weiterhin überleben zu können und leistungsfähig zu bleiben, reagiert der menschliche Organismus auf Hypoxie mit kurzfristigen und länger dauernden Akklimatisationsanpassungen. Hiervon ist jedes an dem Gasaustausch beteiligte Organsystem betroffen. Am schnellsten reagiert das Cardiorespiratorische System auf Hypoxie, es kommt fast unmittelbar mit Beginn der Hypoxieexposition zu Tachykardie und Hyperventilation. Stunden später kommt es zu einer gesteigerten Diurese, auch als Höhendiurese bezeichnet, welche steigende Hämatokrit- (Hct) und Hämoglobinwerte (Hb) bewirkt. Somit ist für eine ökonomischere Herzarbeit gesorgt, weil jetzt pro Blutvolumen unmittelbar mehr Sauerstoffträger zur Verfügung stehen, ohne dass Erythrozyten neu gebildet werden mussten [87]. Als längerfristige Veränderung ist unter anderen eine gesteigerte Erythropoese, eine größere Kapillardichte in der Muskulatur und Veränderungen in Bezug auf die Konzentration der oxidativen Enzyme zu nennen. Zudem unterliegt die Atemfrequenz längerfristigen Einflüssen, so dass es neben der akut auftretenden Hyperventilation bei chronischer Hypoxiebelastung (nach etwa Jahren) zu einer Hypoventilation kommt. Abbildung 3

## 2 Darstellung des aktuellen Forschungsstands

stellt den zeitlichen Verlauf der auftretenden Akklimatisations- und Adaptationsmechanismen dar. Anschließend werden die Akklimatisationsmechanismen detaillierter dargestellt.



**Abb. 3: Zeitliches Auftreten verschiedener Akklimatisations- und Adaptationsprozesse (Modifiziert nach West et al [211])**

### 2.1.1 Akute Anpassung

Im folgenden Abschnitt werden die akut auftretenden Anpassungsmechanismen des menschlichen Organismus auf die Hypoxieexposition beschrieben.

#### 2.1.1.1 Atmung

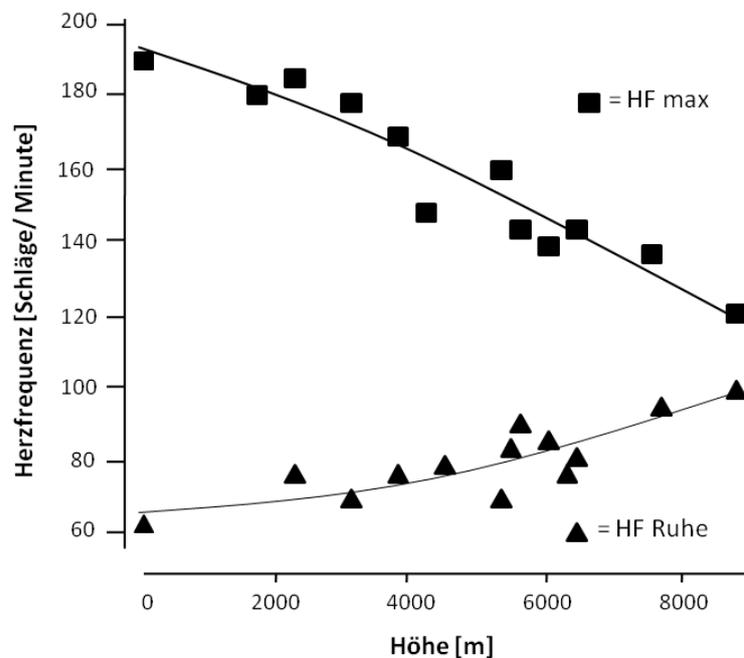
Die Zunahme der Atemfrequenz unter Hypoxie stellt einen der am schnellsten eintretenden Akklimatisationsmechanismen dar. Hierdurch wird ein zu großer Abfall des Sauerstoffpartialdruckes im Blut ( $\text{PaO}_2$ ) verhindert. Vermittelt wird sie durch die Aktivierung der sauerstoffsensiblen Nerven in den peripheren Chemorezeptoren der Glomera Carotica und Aortica, welche ihre Signale an das in der Medulla Oblongata lokalisierte Atemzentrum weiterleiten. Sie sind zum einen an der Gabelung der Arteria Carotis Communis in die Arteria Carotis Externa und Arteria Carotis Interna,

und zum anderen entlang des Aortenbogens lokalisiert. Mit 20 ml/min/g gehören sie zu den am besten durchbluteten Geweben des menschlichen Körpers (Gehirn 0,8 ml/min/g). Ein fallender arterieller O<sub>2</sub> Druck, steigende arterielle CO<sub>2</sub> Werte und ein zunehmender pH-Wert des Blutes verursachen eine Aktivitätssteigerung und resultieren letztlich in einem gesteigerten Atemminutenvolumen (AMV). Hier lassen sich drei Phasen der Antwort auf Hypoxie differenzieren. In den ersten Sekunden bis zehn Minuten ist eine Zunahme des AMV festzustellen. In den nächsten 20 -30 Minuten ist ein Rückgang des AMV fast auf das Ausgangsniveau zu beobachten. Der diesem Phänomen zugrunde liegende Mechanismus ist bislang noch unklar [190]. In den nächsten Tagen folgt wieder eine Steigerung des AMV bis dann um den 10. Tag herum das Maximum erreicht wird. Jetzt fällt das AMV wieder leicht ab, bleibt aber oberhalb der Ausgangswerte. Noch Wochen nach Ende der Hypoxieexposition wird ein gesteigertes AMV beobachtet [176]. Der anhaltende Anstieg des AMV über Wochen ist durch eine strukturelle Vergrößerung der Glomerula zu erklären. Während eine Sensibilitätserhöhung zentraler Chemorezeptoren auf den CO<sub>2</sub>-Wert als Erklärung für das nach Rückkehr auf Meeresniveau weiterhin erhöhte AMV gilt. Allerdings fällt diese Atemantwort nicht immer uniform aus. So lassen sich hier „responder“, bei denen die Steigerung des AMV besonders ausgeprägt ist, von „weak respondern“, bei denen eine geringe Veränderung des AMV registriert wird, unterscheiden. Besonders Hochleistungssportler weisen gegen über Normaltrainierten eine geringere Stimulierbarkeit des Atemminutenvolumens auf. Bei Personen, welche ein Höhen-Lungenödem entwickelten, fiel ebenfalls eine geringe Steigerung des AMV auf [8;9;89;190]

### 2.1.1.2 Herzfrequenz

Schon nach wenigen Minuten ist unter Hypoxiebedingungen eine Steigerung der Herzfrequenz zu verzeichnen. Betrachtet man nun das Herzminutenvolumen (HMV), als eine Integration von Herzschlagvolumen und Herzfrequenz pro Zeiteinheit, so ist es unter akuter Hypoxie sowohl in Ruhe als auch bei submaximaler Belastung erhöht, das maximale HMV hingegen vermindert. Bei länger dauernder Hypoxieexposition gehen die Werte des HMV, als Ausdruck einer suffizienten Akklimatisation, in Ruhe und bei submaximaler Belastung wieder auf die Ausgangswerte zurück. Das maximale HMV bleibt weiterhin vermindert [89]. Die verminderten maximalen HMV-Werte können als kardioprotektiver Mechanismus verstanden werden. So wird eine übermäßige Belastung unter Hypoxie verhindert. Ihr zu Grunde

liegt wahrscheinlich eine Herunter-Regulierung der  $\beta$ -Rezeptoren, hervorgerufen von der unter Hypoxie gesteigerten Sympathikus-Aktivität und den damit verbundenen erhöhten Katecholaminspiegeln [163]. Zudem werden hohe Blutflussgeschwindigkeiten verhindert, was besonders in den Kapillaren der Alveolen zu kurzen Kontaktzeiten und somit einer schlechteren Beladung der Erythrozyten mit  $O_2$  führen würde. Betrachtet man die Differenz von Ruheherzfrequenz und maximaler Herzfrequenz für unterschiedliche Höhengniveaus, so fällt auf, dass ca. 130 Schläge auf Meeresebene ca. 90 auf 4000 m und 30 bei knapp 9000 m gegenüberstehen. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass mit steigender Höhenexposition das als Leistungsreserve zur Verfügung stehende HMV (Differenz von Ruhe und maximalem HMV) auf ca. 20% des Ausgangswertes zurückgegangen ist. (siehe auch Abbildung 4.).



**Abb. 4: Veränderung der Ruhe- und der maximalen Herzfrequenz auf verschiedenen Höhen [8;89]**

## 2.1.2 Chronische Anpassung

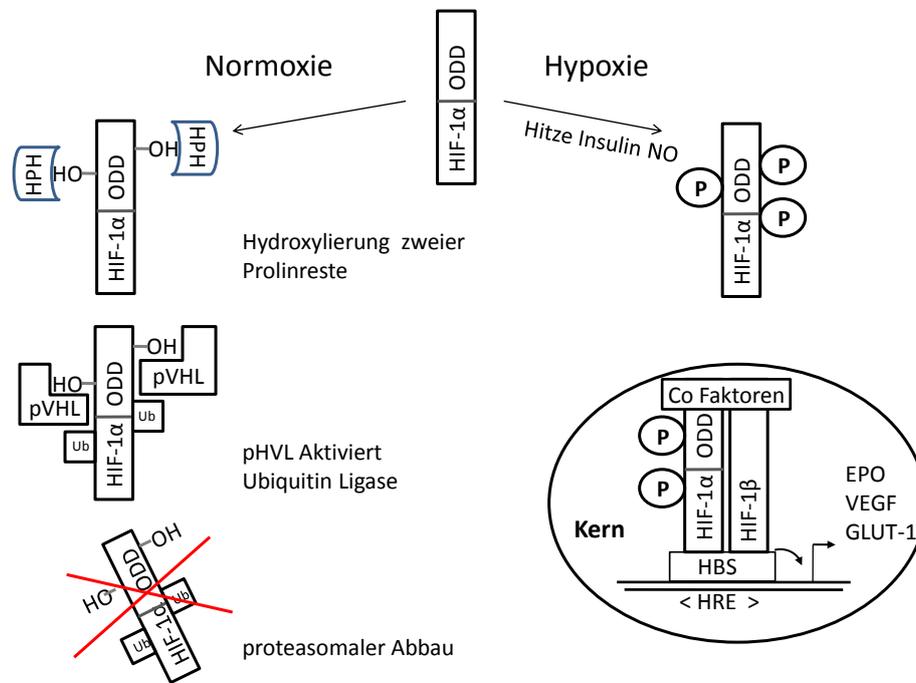
Im nächsten Kapitel werden die längerfristigen Anpassungsmechanismen auf eine Hypoxieexposition beschrieben.

### 2.1.2.1 Hypoxie-Induzierbarer Faktor - 1 (HIF-1)

Wurden die akuten Reaktionen auf Hypoxie durch Chemorezeptoren vermittelt, konnte als grundlegendes Element der Induzierung chronischer Adaptationsmechanismen der HIF-1 identifiziert werden. HIF-1 ist ein ubiquitär vorkommender Transkriptionsfaktor und Mitglied der basic-helix-loop-helix (bHLH)-PAS Familie [80]. HIF-1 ist ein heterodimeres Protein, welches aus der sauerstoffsensitiven HIF-1 $\alpha$  (120 kDa)-Untereinheit und der HIF-1 $\beta$  (91-94 kDa) -Einheit aufgebaut ist [182;183;207]. Zwei weitere Proteine dieser Familie wurden identifiziert. HIF-2 und HIF-3, deren Vorkommen allerdings sehr organspezifisch ist und deren Funktion noch nicht genau eingegrenzt werden konnte [210]. HIF-1 $\alpha$  und HIF-1 $\beta$  werden konsekutiv in Geweben vieler Spezies (Mensch, Wirbeltier, Wurm Insekt) exprimiert [24;210]. Der Aktivitätszustand von HIF-1 hängt ausschließlich von der durch Hypoxie ausgelösten Stabilisierung der  $\alpha$ -Untereinheit ab. Schon nach wenigen Sekunden unter Hypoxie erhöht sich die Konzentration von HIF-1 $\alpha$  in den Geweben [104] und verringert sich nach Minuten unter Normoxie. Dabei scheint der Grenzwert der Sauerstoffkonzentration bei ca. 35mmHg zu liegen. Oberhalb wurde in HeLa-Zellen kein HIF-1 $\alpha$  identifiziert [105]. Bei Mäusen, welche für vier Stunden einem pO<sub>2</sub> von 6% ausgesetzt wurden, erhöhte sich die HIF-1 $\alpha$ - Konzentration gewebespezifisch und erreichte nach 1-4 Stunden in Gehirn, Niere und Leber einen maximalen Wert. Bei weiteren an Mäusen durchgeführten Untersuchungen konnte HIF-1 $\alpha$  allerdings auch unter Normoxie in verschiedenen Organen (Gehirn, Herz, Leber, Niere und Skelettmuskel) nachgewiesen werden. So liegt der Schluss nahe, dass eine geringe Konzentration von HIF-1 $\alpha$  notwendig ist, um eine basale Genexpression sicherzustellen, die für die lebensnotwendige Energiebereitstellung unumgänglich ist. „HIF-1 $\alpha$  knockout Mäuseembryos“ sterben intrauterin auf Grund von Fehlentwicklungen am Herzen und dem Rückenmark [100;119;175;192] .

HIF-1 $\alpha$  wird kontinuierlich gebildet und bei Anwesenheit von O<sub>2</sub> über eine Ubiquitin/Proteasom-Degradationskaskade abgebaut. Hierbei wird HIF-1 durch das Anhängen von OH-Gruppen markiert. So gekennzeichnet durchläuft es einen vorgegebenen intrazellulären Entsorgungsprozess, bei dem unter Interaktion mit dem Hippel von Landau Tumorsuppressor Protein (pVHL) und der darin enthaltenen

Ubiquitin Ligase der finale Abbau durch Proteosomen eingeleitet wird (ABB) [40;137;149;220]). Neben der sehr präzise beschriebenen sauerstoffabhängigen Stabilisierung von HIF-1 $\alpha$  können auch Zytokine, Hitze, NO und Insulin die gleiche Wirkung auf HIF-1 $\alpha$  entfalten [102;111;153].



**Abb. 5: Prozessierung des HIF- $\alpha$  bei Normoxie und Hypoxie (modifiziert nach Mooren et al [54])**

Ist der HIF-1 $\alpha$  stabilisiert, dringt er in den Zellkern ein und bindet dort zusammen mit der HIF-1 $\beta$ -Untereinheit und anderen Co-Faktoren an den Hypoxie-Response-Elementen der sauerstoffabhängigen Gene. Das bekannteste ist in diesem Zusammenhang das Erythropoetin-Gen. Des Weiteren steht eine Vielzahl von Genen unter dem Einfluss von HIF-1. Diese können in drei Gruppen eingeteilt werden. Gene des Sauerstofftransportes, der Gefäßregulation und der anaeroben Energiebereitstellung. Tabelle 1 liefert eine Zusammenfassung dieser Gene.

**Tab. 1: Übersicht der HIF-1 Zielgene [210]**

Sauerstoffregulierte Gene	Literatur
Sauerstofftransport	
Erythropoetin	[59;208]
Transferrin	[173]
Transferrin-Rezeptor	[196]
Ceruloplasmin	[143]
Gefäßregulation	
VEGF	[60;130;133]
Flt-1	[73]
PAI-1	[116;197]
iNOS	[140;154]
Adrenomedullin	[146]
Endothelin-1	[97]
Anaerobe Energiebereitstellung	
Glukose-Transporter	[53]
PFKFB3	[141]
Phosphofruktokinase L	[150;184;185]
Laktat-Dehydrogenase	[53]
Verschiedene	
p35srj	[13]
IGFBP-1	[198]

### 2.1.2.2 Erythropoese

Einer der Hauptgründe für einen Trainingsaufenthalt in den Bergen ist die Zunahme der Hämoglobinmasse und der damit verbundenen Vergrößerung der Sauerstofftransportkapazität. Schon Paul Bert vermutete 1878 in seinem Buch „La Pression Barométrique“, dass die Höhenadaptation mit einer Vermehrung der Erythrozyten und des Hämoglobins zusammenhänge [11]. Diese Vermutungen wurden von Viault 1890 [205] bestätigt und anschließend in einer Vielzahl von Studien, welche physiologische Untersuchungen in Zusammenhang mit Hypoxieexposition durchführten, untermauert. Zwei wesentliche Anpassungsmechanismen stehen hierbei im Vordergrund. Zum einen die hypoxiebedingte Abnahme des Plasmavolumens, und zum anderen die Neubildung von Erythrozyten (Erythropoese). Tritt die Höhendiurese schon nach wenigen Stunden auf, kommt die Erythropoese erst nach 7-10 Tagen zum Tragen und erreicht ein „stady state“ nach sechs Monaten. Für die Höhendiurese scheinen neben einer geänderten Nierendurchblutung, die Hyperventilation, die

reduzierte CO<sub>2</sub>-Konzentration des Blutes und hormonelle Veränderungen [87] wie die Synthese und Freisetzung von Adrenomedullin (AM) verantwortlich zu sein. AM ist ein Polypeptid mit diuretischen, natriuretischen und vasodilatorischen Wirkungen. Es wird in einer Vielzahl von Geweben produziert, besonders in epithelialen- und glatten Muskelzellen [82]. Bereits nach zwölf Stunden sind erhöhte AM-Werte im Serum festzustellen. AM vermindert die Wirkung von Vasopressin und Aldosteron und induziert somit eine Zunahme des renalen Blutflusses und vermehrte Diurese. Folglich wird ein zeitnaher Anstieg der Hämoglobin- und Hämatokritwerte erzielt und gleichzeitig die Sauerstofftransportkapazität des Blutes, sowie die Versorgung der Gewebe mit O<sub>2</sub> verbessert. Auf der anderen Seite werden eine Neubildung von Erythrozyten und die damit verbundene Zunahme der HB-Masse nach fünf bis sieben Tagen evident. Schon wenige Stunden nach Beginn der Hypoxiebelastung steigt die Erythropoetinkonzentration an und erreicht nach 24 Stunden sein Maximum. Dabei können die Erythropoetinwerte auf das Vierfache des Ausgangsniveaus steigen. Erythropoetin verhindert die Apoptose der erythrozytären Vorläuferzellen im Knochenmark und induziert mit weiteren Wachstumsfaktoren (SCF, IL 1,3,6) die Proliferation und Differenzierung. Nach ca. 3-5 Tagen treten die ersten Retikulozyten im peripheren Blut auf und verlieren nach ca. vier Tagen die Reste des sich auflösenden Zellkerns, um so die finale Differenzierung erreicht zu haben. Weitere Zeichen einer beginnenden Erythropoese sind steigende Konzentrationen von Transferrin, dem löslichen Transferrin-Rezeptor und einem leicht sinkenden Ferritin-Spiegel [166;169;171;180;209].

### **2.1.2.3 Muskuläre Anpassung**

Neben den Veränderungen im roten Blutbild, ist der Skelettmuskel ein weiteres Organsystem, welches unter Hypoxie von gravierenden Veränderungen betroffen ist. Es treten hier Veränderungen in Hinblick auf die Sauerstoffversorgung und die Sauerstoffverwertung auf. Als eindrucksvollste Veränderung ist hier der eintretende Masseverlust zu nennen. Während einer Himalaya-Expedition wurde die Reduktion der Körpermasse um 5-10% bei gleichzeitiger Abnahme des Muskelvolumens verzeichnet [90]. Diese Veränderungen wurden auch bei einer suffizienten Nahrungs- und Flüssigkeitszufuhr registriert [113]. Des Weiteren wurde eine verminderte cross sectional area der Muskulatur um bis zu 20% bei Bergsteigern, welche acht Wochen auf über 5000 m gelebt hatten, nachgewiesen [90]. Vergleichbare Reduktionen bei Typ I und Typ II Muskelfasern wurden im Rahmen der Operation Everest II erhoben [136].

Allerdings wurden noch keine Muskelfasertyptransformationen, welche sich auf den Einfluss von Hypoxie zurückführen lassen, beobachtet [79]. Auf Grund der Muskelfaseratrophie steigt die Kapillardichte um bis zu 12% an, ohne dass das Kapillar/Muskelfaser-Verhältnis verändert ist. Hier durch ist nun für eine Verkürzung der Diffusionsstrecken gesorgt worden. Dieser Befund widerspricht einer Neovaskularisierung des Muskels unter Hypoxie. Doch ist dies nicht unumstritten. Neuere Untersuchungen legen den Schluss nahe, dass es doch durch den Einfluss von VEGF zu einer Neubildung von Kapillaren kommen kann. Allerdings mehren sich Hinweise darauf, dass neben der Hypoxie, in viel stärkerem Maße andere Faktoren, wie steigender oxidativer Stress, inflammatorische Zytokine und eine steigende Laktatkonzentration, an der Indizierung der VEGF Freisetzung beteiligt sind [20;21]. Bei mehreren Untersuchungen wurde eine verminderte oxydative Kapazität des Muskels, durch Reduktion der Cytochromoxidase und Succinat Dehydrogenase, beobachtet [72;83;96;136]. Eine um 20% geringere Mitochondriendichte wurde nach einem achtwöchigen Aufenthalt auf über 5000 m verzeichnet. Hier trat die größte Reduktion an Mitochondrien bei den Bergsteigern mit der größten Mitochondriendichte vor der Hypoxieexposition auf. So wurden die verbleibenden Mitochondrien mit verhältnismäßig mehr Sauerstoff versorgt [20;91;92].

### 2.2 Hypoxietraining

Als ursprüngliche Form des Höhentrainings gilt das Konzept des „oben Trainierens – oben Schlafens“ (live high – train high, **LH-TH**). Hierbei trainiert der Athlet in der Höhe und verbringt auch seine Ruhephasen auf gleicher Höhe. Der Nutzen dieser Trainingsform wird kontrovers diskutiert. Konnte in frühen Studien eine positive Auswirkung des LH-TH im Hinblick auf die Leistungsfähigkeit auf Meeresebene gezeigt werden, so wurden diese Ergebnisse in anderen Untersuchungen nicht reproduziert. Demgegenüber besteht im Hinblick auf die Effizienz eines LH-TH-Trainings in Vorbereitung auf einen Wettkampf in der Höhe kein Zweifel.

Eine weitere Tatsache ist, dass viele Langstreckenrekorde von Athleten gehalten werden, welche sich in Höhenlagen vorbereitet haben oder gar in großen Höhenlagen leben, z.B. in Kenia. Bei den Olympischen Spielen von Peking wurden mehr als 60% der Medaillen auf den Mittel- und Langstrecken der Leichtathleten von Läufern aus Ostafrikanischen Staaten gewonnen. Doch sind bei der Durchführung eines Höhentrainings zum einen Probleme hinsichtlich der Belastungssteuerung auf Grund veränderter Reaktionen von belastungsabhängigen Parametern wie Herzfrequenz und Laktat zu lösen.

Zum anderen steigen mit zunehmender Höhe (ab 2500 m ü. NN) die gesundheitlichen Gefahren. Hier sind besonders die akute Bergkrankheit sowie Lungen- und Hirnödeme zu nennen.

Hält man sich die Gefahren und die Ungewissheit über den Erfolg eines Höhentrainingslagers vor Augen, so ist es nicht verwunderlich, dass sich ausgehend von einem LH-TH-Konzept weitere Trainingsdesigns entwickelten. Grundlage für diese Weiterentwicklung war u. a. auch die Möglichkeit, verschiedene Hypoxiezustände zu simulieren. Anfangs wurden über Masken Luftgemische mit verschiedenen Sauerstoffkonzentrationen verabreicht. Später entstanden Hypoxieforschungs- und -Trainingszentren. Als eines der Ersten ist das Forschungszentrum in Kienbaum in der ehemaligen DDR gegründet worden. Hier war man in der Lage, hypobare Hypoxiezustände zu simulieren und deren Auswirkungen auf den Organismus zu untersuchen. Weitere Zentren, so genannte Stickstoffhäuser, entstanden in Skandinavien. Hier wird der Luft nicht der Sauerstoff entzogen, sondern mit Stickstoff angereichert. Das heißt also, dass die normale Zusammensetzung der Luft (20,9% Sauerstoff, 78,2% Stickstoff, 0,9% Edelgase und Kohlendioxid) verändert wird und der Sauerstoffanteil zugunsten des Stickstoffanteils reduziert wird. So kann das Gasgemisch verschiedener Höhen simuliert werden. Ausgehend von den neu entstandenen Möglichkeiten bildeten sich eine ganze Reihe weiterer Trainingskonzepte aus. Von der anfänglichen Methodik des LH-TH haben sich heute verschiedene Verfahren des Hypoxietrainings abgeleitet. Zunächst verfolgte man die Strategie des „unten Lebens und in der Höhe Trainierens“ (live low – train high, **LL-TH**).

Verschiedene Autoren konnten nachweisen, dass die die aerobe Leistungsfähigkeit begrenzenden Indikatoren (z.B. Hb, Hct, EPO,  $VO_{2max}$ ) verbessert werden können, wenn das Design LL-TH in der Trainingsphase angewendet wird. Truijens [202] konnte in einer Double-blind Placebo-Studie mit Schwimmern nach einem fünfwöchigen Training signifikant gesteigerte  $VO_{2max}$ -Werte demonstrieren. Der Hb und der Hct blieben jedoch unverändert. Die Probanden zeigten zudem eine signifikant verbesserte Leistung in den Wettkampftests (100 m und 400 m). Differierende Ergebnisse, verglichen mit denen von Truijens, konnten Hendriksen und Meeuwssen [86] darstellen. In einer Untersuchung mit 16 Triathleten konnte durch ein tägliches zweistündiges Radtraining über einen Zeitraum von zehn Tagen unter hypobaren Hypoxiebedingungen die  $VO_{2max}$  der Probanden nicht gesteigert werden. Jedoch zeigten die Hb- und Hct-Werte signifikante Anstiege.

Die Gruppe um Levine [128] untersuchte das Trainingsdesign des in der Höhe Schlafens und im Flachland Trainierens (live high – train low, LH-TL). Nach den

Ergebnissen scheint diese Methode eine effektive Strategie zu sein, die aerobe Leistungsfähigkeit zu steigern. Hierbei wird versucht, die Akklimatisationsreaktionen (u.a. Vermehrung der Erythrozytenmasse) auszulösen, aber die Schwierigkeiten, welche die Steuerung von Intensitäten betreffen, zu umgehen. Levine und Stray-Gundersen (1997) untersuchten moderat trainierte Läufer. Sie ließen die erste Gruppe auf 2500 m ü. NN leben und auf einer Höhe von 1300 m ü. NN trainieren, die zweite Gruppe trainierte und schlief oben, und eine dritte Gruppe blieb im Flachland. Für die erste Gruppe konnte gezeigt werden, dass sie ihre Erythrozytenmasse, ihre VO<sub>2</sub>max und die 5000-m-Wettkampfzeit im Flachland verbesserte. Die zweite Gruppe verbesserte sich nur im Hinblick auf die Erythrozytenmasse und die VO<sub>2</sub>max, nicht aber bezüglich der 5000-m-Zeit. Die Gruppe 3 schließlich verbesserte sich überhaupt nicht. Eine spätere Untersuchung mit Elite-Läufern brachte vergleichbare Ergebnisse. Beiden Untersuchungen ist die Tatsache gemein, dass sich bei den Ergebnissen eine große interindividuelle Varianz bei der Reaktion auf Hypoxie zeigte [191].

Hierauf basiert die Annahme sog. „Responder“/„Non-Responder“, d.h. solchen Personen, die auf eine Höhenintervention besonders und solchen, die besonders schwach oder gar nicht reagieren. Die Gruppe der „Responder“ reagierte mit einer Verbesserung der aeroben Leistungsfähigkeit, während die „Non-Responder“ den Hypoxiereiz nicht mit den entsprechenden Reaktionen beantworteten. Friedmann et al. [66] untersuchten in diesem Zusammenhang die Veränderungen des EPO-Spiegels als möglichen prädiktiven Parameter. Sie setzten ihre Probanden einem akuten Hypoxiereiz (4 Stunden auf 2500 m ü. NN) aus, bestimmten die EPO-Spiegel vor und nach der Hypoxie und untersuchten, inwieweit sich die Veränderungen bei einem folgenden Höhentrainingslager mit einer Zunahme der Erythrozytenmasse korrelieren ließen. Es konnte gezeigt werden, dass zwar die Athleten, die mit einem hohen EPO-Anstieg auf die akute Hypoxie reagierten, dies auch zu Beginn des Höhentrainings wiederholten, dieser Anstieg aber nicht mit einer Zunahme der Erythrozytenmasse nach der Hypoxiebelastung korrelierte.

Brugniaux [23] gingen der Frage von möglichen gesundheitlichen Risiken des LH-TL-Konzepts nach. Sie ließen 41 Probanden auf 1200 m ü. NN trainieren und auf Höhen zwischen 2500m und 3500m ü. NN schlafen. Bestimmt wurden die Leukozyten, die arterielle Sauerstoffsättigung (SaO<sub>2</sub>), und der Lake Louise AMS Score<sup>1</sup>. Die Autoren konnten zeigen, dass alle Höhenexpositionen keine Auffälligkeiten im Lake

---

<sup>1</sup> Standardisierter Fragebogen zur Diagnose und Verlaufskontrolle der AMS [39]

Louise AMS Score nach sich zogen. Nur bei der Gruppe, die auf 3500 m ü. NN schlief, waren die Leukozytenwerte erniedrigt. Als Konsequenz empfehlen Brugniaux et al. (2006), Höhen von mehr als 3000 m ü. NN im Rahmen eines LH-TL-Trainings zu meiden. Robach et al. [169] untersuchten, inwieweit sich die Werte für die Erythrozytenmasse, die  $VO_2\text{max}$  und die 2000-m-Wettkampfzeit bei 18 Schwimmern veränderten. Sie stellten eine Zunahme der Erythrozytenmasse nur in der Höhengruppe fest, während die  $VO_2\text{max}$  leicht in beiden Gruppen anstieg, die 2000-m-Zeit aber unverändert blieb. Bei den Tests, die 14 Tage nach dem Aufenthalt in der Höhe durchgeführt wurden, konnten nur noch Werte, die dem Ausgangsniveau entsprachen, festgestellt werden.

Tabelle 2 gibt einen Überblick zu den aktuellen Höhentrainingsstudien.

## 2 Darstellung des aktuellen Forschungsstandes

Tab. 2: Übersicht LH-TH

Autor	Intervention / LH-TH	n	Hb <sub>Masse</sub>	VO <sub>2</sub> /Schwelle	Sonstiges	Wettkampf
Mizuno et al 1990 [142]	14 Tage Schlafen auf 2100 m Training auf 2700m; Skilanglauf, Rollerski, Laufen; Dänisches NT .keine Kontrollgruppe	10	nicht analysiert	VO <sub>2</sub> max: ↔		Laufbandtest Lauf bis zur körperlichen Erschöpfung 17% Zuwachs
Burtscher et al 1996[26]	12 Tage auf 2315 m; Laufen;Hobbyläufer:10 Höhengruppe (HG)/ 12 Kontrollgruppe (KG)	10/12	nicht analysiert	HG VO <sub>2</sub> max: ↑10% KG VO <sub>2</sub> max:↑ 8%		
Gore et al 1998 [76]	31 Tage auf 2690 m; Radtraining; Australisches NT; keine KG	8	↔	↔		4 Km Test: ↑4%

## 2 Darstellung des aktuellen Forschungsstandes

**Tab. 3: Übersicht LH-TL**

Autor	Intervention / LH-TL	n	HbMasse	VO <sub>2</sub> max/Schwelle	Sonstiges	Wettkampf
Brugniaux et al. 2006[23]	Laufen; 18 Tage Training auf 1200 m, Tag 1-6 auf 2500 m, Tag 7-18 auf 3000 m in normobarer Hypoxie leben (14 Std/Tag) LH-TL	11	Hb, Hct: ↔; Retikulozyten: sign. ↓ (beide Gruppen); HbTotal: sign. ↑ (in HG bei Post 1, +10,1 %)	VO <sub>2</sub> max: sign. ↑ (HG, +9,6 % Post 1, +5,2 % Post 2); ↔ (KG)	EPO: ↔; sTfR: sign. ↑ (während Training +17,4 %, Post 1 +27,4 %, Post 2 +24,2 % in HG)	2000 m-Leistung: ↔
Brugniaux et al. 2006	Skilanglauf, Laufen, Schwimmen; KG, HG; Training auf 1200 m (beide Gruppen); Schlafen auf 2500 m, 3000 m und 3500 m (HG, zwischen 5-12 Nächte) LH-TL	41	Leukozyten: sign. ↓ (Ski bei Post 2), sign. ↑ (Schwimmer bei Post 1), ↔ (Läufer)		ΔSaO <sub>2e</sub> : sign. ↓ (Schwimmer, Läufer)	
Robach et al. 2006[169]	13 Tage Schwimmtraining auf 1200 m (KG), Tag 1-5 auf 2500 m, Tag 6-13 auf 3000 m in normobarer Hypoxie leben (16 Std/Tag) LH-TL	♂ 16, ♀ 2	Hb, Hct: ↔; Retikulozyten: sign. ↓ (KG); Hb <sub>mass</sub> , RBCV: sign. ↑ (HG) 1-2 Tage danach	VO <sub>2</sub> max: ↔ (beide Gruppen)	EPO: sign. ↓ (beide Gruppen während Training); sTfR: sign. ↑ (beide Gruppen während Training); Ferritin: ↔	2000 m-Leistung: ↔
Fiedmann et al. 2005[66]	Akute Hypoxie (4 Std); Normobare Hypoxie (2500 m); 3 Wochen Trainingslager (LH-TL, 2100-2300 m); 60-70 km/Woche Schwimmen	♂ 9, ♀ 7	Hb, Hct ↔ 10 Tage nach Hypoxie; HbTotal sign. ↑ (+8 %) 10 Tage nach Hypoxie	Schwimm-Stufentest: sign. ↑, Maximalleistung und Leistung an Schwelle (+2-3 %) nach Höhenttraining	EPO: sign. ↑ nach 4 h akuter Hypoxie (+58,3 %) und nach Tag 1 & 2 in Höhe (+51,8 %)	
Hinckson/Hopkins 2005	Cross-over; 4 Wochen, ~10 Std/Tag Höhe; Normobare Hypoxie (2500-3500 m); Individuelle Trainingssteuerung Laufen; LH-TL	♂ 11	Hb (-3,3 %), Hct (-3,1 %) 1 Woche nach Höhenphase	Ausbelastungsläufe: ↑ 1-2 %		
Clark et al. 2004[38]	Rad, Triathlon; 3 Gruppen (LH-TLc, LH-TLi, KG);	29	Hb, Hct: ↔;	VO <sub>2</sub> max: ↔ (in allen Gruppen nach Höhenttraining)	Ferritin: ↔; MCT1, MCT4: ↔ (nach Höhenttraining); Pufferkapazität: ↔ (nach Höhenttraining)	
Stray-Gundersen et al. 2001[191]	Individuelles Training Laufen; hochintensiv auf 1250 m Höhe, weiteres Training zwischen 2000 m und 2800 m; LH-TL	♂ 14, ♀ 8	Hb: sign. ↑ (nach akuter Höhe, chronischer Höhe und Rückkehr Flachland); Hct: sign. ↑ (nach chronischer Höhe und Rückkehr	VO <sub>2</sub> max: sign. ↑ (+3,0 %)	Ferritin: ↔; EPO: sign. ↑ (nach akuter Höhe, chronischer Höhe), sign. ↓ (Rückkehr Flachland)	3000 m-Lauf: sign. ↑ (+1,1 %)

## 2 Darstellung des aktuellen Forschungsstandes

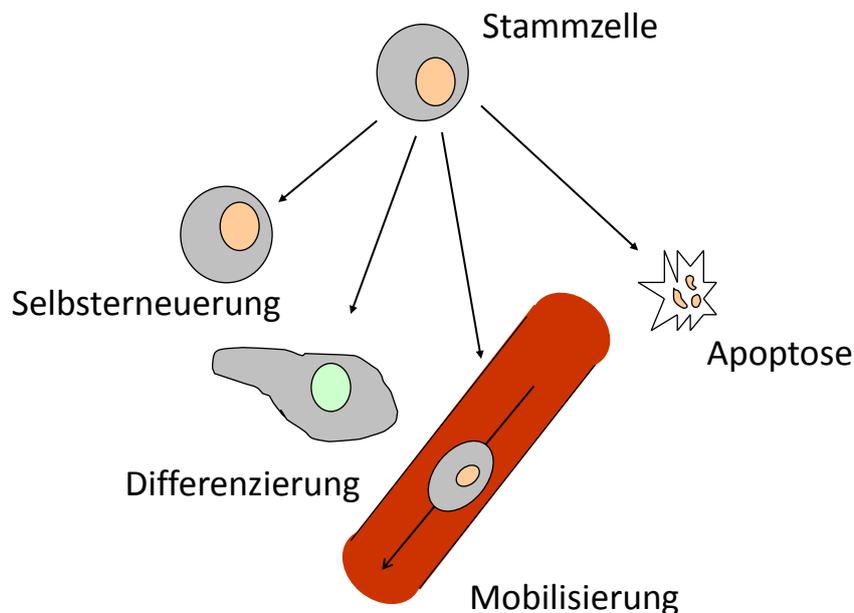
Tab. 4: Übersicht LL-TH

Autor	Intervention / LL-TH	n	Hb <sub>Masse</sub>	VO <sub>2</sub> /Schwelle	Sonstiges	Wettkampf
Hendriksen et al. 2003[86]	Anaerober Wingate-Test; Stufentest; 10 Tage Training in normobarer Hypoxie (2500 m), akute intermittierende hypobare Hypoxie; Radfahren; <b>LL-TH</b>	16	Hb, Hct: sign. ↑ 2 Tage nach Höhenttraining (beide Gruppen), sign. ↑ nach 9 Tagen Flachlandtraining	VO <sub>2</sub> max: ↔ (beide Gruppen); W <sub>max</sub> : sign. ↑ (+5,2 % Höhe, 9 Tage nach Höhenttraining); sign. ↑ (+3,7 % Flachland nach 9 Tagen)		
Truijens et al. 2003[202]	Double-blind Placebo Studie Schwimmen; 5 Wochen Training, 3x/Woche Strömungskanal mit spezieller Maske; <b>LL-TH</b>	♂ 6, ♀ 10	Hb, Hct: ↔	VO <sub>2</sub> max: sign. ↑ (Höhe: +7 %; Kontrolle: +8,1 %)	Anaerobe Kapazität: ↔; Schwimmökonomie: ↔	100 m-Zeit: sign. ↑ (Höhe: +1,1 %; Kontrolle: 1,2 %); 400 m-Zeit: sign. ↑ (Höhe:+1,7 %; Kontrolle: +1,2 %)
Meeuwssen et al. 2001[139]	Anaerober Wingate-Test; Stufentest; 10 Tage Training in normobarer Hypoxie (2500 m), akute intermittierende hypobare Hypoxie; Radfahren, <b>LL-TH</b>	16	Hb, Hct: sign. V ↑ 2 Tage nach Höhenttraining	VO <sub>2</sub> max: sign. ↑ (+7,0 %); Wmax: sign. ↑ (+7,4 %) 9 Tage nach Hypoxieintervention)	Wingate-Test: sign. ↑ (+5,0 %)	
Julian et al. 2004[109]	Double-blind Placebo Studie Laufen; Intermittierende normobare Hypoxie; 4 Wochen, 5x/Woche, 70 min/Tag (Maske: 5 min hypoxische, 5 min normale Luft)	♂ 14, ♀ 3	Hb, Hct, Retikulozyten: ↔	VO <sub>2</sub> max: ↔	EPO, Ferritin: ↔	3000 m-Lauf: ↔
Ventura et al. 2003[204]	6 Wochen, 3x/Woche 30 min Training an der Schwelle zusätzlich zum individuellen Training; Normobare Hypoxie mit Maske (3200 m), Radfahren	♂ 11, ♀ 1	Hb, WBC, RBC: ↔ (beide Gruppen); Retikulozyten: sign. ↑ (beide Gruppen)	VO <sub>2</sub> max-Tests: ↔ (beide Gruppen); W <sub>max</sub> : ↔ (beide Gruppen)	Harnstoff: ↔ (beide Gruppen); Ferritin: sign. ↓ (Höhengruppe)	

## 2.3 Stammzellen

### 2.3.1 Stammzellen Grundlagen

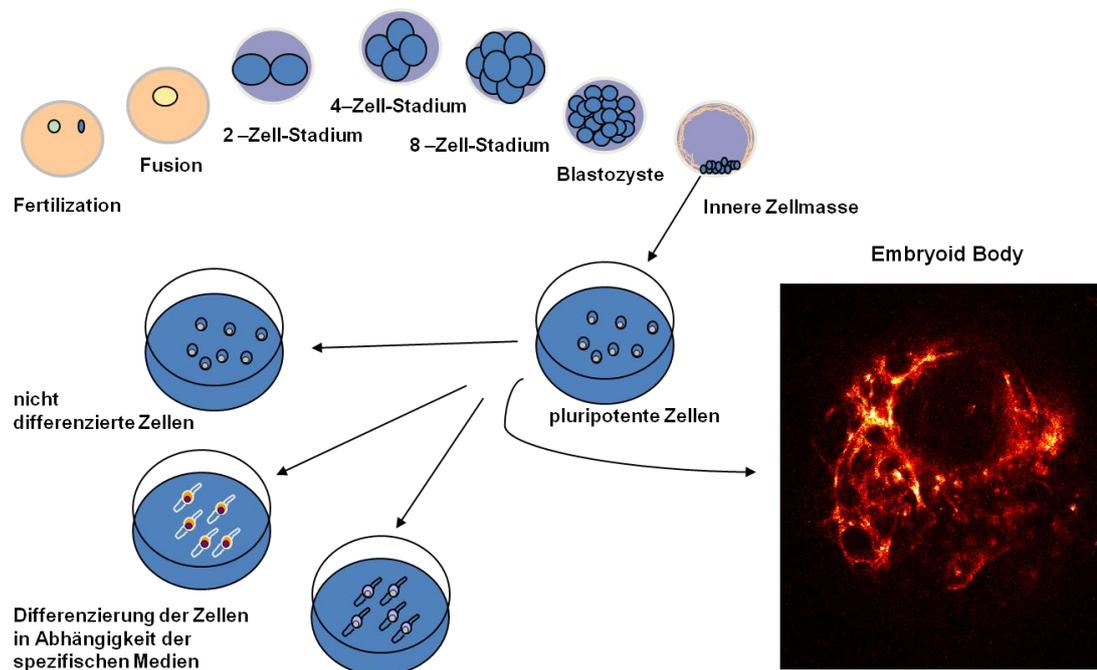
Als Stammzellen wird eine Zellpopulation von nicht oder wenig spezialisierten Zellen, welche die Fähigkeit zur Selbsterneuerung, sich zu teilen und neue Stammzellen zu produzieren, bezeichnet. Auf einen spezifischen Reiz hin sind sie in der Lage, sich weiter auszudifferenzieren. Dabei ist der von dem Reiz ausgelöste molekulare Signalweg entscheidend für die weitere Ausdifferenzierung der Zelle [68]. Produkt einer Stammzellteilung sind also neue Stammzellen und eine spezialisiertere Zelle oder Progenitorzelle. Bei Progenitorzellen handelt es sich um weiter differenzierte Zellen, deren Differenzierungsspektrum eingeschränkt ist und auf einen bestimmten Entwicklungsweg vorprogrammiert ist.



**Abb. 6: Mögliche Entwicklungswege der Stammzellen**

Allgemein werden Stammzellen durch ihr Differenzierungspotential voneinander unterschieden. Die Zellen mit dem größten Differenzierungspotential sind die Embryonalen Stammzellen (ES). Sie sind ontogenetisch die jüngsten Zellen und besitzen bis zum 8-Zellstadium noch die Fähigkeit, sich in einen kompletten Organismus zu differenzieren, sind also totipotent. Im weiteren Verlauf der Entwicklung verlieren sie diese Fähigkeit und sind nur noch pluripotent. Das heißt, sie können sich in jedes Gewebe der drei Keimblätter (Mesoderm, Ektoderm und Entoderm) differenzieren. Sie werden aus der inneren Zellmasse von Blastozysten gewonnen (Abb.7) und

können in vitro weiter vermehrt oder unter Verwendung von Nährmedien, welche spezifische Hormone und Wachstumsfaktoren enthalten, in den gewünschten Zelltyp differenziert werden. J.A. Thomson publizierte 1998 [199] die erste wissenschaftliche Arbeit, in welcher er die erfolgreiche Kultivierung von humanen Embryonalen Stammzellen beschrieb. Die Arbeitsgruppe hatte ihre Embryonen aus Israel bezogen, wo sie zur In-vitro-Fertilisation hergestellt worden waren, aber nicht bei den Zellspenderinnen implantiert worden waren. Dies war der Beginn der humanen Stammzellforschung, deren Ziel es ist, zu therapeutischen Zwecken spezifische Zelllinien herzustellen, um so abgestorbenes Gewebe (z.B. nach einem Herzinfarkt entstandenen Gewebsdefekte) oder in seiner Funktion eingeschränktes Gewebe (dopaminproduzierende Zellen beim Morbus Parkinson) zu ersetzen. Obwohl ES ein großes therapeutisches Potential zu haben scheinen, ist die Forschung an ihnen und deren Herstellung aus ethischen Gründen nicht unumstritten. Die Gesetzgebung ist in diesem Punkt sehr heterogen. In Deutschland ist die Herstellung von humanen ES verboten, der Import von Zellen, welche vor dem 01.05.2007 gewonnen wurden und die Forschung an ihnen erlaubt [25].



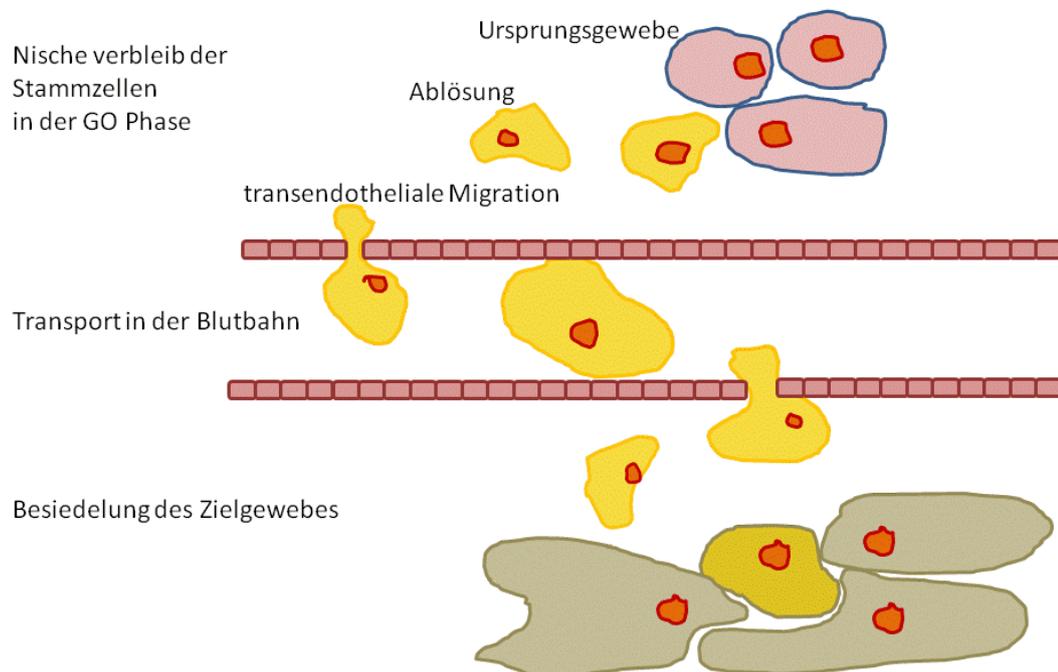
**Abb. 7: Gewinnung von Embryonalen Stammzellen und deren weitere Entwicklung im Labor (Foto: de Marées aus Labor Prof. Dr. Jürgen Hescheler Institut für Neurophysiologie Medizinische Fakultät Klinikum der Universität zu Köln)**

Im Gegensatz zu den ES, welche nur während der frühen embryonalen Entwicklung bestehen, sind die adulten Stammzellen Zeit ihres Lebens im Organismus zu finden.

Ihre wesentliche Leistung besteht in der Aufrechterhaltung der Gewebshomöostase, wie zum Beispiel bei der Regeneration epithelialer Gewebe (Haut, Schleimhaut). Sie verbleiben in den meisten Geweben und auf äußere Reize (Training, Hypoxie, Entzündungen) reagierend, unterstützen sie Adaptationsprozesse oder regenerieren belastetes Gewebe und ersetzen abgestorbene Zellen.

Das Knochenmark ist im adulten menschlichen Organismus Hauptquelle für Stamm- und Progenitorzellen. Doch wurden in neueren Studien auch für eine Reihe anderer gewebespezifische Stammzellen entdeckt. Vor allem sind hier die Skelettmuskulatur, der Herzmuskel, der Knochen, das Fettgewebe und das Gehirn zu nennen [15;70;148].

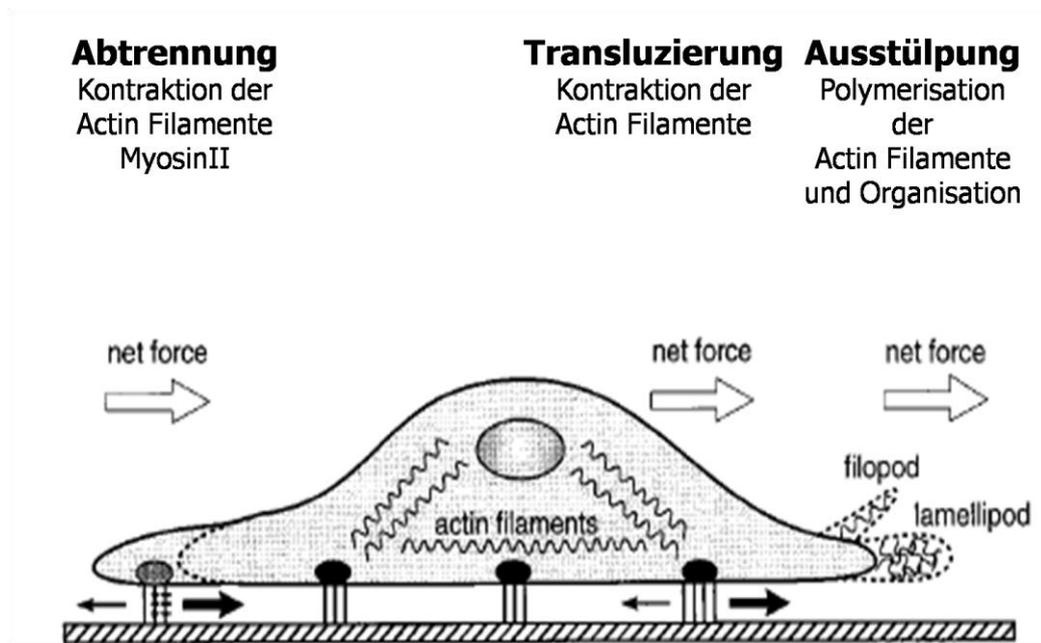
Hier residieren die Stammzellen in so genannten Nischen, wo sie an Adhäsionsmoleküle gebunden verharren [85]. Ausgehend von bestimmten Reizen, wie Verletzungen, Entzündungen oder absterbenden Zellen werden Signalmoleküle freigesetzt, welche die Stammzellen von den Adhäsionsmolekülen lösen und veranlassen, ihre Nische aufzugeben, in die Blutbahn einzutreten und an den Ort ihrer Bestimmung angekommen, sich weiter auszudifferenzieren [85].



**Abb. 8: Mobilisation der MSC (Modifiziert nach Bloch [16])**

Die Migration der Zellen ist ein aktiver Prozess, bei welchem sich Extensions- und Kontraktions-Zyklen wiederholen. Dynamische Prozesse des Zytoskeletts, welche

über die Extrazellulärmatrix auf die Oberfläche, an der die Zellen sich befinden übertragen werden, liegen dieser Bewegung zu Grunde. Actinfilamente treten in Kontakt zu Integrinen und zur Kontraktion befähigte Myosin Proteine. Zusätzlich induziert die Verkürzung von membrangebundenen Actinfilamenten eine Ausstülpung am vorwärts gleitenden Pol der Zelle. Dazu wird am gegenüberliegenden Pol der Zelle die Verbindung gelöst (Abb.9 [65;122]).



**Abb. 9:** Schematische Darstellung einer sich bewegenden Zelle [122]

Der Differenzierungsweg der Stammzellen galt lange Zeit als unumkehrbar. Als linear verlaufender irreversibler Entwicklungsweg, an dessen Ende eine vollständig ausdifferenzierte Zelle entstanden ist. Doch hat eine Reihe von neueren Studien diese traditionelle Sichtweise in Frage gestellt. So wurde nachgewiesen, dass die Differenzierung von Stammzellen in die umgekehrte Richtung verlaufen kann. Außerdem legen die Ergebnisse nahe, dass verschiedene Vorläuferzellen sich zu Geweben ausdifferenzieren können, welche nicht zu denen der schon beschrittenen Entwicklungslinie gehören [15].

Nehmen die Stammzellen während der embryonalen Entwicklung eines Organismus eine entscheidende Rolle ein, so fällt den adulten Stammzellen bei Regenerations- und Adaptationsprozessen eine zentrale Rolle zu.[16] Bei den adulten Stammzellen unterscheidet man unter anderem zwei Hauptgruppen voneinander. Zum einen sind hier die Hämatopoetischen Stammzellen (HS) zu erwähnen, welche eine zentrale Rolle bei der Anpassung und Regeneration des vaskulären Systems einnehmen. Zum anderen gibt es die Mesenchymalen Stammzellen, welche auf Grund der Tat-

sache, dass sie sich in eine Vielzahl verschiedener Gewebe mesenchymalen Ursprungs differenzieren können, eine erhebliche Funktion bei der Adaptation und Regeneration eines Organismus einnehmen. Die Mesenchymalen Stammzellen werden im folgenden Abschnitt genauer beschrieben.

### **2.3.2 Mesenchymale Stammzellen (MSC)**

Unter Mesenchym versteht man das embryonale Bindegewebe, welches das Ursprungsgewebe von glatter Muskulatur, Skelett- und Herzmuskulatur, sowie von Binde- und Stützgewebe darstellt. Es entsteht während der Embryogenese durch Trennung von Zellen aus den Keimblättern des Embryos, mehrheitlich aus dem Mesoderm, und aus bestimmten Anteilen des Ekto- und Endoderms. Hieraus differenzieren sich unter anderem das Gefäßsystem und das Herz, aus der Epithelialeuskleidung (ektodermaler Ursprung) die Lunge, sowie die Harn- und Geschlechtsorgane. Des Weiteren sind das rote und gelbe Knochenmark mesenchymalen Ursprungs. Hierbei handelt es sich um zwei unterschiedliche Funktionszustände desselben Organs. Während das rote Knochenmark vornehmlich Zellen der Erythropoese enthält, besteht das gelbe Knochenmark größtenteils aus Fettzellen. Erste Hinweise auf das Bestehen nicht hämatopoetischer Knochenmarkszellen lieferten die Beobachtungen des deutschen Pathologen Cohnheim [41]. Mittels Injektionen eines Farbstoffes in die Venen verletzter Tiere untersuchte er den Wundheilungsprozess. Hier beobachtete er, dass in der Umgebung der Wunden neben inflammatorischen Zellen auch Fibroblasten-ähnliche Zellen den Farbstoff aufwiesen. So schloss er, dass ein Teil der am Wundheilungsprozess beteiligten Zellen der Blutbahn und letztlich dem Knochenmark entstammen müssten. Der Grundstein der modernen Forschung an MSC wurde um 1970 von einer Moskauer Forschergruppe um Alexander Friedenstein gelegt. Friedenstein beschäftigte [61-64] sich mit Knochenmarkszellen, welche Fibroblasten ähnelten, bei der Kultivierung Kolonien bildeten und sich *in vitro* und *in vivo* in Knochengewebe ausdifferenzierten. Er nannte diese Zellen „marrow stromal cells“ oder Mesenchymale Stammzellen. Auf Grund ihres großen Differenzierungspotentials und der Tatsache, dass sie relativ unproblematisch unter Laborbedingungen zu kultivieren sind, stehen sie vermehrt im Fokus von einer rasant steigenden Zahl zelltherapeutischer und klinischer Studien. Mesenchymale Stammzellen sind nicht als fester, eindeutig definierter Begriff zu verstehen. Das Verständnis wandelte sich mit der Zahl der Studien zu diesem Thema. Allein auf Grund der Tatsache, dass es bis jetzt noch nicht ge-

lungen ist, ein einheitliches Oberflächenmarkerprofil, welches für MSC charakteristisch ist, zu identifizieren, fasste „The International Society for Cellular Therapy“ in einem „positions statement“ die Minimalanforderungen zusammen. Diese sind in der folgenden Tabelle zu finden.

**Tab. 5: Zusammenfassung der Anforderungskriterien von MSC [52]**

1. Adhäsion an plastische Oberflächen unter Standard-Zellkulturbedingungen		
2. Phänotyp	Positiv (> 95 %)	Negativ (< 2 % )
	CD 105	CD 45
	CD 73	CD 34
	CD 90	CD 14 oder CD 11b
		CD79 oder CD19
		HLA-DR
3. Differenzierung unter in vitro Bedingungen in: Knochen-, Fett- und Knorpelgewebe		

Ebenso schwierig wie die genaue Charakterisierung der MSC ist deren Nomenklatur. Aktuell fasst Horwitz [94] die Definition von MSC folgendermaßen zusammen und führt den Begriff der multipotent-mesenchymalen „stroma cells“ ein.

- I. Mit dem Begriff MSC sollen spezielle biologische Eigenschaften von Zellpopulationen aufgezeigt werden, welche plastisch adhärent sind. Da diese Zellpopulationen keine uniforme Familie von Stammzellen darstellt, und ihr deshalb keine Stammzellaktivität zugeschrieben werden kann, wurde der Begriff „stem“ eliminiert. Horwitz zweifelt nicht an der Tatsache, dass sie die Fähigkeit besitzen, Gewebe zu regenerieren und deshalb fügt er den Terminus „multipotent“ hinzu[94].
- II. Auf Grund der Tatsache, dass das Differenzierungspotential noch nicht vollständig beschrieben werden kann, soll sich die Nomenklatur auf den Ursprung der Zellen beziehen.
- III. Die Autoren unterstützen die Vorstellung, dass MSC existieren.
- IV. Auf Grund des Ortes, an welchen die Zellen identifiziert wurden, wird die Bezeichnung „stromal“ ausgewählt.

- V. Horwitz glaubt, dass es wichtig ist, das Acronym Mesenchymale Stammzellen aufrecht zu erhalten.

### 2.3.2.1 Isolierung von Mesenchymalen Stammzellen

Hauptquelle der MSC ist das Knochenmark. So können die Aspirata von Knochenmarkspunktionen der Wirbelkörper der Brust- und Lendenwirbelsäule, der Crista iliaca des Beckenkamms und des Sternums zur Isolation von MSC verwendet werden [22;42;44;156]. Zur weiteren Aufreinigung des Aspirates werden zunächst mittels Dichtegradientenzentrifugation mononukleäre Zellen (MNC) gewonnen und in weiteren Verarbeitungsschritten MSC isoliert. Das von Colter und DiGirolamo [42;50] etablierte Verfahren sieht zur Gewinnung von MSC eine Zentrifugation mittels Ficoll bei 2500\*g für 30 min vor. Die so gewonnenen MNC werden in HBSS resuspendiert, nochmals für 15 min bei 1500\*g zentrifugiert und schließlich im Medium in Zellkulturschalen ausplattiert. Nachdem die Kultivierung begonnen hat, binden die MSC innerhalb von 24 Std. an die Plastikoberfläche. Die nicht adhärenen Zellen werden durch den alle zwei Tage erfolgenden Mediumswechsel eliminiert. Diese Methode der Isolierung ist einfach und kostensparend. Obwohl es eine Vielzahl von weiteren Zellen mit der Eigenschaft, sich an Plastik zu binden, gibt, wie Makrophagen und endotheliale Zellen, ist dies eine präzise Methode, MSC zu isolieren. Dieses Protokoll wurde auch bei den beschriebenen Versuchen zur Isolierung von MSC verwendet.

Neben dem o.g. Knochenmark konnte in einer Reihe von Studien die Isolierung auch aus anderen Geweben beschrieben werden. So konnten MSC aus dem Blut gesunder Spender [223], dem Muskel [18], dem Fettgewebe [222], der Membrana synovialis [48;58], dem Periost der Tibia [48], dem Femurkopf [147], der Leber, den Nieren, der Lunge, dem Pankreas und der Schilddrüse [12;46;115] gewonnen werden. Die Anzahl der im Knochenmark befindlichen Zellen ist sehr gering. So sind von einer Mio. MNC nur etwa 2-5 Zellen MSC, wobei die Konzentration vom Allgemeinzustand des Spenders und dessen Alter abhängig ist [10;156]. Caplan gibt die Konzentration von MSC/Knochenmarkszelle mit  $1/10^4$  bei Neugeborenen, mit  $1/10^5$  für Teenager und  $1/10^6$  bei älteren Menschen (>70J) an [30]. Die im Alter abnehmende Frequenz der MSC im Knochenmark mag ein Grund für die langsamere Wundheilung älterer Menschen gegenüber Kindern sein. Aber auch die Punktions-technik und der Ort der Entnahme bestimmen die Frequenz der MSC des Punktates maßgeblich. So sinkt die Anzahl der MSC auf Grund des Verdünnungseffektes des Blutes mit zunehmenden Volumen des Aspirates ab [144]. Die häufigsten Punkti-

onsstellen zur Gewinnung von MSC sind das Sternum, die Crista iliaca und die Körper der Wirbelsäule. Die Konzentration in den Wirbelkörpern ist deutlich höher als bei den zuerst genannten Entnahmeorten [138]. Vergleicht man verschiedene Quellen der MSC miteinander, so konnte nachgewiesen werden, dass das Fettgewebe 100 mal mehr so genannte „adipose-derived stromal cells“ (ASC) enthält als das Knochenmark MSC [127]. Die immunmodulatorischen Eigenschaften und das Differenzierungspotential der ASC scheinen denen der MSC vergleichbar zu sein [160;221;222].

### 2.3.2.2 Differenzierungspotential Mesenchymaler Stammzellen

Das genaue Ausmaß der Differenzierungsfähigkeit der MSC ist noch unklar. Die Differenzierung in Osteoblasten, Chondrozyten, Myozyten, Adipozyten und Sehngewebe ist in zahlreichen Studien belegt worden. In diesem Zusammenhang entwickelte Caplan [28] das Modell der Mesengese (s. folgende Abb.).

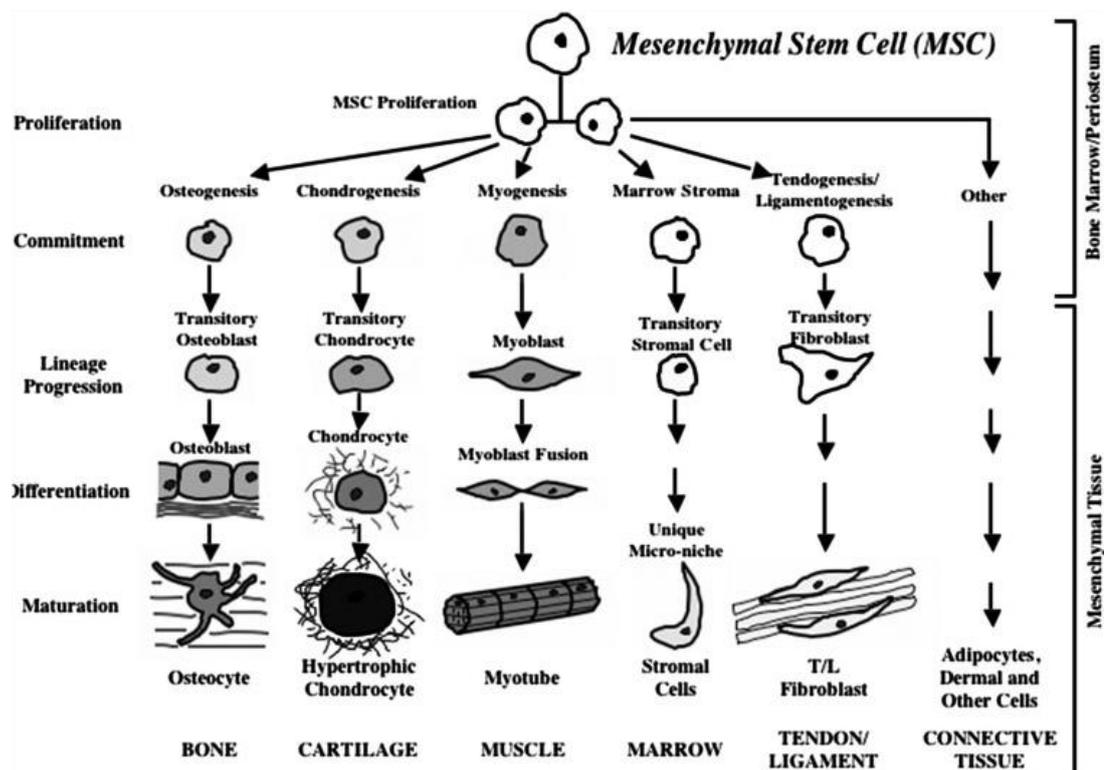


Abb. 10: Differenzierungspotential der MSC aus [30]

Die Differenzierung der MSC in nicht-mesenchymale Gewebe konnte von Oswald [152] aufgezeigt werden. Er kultivierte MSC in Gegenwart von 2% igen FSC und VEGF. Hier konnte er die Differenzierung von MSC in endotheliale Zellen nachweisen. Zudem wurde mittels eines Angiogenese-Kits die in vitro-Gefäßbildung unter-

sucht. So bildeten 80% der MSC Kapillarstrukturen aus. Dieser Befund wurde von der Arbeitsgruppe um Jiang [106] wiederholt. Sie kultivierten „multi-potent adult progenitor cells“ von Ratten und Mäusen mit Fibronektion und VEGF für 14 Tage. Mehr als 40% der MAPC wiesen einen endothelialen Phänotyp auf.

Die Differenzierung in neuronales Gewebe konnte die Arbeitsgruppe um Woodbury [216] nachweisen. Sie kultivierten zu diesem Zweck MSC in Serumfreiem Medium mit  $\beta$ -Mercaptoethanol. Für die auf diese Weise so für fünf Stunden behandelten Zellen konnte mit der Expression von Nestin die Differenzierung von neuronalen Vorläuferzellen nachgewiesen werden. Diese Fähigkeit nahm mit der Dauer der Inkubation ab und konnte nach sechs Tagen nicht mehr nachgewiesen werden. Dafür exprimierten die länger inkubierten Zellen den TRK-A (Nervenwachstumsfaktor) als Beweis für die Differenzierung in neuronales Gewebe. Zu ähnlichen Ergebnissen kam die Arbeitsgruppe von Kopen [118]. Sie konnten die Differenzierung humaner MSC in Neurone darstellen. Sie injizierten MSC in die Seitenventrikel von Mäusen, welche sich im Kleinhirn ausbreiteten und zu Astrozyten ausdifferenzierten.

Immunmodulatorische Eigenschaften von MSC wurden bei Transplantationen nachgewiesen. So war das Ergebnis einer Transplantation hämatopoetischer Zellen bei gleichzeitiger Gabe von MSC sehr viel besser als ohne MSC [33;126]. Die Unterdrückung der „graft versus host“-Reaktion wird auf die Interaktion der MSC mit den T- und B-Zellen zurückgeführt. So wird die T-Zellproliferation unterdrückt und bei den B-Zellen die Differenzierung und Chemotaxis vermindert. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass MSC die Antikörperproduktion reduzieren [43].

### **2.3.2.3 Klinische Verwendung Mesenchymaler Stammzellen**

Der therapeutische Einsatz von Zellen geht auf das Jahr 1931 zurück. Hier verwandte der Schweizer Arzt Niehaus die Injektion von diversen Zelltypen als Heilmittel und zum Einsatz gegen Krankheiten. Die später unter dem Begriff „Frischzellen Therapie“ bekannte Behandlungsmethode wurde 1997 in Deutschland als Heilbehandlung verboten [215]. Die erste klinisch erprobte Therapieform war die Knochenmarkstransplantation, welche von D. Thomas zur Behandlung von Knochenmarkserkrankungen entwickelt wurde und für welche er 1990 den Nobelpreis für Medizin erhielt [110].

Auf Grund der Tatsache, dass MSC relativ leicht zu gewinnen und kultivieren sind, und auf Grund ihres großen Differenzierungspotentials scheinen sie für den therapeutischen Einsatz geradezu prädestiniert zu sein. Erste Versuche, bei welchen MSC systemisch verabreicht wurden, zeigten ein einheitliches Bild. Nur eine ver-

gleichsweise geringe Zahl der transplantierten Zellen erreichten peripheres Gewebe, die meisten lagerten sich im Lungengewebe ab [71]. Doch konnte bei einigen Studien das Engraftment von transplantierten Zellen in verschiedenen Organen nachgewiesen werden. In Tiermodellen wurde eine Vielzahl von Studien veröffentlicht, welche den positiven Effekt bei autologer oder xenogener Transplantation von MSC auf verschiedene Defektzustände nachwies. Hier wurde an Herzinfarktmodellen eine funktionelle Verbesserung der Herztätigkeit beschrieben [1;112;145;159]. An cerebral ischämischen Modellen konnte nach MSC-Transfusion die Ansiedelung der infundierten Zellen im Gehirn und eine verbesserte Erholungszeit der behandelten Tiere gegenüber den nicht therapierten nachgewiesen werden [93]. Bei Mäusen wurde unter Verwendung von Bleomycin eine Lungenfibrose induziert. Wurden die Tiere mit MSC-Infusionen behandelt, so konnte eine verminderte Entzündungsreaktion und eine geringere fibrotische Veränderung des Lungengewebes beschrieben werden [151].

Der Vielzahl von Publikationen über den Einsatz von MSC an Tiermodellen steht eine relativ geringe Menge an klinischen Studien gegenüber. Eine Studie, die in diesem Zusammenhang oft zitiert wird, wurde von Horwitz et al publiziert [95]. Er behandelte Kinder mit Osteogenesis imperfecta mit einer allogenen HSC-Infusion. Transplantierte Knochenmarkszellen wurden im Knochengewebe identifiziert, wo sie die Funktion von Osteoblasten generierten und dadurch die Knochenstruktur und Funktionalität verbesserten. Allerdings wurde hier das gesamte nicht aufgereinigte Knochenmark transplantiert, so dass die beobachteten Entwicklungen mit Vorsicht zu behandeln sind. Bei weiteren Studien wurden die therapeutischen Möglichkeiten von MSC bei Myokardinfarkt-Patienten untersucht. Chen konnte in einer Studie die Verbesserung der Herzfunktion nach intracoronarer Injektion autologer MSC beobachten. 69 Patienten wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Bei den Patienten, welche mit MSC behandelt wurden, konnte drei Monate nach der Transplantation eine Verbesserung der linksventrikulären Auswurfraction (LVEF) um 67% bei den mit MSC behandelten Patienten gegenüber 53% für die nicht therapierten beobachtet werden [35]. Die weitere klinische Erprobung konzentriert sich zurzeit auf die Therapie und Verhinderung der Graft-versus-Host-Reaktion (GvHD) nach allogener Knochenmarkstransplantation. Hier konnte die Remission einer GvHD nach allogener MSC-Gabe beschrieben werden. Dieser Befund wurde bei weiteren Behandlungen bestätigt [125;126]. Caplan misst der sportiven Transplantation von MSC bei Knochenmarkstransplantationen größte Bedeutung bei und begründet dies mit der Beobachtung, dass MSC im Knochenmark mittels ihrer parakrinen Eigen-

schaft die Ansiedlung von HSC und die Etablierung eines funktionell hochwertigen Knochenmarks beschleunigen [30]. Zusammenfassend stellt er über den therapeutischen Einsatz von MSC in klinischen Studien fest:

1. Negative Effekte (Entstehung von Tumoren wie Teratomen) wurden nach MSC-Transplantationen nicht beobachtet.
2. Der große Nutzen von MSC besteht weniger in dem Ersetzen von geschädigten Geweben als vielmehr in der Etablierung regenerativ wirkender Milieus, der Unterdrückung inflammatorischer Prozesse und der Reduktion einer GvHD

### **2.3.2.4 Nischen Mesenchymaler Stammzellen**

Zum Erhalt ihrer Funktionalität brauchen Stammzellen eine spezifische Mikroumgebung, welche als Nische bezeichnet wird. Hier verbleiben sie, bis sie Signale, welche sie zur Migration und/oder weiteren Differenzierung veranlassen, empfangen. Dabei wird das Verhalten der Stammzellen sowohl über Zell-Zell-Kontakte mit den sie umgebenden Zellen, als auch durch das Freisetzen bestimmter Wachstumsfaktoren und Zytokine reguliert. Neben den Stammzellen sind die benachbarten Zellen wesentlich am Aufbau der Nische beteiligt. Sie bilden durch das Sezernieren spezifischer Zytokine und Wachstumsfaktoren eine Extrazellulärmatrix, die die Eigenschaften der Stammzellen erhalten [194]. Ohne eine geeignete Nische beginnen die Stammzellen mit der Differenzierung. Diese Nischen existieren zeitlebens in verschiedenen Organen für die jeweiligen Stammzellen. So sind die Satellitenzellen (Stammzellen der Muskulatur) an den Basalmembranen lokalisiert, für Neuronale Stammzellen sind sie in subventrikulären Bereichen zu finden [78], für Epidermale Stammzellen in den Haarfollikeln [19], während für die HSC eine mit Osteoblasten assoziierte sogenannte „osteoblastic niche“ und eine den Endothelzellen kleiner Sinus angelagerte Nische, die „vascular niche“ im Knochenmark existiert [218]. Die Frage nach einer MSC-spezifischen Nische konnte lange Zeit nicht eindeutig beantwortet werden. Auf Grund der Tatsache, dass MSC aus vielen verschiedenen Geweben isoliert werden konnten, liegt der Schluss einer über den gesamten Organismus verteilten und weniger gewebespezifischen Nische nahe. So konnte für MSC eine periendotheliale Nische im Knochenmark und eine perivaskuläre Nische beschrieben werden [45], wo MSC an Perizyten angelagert im gesamten Organismus verteilt residieren und ihre Funktion bei der Regulation der Gewebshomöostase und Immunmodulation auf parakrinem Wege ausüben [29;45].

### **2.3.2.5 Migration Mesenchymaler Stammzellen**

Wie unter 2.3.2.4 beschrieben, verweilen Stammzellen in ihren spezifischen Nischen. Auf einen adäquaten Reiz hin verlassen sie ihr angestammtes Gewebe und bewegen sich entlang des Konzentrationsgradienten zum Zielgewebe. Unter Migration wird das Zusammenspiel mehrerer einzelner Prozesse verstanden. Die Zellen müssen ihr Ursprungsgewebe verlassen (häufig das Knochenmark) und sich entlang einer Route (normalerweise das Blutgefäßsystem) bewegen. Um ihr Zielgewebe zu erreichen, müssen sie wiederum ihre Route verlassen [121], indem sie aus dem Gefäßsystem hinaus migrieren. Dieser Prozess wird in vier Abschnitte eingeteilt:

1. Die Zellen treten in Kontakt mit den Endothelzellen.
2. Sie durchbrechen den Zell-Zell-Kontakt des Endothels.
3. Sie integrieren sich in das Endothelgewebe.
4. Sie passieren und verlassen die Endothelbarriere.

### **2.3.3 Assoziierte Wachstumsfaktoren Mesenchymaler Stammzellen**

#### **2.3.3.1 Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)**

Der basale Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF), auch FGF-2 genannt, ist neben dem aciden Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF-1) der wichtigste Vertreter, der aus 20 verschiedenen Faktoren bestehenden Familie der Fibroblasten-Wachstumsfaktoren. Der bFGF ist ein aus 155 Aminosäuren bestehendes und 18kDa schweres Protein. Er kann in der Basalmembran der Extrazellulärmatrix nachgewiesen werden [75]. bFGF beeinflusst die Proliferation und Differenzierung von Zellen mesodermalen Ursprungs, wie z.B. Endothelzellen, Astrozyten, Chondrozyten und Osteoblasten. Er unterstützt die Angiogenese, in dem er chemotaktisch und angiogen auf Endothelzellen wirkt und die Sekretion von VEGF erhöht. So konnte Kazeni et al nachweisen, dass bFGF das Überleben von Angioblasten verlängert und deren Differenzierung aus dem Mesoderm induziert [114]. In Kombination mit VEGF differenzieren EPC zu Endothelzellen [14]. Die Arbeitsgruppe um Bloch [134;179] konnte bFGF als den potentesten Verstärker der migratorischen Aktivität MSC identifizieren. Ebenso beteiligt sich bFGF an der Gefäßneubildung in verletzten Geweben und ist so ein wesentlicher Faktor bei der Wundheilung [157]. Hughes untersuchte, in wie weit bFGF und/oder VEGF die Neovaskularisation bei infiziertem Herzgewebe beeinflusst. Sie konnten nachweisen, dass der myokardiale

Blutfluss nur bei der intramyokardialen Applikation, nicht aber bei der IV-Injektion signifikant zunahm. Diese Beobachtung legt den Schluss nahe, dass bFGF im Zusammenspiel mit VEGF chemotaktische Wirkungen auf die Initialisierung der Migration von MSC ausüben [98].

### **2.3.3.2 Erythropoetin (EPO)**

Das EPO-Gen befindet sich auf dem Chromosom 7 und besteht aus fünf Exons und vier Introns. Das ursprünglich aus 166 Aminosäuren bestehende EPO tritt nach mehreren Spaltungsprozessen als ein aus 165 Aminosäuren bestehendes 30.4-kDa schweres Glycoprotein in die Zirkulation ein. Über den HIF-1 (s. Kapitel 2.1.2.1.) wird die Produktion von EPO, welche während der Entwicklung in der Fetalzeit in der Leber und später vornehmlich in den peritubulär interstitialen Zellen der Niere stattfindet, induziert und reguliert [102]. Neuere Studien [36] legen den Schluss nahe, dass auch im zentralen Nervensystem und Uterus sich wesentliche Orte der Produktion von EPO befinden. Obwohl Hypoxie als der bestimmende Faktor der EPO-Produktion beschrieben wurde, konnte Östrogen [217] im Uterus für die EPO-Produktion als regulierendes Hormon identifiziert werden. Um seine biologische Funktion zu entfalten, muss EPO an seine Rezeptoren binden (EPOR). EPOR befinden sich unter anderem auf den Membranen erythrozytärer Vorläuferzellen und Endothelzellen [101]. EPO reguliert im Knochenmark die Proliferation, Differenzierung und die Apoptose erythroider Zellen. Dabei kann als die primäre Wirkung von EPO bei der Erythropoese die Unterdrückung der Apoptose angesehen werden kann. Galt lange Zeit die biologische Wirkung des EPO auf die Erythropoese beschränkt, so zeichnen neuere Studien ein sehr viel komplexeres Bild der von EPO beeinflussten Prozesse. Li et al stellten in diesem Zusammenhang eine cytoprotektive Wirkung auf neuronale und vasculäre Zellen von EPO in den Vordergrund [131].

In Bezug auf das Zusammenspiel von EPO mit den MSC stellte Zhang eine verbesserte Revascularisierung und Verkleinerung eines Hypoxie-geschädigten Herzgewebes, bei einer Co-Infusion von EPO mit MSC gegenüber deren isolierten Gabe fest [219]. Chen et al untersuchten den Einfluss von MSC bei dem Prozess der Wundheilung und stellten die parakrinen Eigenschaften der MSC heraus. So zeigten sie, dass MSC in der Lage sind, neben Wachstumsfaktoren, wie IGF, EGF und VEGF-A auch Angiopoietin und EPO zu sezernieren und somit wesentlich für ein koordiniertes Zusammenspiel der am Wundheilungsprozess beteiligten Zellen zu sorgen [34].

### 2.3.3.3 Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

Bei fast allen mit Hypoxie im Zusammenhang stehenden Adaptationsmechanismen spielt der VEGF eine wesentliche Rolle. Er stimuliert die Proliferation und Differenzierung von Endothelzellen und ist ein entscheidender Permeabilitätsfaktor. VEGF wird in glatten Muskelzellen, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen produziert [107]. Obwohl sich unter dem Begriff VEGF mehrere Faktoren (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E und der Placenta-Growth Factor) subsummieren lassen, soll im Weiteren, auf Grund seiner herausragenden Stellung bei der Vermittlung angiogener Prozesse, vornehmlich auf VEGF-A eingegangen werden und im Weiteren als VEGF bezeichnet werden.

Vom VEGF-A sind sechs Isoformen (VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub>) bekannt, welche durch alternatives Spleißen des VEGF-A-Gens entstehen und sich in ihren Funktionen unterscheiden [55;57;107]. VEGF<sub>121</sub> stellt ein frei diffundierendes Protein dar, während VEGF<sub>189</sub>, VEGF<sub>206</sub> hauptsächlich an die Zelloberfläche und an die Extracellular-Matrix gebunden sind. Im Gegensatz dazu nimmt der VEGF<sub>165</sub> eine Sonderstellung ein, da es zwar im Lumen freigesetzt wird, aber ein wesentlicher Teil des Moleküls an der Zelloberfläche gebunden bleibt [31]. Durch Inhibition der Apoptose fördert VEGF das Überleben von Endothelzellen, regt zudem auf parakrinem Weg deren Proliferation und Migration an, und induziert die Gefäßsprossung und leistet so einen wesentlichen Beitrag zu angiogenetischen Prozessen [55;74].

Zwei Isoformen wurden bisher für den VEGF-B<sub>167/186</sub> identifiziert. Sie wurden in Muskel- und embryonalem Gewebe lokalisiert und aktivieren den VEGF-R1 [32;51].

VEGF-C stimuliert die Proliferation und Migration endothelialer Zellen und reguliert die Lymphangiogenese. Genau wie VEGF-D, welcher bei der Embryonalentwicklung in der Lunge sezerniert wird, entwickelt auch VEGF-C seine Funktionen über die VEGF-Rezeptoren-2 und 3 [27;108;214].

VEGF entwickelt über sogenannte VEGF-Rezeptoren (VEGF-R1, VEGF-R2, VEGF-R3) seine Wirkung. Sie besitzen eine extrazelluläre Domäne und eine intrazellulär gelegene Thyrosinkinase, welche nach Bindung des VEGF autophosphoryliert wird und so das Signal weiterleitet. VEGF-R1 und VEGF-R2 werden hauptsächlich auf Endothelzellen exprimiert, während VEGF-R3 nur auf dem lymphatischen Endothel gefunden werden kann [55;56;203]. Der VEGF-R1 wird auch als Flt-1 bezeichnet und liegt in einer Membran-gebundenen und einer gelösten Form vor. Auf Grund der Tatsache, dass sich die Eigenschaften des Rezeptors in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium des Lebewesens und des Zelltyps ändern, ist die genaue Identifikation

sehr schwierig. Allerdings ist die Affinität von VEGF zum VEGF-R1 sehr viel größer als zum VEGF-R2. Hierauf beruht die inhibitorische Wirkung des VEGF-R1, da so der VEGF daran gehindert wird an anderen Rezeptoren zu binden. Park prägte für diesen Sachverhalt den Begriff des Köder-Rezeptors [155]. Der VEGF-R2, auch als KDR oder Flk-1 bezeichnet, wird auf EPC und Ec exprimiert. Obwohl- wie oben erwähnt- seine Affinität zu VEGF gering ist, stellt er den Hauptvermittler mitogener und permeabilitätssteigernder Prozesse dar [56].

Obwohl MSC keine VEGF-R exprimieren, konnte von Ball nach gewiesen werden, das VEGF „platelet-derived growth factor receptors“ stimuliert, welche in hohem Maße von MSC exprimiert werden und so die Proliferation und Migration von MSC regulieren [6].

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Athleten

Alle an der Studie beteiligten Athleten waren Mitglieder des C/D-Kaders Schwimmen des Bundeslandes Nordrhein Westfalen. Bei allen Teilnehmern der Studie lag eine Trainingserfahrung (neun und mehr Trainingseinheiten pro Woche) von mindestens fünf Jahren vor. Auf einer Informationsveranstaltung wurden im Vorfeld der Studie das Studienvorhaben und die damit verbundenen Untersuchungen sowie die angewandten Methoden aller beteiligten Schwimmer, deren Eltern und den verantwortlichen Trainern vorgestellt. Hier wurde neben den Fragestellungen der Studie auch auf die Notwendigkeit hingewiesen, dass die beteiligten Aktiven sich mit der Teilnahme an der Studie dazu verpflichten, gemäß der verteilten Rahmentrainingspläne zu trainieren. Gleichzeitig erklärten sich die Teilnehmer und deren Eltern mit dem Vorhaben schriftlich einverstanden. Die anthropometrischen Daten und Leistungsmerkmale ( $VO_{2max}$ ) sind Tabelle 6 zu entnehmen.

**Tab. 6: Anthropometrische Daten der Probanden**

Dargestellt sind die Ergebnisse für Höhengruppe (HG) und Kontrollgruppe (KG)

	HG (n=8)	KG (n=8)	HG (n=4)	KG (n=4)	HG (n=4)	KG (n=4)
	total		Frauen		Männer	
<b>Alter [Jahre]</b>	15,5 ± 1,6	16,2 ± 2,6	15,2 ± 2,1	17,0 ± 3,7	15,8 ± 1,1	15,8 ± 1,8
<b>Körpergewicht [kg]</b>	68,9 ± 10,8	70,4 ± 8,7	61,7 ± 3,7	65,8 ± 12,0	76,1 ± 10,9	73,0 ± 5,5
<b>Körpergröße [cm]</b>	179,2 ± 8,5	178,8 ± 6,8	173,8 ± 4,5	176,2 ± 8,2	184,6 ± 8,5	180,2 ± 5,9
<b>VO<sub>2</sub>max [ml/min/kg]</b>	51,5 ± 8,6	50,9 ± 8,9	45,1 ± 5,0	46,8 ± 7,3	57,8 ± 6,3	53,2 ± 9,2

### 3.2 Studiendesign

Die Teilnehmer wurden in zwei Gruppen aufgeteilt. Eine Gruppe nahm an einer dreiwöchigen Höhentrainingsmaßnahme in der Sierra Nevada Spanien (2340 m über NN) teil. Die zweite Gruppe absolvierte ein Trainingslager in Köln (25 m über NN), welches ebenfalls 21 Tage dauerte. Die Studie wurde insgesamt über einen Zeitraum von neun Wochen durchgeführt. Sie lässt sich in drei Bereiche untergliedern:

- Voruntersuchungen,
- Hauptstudie,
- Nachuntersuchungen (Abb.11).

Die Voruntersuchungsphase beinhaltete eine medizinische Untersuchung zur Feststellung der Sporttauglichkeit und zur Evaluierung des Eisenstatus der Athleten. So konnte sichergestellt werden, dass auf der einen Seite gesunde Athleten an der Studie teilnahmen und andererseits im Hinblick auf den Eisenhaushalt keine defizitäre Situation vorlag. Des Weiteren wurde eine Leistungsdiagnostik auf dem Radergometer durchgeführt und ein Wettkampftest ausgetragen. Die Hauptstudie umfasste neben den Trainingsmaßnahmen jeweils zwei Leistungsdiagnostiken, im weiteren Verlauf als Test betitelt. Im Rahmen der Nachuntersuchung wurden zwei weitere Leistungsdiagnostiken und ein abschließender Wettkampf durchgeführt. Abbildung 11 stellt den Ablaufplan der Studie schematisch dar.

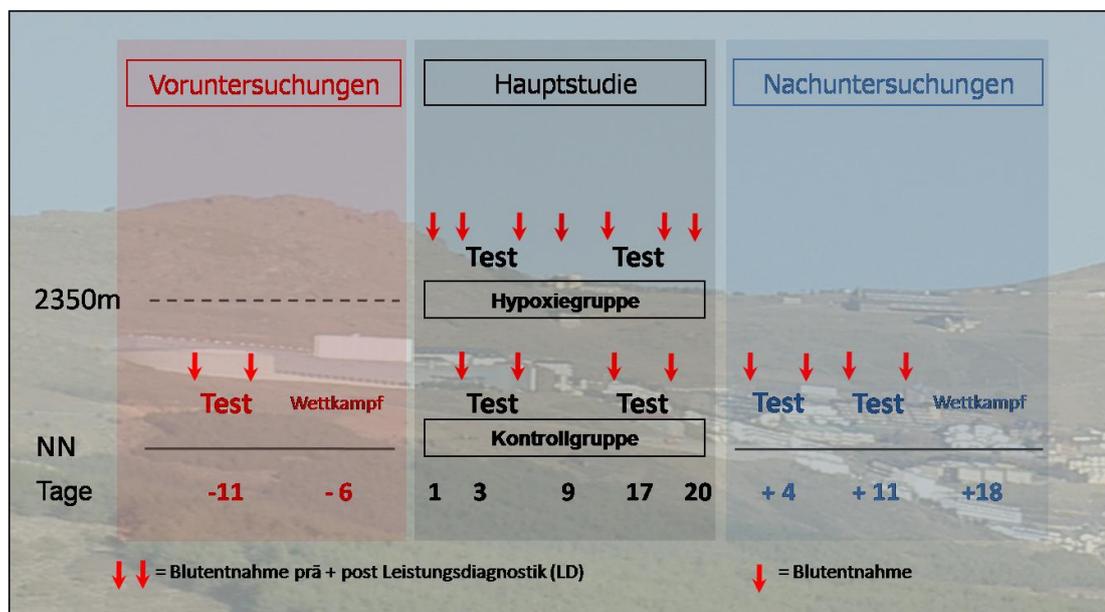


Abb. 11: Übersicht des Studiendesigns und der Blutentnahmen

### 3.3 Untersuchungsmethoden

#### 3.3.1 Leistungsdiagnostik

Die Leistungsdiagnostiken wurden am Institut für Trainingswissenschaft und Sportinformatik der Deutschen Sporthochschule Köln durchgeführt. Während der Trainingsphase wurden die Maßnahmen für die Kontrollgruppe ebenfalls dort, die der Höhentrainingsgruppe in den Laborräumen des Altitude Training Centers Sierra Nevada (Spanien) durchgeführt. Für alle Tests wurden baugleiche Geräte (Spirometrie: ZAN 600 der Firma ZAN MESSGERÄTE GmbH, (Oberthulba), Radergometer: CYCCLUS 2 der Firma h/p/cosmos, (Nussdorf-Traunstein)) verwandt. In der Voruntersuchungsphase wurde eine Leistungsdiagnostik unter NN Bedingungen, während des Trainingslagers zwei unter NN für die Kontrollgruppe beziehungsweise 2350m ü NN für die Hypoxietrainingsgruppe und zwei unter NN Bedingungen in der Nachtestphase durchgeführt. Durch sie wurde die aerobe Leistungsfähigkeit der Probanden bestimmt. Die Sportler absolvierten auf einem Fahrradergometer je einen standardisierten Stufentest. Die Eingangsbelastung wurde mit 70 Watt bei den Frauen und 100 Watt für die Männer festgelegt. Alle fünf Minuten wurde bis zur subjektiven Ausbelastung um 40 Watt gesteigert. Am Ende jeder Stufe wurde Blut am Ohrläppchen zur Bestimmung des Laktats abgenommen und die Herzfrequenz gemessen. An spirometrischen Daten wurden die O<sub>2</sub>-Aufnahme, die CO<sub>2</sub>-Abgabe, der respiratorische Quotient und die maximale Sauerstoffaufnahme (VO<sub>2max</sub>), erhoben. Hier wurde als VO<sub>2max</sub> diejenige Sauerstoffaufnahme definiert, welche über 30sec gemittelt innerhalb der letzten Stufe realisiert wurde. Anhand der gewonnenen Daten wurde eine Laktatleistungskurve erstellt, die 2 mmol und 4 mmol Schwelle (V2, V4) und die VO<sub>2max</sub> bestimmt. Zusätzlich wurde vor und 15 min nach jeder Leistungsdiagnostik eine venöse Blutentnahme durchgeführt.

##### 3.3.1.1 Blutentnahmen/Blutverarbeitung

Die Blutabnahmen erfolgten aus einer kurzfristig angestauten Kubitalvene mit dem VACUTAINER Blutabnahmesystem der Firma BECTON DICKINSON LABWARE, Heidelberg. Zu jedem Zeitpunkt wurden 3 ml EDTA-Blut und 10 ml Vollblut abgenommen. Das Blut wurde 10 Minuten bei 3000 U/min (1862 x g) zentrifugiert (Rotixa 50 RS, Hettich, Mülheim a. d. Ruhr). Die festen Blutbestandteile sammelten sich am Boden des Röhrchens, das Plasma bzw. Serum wurde abgenommen und in Eppendorfgefäße aliquotiert. Die Eppendorfgefäße wurden bis zur Verarbeitung bei

-80°C gelagert. Das EDTA-Blut wurde für die Blutbild- und Retikulozytenbestimmung, das Serum für Bestimmung von Wachstumsfaktoren/Zytokinen mittels ELISA benutzt.

### 3.3.1.2 Trainingsprotokolle

Um eine für alle beteiligten Athleten zu den Studienzeitraum eine vergleichbare Trainingsbelastung zu erzielen, wurden im Vorfeld der Studie Rahmentrainingspläne erarbeitet, während des Informations-Symposiums erörtert und an die jeweiligen Heimtrainer und Schwimmer verteilt.

Tab. 7: Rahmentrainingsplan

	Voruntersuchungen		Hautstudie Trainingslager			Nachuntersuchungen		
Ein/Aus	8,20	7,90	4,60	5,80	6,40	4,20	5,60	6,20
Regeneration	0,20	0,70	0,30	0,80	0,90	0,40	0,90	2,50
GA I	15,00	18,80	11,70	8,30	6,50	7,00	6,10	7,70
GA II	5,00	9,60	2,50	1,50	2,20	5,10	1,40	1,20
WSA	0,00	0,40	0,20	0,70	1,00	0,20	0,60	0,30
Spurts	2,40	2,00	0,20	0,40	0,10	0,40	0,60	0,40
Einzelarbeit Arme	3,20	6,00	1,80	2,10	3,80	1,90	1,00	0,80
Einzelarbeit Beine	6,40	6,70	4,60	3,60	2,60	3,20	2,80	1,40
Gesamt Km	33,60	43,30	23,50	20,80	21,30	19,90	18,60	20,80
Gesamt Std.(Wasser)	11,58	14,9	6,75	7,75	8,67	7,75	6,67	6,92
Land-Training								
Lauf (Std.)	220	85	25	0	45	0	0	
Gym.(Std.)	80	240	210	225	130	75	210	0
KT ((Std.)	120	100	110	0	100	100	0	180
Sprünge (WH)	240	360	240	220	240	240	360	15
Ges.Std.Land	7,00	9,33	7,75	5,75	5,33	4,92	5,17	240,00
Total Std.	24,25	14,50	13,50	14,00	12,67	11,83	3,42	10,33

### 3.3.2 Leistungsdiagnostik

#### 3.3.2.1 Spirometrie

Die spirometrischen Daten wurden mit dem ZAN 600 der Firma ZAN MESSGERÄTE GmbH, (Oberthulba) aufgezeichnet. Die Atemgasanalyse erfolgte mit Hilfe einer Silikonmaske, die luftdicht über Mund und Nase angelegt wurde. Bei dem Gerät handelte es sich um ein offenes System, d. h. dass der Proband Umgebungsluft einatmete. Vor jeder Messung wurde eine Gas- und Volumeneichung vorgenommen.

men. Für den Einsatz in der Höhenkammer wurde in der Software ein Filter entfernt. Gemessen wurden die O<sub>2</sub> - Aufnahme, die CO<sub>2</sub>-Abgabe, der respiratorische Quotient und die maximale Sauerstoffaufnahme (VO<sub>2max</sub>).

### **3.3.2.2 Laktatanalyse**

Für die Laktatbestimmung wurde Blut am Ohrläppchen, nach Einstich mit einem Haemostillet, mit einer auf 20 µl geeichten Einmal-Kapillare entnommen. Die Analyse der Laktatproben erfolgte am EBIO PLUS (EPPENDORF, Hamburg, Deutschland). Das Gerät arbeitet nach dem enzymatisch- amperometrischen Messprinzip. Die automatisch eingesaugte Probenlösung gelangt in die Messkammer und trifft nach Durchtritt durch die erste Membrangrenzschicht auf das immobilisierte, aktive Enzym Laktatoxidase (LOD). Die LOD katalysiert die Oxidation von Laktat zu Pyruvat und Wasserstoffperoxyd. Das gebildete Wasserstoffperoxyd wird an der Platinelektrode zu O<sub>2</sub> oxidiert. Es resultiert eine Potentialänderung, die in direkter Beziehung zur Laktatkonzentration steht und von der Elektrode detektiert wird.

### **3.3.2.3 Fahrradergometrie**

Bei allen Ergometertests wurde ein Hochleistungsergometer CYCCLUS 2 (h/p/cosmos, Nussdorf-Traunstein, D) verwendet. Die Applikation der verschiedenen Bremskräfte erfolgt mit einem Bremsaggregat, welches über einen permanent agierenden Gleichstrommotor geregelt wird. Die Daten wurden mittels des dazugehörigen h/p/cosmos para analysis „pro“ online ermittelt und verarbeitet. Die Sitz- und Lenkereinstellungen wurden beim ersten Test notiert und bei den darauf folgenden Tests wieder verwandt.

### **3.3.2.4 Herzfrequenzmessung**

Die Herzfrequenzmessung während den Leistungsdiagnostiken erfolgte mit dem Modell 810 (POLAR, Finnland, D).

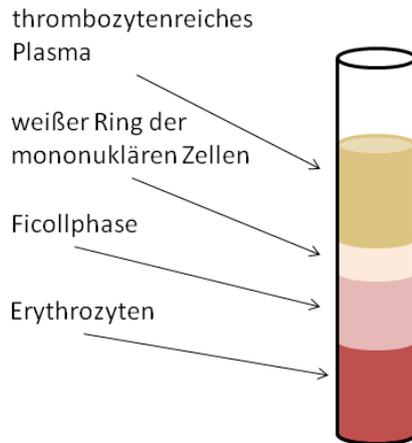
## **3.4 Zellkultur**

Die Arbeiten an den Mesenchymalen Stammzellen wurden in Räumen des Sicherheitsbereiches S1 der Abteilung für zelluläre und molekulare Sportmedizin des Insti-

tuts für Kreislaufforschung und Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln durchgeführt. Hier wurden, um steriles Arbeiten zu gewährleisten, die Experimente unter einer Lamina Air Flow (Herasafe, Kendo, Langenselbold, D) ausgeführt. Die Kultivierung der Stammzellen fand in einem Brutschrank (Heracell, Kendro, Langenselbold, D) bei 37°C und einem CO<sub>2</sub> Gehalt von 5% statt.

#### **3.4.1 Gewinnung mononukleärer Zellen aus dem Knochenmark**

Die MSC wurden aus Hüftköpfen von Patienten, welche eine Hüftendoprothese implantiert bekamen, gewonnen. Das Knochenmark wurde mittels eines scharfen Löffels unter der Sterilbank aus dem Hüftkopf geschält. Die Filtration des Knochenmarkes erfolgte durch einen 70µm Nylon Filter (BD Falcon<sup>TM</sup>, Heidelberg, D) in ein 50ml Gefäß (TPP) und wurde mittels Nachspülen mit PBS (Gobco, Karlsruhe, D) auf ein Volumen von 35ml aufgefüllt. Diese Zellsuspension wurde anschließend langsam über das in einem 50 ml Röhrchen (TPP, Trasadingen, CH) vorgelegte Ficoll (PAA Laboratories GmbH, Cölbe D) geschichtet und 800\*g für 30min zentrifugiert (Multifuge 3L-R Heraeus, Kendro, Langenselbold, D). Hierbei sollte die Bremskraft der Zentrifuge möglichst gering eingestellt oder vollständig ausgestellt sein. Ebenfalls sollte der Beschleunigungsanstieg sehr klein sein. Die Dichtegradientenzentrifugation mittels Ficoll bewirkt, dass sich die mononukleären Zellen (MNC) in der Interphase zwischen Thrombozytenreichem Plasma und der Ficoll-Suspension als weißlicher Ring erkennbar werden. Die Erythrozyten sammeln sich am Boden des Gefäßes an, da sie eine größere Dichte als die Ficoll-Suspension aufweisen. Der Überstand wurde verworfen, die MNC sorgsam abpipettiert und in ein weiteres 50ml Röhrchen verbracht, mit PBS auf 50ml aufgefüllt und anschließend bei 800\*g (Multifuge 3L-R Heraeus, Kendro, Langenselbold, D) zentrifugiert.



**Abb. 12: Dichtegradientenzentrifugation: schematische Darstellung der verschiedenen Schichten innerhalb der Knochenmark-Ficoll-Suspension**

#### 3.4.2 Isolierung mesenchymaler Stammzellen

Die mittels der Dichtegradientenzentrifugation gewonnenen MNC wurden nach ab-saugen des Überstandes in 1ml 20%  $\alpha$ -MEM (PAA Laboratories GmbH, Cölbe D) überführt, resuspendiert und in einer Zellkulturschale (BD Falcon<sup>TM</sup>, Heidelberg, D) mit 10cm Durchmesser ausplattiert (10000 Zellen/cm<sup>2</sup>). Bis zur Passagierung der Zellen wurde das Medium alle zwei Tage gewechselt. Hierfür wurden die Zellscha-len mit PBS gewaschen und mit neuem Medium aufgefüllt. Das verwendete Kultur-medium wurde aus

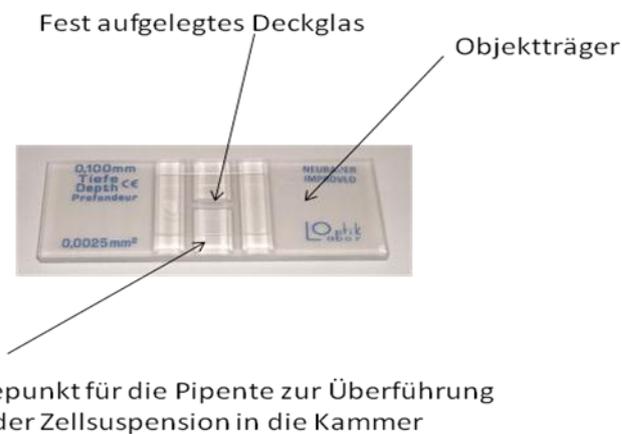
- $\alpha$ -MEM (PAA Laboratories GmbH, Cölbe D)
- 20% FCS (Biowest, Miami, Florida, USA)
- 100Units/ml Penicillin/Streptomycin (Gibco, Karlsruhe, D)
- 2  $\mu$ M Glutamin (Gibco, Karlsruhe, D)

hergestellt.

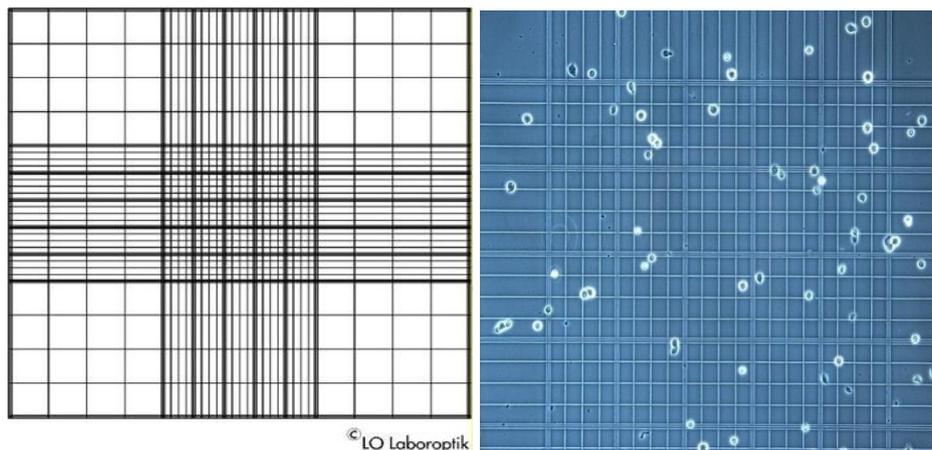
#### 3.4.3 Passagieren mesenchymaler Stammzellen

Passagiert wurden die MSC, wenn der Boden der Zellkulturschalen annähernd konfluent mit MSCs bedeckt war. Hierfür wurde das Medium abgesaugt und die Schale mit 10ml PBS (Gibco, Karlsruhe, D) gewaschen. Zum Ablösen der Zellen wurde anschließend 2ml Accutase (PAA Laboratories GmbH, Cölbe, D) in die Scha-le pipettiert für drei Minuten wieder im Brutschrank bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Accutase ist ein Enzym, welches die Zell-Zell-Kontakte zerstört und so die adhären-ten Zellen von der Zellkulturschale löst. In einem 15ml Röhrchen (TPP,

Trasadingen, D) wurden 9ml 20%  $\alpha$ -MEM vorgelegt und die abgelösten MSC hinein überführt und bei 800\*g (Multifuge 3L-R Haraeus, Kendro, Langensfeld, D) für fünf Minuten zentrifugiert. Der entstandene Überstand wurde abgesaugt und das die MSC enthaltende Pellet mit 1ml Medium resuspendiert. Auf Grund der Tatsache, dass für die anschließenden Untersuchungen eine bestimmte Zellzahl benötigt wurde, musste die Zellzahl bestimmt werden. Dies wird unter Zuhilfenahme von Zählkammern gewährleistet. Die Zählkammer besteht aus einem modifizierten Objektträger und einem Deckglas [88]. Zu Beginn der Zählung wird das Deckglas fest auf den Objektträger auf gebracht, so dass Newtonsche Ringe auf dem Deckglas erkennbar werden. Jetzt werden 10 $\mu$ m der Zellsuspension zwischen Deckglas und Objektträger pipettiert und anschließend die Zellzahl unter dem Mikroskop bestimmt.



**Abb. 13: Zählkammer Objektträger mit aufgelegtem Deckglas**  
([www.Wikipedia.de](http://www.Wikipedia.de))



**Abb. 14: Schematischer Aufbau der Neubauer Zählkammer**  
(links) und r das mikroskopisch angefertigte Bild einer Zähl-situation (rechts)  
([www.zaehlkammer.de/gfx/neubauer\\_improved.jpg](http://www.zaehlkammer.de/gfx/neubauer_improved.jpg) 02.02.2009)

In der Zählkammer nach Neubauer besteht das Zählnetz aus neun Großquadraten, wobei jedes die Fläche von einem 1mm<sup>2</sup> besitzt. Das zentrale Quadrat dieser neun

Quadrate besteht nochmals aus 16 kleineren Quadraten, welche wiederum in 16 Quadrate unterteilt sind. Beim auszählen ist darauf zu achten, das Zellen welche sich über der Begrenzungslinie eines Quadrates liegen, nur auf jeweils zwei vorher fest gelegten Seiten (z.B. oben und rechts) gezählt werden. Nach Hoffmann lässt sich nun die Zellzahl nach unterstehender Formel errechnen.

$$C = N \times D \times 10^3$$

C = entspricht den Zellen pro ml

N = sind die in der Kammer gezählten Zellen

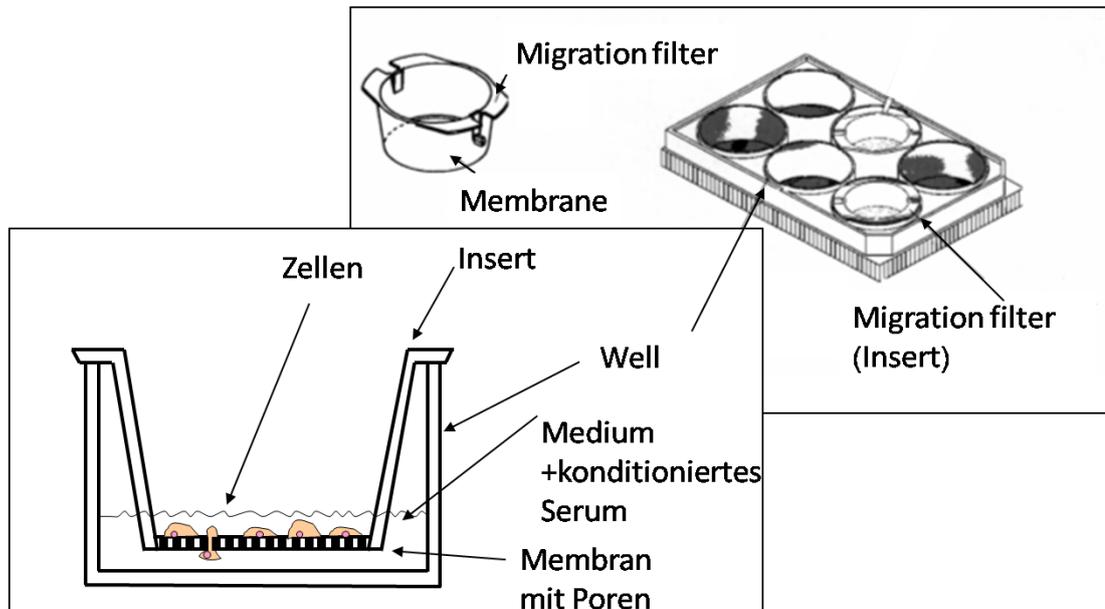
D = ist der Verdünnungsfaktor

$10^3$  = ist der Kammerfaktor

So kann die Flüssigkeitsmenge mit der gewünschten Zellzahl bestimmt werden.

#### **3.4.4 Migration Mesenchymaler Stammzellen**

Bei diesem Versuch wurde das Migrationsverhalten der MSC unter Einfluss des durch das Trainingslager und den akuten Belastungen während der Leistungsdiagnostiken konditionierten Serums untersucht. Hierzu fand eine modifizierte Boyden-Kammer mit HTS Fluoro Blok™ Membraneinsätzen ihre Verwendung (BD Falcon™, Heidelberg, D). Die Membraneinsätze wurden als Migrationsfilter benutzt und wiesen eine Porengröße von 8,0µm auf. Die Filter wurden in 24-Multiwell Zellkulturplatten (BD Falcon™, Heidelberg, D) eingehängt. Danach wurden 500 µl 20% MEM unter und auf den Migrationsfilter pipettiert (Abb. 15). Hierbei setzte sich das Medium, wie unter 3.4.2 beschrieben zusammen, nur, dass jetzt das FCS durch das Probandenserum ersetzt wurde. Anschließend wurden  $10^3$  Zellen auf den Migrationsfilter überführt und für acht Stunden im Brutschrank bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> inkubiert. Während dieser Zeit wanderten die Zellen durch die Poren des Filters und lagerten sich an der Unterseite an (Abb. 15).



**Abb. 15: Migration: Darstellung des Versuchsaufbaus und der verwendeten Materialien**

Danach wurden die Zellen mit 4% PFA für 25min fixiert. Nach Ablauf der 25min wurde der Filter mittels dreier Waschgänge mit PBS vom PFA gereinigt. Die Membran wurde mit einem Skalpell (Braun, Melsungen, D) aus dem Filter entfernt und auf einen Objektträger (Menzel, Braunschweig, D) überführt, so dass sich die Unterseite des Filters mit den migrierten Zellen oben befand. Die Filter wurden auf den Objektträgern mit DAPI eingedeckt und luftblasenfrei mit einem Deckglas abgeschlossen. DAPI bindet an DNA und RNA der Zellen und lässt die Zellkerne unter einem Fluoreszenz-Mikroskop (Axiophot, Zeiss, Jena, D) hellbläulich leuchten. Es wurden MSC, welche vollständig durch die Poren des Filters migriert waren, und diejenigen welche sich noch am Ende der Pore befanden und in kurzer Zeit an der Unterseite des Filters angekommen wären, gezählt.

### 3.5 Analytik

#### 3.5.1 Blutbild und Retikulozyten

Die Blutbildanalyse (HB, Hct,) wurde am Sysmex KN 21N (Sysmex GmbH, Norderstedt, D) durchgeführt. Die Retikulozyten (Retikulozytenzahl %) wurden mittels Durchflusszytometrie am Sysmex R500 (Sysmex GmbH, Norderstedt, D) bestimmt.

#### 3.5.2 Wachstumsfaktor- und Hormonanalyse

Die Hormone und Wachstumsfaktoren (EPO, VEGF, bFGF,) wurden mittels ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) am Institut für Trainingswissenschaft und

Sportinformatik bestimmt. Die ELISA-Methode erlaubt die Quantifizierung eines Antigens in einer Probe (Serum). Die Proteine der zu untersuchenden Proben werden an die Oberfläche einer 96-Loch Mikrotiterplatte adsorbiert. Das anschließende Waschen mit Casein verhindert die Bindung weiterer Proteine in den folgenden Schritten. Es folgen zwei Inkubationsschritte mit einem primären und einem sekundären Antikörper. Der primäre Antikörper war gegen das zu untersuchende Protein gerichtet. Ungebundene Antikörper wurden durch Waschen entfernt. Der sekundäre Antikörper war gegen den primären Antikörper gerichtet und an ein Enzym gekoppelt, das eine Reaktion mit farbigem Reaktionsprodukt katalysierte. Ein farbloses Enzymsubstrat wurde hinzu gegeben, wodurch ein gefärbtes Produkt entstand. Die Extinktion der Probe wurde anschließend spektrophotometrisch gemessen und der Test mit Hilfe einer zuvor erstellten Standardkurve quantifiziert. Die Analysen wurden am Mikropipettier Analysator Personal Lap (Biochem ImmunoSystems, Guidona, Italien) durchgeführt.

**Tab. 8: Übersicht über Hersteller und Analyseverfahren der determinierten Parameter**

Parameter	Testprinzip	Testkit
<b>bFGF</b>	ELISA	Quantikine. Human bFGF Immunoassay, R&D Systems, Inc.USA
<b>EPO</b>	ELISA	Erythropoetin ELISA EIA-1598, DRG Instruments GmbH, Marburg, Deutschland
<b>VEGF</b>	ELISA	Quantikine. Human VEGF Immunoassay, R&D Systems, Inc. USA
<b>lös. Transferrin Rezeptor</b>		COBAS Integra 400., Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland, Partikel verstärkter immunologischer Trübungstest, 583
<b>Ferritin</b>		Vollautomatisches Analysesystem Elecsys 1010, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland, immunologischer Test nach dem ECL/Origen. Electrochemilumineszenz Verfahren

### 3.6 Statistik

Die statistische Auswertung der Untersuchungsergebnisse wurde mit Hilfe der Computersoftware „STATISTICA for Windows, 7.1 der Firma Statsoft (Tulsa, USA) durchgeführt.

Die Anwendungsvoraussetzungen für parametrische Verfahren (Skalenniveau, Normalverteilung, Homoskedastizität der Varianzen) wurden geprüft. Bei Verletzung der Anwendungsvoraussetzungen wurden nicht-parametrische Methoden eingesetzt.

### **3.6.1 Varianzanalyse**

Verfahren der Varianzanalyse (ANOVA) werden zur Überprüfung von Gruppenunterschieden eingesetzt.

In Prüfgrößen des Verfahrens wird getestet, ob die Varianz zwischen den Gruppen größer ist als die Varianz innerhalb der Gruppen.

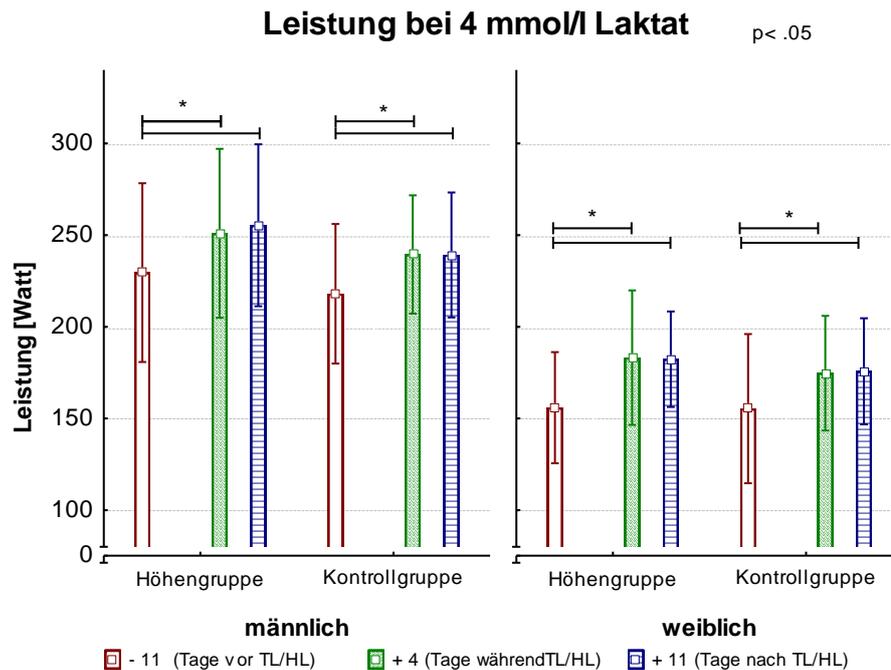
Neben diesen multiplen Vergleichen von Gruppenmittelwerten (MW) und den dazugehörigen Streuungen wird in der vorliegenden Studie das Verfahren der „Varianzanalyse mit Messwiederholung“ gewählt, um signifikante Veränderungen bzw. Unterschiede zwischen den einzelnen Bedingungen aufzuzeigen ( $p < .05$ ). Zur Absicherung der als signifikant angegebenen Werte wurde der post-hoc Test nach Scheffé angewandt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Physiologische Leistungsentwicklung

#### 4.1.1 Metabolische Schwellen

Die in den Leistungsdiagnostiken realisierten Leistungen bei 4mmol/l Laktat aufgeteilt nach Geschlecht und Gruppenzugehörigkeit sind in Abb. 16 dargestellt.



**Abb. 16: Entwicklung der Leistung bei 4 mmol/l Laktat.**  
Dargestellt sind MW und Standardabweichung.

Die Werte der männlichen Höhengruppe stiegen von durchschnittlich 230,22 Watt vor dem Höhentrainingslager auf 255 Watt bei Tag +4 und 259,69 Watt bei Tag +11. Das entspricht einem Zuwachs von 10,77 % und 12,80 %. Die Werte der Kontrollgruppe stiegen im vergleichbaren Zeitraum von 218 Watt vor dem Trainingslager auf 239,44 Watt am Tag +4 und 239,16 Watt am Tag +11 nach dem Trainingslager an. Dies entspricht signifikanten Zuwächsen von 9,83 % und 9,70 %.

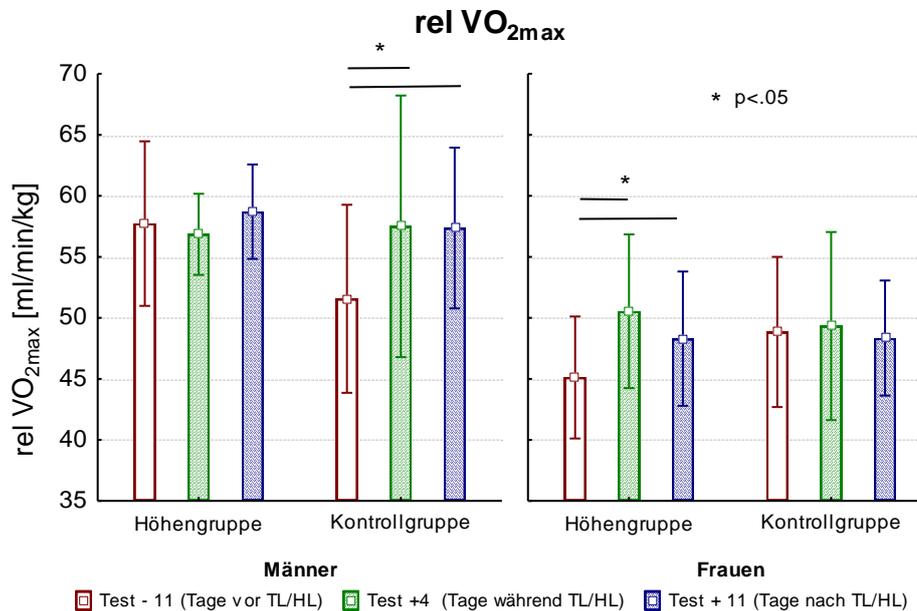
Bei der weiblichen Höhengruppe stiegen die Wattleistungen bei 4 mmol/l Laktat von 155,85 Watt vor dem Trainingslager auf 183,29 Watt am Tag +4 und 182,29 Watt am Tag +11 nach dem Trainingslager. Dies entspricht Zuwächsen von 17,25 % und 16,97%. Die Werte der Kontrollgruppe stiegen von 155,34 Watt vor dem Trainingslager auf 174,72 Watt am Tag +4 und 175,71 Watt am Tag +11 an. Das entspricht signifikanten Zuwachsraten von 12,48 % und 13,11 %. Die Ergebnisse sind Tab.: 9 numerisch dargestellt.

## 4 Ergebnisse

**Tab. 9: Leistungen bei 4 mmol/l Laktat von Höhen-und Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlechtern.**

Männer	-11	+4	+11	Einheit	$\Delta$ -11 und +4	$\Delta$ -11 und +11	
Höhen- gruppe	230,22	255,00	259,69	V4 [Watt]	10,77	12,80	%
Kontroll- gruppe	218,00	239,44	239,16	V4 [Watt]	9,83	9,70	%
Frauen	-11	+4	+11		$\Delta$ -11 und +4	$\Delta$ -11 und +11	
Höhen- gruppe	155,85	183,16	182,29	V4 [Watt]	17,52	16,97	%
Kontroll- gruppe	155,34	174,72	175,71	V4 [Watt]	12,48	13,11	%

#### 4.1.2 Maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ )



**Abb. 17: Entwicklung der  $VO_{2max}$  während des Höhentrainingslagers.**

In Abb. 17 sind die Werte für die Maximale Sauerstoffaufnahme aufgeteilt nach Geschlecht und Gruppenzugehörigkeit dargestellt. Die Werte der männlichen Höhengruppe fallen von 57,73 [ml/kg/min] vor dem Höhentrainingslager auf 55,55 [ml/kg/min] am Tag +4 nach dem Trainingslager und steigen dann auf 58,08 [ml/kg/min] am Tag +11 an. Dies entspricht den prozentualen Veränderungen von -3,77% bzw. 0,67%. Die entsprechenden Werte der männlichen Kontrollgruppe steigen von 51,56 [ml/kg/min] vor dem Trainingslager auf 57,5 [ml/kg/min] am +4 und 57,36 [ml/kg/min] am Tag +11 nach dem Trainingslager an. Dies entspricht statistisch signifikanten Zuwächsen von 11,51% und 11,25 %.

Die Werte der weiblichen Höhengruppe steigen von 45,12 [ml/kg/min] vor dem Höhentrainingslager auf 50,54 [ml/kg/min] am Tag +4 und auf 48,29 [ml/kg/min] am Tag +11 nach dem Trainingslager an. Dies entspricht den statistisch signifikanten Veränderungen von 11,51 % und 11,25 % respektive. Die entsprechenden Werte der weiblichen Kontrollgruppe steigen von 48,12 [ml/kg/min] vor dem Trainingslager auf 49,33 [ml/kg/min] am +4 und 48,34 [ml/kg/min] am Tag +11 nach dem Trainingslager an. Dies entspricht Veränderungen von 1,0 % und -1,02 %

Die oben beschriebenen Ergebnisse sind in Tab. 10 in numerischer Form aufgearbeitet. Für Höhengruppe wurden die Werte von zwei Schwimmern (erkrankt, drei Tage nur eine Trainingseinheit pro Tag) bei einer zweiten Berechnung nicht berücksichtig

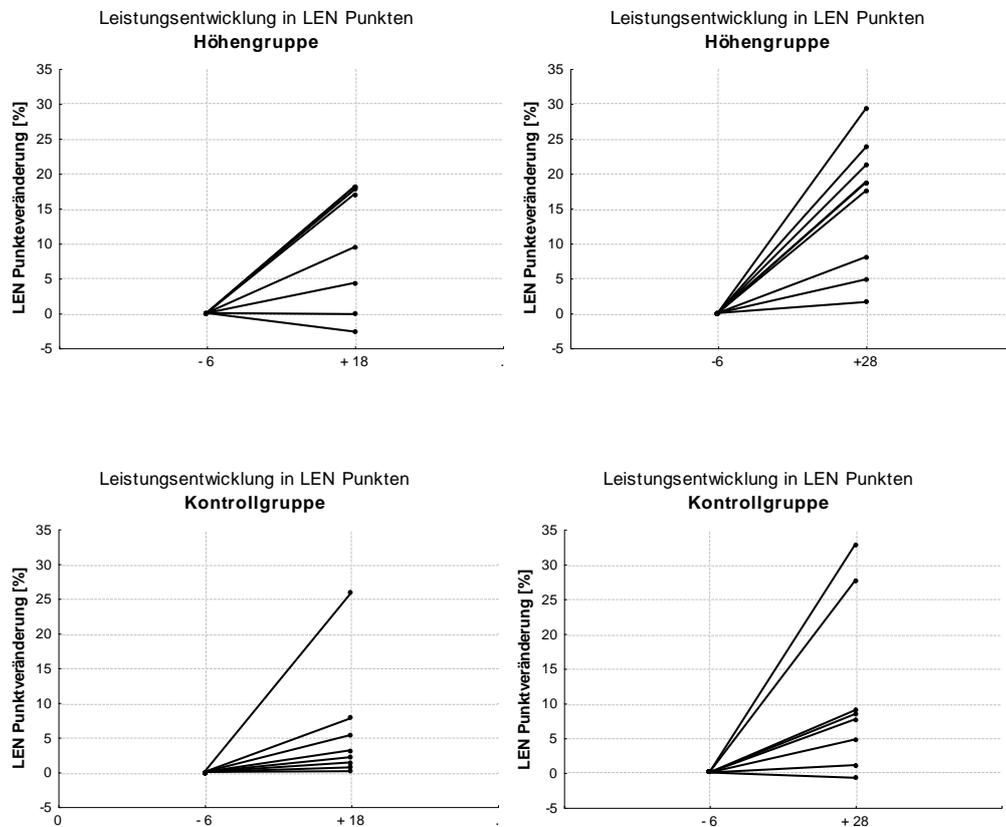
## 4 Ergebnisse

sichtigt (siehe zweite Spalte n=6). Die Werte der männlichen Höhengruppe steigen von 55,12 [ml/kg/min] vor dem Höhentrainingslager auf 57,32 [ml/kg/min] am Tag +4 nach dem Trainingslager und weiter auf 57,87 [ml/kg/min] am Tag +11 an. Dies entspricht den prozentualen Veränderungen von 3,9% bzw. 4,9%.

**Tab. 10: VO<sub>2</sub> max Werte von Höhen- und Kontrollgruppe aufgeteilt nach Geschlechtern.**

	- 11	+ 4	+ 11	Einheit	Δ-11 und +4	Δ-11 und+11	
<b>Männer</b>							
<b>Höhengruppe n=4</b>	57,73	55,55	58,08	[ml/min/kg]	-3,77	0,61	%
<b>Höhengruppe n=2</b>	55,12	57,32	57,87	[ml/min/kg]	3,9	4,9	%
<b>Kontrollgruppe</b>	51,56	57,50	57,36	[ml/min/kg]	11,51	11,25	%
<b>Frauen</b>							
<b>Höhengruppe n= 4</b>	45,12	50,54	48,29	[ml/min/kg]	12,02	7,04	%
<b>Kontrollgruppe n=4</b>	48,84	49,33	48,34	[ml/min/kg]	1,00	-1,02	%

### 4.1.3 Schwimmleistung



**Abb. 18: Veränderung der Schwimmleistung in LEN Punkten.**

Dargestellt sind die Veränderungen vor den Trainingslagern - 6 gegenüber nach + 18 (Tage) und vier Wochen nach + 28 dem Trainingslager der Höhen- und Kontrollgruppe.

Beschrieben wird die Schwimmleistung in LEN Punkten. Dieses Bewertungssystem erlaubt einen Vergleich erzielter Leistungen innerhalb verschiedenster Disziplinen. Punkte werden für erzielte Zeiten vergeben, wobei 1000 Punkte dem von der FINA anerkannten Weltrekord (50m-Bahn) entsprechen.

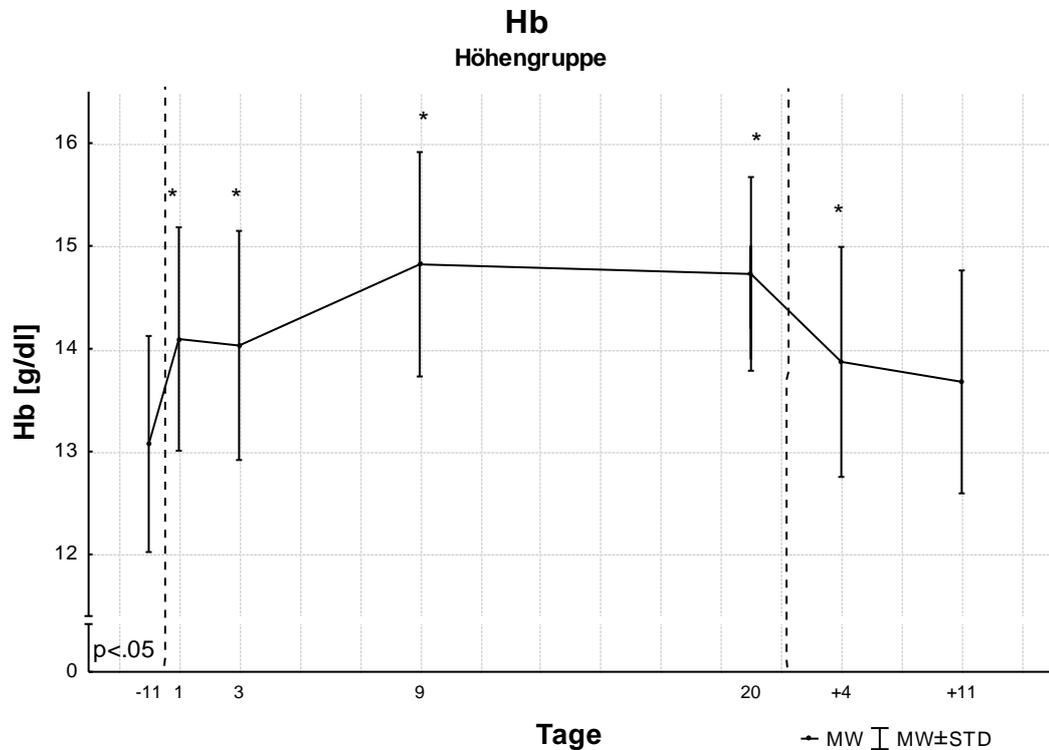
Hier werden die vor den Trainingslagern innerhalb eines Trainingswettkampfes erzielten Ergebnisse mit denen 18 Tage und 28 Tage nach Beendigung der jeweiligen Trainingslager für Höhen- und Kontrollgruppe verglichen. Im Mittel steigt die Schwimmleistung der Höhengruppe um 10,22 LEN Punkten nach dem Trainingslager an. Der entsprechende Wert der Kontrollgruppe nur um 5,79 Punkte. Der Anstieg der LEN Punkte vor dem Trainingslager gegenüber dem Wert für den zweiten Wettkampf 28 Tage nach dem Trainingslager steigt für die Höhengruppe um im Mittel 15,63 Punkte an. Der entsprechende Wert für die Kontrollgruppe beträgt 10,22 Punkte. Die der Berechnung zugrunde liegenden LEN Punkte sind untenstehender Tabelle zu entnehmen.

Tab. 11: Veränderung der Schwimmleistung in LEN Punkte.

Gruppe	Kontroll- gruppe		Kontroll- gruppe		Höhen- gruppe		Höhen- gruppe	
	-6	+18	-6	+28	-6	+18	-6	+28
Schwimmer	0,11		8,43		4,3		4,81	
	0,66		8,98		-0,16		1,96	
	7,75		1,07		-2,67		8,01	
	3,14		4,77		17,03		21,13	
	2,13		7,68		18,03		18,76	
	25,78		32,81		17,65		29,22	
	1,38		27,62		18,14		23,71	
	5,33		-0,76		9,43		17,47	
MW	5,79		11,33		10,22		15,63	
STD	7,92		11,45		8,18		9,05	
Maximaler Wert	25,78		32,81		18,14		29,22	
Minimaler Wert	0,11		-0,76		-2,67		1,96	

## 4.2 Hämatologische Parameter

### 4.2.1 Hämoglobin

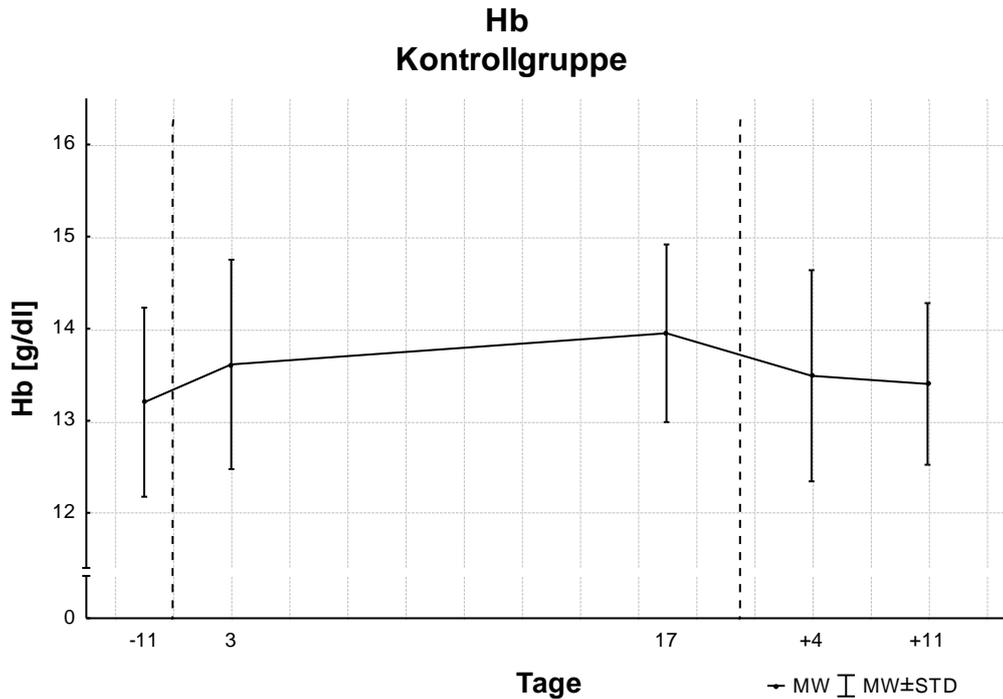


**Abb. 19: Veränderung der Hämoglobinwerte der Höhengruppe vor (Tag -11), während (Tag 1, 3, 9, 20) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind MW und STD.**

Die Hb-Werte der Höhengruppe stiegen zu Beginn des Höhentrainingslagers um 7,8 % gegenüber den Vorwerten an. Auch bei den Messzeitpunkten während des Höhentrainingslagers (Tage 3, 9, 20) und am +4 Tag nach dem Trainingslager wurden gegenüber den Vorwerten signifikant erhöhte Werte gemessen. Erst am Tag (+11) nach dem Höhentrainingslager lag der Wert zwar erhöht gegenüber dem Vorwert, dies aber nicht mehr signifikant.

**Tab. 12: Hb der Höhengruppe.**

Messzeitpunkt	MW	MW + STD	MW - STD	STD	Δ prä %
-11	13,07	12,02	14,12	1,05	
1	14,09	13,01	15,18	1,09	7,80
3	14,03	12,92	15,15	1,11	7,35
9	14,82	13,73	15,91	1,09	13,39
20	14,73	13,79	15,67	0,94	12,70
+4	13,87	12,75	14,99	1,12	6,12
+11	13,68	12,59	14,76	1,08	4,67



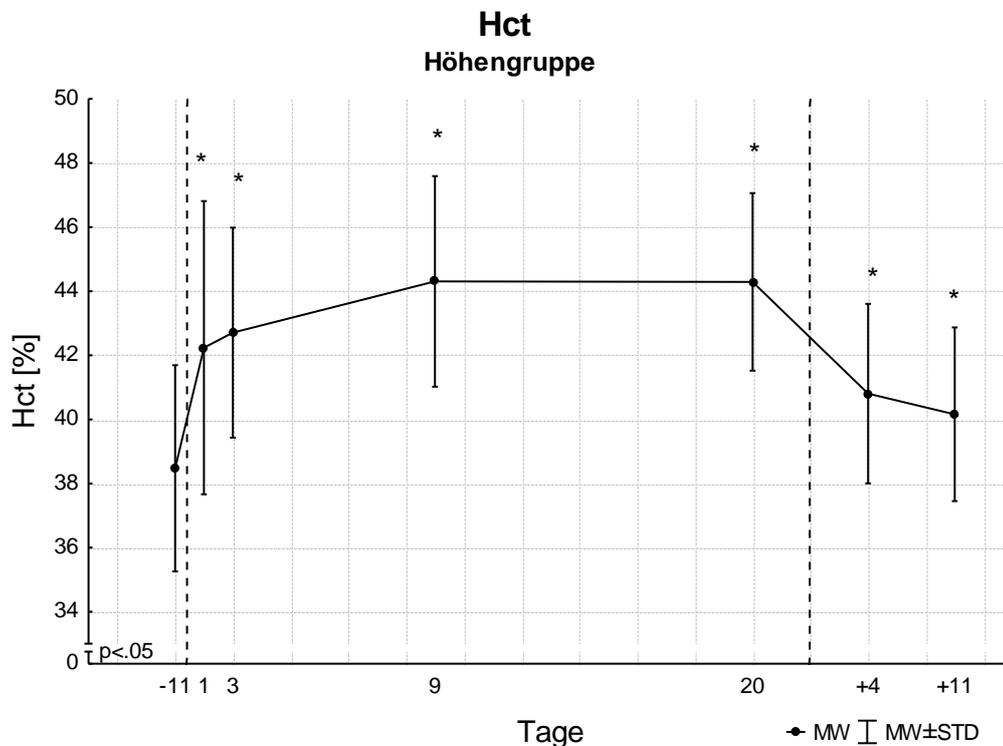
**Abb. 20: Veränderung der Hämoglobinwerte vor (Tag -11), während (Tag 3, 18) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Kontrollgruppe.**

Die Hb-Werte der Kontrollgruppe stiegen bei den Messzeitpunkten während des Trainingslagers um 3,11% und 5,68 % gegenüber den Vorwerten an, fielen nach Beendigung auf Werte nahe denen, vor dem Trainingslager gemessenen, ab.

**Tab. 13: Hb der Kontrollgruppe**

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW - STD	STD	Δ prä %
-11	13,2	12,96	13,44	0,24	
3	13,61	13,34	13,89	0,28	3,11
17	13,95	13,64	14,26	0,31	5,68
+4	13,49	13,2	13,77	0,29	2,20
+11	13,4	13,18	13,62	0,22	1,52

## 4.2.2 Hämatokrit

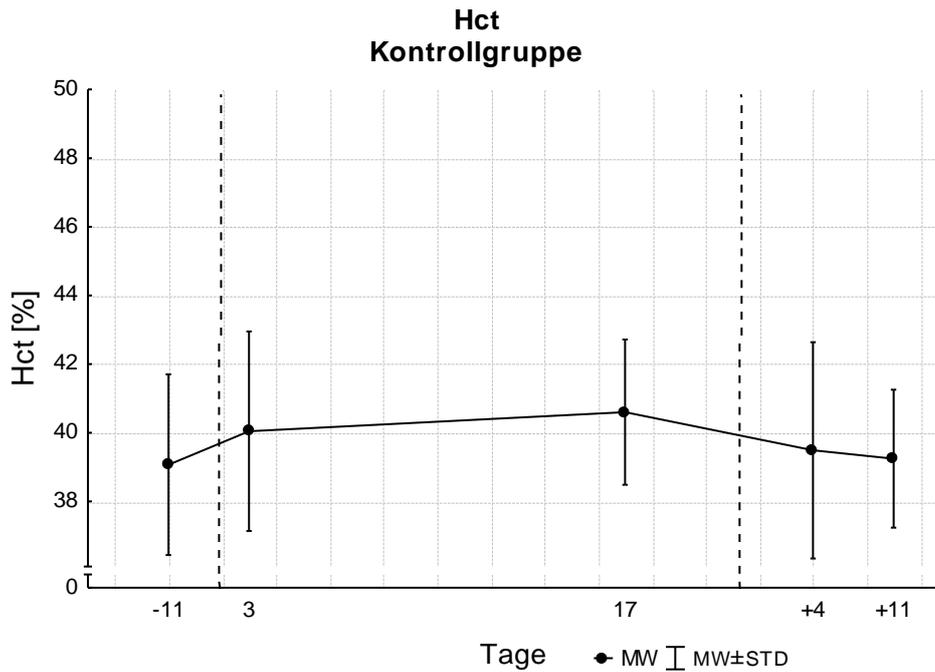


**Abb. 21: Veränderung der Hämatokritwerte vor (Tag - 11), während (Tag 1, 3, 9, 20) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhengruppe.**

Der Hämatokrit der Höhengruppe steigt analog zu den Hb-Werten in den ersten Tagen (1, 3, 9, 20) des Höhentrainingslagers an und verblieben auch zu den Messzeitpunkten nach dem Höhentrainingslager +4 und +11 signifikant erhöht.

**Tab. 14: Hämatokrit der Höhengruppe**

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	$\Delta$ prä %
-11	38,47	37,74	39,21	0,74	
1	42,24	41,19	43,29	1,05	9,78
3	42,71	41,95	43,46	0,75	11,00
9	44,31	43,55	45,06	0,75	15,16
20	44,29	43,64	44,94	0,65	15,11
+4	40,81	40,15	41,47	0,66	6,06
+11	40,16	39,50	40,82	0,66	4,38



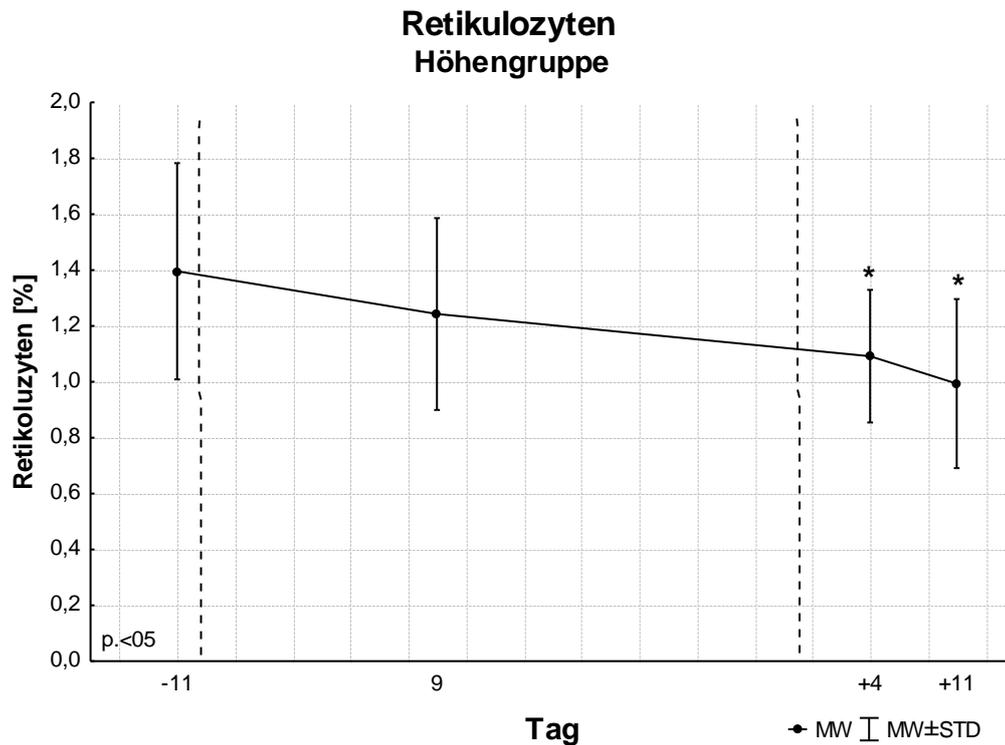
**Abb. 22: Veränderung der Hämatokritwerte vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Kontrollgruppe.**

Der Hämatokrit-Wert der Kontrollgruppe steigt während des Trainingslagers nur gering um 2,5 bzw. 3,92 % an und verbleibt, verglichen mit dem Ausgangswert (-6), auf leicht erhöhten Werten. Die Veränderungen sind zu keinem Zeitpunkt signifikant.

**Tab. 15: Hämatokrit der Kontrollgruppe; Angaben in %**

Messzeitpunkt	MW	MW+ STD	MW -STD	STD	Δ prä %
-11	39,07	38,41	39,73	0,66	
3	40,04	39,32	40,77	0,73	2,50
17	40,60	39,93	41,27	0,67	3,92
+4	39,49	38,70	40,28	0,79	1,07
+11	39,24	38,74	39,75	0,50	0,45

## 4.2.3 Retikulozyten

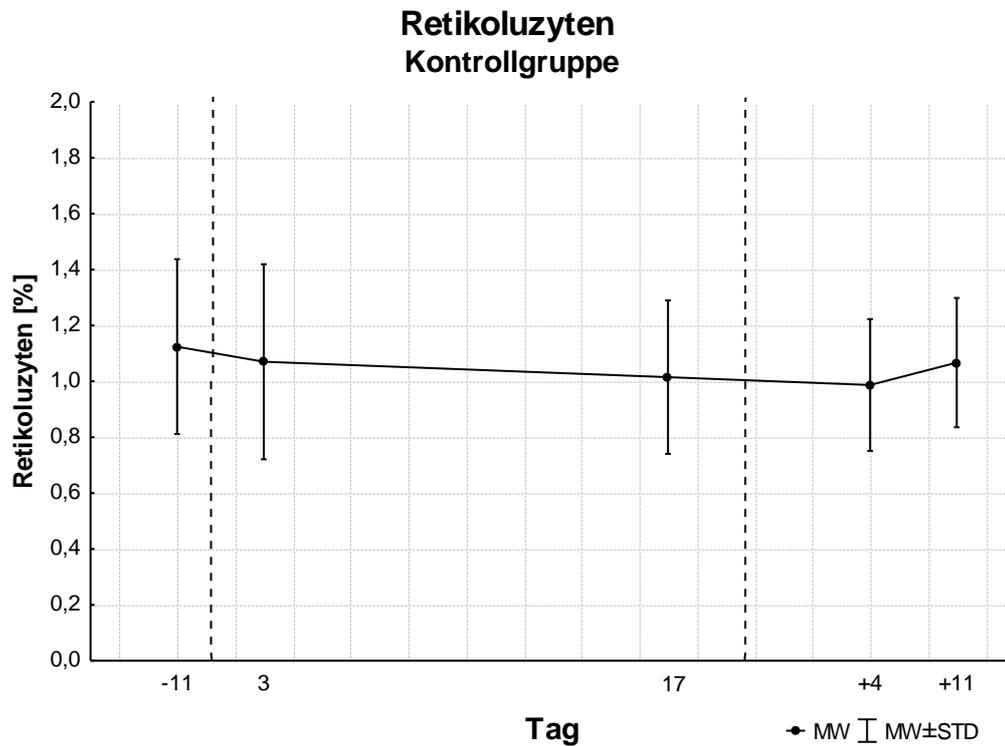


**Abb. 23:** Veränderung der Retikulozytentwerte vor (Tag -11), während (Tag 9,) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhengruppegruppe.

Der Wert für die Retikulozyten fiel am Messpunkt 9 während des Höhentrainingslagers um 10,97% auf 1,24% ab. Die nach dem Höhentrainingslager gemessenen Werte sind sowohl gegenüber dem Wert während des Höhentrainingslagers zum Messzeitpunkt 9 und vor dem Höhentrainingslager zum Messzeitpunkt -11 signifikant geringer.

**Tab. 16:** Retikulozyten der Höhengruppe; Angaben in %

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	Δ prä %
-11	1,40	1,31	1,48	0,09	
9	1,24	1,16	1,32	0,08	-10,97
+4	1,09	1,04	1,15	0,06	-21,79
+11	0,99	0,92	1,06	0,07	-28,81



**Abb. 24:** Veränderung der Retikulozytentwerte vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Kontrollgruppe.

Die Retikulozyten-Werte der Kontrollgruppe, sind während und nach dem Trainingslager gegenüber dem vor dem Trainingslager gemessenen Wert erniedrigt.

**Tab. 17:** Retikulozyten der Kontrollgruppe; Angaben in %

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	Δ prä %
-11	1,12	1,05	1,20	0,08	
3	1,07	0,98	1,16	0,09	-4,81
17	1,02	0,93	1,10	0,09	-9,70
+4	0,99	0,93	1,05	0,06	-12,20
+11	1,07	1,01	1,12	0,06	-5,09

## 4.2.4 Ferritin

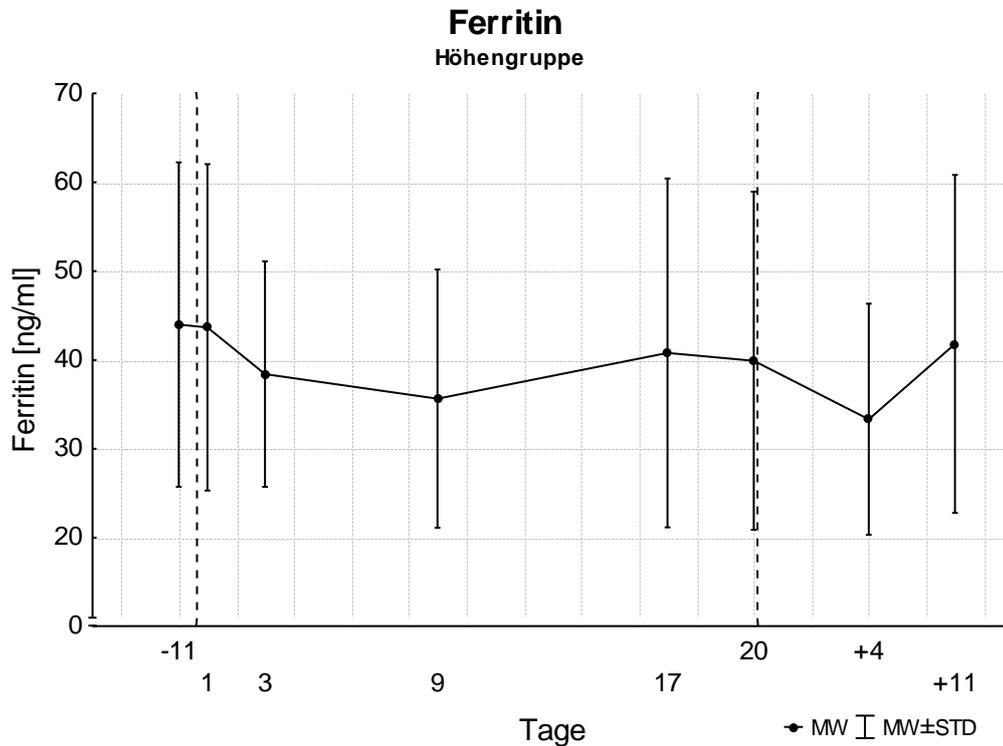


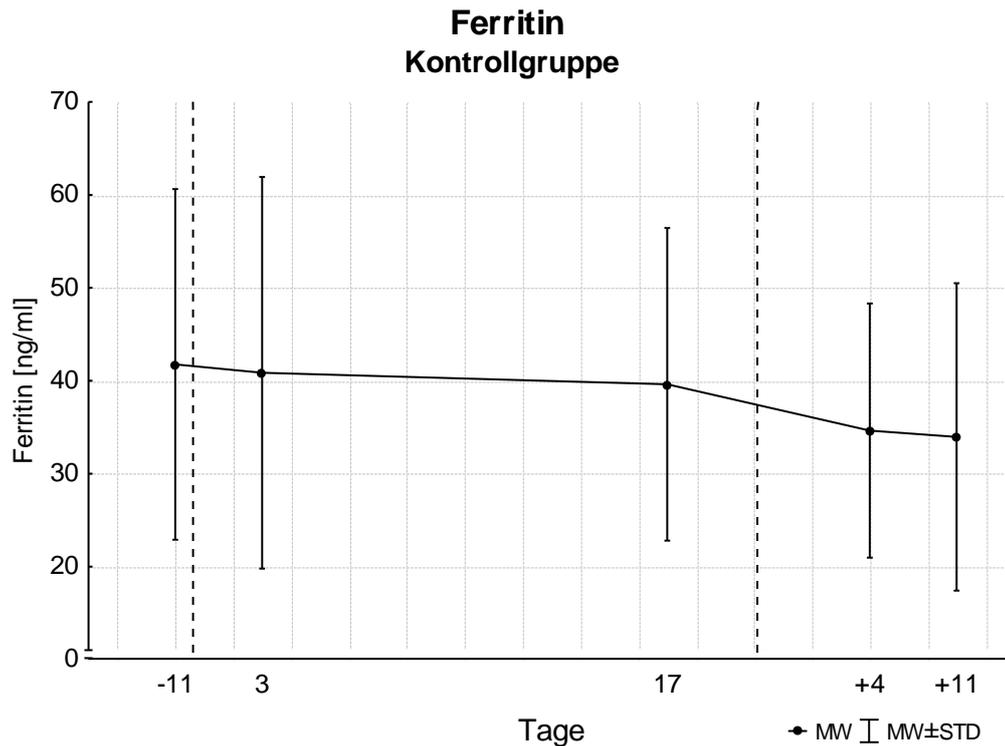
Abb. 25: Veränderung der Ferritinwerte

vor (Tag -11), während (Tag 1, 3, 9, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhengruppe.

Der Ferritin-Wert der Höhengruppe verbleibt am ersten Tag des Höhentrainingslagers fast unverändert gegenüber dem Ausgangswert. Fällt am dritten und neunten Tag während des Höhentrainingslagers um 12,66% bzw. 18,94% ab und steigt zum Ende des Höhentrainingslagers wieder auf Werte nahe dem Ausgangswert an. Der erste Wert nach dem Höhentrainingslager fällt wieder um 16,49% ab steigt dann wieder auf ein dem Ausgangswert vergleichbares Niveau an.

Tab. 18: Ferritin der Höhengruppe; Angaben in [ng/ml].

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	Δ prä %
-11	43,98	39,79	48,17	4,19	
1	43,67	39,34	48,00	4,33	-0,71
3	38,41	35,42	41,40	2,99	-12,66
9	35,65	32,32	38,98	3,33	-18,94
17	40,79	36,16	45,42	4,63	-7,25
20	39,91	35,54	44,27	4,37	-9,26
+4	33,33	30,26	36,39	3,07	-24,23
+11	41,81	37,44	46,17	4,36	-4,94



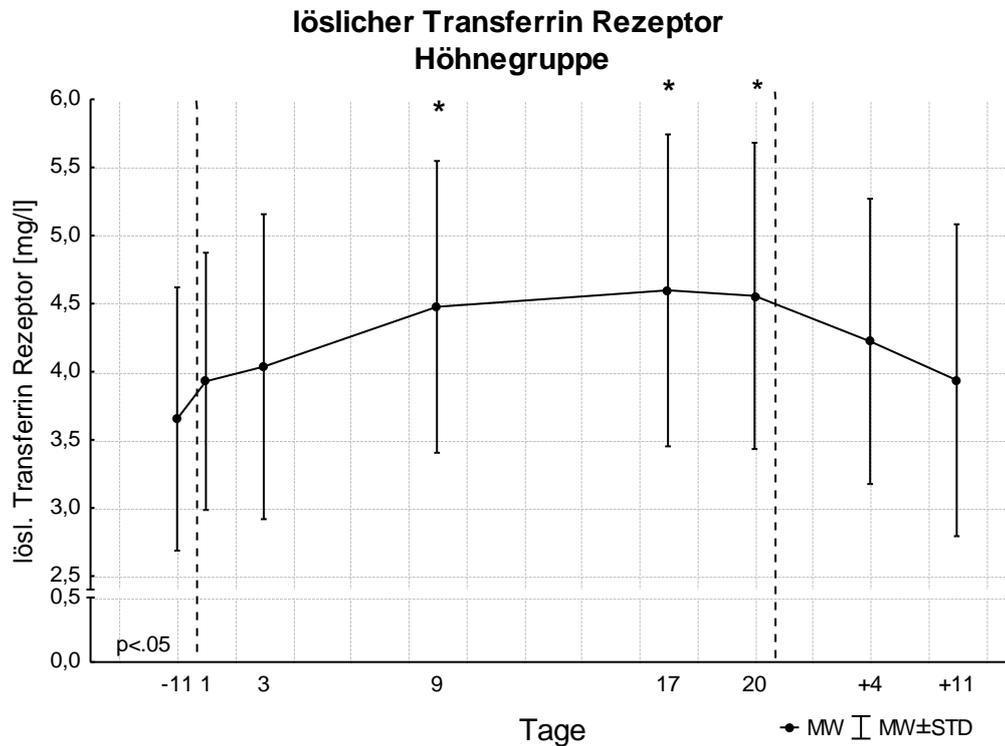
**Abb. 26: Veränderung der Ferritinwerte vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Kontrollgruppe.**

Der Ferritin-Wert der Kontrollgruppe zeigt über den gesamten Messzeitraum eine fallende Tendenz. Der größte Abfall gegenüber dem Vorwert ist zu den Messzeitpunkten +4 und +11 nach dem Trainingslager zu verzeichnen. Die Veränderungen des Wertes sind zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant.

**Tab. 19: Ferritin der Kontrollgruppe; Angaben in ng/ml**

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	$\Delta$ prä %
-11	41,76	37,04	46,47	4,72	
3	40,86	35,59	46,13	5,27	-2,14
17	39,61	34,29	44,93	5,32	-5,13
+4	34,64	31,22	38,06	3,42	-17,04
+11	33,96	29,82	38,09	4,13	-18,68

## 4.2.5 Löslicher Transferrin- Rezeptor

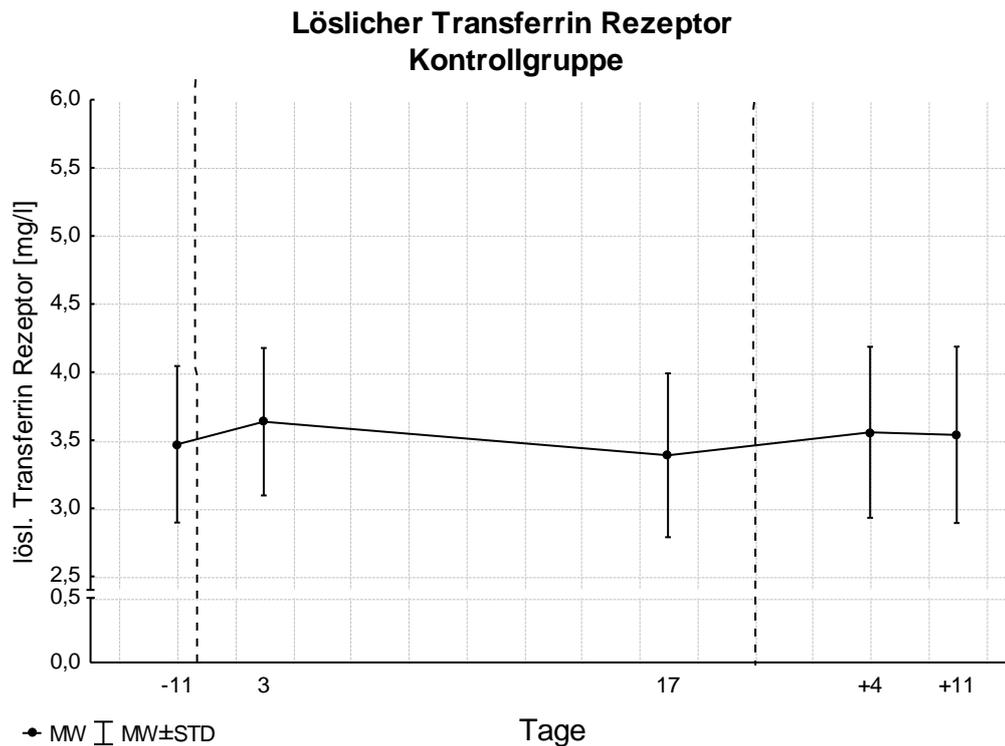


**Abb. 27: Veränderung der Werte des löslichen Transferrin Rezeptors vor (Tag -11), während (Tag 1, 3, 9, 17, 20) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhengruppe.**

Die Werte des lös. Transferrin-Rezeptors steigen bei allen Messzeitpunkten (1, 3, 8, 17, 20) während des Höhentrainingslagers an. Für die Zeitpunkte 9, 17 und 20 konnten signifikante Veränderungen festgestellt werden. Zu den Messzeitpunkten nach dem Höhentrainingslager fielen die Werte wieder ab und erreichten ein dem Ausgangswert vergleichbares Niveau.

**Tab. 20: Lösli. Transferritin-Rezeptor der Höhengruppe; Angaben in [mg/l].**

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW - STD	STD	$\Delta$ prä %
-11	3,65	3,43	3,88	0,22	
1	3,93	3,71	4,15	0,22	7,56
3	4,04	3,77	4,30	0,26	10,51
9	4,48	4,23	4,72	0,25	22,52
17	4,60	4,34	4,86	0,26	25,85
20	4,56	4,29	4,82	0,27	24,72
+4	4,22	3,98	4,47	0,25	15,58
+11	3,94	3,68	4,20	0,26	7,79



**Abb. 28: Veränderung der Werte des löslichen Transferrin Rezeptors vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Kontrollgruppe.**

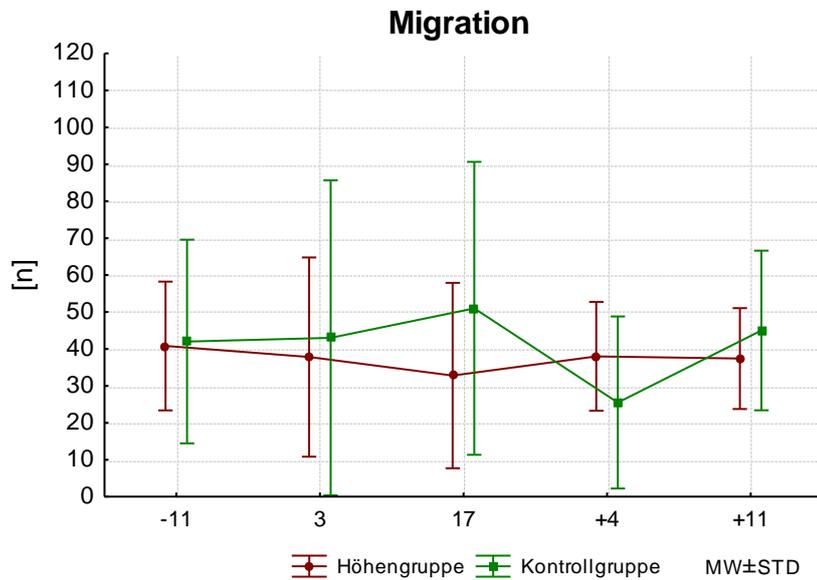
Die Werte für den lös. Transferrin Rezeptor veränderten sich über den Verlauf der Studie hinweg im Mittel nur gering. Zu Beginn des Trainingslagers (Tag 3) war ein Anstieg um 4,78% zu verzeichnen, während an dessen Ende ein leichter Abfall um 2,54% gemessen wurde. Die Werte nach dem Trainingslager (Tag +4, +11) waren gegenüber dem Ausgangswert um 2,54 und 2,0% erhöht.

**Tab. 21: Lösli. Transferritin Rezeptor der Kontrollgruppe; Angaben in mg/l**

Messzeitpunkt	MW	MW +STD	MW -STD	STD	$\Delta$ prä %
-11	3,47	3,33	3,61	0,14	0,03
3	3,64	3,50	3,77	0,14	4,78
17	3,39	3,20	3,58	0,19	-2,33
+4	3,56	3,40	3,72	0,16	2,54
+11	3,54	3,38	3,70	0,16	2,00

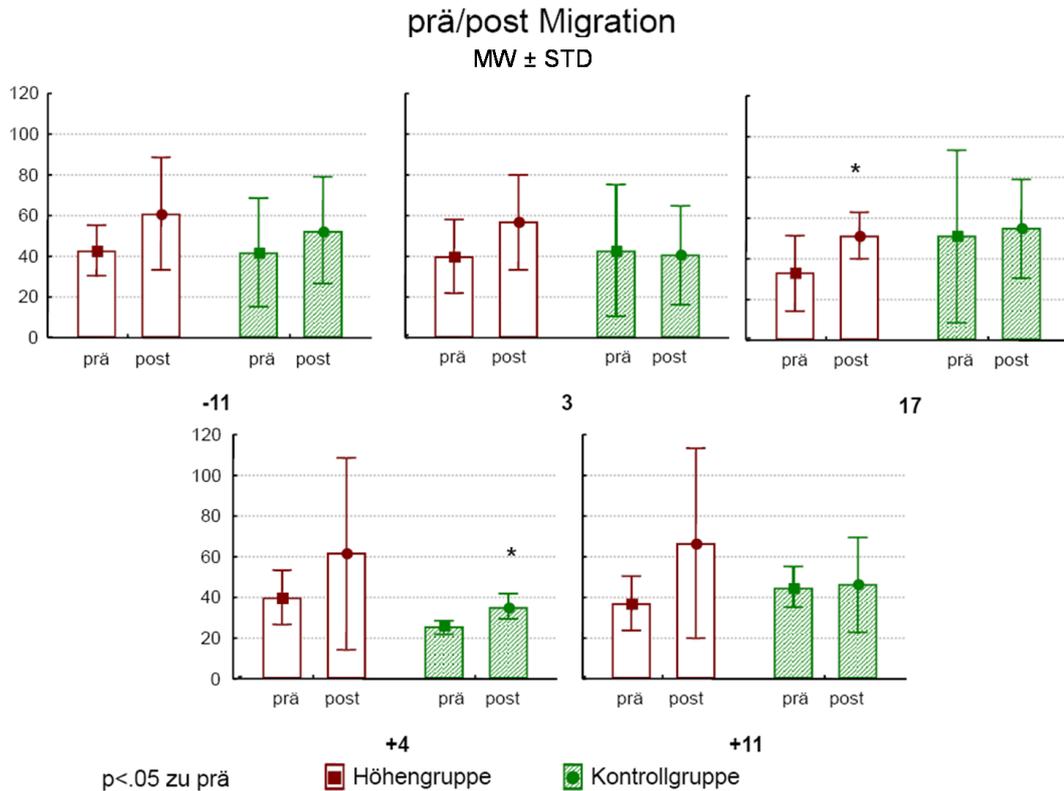
### 4.3 Mesenchymale Stammzellen

#### 4.3.1 Migration



**Abb. 29: Veränderung der Werte der Anzahl der migrierten Zellen vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhen- und Kontrollgruppe.**

In Abbildung 29 sind die Ergebnisse der Migrationversuche unter Verwendung der Serumproben, welche vor den Leistungstest entnommen wurden, dargestellt. Für die Höhengruppe nimmt die Anzahl der migrierten Zellen zu den Zeitpunkten 3,17, +4, +11 gegenüber dem Vorwert (-11) geringfügig nicht aber signifikant ab. Bei der Kontrollgruppe nimmt der Wert zum Zeitpunkt 3 und 17 gegenüber dem Vorwert zu. Zum Zeitpunkt +4 ist die Zahl der migrierten Zellen gefallen und steigt dann zum Zeitpunkt +11 wieder an. Zu keinem der Messzeitpunkte ist die Veränderung signifikant (ANOVA ; Post hoc Test Schiffé)



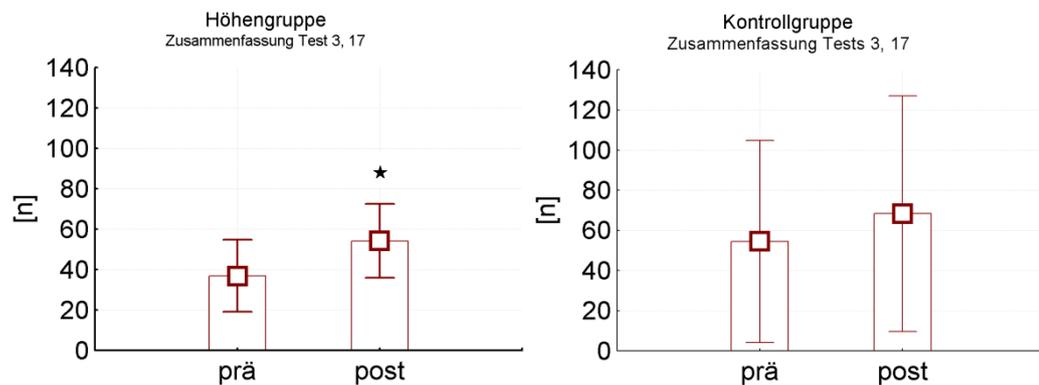
**Abb. 30: Veränderung der Zahl der migrierten Mesenchymalen Stammzellen**  
 Dargestellt sind die Werte vor (prä) und nach (post) den Leistungstests für beide Gruppen

In Abbildung 30 sind die Ergebnisse für die Migrationsversuche der mesenchymalen Stammzellen dargestellt. Jedes Fenster repräsentiert die Daten vor (prä) und nach (post) dem Leistungstest eines Messzeitpunkts für Höhen- (braune Balken) und Kontrollgruppe (grüne Balken). Zu allen Messzeitpunkten (-11, 3, 17, +4, +11) ist die Anzahl der migrierten Zellen beider Gruppen nach den Leistungsdiagnostiken (post) gegenüber den Vorwerten (prä) angestiegen. Dieser Anstieg ist für die Höhengruppe bei Messzeitpunkt 3 und für die Kontrollgruppe bei Messzeitpunkt +17 statistisch signifikant. Für alle anderen Anstiege gilt dies nicht.

**Tab. 22: Migrierte MSC der Höhen- und Kontrollgruppe und Darstellung der Differenzen vor und nach der jeweiligen Leistungsdiagnostik (prä, post).**

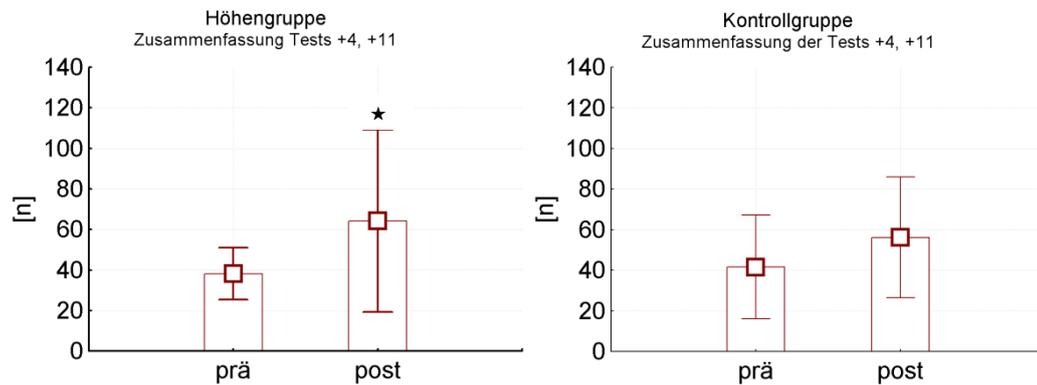
Höhengruppe					Kontrollgruppe				
		MW	STD	$\Delta\%$			MW	STD	$\Delta\%$
-11	prä	42,86	4,79		-11	prä	42,86	19,86	
	post	61,14	10,37	42,67		post	52,50	18,50	22,50
3	prä	40,00	6,83		3	prä	43,00	23,00	
	post	56,86	8,81	42,14		post	40,50	17,50	-5,81
17	prä	33,17	7,54		17	prä	51,00	-9,00	
	post	51,17	4,72	54,27		post	55,00	17,00	7,84
+4	prä	39,67	5,45		+4	prä	25,50	2,50	
	post	61,50	19,13	55,04		post	35,50	4,50	39,22
+11	prä	36,86	4,96		+11	prä	45,00	7,00	
	post	66,57	17,66	80,62		post	46,50	16,50	3,33

Fasst man die Tests während der Trainingslager (Messzeitpunkt 3, 17) zusammen, so ist ein signifikanter Anstieg der MSC für die Höhengruppe, nicht aber für die Kontrollgruppe, feststellbar (vgl. Abb. 31).



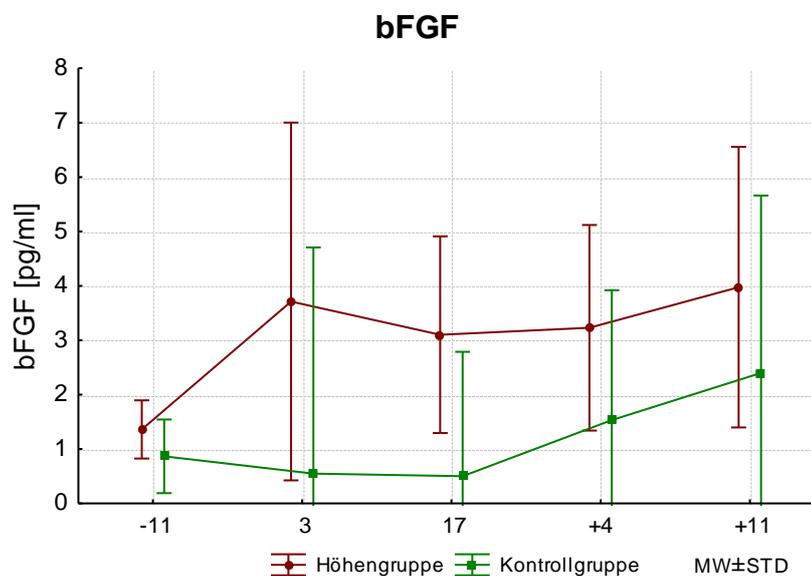
**Abb. 31: Zusammenfassung der prä- und post-Tests zu den Messzeitpunkten 3 und 17 der Höhen- und der Kontrollgruppe.**

Bei der Zusammenfassung der Messzeitpunkte +4 und +11 ist ebenfalls ein signifikanter Anstieg der migrierten MSC für die Tests der Höhengruppe zu verzeichnen (vgl. Abb. 32).



**Abb. 32: Zusammenfassung der prä- und post-Tests zu den Messzeitpunkten +4 und +11 der Höhen- und der Kontrollgruppe.**

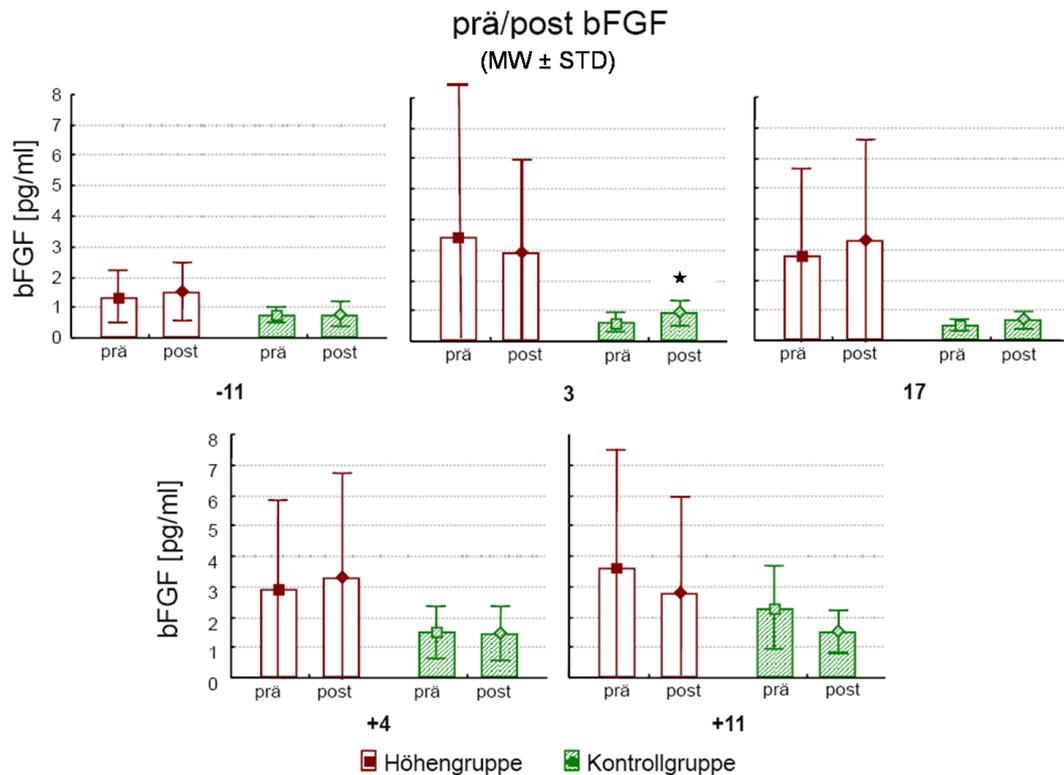
### 4.3.2 Basic Fibroblast Growth Factor



**Abb. 33: Veränderung der Werte des bFGF vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhen- und Kontrollgruppe.**

In Abbildung 33 ist die Entwicklung der Werte des bFGF unter Verwendung der Serumproben, welche vor den Leistungstest entnommen wurden, dargestellt. Für die Höhengruppe steigt der Wert zu den Zeitpunkten 3,17, +4, +11 gegenüber dem Vorwert (-11) an. Bei der Kontrollgruppe ist für die Zeitpunkte 3 und 17 keine Verän-

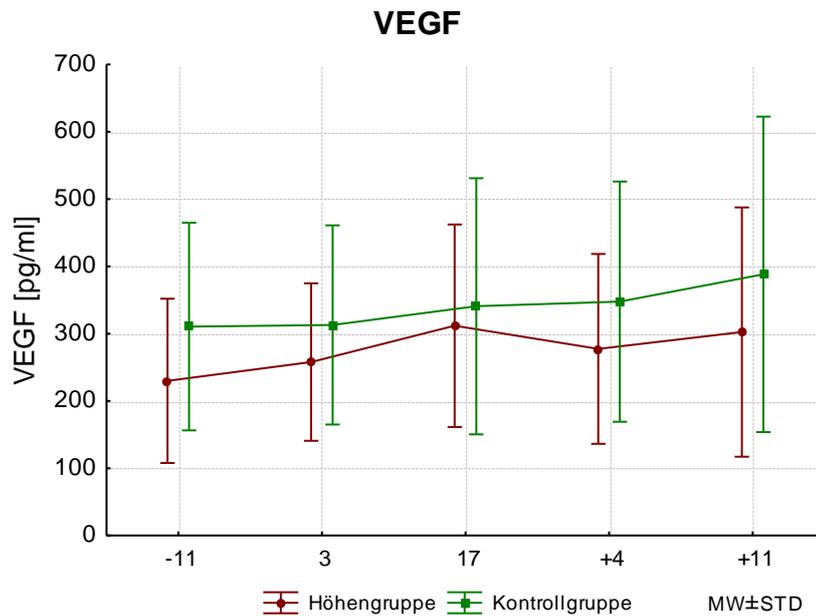
derung gegenüber dem Vorwert zu registrieren Für die Messzeitpunkte +4 und +11 wurden gegenüber dem Vorwert erhöhte Werte gemessen. Für den Messzeitpunkt -11 ist die Differenz zwischen der Höhen- und Kontrollgruppe gering (56%) nimmt zum Messzeitpunkt 3 und 17 auf 570% und 520% zu. Bei den Messzeitpunkten +3 und +11 ist die Differenz wieder auf 110% und 65% gesunken. Zu keinem der Messzeitpunkte ist die Veränderung signifikant (ANOVA; Post hoc Test Schiffé)



**Abb. 34: Veränderung der Werte für den Basic Fibroblast Growth Factor.**

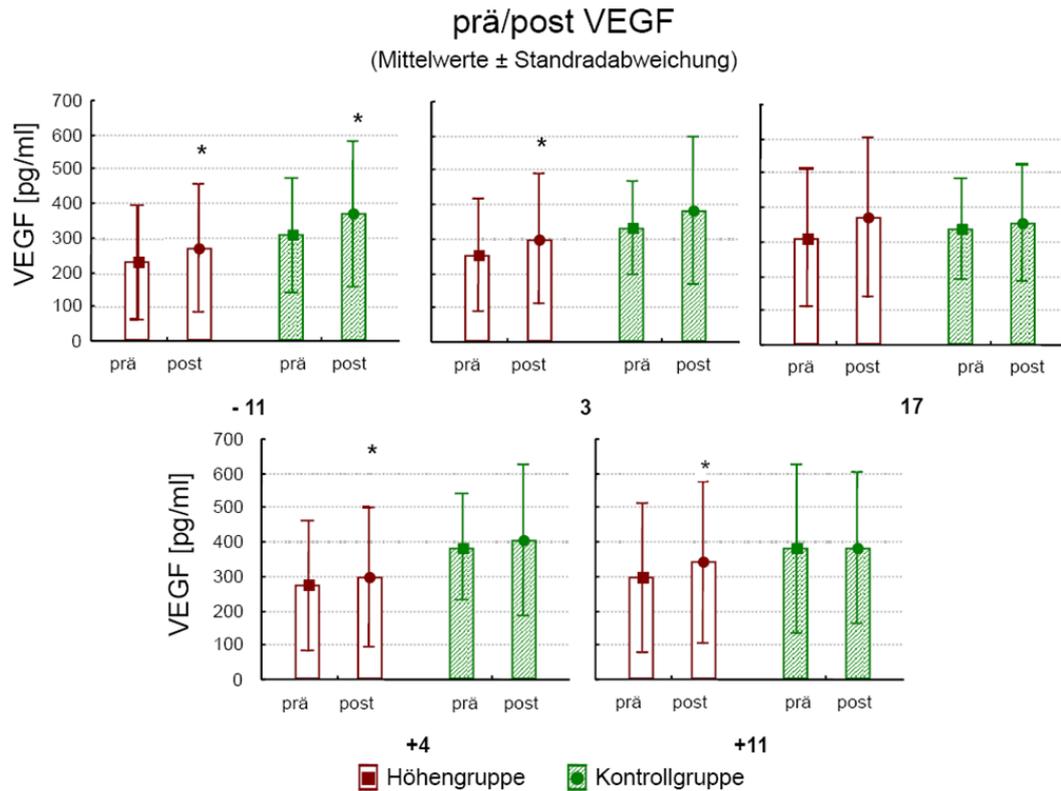
Für den bFGF konnte zu allen Messzeitpunkten innerhalb der Gruppen kein signifikanter Anstieg zwischen prä- und post-Test festgestellt werden, außer für die Kontrollgruppe bei der ersten Leistungsdiagnostik des Trainingslagers (Messzeitpunkt 3). Die Analyse der prä-Tests innerhalb der Höhengruppe ergab keine signifikanten Unterschiede, genauso wie in der Kontrollgruppe. Auffällig sind die höheren Konzentrationen des bFGF-Wertes während und nach dem Trainingslager, im Vergleich zur Kontrollgruppe. Bei der Kontrollgruppe verändert sich die Konzentration des bFGF vor dem Trainingslager gegenüber den Werten während und nach dem Trainingslager nur unwesentlich.

## 4.3.3 Vascular Endothelial Growth Factor



**Abb. 35: Veränderung der Werte des VEGF vor (Tag -11), während (Tag 3, 17) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhen- und Kontrollgruppe.**

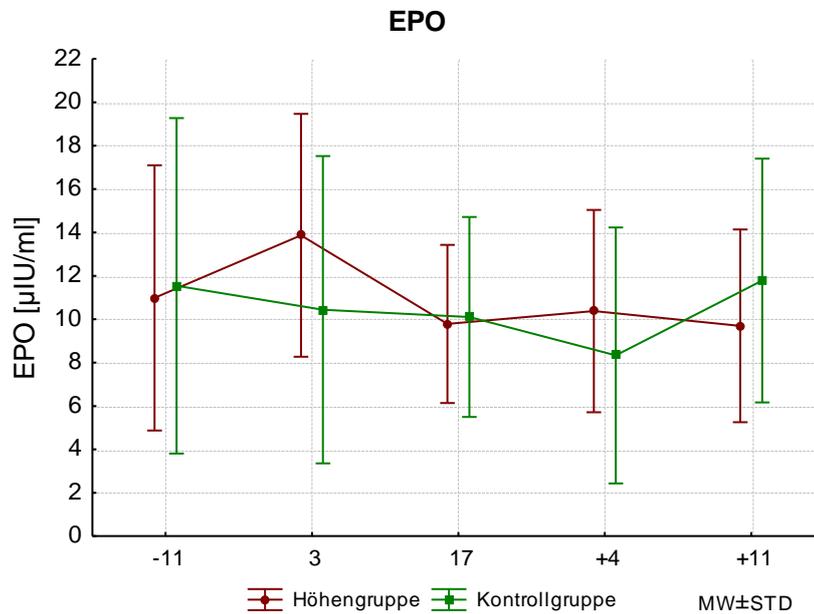
In Abbildung 35 sind die Ergebnisse für den VEGF unter Verwendung der Serumproben, welche vor den Leistungstest entnommen wurden, dargestellt. Für die Höhengruppe ist über alle Messzeitpunkte hinweg eine gleichmäßige Zunahme des Wertes zu verzeichnen. Bei der Kontrollgruppe steigt der Wert von Messzeitpunkt -11 über 3 bis 17 an. Er fällt dann im Vergleich zum Zeitpunkt 17 ab und steigt dann wieder an. Die Werte zu den Zeitpunkten +4 und +11 liegen beide über dem Vorwert zum Zeitpunkt -11. Zu keinem der Messzeitpunkte ist die Veränderung signifikant (ANOVA ; Post hoc Test Schiffé).



**Abb. 36: Veränderung der Werte für den Vascular Endothelial Growth Factor.**

Für den VEGF wurden zu allen Messzeitpunkten und in beiden Gruppen höhere Werte nach der Leistungsdiagnostik (post) gegenüber den Vorwerten (prä) gemessen. Der Anstieg prä zu post ist in der Höhengruppe statistisch signifikant zu den Messzeitpunkten -11, 3, +4 und +11. Für die Kontrollgruppe gilt der signifikante Anstieg nur für den Messzeitpunkt +11. Die Analyse der prä-Tests der jeweiligen Gruppen untereinander (Kontroll- zu Höhengruppe), aber auch innerhalb der jeweiligen Gruppe, ergaben keine signifikanten Differenzen.

## 4.3.4 Erythropoetin



**Abb. 37: Veränderung der Erythropoetinwerte**

vor (Tag -11), während (Tag 1, 3, 9, 17, 20) und nach (Tag +4, +11) dem Höhentrainingslager. Dargestellt sind die Werte der Höhen- und Kontrollgruppe

In Abbildung 35 wird der Verlauf der basalen EPO-Konzentration der Kontroll- und Höhengruppe für die gesamte Studiendauer dargestellt. Der am ersten Tag des Höhentrainingslagers gemessene Wert für EPO lag über dem Ausgangswert (-11). Am dritten und den folgenden Messzeitpunkten fällt die Konzentration für EPO wieder auf die Werte für das Ausgangsniveau ab. Der Ausgangswert bei der Kontrollgruppe lag zu Beginn der Studie am höchsten und fiel im Verlauf der Studie geringfügig ab. Zu keinem der Messzeitpunkte ist die Veränderung signifikant (ANOVA ; Post hoc Test Schiffé).



## **5 Diskussion**

Im Gegensatz zu der in der Ethikdiskussion stehenden Forschung embryonaler Stammzellen, ist die Forschung an Adulten Stammzellen kaum umstritten. So hat sich die Zahl der Publikationen, welche im Zusammenhang mit Adulten Stammzellen, z.B. EPC, HSC und MSC in den letzten 20 Jahren veröffentlicht wurden, mehr als vervierfacht.

Aus der Gruppe der Adulten Stammzellen stoßen die MSC auf Grund ihres großen Differenzierungspotenzials im Rahmen der Aufrechterhaltung der Gewebshomöostase und Beantwortung veränderter Reizsituation (Training) auf sehr großes Interesse. Gerade im Hochleistungssport ist die Regenerationsfähigkeit für die Aufrechterhaltung und Weiterentwicklung von physiologischer Leistung von besonderer Bedeutung. Als besonders intensive Trainingsform hat in den letzten Jahren das Hypoxietraining einen festen Platz in den Trainingsplänen der Ausdauersportler erhalten. Gleichwohl ist die aktuelle Studienlage in Bezug auf die Wirksamkeit des Höhentrainings, d.h. inwieweit das Höhenttraining das Leistungsniveau auf Meeresebene positiv beeinflussen kann, kontrovers.

Im Rahmen einer 10-wöchigen Studie wurden fünf Testblöcke, sowohl von der Kontroll- als auch von der Höhengruppe absolviert (jede Gruppe jeweils n=8). Innerhalb dieser Testblöcke wurden physiologische, hämatologische Merkmale und Parameter im Zusammenhang mit den MSC erhoben. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie werden nachfolgend kritisch in Bezug auf die Leistungsentwicklung, Veränderung der hämatologischen Parameter und die migratorischen Eigenschaften der MSC diskutiert.

### **5.1 Physiologische Leistungsentwicklung**

Getestet wurden die anaerobe Schwelle (V4), die maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ ) und die Schwimmleistung (LEN-Punkten).

#### **5.1.1 Metabolische Schwellen**

Die in den Leistungsdiagnostiken erhobenen Werte für die V4 stiegen signifikant in beiden Gruppen (Höhen- und Kontrollgruppe) für Männer und Frauen an. Allerdings waren die Zuwachsraten bei den Männern aus der Höhengruppe mit 10,77% und 12,28% (Anstieg von Test -11 auf Test +4 und Test +11) größer als vergleichbare Werte der Kontrollgruppe (9,83% und 9,70%). Bei den Frauen zeigte sich ein ähnli-

ches Muster. Die Werte der Höhengruppe stiegen um 17,52% und 16,97% gegenüber den Werten der Kontrollgruppe mit 12,5% und 13,11% an. Der Anstieg der anaeroben Schwelle unter Höhenexposition wird ebenfalls von Bailey et al beschrieben. In dieser Studie trainierten Elite-Läufer (n=14) auf einer Höhe von 1500-2000 m für 28 Tage. Sie zeigten einen Anstieg der V4 um 12%, während die Läufer der Kontrollgruppe sich nicht verbessern konnten. Dieser Befund wird von Myhre et al [99] unterstützt. Er konnte bei sieben Elite-Skilangläufern nach einem 14 Tage dauerndem Höhenttraining eine signifikante ( $<0.02$ ) Verbesserung der V4 beobachten [99]. Allerdings wurden bei einer Reihe weiterer Studien in Bezug auf die V4 keine Veränderungen festgestellt. Svedenhag et al [195] stellte nach einem 14-tägigen Training auf 2000 m mit Elite-Läufern ebenso wie Gore et al [77] nach einem 28-tägigen Höhenttraining auf 1740 m keine signifikanten Veränderungen der V4 fest. Auf Grund der Tatsache, dass keine genauen Beschreibungen der Trainingslast angegeben werden, ist die Interpretation dieser Ergebnisse schwierig. Jensen et al. [103] gaben die Trainingsbelastung bei einer Studie mit Ruderern (n=9) während eines 3-wöchigen Trainingslagers auf 1822m mit 631 km für die Höhengruppe gegenüber 560 km für die Kontrollgruppe (n=9) an. In einem Maximaltest wurden für die Höhengruppe geringere Laktatwerte bei gleichen Wattleistungen gegenüber den Vorwerten festgestellt. Diese Veränderungen konnten bei der Kontrollgruppe nicht beobachtet werden. So liegt der Schluss nah, dass für diese Veränderungen nicht nur die Höhenexposition ausschlaggebend war, sondern auch der Trainingsumfang. Eine weitere Studie mit genauer Angabe der Trainingsbelastung ist von Burtscher et al. 1996 [26] veröffentlicht worden. Hier trainierte eine Gruppe von 10 Hobbyläufern ( $\bar{V}O_{2max}$  62 [ml/kg/min]) auf einer Höhe von 2315 m. Anfangs wurde für sieben Tage ein Grundlagentraining mit Läufen von 60-90 min Dauer durchgeführt, gefolgt von fünf Tagen Intervalltraining 10-45 min. Die gleiche Gruppe absolvierte ein Jahr später ein Trainingscamp mit den oben aufgeführten Trainingsinhalten, allerdings auf einer Höhe von 187m. Bei einer drei Tage nach Ende des Trainingslagers durchgeführten Radergometrie wurden signifikant geringere Laktatwerte für vergleichbare Wattbelastungen gegenüber den Ausgangswerten innerhalb der Höhengruppe, nicht aber für die Kontrollgruppe berichtet. Als Limitation dieser Studie kann aufgeführt werden, dass die Trainingsherzfrequenzen mittels eines Radstufentests ermittelt wurden. Desweiteren trainierten die Gruppen innerhalb vergleichbarer Bereiche während beider Trainingslager. Auf Grund der Tatsache, dass zu Beginn eines Höhenttrainingslagers sowohl die maximale Herzfrequenz als auch die submaximale Herzfrequenz verringert (vergl. Kap. 2.1.1.) sind,

bedeute dies eine vergleichsweise größere Trainingsbelastung innerhalb der Höhengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Vor diesem Hintergrund lassen sich die Ergebnisse dieser Studie besser beurteilen.

### 5.1.2 Maximale Sauerstoffaufnahme ( $VO_{2max}$ )

Einen weiteren Parameter zur Beschreibung der aeroben Leistungsfähigkeit stellt die  $VO_{2max}$  dar. In der vorliegenden Studie fielen deren Werte für die männlichen Athleten aus der Höhentrainingsgruppe um 3,77% am 4. Tag (+4) nach dem Höhentrainingslager ab. Eine Woche später (+11) waren die Werte um 0,67% gegenüber dem Wert vor dem Höhentrainingslager gestiegen. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe (m) stiegen zu vergleichbaren Messzeitpunkten um 11,5% (+4) und 11,25% (+11). Bei den weiblichen Probanden der Schwimmgruppe verhielten sich die Ergebnisse genau entgegengesetzt. Die Werte der Höhengruppe nahmen um 12,02% (+4) und um 7,4% (+11) zu. Während bei der Kontrollgruppe die Werte am Tag +4 um 1% gestiegen und am Tag +11 um 1% gesunken waren (vgl. Abb. 17).

Die heterogene Ergebnislage kann auf verschiedene Faktoren zurückgeführt werden. Während sich die  $VO_{2max}$  bei der Kontrollgruppe der Männer und den beiden Frauengruppen nach dem Trainingslager gegenüber den Werten vor dem Höhentrainingslager (-11) verbesserten, kann der Rückgang der  $VO_{2max}$  Werte der männlichen Probanden aus der Höhengruppe im Wesentlichen auf eine Magen-Darm-Infektion (n=2) (Tag 6-10 während des Trainingslagers) zurückgeführt werden. Lässt man die  $VO_{2max}$  Werte der erkrankten Schwimmer unberücksichtigt, so ergeben sich Verbesserungen von 3,9% (-11 zu +4) bzw. 4,9% (-11 zu +11). Beide Veränderungen sind nicht signifikant. Hier kann eine negative Beeinflussung der Entwicklung durch die Reisebelastung als mögliche Ursache erwähnt werden. Zuwächse in der  $VO_{2max}$  konnten Burtcher et al. nach einem 12-tägigen Trainingslager auf 2315 m mit 10% angeben [26]. Bei Levine und Stray Gundersen [128] fiel der Zuwachs mit 4% genauso wie bei Jensen et al mit 6% geringer aus [103]. In einer hochkontrollierten Studie von Friedmann et al. wurde nach einem 3-wöchigen Trainingslager von Schwimmern auf einer Höhe von durchschnittlich 2200 m eine Zunahme der  $VO_{2max}$  um durchschnittlich 2% festgestellt [66]. Allerdings war hier eine sehr starke interindividuelle Varianz zu verzeichnen. Dabei schwankten die Werte für die  $VO_{2max}$  zwischen +5,5% und -5,5%. Adams et al [2] ließen eine Gruppe von 12 Elite-Mittelstreckenläufern in einer Höhe von 2300 m für 3 Wochen trainieren. Eine Kontrollgruppe absolvierte das gleiche Trainingsprogramm, welches aus einem Lauf von 19,3km/Tag mit einer Intensität von 75% der  $VO_{2max}$  (gemessen auf Meereshöhe)

bestand. Sie stellten nach Abschluss des 3-wöchigen Trainings keine Veränderungen der  $VO_{2max}$  fest.

### 5.1.3 Schwimtleistung (LEN-Punkten)

Neben den Kenngrößen der aeroben- und anaeroben Leistungsfähigkeit ist das wichtigste Ziel eines jeden Höhentrainingslagers die Verbesserung der Leistungsfähigkeit in Bezug auf die jeweiligen Wettkampfstrecken. In dieser Studie wurde die Schwimtleistung 18 bzw. 28 Tage nach dem Höhentrainingslager im Rahmen von regionalen und nationalen Meisterschaften ermittelt und den Ergebnissen eines Trainingswettkampfes, welcher vor den Trainingslagern stattfand, gegenübergestellt. Die Wettkampfleistung wird in dem sogenannten LEN-Punktesystem, welches Schwimmstrecken und -stile miteinander vergleichbar macht, beschrieben. Die Höhentrainingsgruppe verbesserte sich im Mittel zum Tag 18 um 10% und zum Tag 28 um 15,6%, während im vergleichbaren Zeitraum die Kontrollgruppe um 5,79% bzw. um 11,33% ihre Schwimtleistung verbesserte. Das macht einen Netto-Gewinn der Kontrollgruppe von ca. 4% aus. Das korrespondiert mit den Ergebnissen der Literatur.

Andere Studien ermittelten teilweise die Verbesserung der Wettkampfleistung nur innerhalb von Trainingswettkämpfen [128;129]. Dies kann dazu führen, dass die angegebenen Leistungssteigerungen geringer ausfallen als die bei Wettkämpfen ermittelten [169]. Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von Daniels [47]. Sie konnten innerhalb einer Gruppe (n=6) von Elite-Läufern während eines Höhentrainingslagers, welches aus zwei 14-tägigen und zwei einwöchigen Höhenblöcken (2300 m), unterbrochen von fünf bzw. 11 Tagen, bestand, zwei Weltrekorde und 12 persönliche Bestzeiten auf internationalem Niveau erzielen. Hierbei wurden die Meeresniveau-Trainingsintensitäten direkt in das Höhentrainingslager eingebaut. Die erfolgreiche Umsetzung dieses Belastungsdesigns konnte bei einer Vielzahl von weiteren Trainingscamps auf verschiedenen Höhenstufen leider nicht wiederholt werden [174].

Zusammenfassend lässt sich für die hier durchgeführte Studie feststellen, dass die dargestellten Verbesserungen für die  $V4$ ,  $VO_{2max}$  und die Verbesserung der Schwimtleistung sowohl für die Höhen-, als auch für die Kontrollgruppe positiv ausfielen. Allerdings ist die Tendenz zu erkennen, dass die Zuwächse bei der Höhentrainingsgruppe größer als bei der Kontrollgruppe ausfallen. Obwohl die vorliegende Studie zusätzlich zur Trainingsbelastung auch die Ernährung kontrollierte, fielen die Ergebnisse mit einer großen individuellen Varianz aus. Diese Ergebnisse sind ver-

gleichbar mit der aktuellen Literatur. Obwohl die Höhen- und Kontrollgruppe jeweils acht Mitglieder stellten, sollten weitere Studien mit größerer Probandenanzahl durchgeführt werden. Eine weitere Limitation der Studie ist, dass die V4- und die  $VO_{2max}$ -Werte mittels einer sportartfernen Fahrradergometrie durchgeführt wurden. Der Übertrag der aeroben Leistungsfähigkeit, ermittelt auf dem Fahrradergometer, ist nur bedingt auf die Schwimmleistung möglich [172]. Aus Gründen der Objektivität und Reliabilität wurde jedoch diese Methode für die vorliegende Studie ausgewählt.

### **5.2 Hämatologische Parameter**

Einer der Hauptgründe, welche einen Höhengaufenthalt für Athleten rechtfertigen, ist der durch den geringeren Sauerstoffpartialdruck hervorgerufene Anstieg der Erythropoetinspiegel im Blut mit der damit verbundenen Zunahme der Erythrozyten- und Hämoglobinkonzentration. Eine größere Erythrozytenmenge ist mit einer Zunahme der Sauerstofftransportkapazität assoziiert, welche für die aerobe Leistungsfähigkeit den begrenzenden Faktor darstellt. Es werden im Folgenden die innerhalb der vorliegenden Studie aufgetretenen Veränderungen, in Bezug auf die Hämoglobinkonzentration und den Hämatokrit, das Ferritin und den löslichen Transferrin-Rezeptor beschrieben. Auf die Veränderungen des Erythropoetin wird in Kapitel 5.2.4 eingegangen.

#### **5.2.1 Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hct)**

In der Höhengruppe traten für Hb und Hct signifikante Veränderungen für die Messzeitpunkte während (1, 3, 9, 20) und eine Woche nach (+4) Beendigung des Höhentrainingslagers im Vergleich zum Ausgangswert auf. Die größte prozentuale Zunahme wurde jeweils an Tag 9 mit 13,39% für Hb und 15,16% für den Hct-Wert gemessen. Zum Messzeitpunkt +11 waren sowohl der Hb als auch der Hct wieder stark abgefallen, lagen aber noch 4,67% Hb und 4,38% Hct über den Ausgangswerten. Die Hb- und Hct-Werte der Kontrollgruppe veränderten sich im vergleichbaren Zeitraum nur unwesentlich und erreichten ihre maximale Abweichung in Bezug auf den Ausgangswert mit +5,68% für den Hb und für +3,98% für den Hct jeweils am 3. Tag innerhalb des Trainingslagers. Diese Entwicklungen stehen im Einklang mit den Ergebnissen aktueller Studien. So konnten Friedmann et al [66] und Heinicke et al. [84] vergleichbare Ergebnisse dokumentieren, allerdings fielen die Zuwächse für Hb (+0,9-2,3% Friedmann /+0,9% Heinicke) und Hct (+0,9% Friedmann/Heinicke) deutlich geringer aus. Eine Reihe weiterer Studien belegen ebenfalls geringe Zuwachsraten für Hb und Hct. Die divergierenden Ergebnisse können auf den Flüssigkeits-

verschiebungen, wie sie bei Ankunft in Höhenlagen und bei der Rückkehr auf Meeresniveau auftreten, begründet sein (vergl. Kap. 2.1.). Es ist bekannt, dass der Hydratationszustand der Athleten eine wesentliche Einflussgröße für das Plasmavolumen und somit für Hb und Hct darstellt. Somit müssen die Veränderungen in Bezug auf die Hb und Hct ohne dokumentierte Flüssigkeitsbilanzen der Athleten mit Vorsicht interpretiert werden. Aus dieser Überlegung heraus ist es sinnvoll zusätzlich noch eine Bestimmung der totalen Hämoglobin-Masse (tHBmass) durchzuführen. Hierbei wird die gesamte Menge des Hämoglobins bestimmt und somit die Veränderungen des Plasmavolumens genauer bestimmt. In der vorliegenden Studie wurden das Gewicht und die Tagestrinkmenge der Schwimmer täglich erfasst (Daten nicht dargestellt), so dass eine ausreichende Trinkmenge von den Athleten realisiert werden konnte. Eine weitere Einflussgröße für die Erythropoese stellt der Eisenstatus dar. Hierauf wird im Kapitel 5.1.2 detailliert eingegangen. Schließlich ist die Höhe, in welcher das Trainingslager stattfand, ausschlaggebend. So definiert Wilber et al. [212;213] eine Idealhöhe und –dauer für ein Höhentrainingslager. Die Höhe sollte demnach zwischen 2000 und 2500 m liegen. Größere Höhen führen zu Deterioration und häufig Überlastungszuständen der Athleten. Geringere Höhen stellen einen ineffektiven Reiz für die Antriggerung der Erythropoese dar. Für die Dauer eines Höhentrainingslagers gibt Wilber, basierend auf der aktuellen Literatur, einen Zeitraum von mindesten drei bis vier Wochen an. Bei Höhenexpositionen mit einer Dauer von 28 Tagen konnte gegenüber Trainingslagern, welche nur drei Wochen umfassten, ein um ca. 40% größerer Zuwachs für die tHBmass festgestellt werden.

### 5.2.2 Retikulozyten

Retikulozyten stellen eine Vorstufe der Erythrozyten dar. Sie werden im Knochenmark nach Auflösung des Zellkerns aus Normoblasten gebildet und wandern in das Blut.

Die Werte der Höhengruppe fielen während des Höhentrainingslagers um 11% ab. Die Werte zum Tag +4 und +11 waren gegenüber den Ausgangswerten (-6) signifikant erniedrigt. Für die Kontrollgruppe lagen die Werte während und nach dem Trainingslager unter den Ausgangswerten, waren aber nicht signifikant verändert. Bei der Analyse der aktuellen Literatur lässt sich in Bezug auf den Einfluss einer Hypoxie-Exposition ein uneinheitliches Bild zeichnen. Berichten Friedmann et al [67] bei einer Gruppe von Boxern nach einem Höhentrainingslager (auf 1800 m üNN; mit dem Schwerpunkt Grundlagenausdauer) von ansteigenden Retikulozytenwerten, so konnten bei Weltklasse-Rennradfahrern nach einem vierwöchigen Training auf 2690

m üNN zwar eine Zunahme des HB- Wertes, aber keine veränderten Retikulozytenwerte gemessen werden [5]. Auf Grund dieser heterogenen Datenlage und nach Analyse von für eine Hämolyse typischen Parametern, wie Haptoglobin und der Laktat-Dehydrogenase, zieht Banfi den Schluss, dass die Veränderung der Retikulozytenwerte mehr unter dem Einfluss des Auf- und Abbaus der Erythrozyten als unter den Auswirkungen eines Hypoxietrainingslager auf einer moderaten Höhe von bis zu 2690 steht [7]. Die signifikant geringere Anzahl der Retikulozyten nach dem Trainingslager steht in direktem Zusammenhang mit dem fallenden Erythropoetinspiegel nach Rückkehr auf Meeresniveau. Bei in vitro-Versuchen wurde beobachtet, dass bei zurückgehenden Erythropoetin-Konzentrationen die Permeabilität des Endothels der Milz für Retikulozyten zunimmt. Dadurch können diese leichter von Makrophagen phagozytiert werden [162;162;165;201].

### **5.2.3 Ferritin/ löslicher Transferrin-Rezeptor (sTfR)**

Essentiell für die Bildung von Erythrozyten ist ein ausreichendes Eisenangebot. Ferritin ist ein Protein, welches in Zellen der Leber, der Milz und des Knochenmarks produziert wird. An ihm werden bis zu 4000 Eisenatome gebunden. Mit Hilfe des Ferritins kann somit eine Abschätzung des Eisenspeichers durchgeführt werden. Die Ferritinwerte der Athleten dieser Studie lagen vor dem und während des Trainingslagers innerhalb der Referenzwerte ( $> 20\text{ng/ml}$ ).

Der lösliche Transferrin Rezeptor (sTfR) befindet sich auf Vorläuferzellen der Erythropoese-Zellen. Er ist ein transmembranäres Protein, welches Ferritin bindet und ins Zellinnere transportiert. Nach der Dissoziation des Eisens vom Transferrinrezeptorkomplex wird dieser wieder in die Zellmembran eingebunden und schließlich von ihr abgespalten. Die Gesamtmenge des sTfR spiegelt die Aktivität der Erythropoese und den Eisenstatus wieder.

Für die Höhengruppe stiegen die Werte während des Höhentrainingslagers an und erreichten signifikant erhöhte Werte zu den Messzeitpunkten 9 (+22,5%), 17 (25,9%) und 20 (24,7%). Nach Rückkehr auf Meeresniveau (+4, +11) fielen die Werte nahezu auf das Ausgangsniveau ab. Im Gegensatz dazu veränderten sich in der Kontrollgruppe die Werte des sTfR nur unwesentlich (-2,3% - +4,78%). Diese Verläufe stehen im Einklang mit den Ergebnissen von Heinicke et al und Robach et al [84;168]. In beiden Studien konnten während der Höhentrainingsphase signifikant erhöhte Werte des sTfR festgestellt werden. Robach stellt diese Befunde in seiner vergleichenden Studie in direkten Zusammenhang mit dem Aktivitätszustand der Erythropoese, und leitet daraus die Behauptung ab, dass sTfR Werte die EPO-

Antwort der Gewebe auf eine Höhenexposition widerspiegeln [167]. So können die erhöhten sTfR- Werte, obwohl in der vorliegenden Studie keine HBmass-Bestimmung durchgeführt wurde, für eine gesteigerte Aktivität der Erythropoese gewertet werden.

### **5.3 Mesenchymale Stammzellen**

#### **5.3.1 Migration**

Neben der Evaluation der physiologischen Leistungsparameter war das Hauptziel der vorliegenden Studie, den Einfluss einer Hypoxieexposition auf die migratorischen Eigenschaften von MSC zu beschreiben. Die Ergebnisse wurden unter 4.3.1. detailliert dargestellt. Bei der Betrachtung der basalen migratorischen Aktivität (Abb.29) fällt eine nahezu unveränderte Zahl von migrierten Zellen zu allen Zeitpunkten für die Höhengruppen auf. Dies gilt auch für die Zeitpunkte während des Höhentrainingslagers (3 und 17). Bei der Kontrollgruppe ist am Ende des Trainingslagers (Zeitpunkt 17) eine Zunahme gegenüber dem Wert vor dem Trainingslager zu verzeichnen. Zum Zeitpunkt nach dem Trainingslager fällt die Anzahl der migrierten Zellen ab. Diese Veränderungen sind statistisch nicht signifikant. Dies ist insofern bemerkenswert, als man mit einer unter Hypoxieeinfluss gesteigerten migratorischen Aktivität gerechnet hatte. So konnte Rochefort bei unter Hypoxie lebenden Ratten, einen Zuwachs an zirkulierenden MSC feststellen [170]. Als Ursache über die divergierenden Ergebnisse könnte die Tatsache sprechen, dass Rochefort für seine Versuche einen ca. doppelt so starken Hypoxiereiz gewählt hatte (5500m über NN gegen über 2340m über NN).

Vergleicht man die Anzahl der MSC, welche durch Inkubation mit den konditionierten Seren der Schwimmer migrierten, so fällt eine gesteigerte migratorische Aktivität der MSC nach den jeweiligen Leistungsdiagnostiken gegenüber den Vorwerten, mit einer Ausnahme (3 für die Kontrollgruppe; Abfall um 5,81 %), auf. Diese Zuwächse waren zum Messzeitpunkt 17 für die Höhengruppe und zum Messzeitpunkt +4 für die Kontrollgruppe signifikant. Dieser Befund ist eine Bestätigung der Ergebnisse von Schmidt et al [178]. In ihrer Untersuchung wurden fünf Athleten vor und unmittelbar nach, sowie eine Stunde nach einer maximalen Radbelastung (12min Aufwärmen, Rampentest bis zur subjektiven Ausbelastung, max. 8 min) Blutproben entnommen. Die aus den Hüftköpfen von Patienten, welche mit Totalendoprothesen versorgt wurden, gewonnenen MSC, wurden mit den Seren der Athleten für 8 h inkubiert und Parameter der Proliferation, Apoptose und Migration bestimmt. Kon-

ten für die Proliferation und Apoptose keine signifikanten Veränderungen festgestellt werden, so zeigte sich bei der Migration eine signifikante Zunahme nach der Belastung gegenüber den Vorwerten. Laufs et al [123;124] untersuchte den Einfluss von körperlicher Belastung auf Endotheliale Vorläuferzellen (EPC). Dies sind aus dem Knochenmark von Hämangioblasten stammende in der Blutbahn zirkulierende Zellen, welche sich unter in vitro- Bedingungen in Epithelzellen differenzieren können und an der Regeneration des Gefäßepithels beteiligt sind. Er konnte für EPC einen positiven Einfluss von körperlicher Belastung sowohl bei herzinsuffizienten Patienten als auch für gesunde Sportler auf die Zahl der zirkulierenden Zellen aufzeigen. Wurde der Zusammenhang zwischen sportlicher Belastung und Anstieg der migratorischen Stammzellen aufgezeigt, bleiben die dafür verantwortlichen Faktoren zunächst unklar. In der oben genannten Studie von Schmidt et al wurden mittels Microarray-Analysen die Seren auf 120 verschiedenen Zytokine und Wachstumsfaktoren analysiert [178]. Hier wurden signifikante Zuwächse für elf Faktoren und für einen Faktor die signifikante Abnahme nach der Belastung im Vergleich zu vorher festgestellt. Der Migration-Inhibitory-Factor fiel signifikant ab, wohingegen die größten Zuwächse für den Brain-Derived Neurotrophic Factor (45%), Interleukin (IL)8 (40%) und IL6 (39%) zu verzeichnen waren. In einer weiteren Studie derselben Arbeitsgruppe wurden Migrationsversuche der MSC, mit verschiedenen Wachstumsfaktoren und zytokinen Nährmedien angereichert, durchgeführt. Dabei konnten signifikante Zuwächse der Migrationsraten gegenüber dem Kontrollserum für IL6, SDF1beta, VEGF und bFGF aufgezeigt werden. Für EPO fiel der Zuwachs nicht signifikant aus. Den stärksten Einfluss auf die Migration hatte bFGF [179]. Darauf basierend konnte von Langer et al gezeigt werden, dass Thrombozyten als wichtige Quelle des bFGF angesehen werden müssen. Blockierte man die Aktivität der Thrombozyten, so verringerte sich die Zahl der migrierten MSC, stieg die Konzentration des von Thrombozyten produzierte bFGF an, so wurde auch eine steigende Zahl von migrierten Zellen detektiert [120]. In dem Zusammenhang darf nicht außer Acht gelassen werden, dass die Wirkungsweise von bFGF auch indirekte Auswirkungen hat. So konnten Seghezzi et al auf eine bFGF-induzierte VEGF-Ausschüttung hinweisen [37;181].

In der vorliegenden Studie konnten für bFGF (Kapitel 4.3.2) sowohl für die Höhen- gruppe als auch für die Kontrollgruppe kein direkter Zusammenhang zwischen sportlicher Belastung und Konzentrationsanstiege im peripheren Blut gefunden werden. Allerdings wies die Höhentrainingsgruppe während des Trainingslagers (3,17) und nach dem Trainingslager (+4, +11) im Mittel doppelt so hohe Konzentrationen

auf wie bei den als Vorwerte (-11) bestimmten Konzentrationen. Ob die Konzentration des bFGF grundsätzlich für einen mobilisierenden Effekt für die MSC nicht ausreichend war, oder ob innerhalb des Gewebes eine höhere Konzentration vorlag und somit ein parakriner Effekt wahrscheinlicher ist, kann hier nur spekuliert werden. Die ermittelten Werte für VEGF (vgl. 4.3.4.) zeigten eine deutliche Abhängigkeit zur körperlichen Belastung, da sie für beide Gruppen zu allen Messzeitpunkten größere Werte nach der Belastung (post) gegenüber den Werten vor der Belastung (prä) aufwiesen. Ein durch die Hypoxie zusätzlich induzierter Effekt konnte nicht belegt werden. Dies steht im Gegensatz zu den Studien von Vogt et al. [206]. Dieser führte mit Probanden ein 6-wöchiges Höhenttraining (5 Einheiten á 30 min auf einer Höhe von 3850 m) durch. Bei den entnommenen Muskelbiopsien wurde anhand von PRC eine Erhöhung der mRNA für den Transkriptionsfaktor HIF1 gefunden. Desweiteren wurde ein Anstieg des VEGF vorgefunden. Arsano et al [3] fanden bei Probanden in einem dreiwöchigen Höhenttrainingslager auf 1886 m für die Dauer des Höhenttrainingslagers steigende VEGF-Konzentrationen, welche am 19. Tag des Trainingslagers das Maximum erreichten. Nach Rückkehr auf Meeresniveau fielen diese Werte ab, bis sie nach 28 Tagen das Niveau vor dem Höhenttrainingslager erreichten. Einen Abfall der VEGF-Konzentrationen als Antwort auf eine Hypoxieexposition mit maximaler körperlicher Belastung (Marathonlauf auf 4722 m), wurden auch von Gunga et al berichtet [81]. Hier fiel die in den Vorwerten als normal beschriebene VEGF-Konzentration nach der Belastung signifikant ab, wohingegen ein Überlebenstraining mit Schlafentzug und eingeschränkter Nahrungsaufnahme keinen Einfluss auf die VEGF-Konzentrationen hatten. Zusammenfassend stellt sich in der Literatur folgendes Bild über den VEGF in Beziehung zur Hypoxie dar:

- Hypoxie reguliert und aktiviert VEGF [133;188],
- VEGF wird über HIF-1 reguliert [132],
- Hypoxie stabilisiert VEGF [187],
- Körperliche Belastung induziert einen Anstieg der VEGF-Konzentration in der Muskulatur [164].

Weitere Studien stellen einen Zusammenhang zwischen dem Trainingszustand der Athleten und den VEGF-Spiegeln her. So fanden Suhr et al [193] bei gut trainierten Radsportlern ( $VO_{2max} < 60$  [ml/kg/min]) höhere VEGF-Spiegel und eine ausgeprägtere Antwort auf Trainingsreize. Andere Autoren machen neben den klassischen Auslösern des VEGF Release (Hypoxie, HIF) auch mechanische Stimuli wie durch muskuläre Beanspruchung hervorgerufene Scherkräfte und einen gesteigerten Blutfluss verantwortlich [21].

Die Ergebnisse für EPO stellten in der vorliegenden Studie ein uneinheitliches Bild dar (vgl. 4.3.4.). In Abhängigkeit von der Belastung stiegen die Werte zu allen Messzeitpunkten und bei allen Gruppen an. Die Ausnahme stellte hier der Messzeitpunkt 17 zu Ende des Trainingslagers für die Höhengruppe sowie für die Kontrollgruppe dar. Hier wurde für beide Gruppen ein leichter Konzentrationsrückgang verzeichnet. Des Weiteren konnte zum Messzeitpunkt 1 für die Höhengruppe ein signifikanter Konzentrationsanstieg für EPO verzeichnet werden, allerdings fielen die Werte noch während des Trainingslagers auf Werte nahe dem Ausgangsniveau ab. Diese Befunde decken sich mit den von Friedmann und Heinicke, welche vergleichbare Verläufe der EPO-Konzentration während der Höhentrainingslager verzeichnen konnten [66;84].

Fasst man nun die Ergebnisse der Migrations-Versuche für die Messzeitpunkte 3 und 17 für die Höhengruppe zusammen, so stellt sich ein signifikanter Anstieg der migrierten Zellen dar. Ein signifikanter Zuwachs ist für die Kontrollgruppe nicht zu verzeichnen. Dies gilt auch für eine Zusammenfassung der Messzeitpunkte +4 und +11 der Höhengruppe. Diese Befunde decken sich mit denen von de Marées et al [49]. In der Studie wurde bei Läufern, welche täglich ca. 20 km auf einer durchschnittlichen Höhe von ca. 3000 m über 28 Tage gelaufen waren, vier Tage vor und vier und 28 Tage nach der Hypoxieexposition Blutproben entnommen und Migrationsversuche mit MSC durchgeführt. Hier fiel der Wert für die migrierten Zellen vier Tage nach Rückkehr auf Meeresniveau gegenüber den Vorwerten leicht ab. Vier Wochen später stieg dieser Parameter auf Werte weit oberhalb des Ausgangsniveaus an. Die Werte der Kontrollgruppe, welche auf vergleichbaren Höhen für die gleiche Zeitspanne gelebt hatte, stiegen nach dem Höhenaufenthalt stark an, reduzierten sich aber bei der Messung vier Wochen nach Ende der Hypoxieexposition. Dieser Einfluss der Hypoxie auf die migratorischen Eigenschaften von MSC steht im Einklang mit den Ergebnissen von Rochefort et al [170], welcher in einem Experiment Vistaratten für drei Wochen unter Hypoxie (50kPa entspricht ca. 5500 m über NN) züchtete und mit einer Gruppe von Mäusen, welche unter normoxischen Bedingungen (101kPa entspricht dem Meeresniveau) lebten, verglich. In den unter Hypoxie gehaltenen Ratten fand er eine Konzentration von MSC im peripheren Blut, welche um das 15-fache gegenüber der normoxischen Gruppe erhöht war. Es kann jetzt spekuliert werden, warum bei der vorliegenden Studie kein größerer hypoxieinduzierter Effekt zu verzeichnen war. Hier kann zum einen angeführt werden, dass die Reaktionen auf Hypoxieexpositionen stark individuell geprägt sind. Darüber hinaus rief das konditionierte Serum einiger Schwimmer bei den Migrati-

onsversuchen deutliche Zuwachsraten hervor. So nahm bei anderen die migratorische Aktivität ab. Eventuell war auch das gewählte Trainingsdesign verantwortlich, und man hätte mit einer größeren Intensität oder einem anderen Höhenniveau trainieren müssen. Außerdem kann hier auch auf Grund der kleinen Stichprobe leicht ein eventuell signifikanter Zusammenhang verschleiert werden (Fehler 2. Art).

Um die Migration der MSC genauer zu betrachten, muss man sich das Nischenmodell der Stammzellen vor Augen führen. Hierbei wird davon ausgegangen, dass jede Stammzelle in ihrem Heimatgewebe, der sogenannten Nische, verweilt, ihre Stammzeleigenschaften erhält und auf bestimmte Signale hin diese Nische verlässt [218]. Diese Signale können von Gewebsverletzungen, apoptotischen Zellen und hypoxischen Ereignissen ausgelöst werden. Dadurch werden von den beteiligten Geweben Wachstumsfaktoren und Zytokine sezerniert, welche die Stammzellen anregen, ihr Stammgewebe zu verlassen, zu den verletzten Zellen zu migrieren und dort sich entweder in das Zielgewebe zu differenzieren oder die Gewebsregeneration auf parakrinem Weg zu induzieren [117]. Wurde für den Großteil der Stammzellen das Knochenmark als Nische bezeichnet (z.B. HSC), so war lange Zeit unklar, welches die spezifische Nische für die MSC darstellt [69]. Allein auf Grund der Tatsache, dass MSC neueren Untersuchungen zufolge in nahezu allen postnatalen Organen und Geweben [46] gefunden werden können, war eine klare Definition der Nische schwierig. Es hat sich jedoch herauskristallisiert, dass für die MSC eine perivaskuläre Nische sehr wahrscheinlich ist [45;117]. So können die MSC leicht in die Blutbahn gelangen und bei der Wundheilung und anderen Reparaturprozessen eingreifen. Betrachtet man das Milieu der Nische genauer, so fällt ein niedriger Sauerstoffgehalt von 1-5% auf. Die MSC scheinen für den Erhalt ihrer Stammzellfunktion diese relative Hypoxie zu benötigen. Bei in vitro-Versuchen konnte bei einem Vergleich von MSC, welche unter 2% O<sub>2</sub> im Vergleich zu bei normoxischen Bedingungen kultivierten MSC festgestellt werden, dass die unter Hypoxie gezüchteten Zellen eine größere proliferative Kapazität aufwiesen. Außerdem wurde die Expression von oct-4 und rex-1 bei MSC festgestellt. Diese Gene sind charakteristisch für Embryonale Stammzellen und werden somit als Zeichen für eine Erhaltung der Stammzellfunktionen und den Verbleib in einem undifferenzierten Zustand gewertet. Wie oben schon erwähnt, ist für die gezielte Mobilisation der MSC aus ihrer Nische das Zusammenspiel einer Vielzahl von Wachstumsfaktoren (GF) und Chemokinen notwendig. Rabbany stellt 2003 in seinem Review die Bedeutung von Metalloproteinasen im Zusammenhang mit der Mobilisation von MSC heraus. Er

entwickelt ein Modell, in welchem durch den Blutfluss hervorgerufenem shear stress MM9 sezerniert und nachfolgend die Bioaktivität von sKit Ligand gesteigert wird. Diese Aktivitätssteigerung erhöht die Proliferation, Differenzierung und die Mobilisation von Bone-Marrow-Derived-Circulating-Endothelial-Progenitor-Cells in die Zirkulation [161]. Lopez et al untersuchte den Einfluss unterschiedlicher GF und Chemokinen auf migratorischen Eigenschaften von MSC. IGF-1 und Platelet-Derived-Growth-Factor-Ab (PDGF-AB) induzierte in seinen Studien die Migration am stärksten. Interessanter Weise konnte für die untersuchten GF ein nur sehr geringer Effekt festgestellt werden. Allerdings wurde unter dem Einfluss von TNF $\alpha$  eine verstärkte Migration sowohl für die genannten GF, als auch, wenn auch nicht in gleichen Umfang, für die Chemokine RANTES, Macrophage-Derived-Chemokine (MDC) und den Stromal-Derived-Factor-1 (SDF-1) beobachtet. Aus diesen Resultaten schließt er, dass die Migration und das Homing der MSC unter starkem Einfluss von Inflammations-Prozessen des verletzten Gewebes stehen [135].

Der geringe Sauerstoffpartialdruck während des Höhentrainingslagers kann als weiterer wesentlicher Stimulus betrachtet werden. So wird über die Stabilisierung des HIF-1 $\alpha$  (vgl. 2.1.2.1.) die Bildung einer Reihe von Wachstumsfaktoren induziert. Als wesentlicher Faktor ist hier der VEGF und die VEGF-Rezeptoren 1 und 2 zu nennen. Aber auch EPO und bFGF werden vermehrt freigesetzt [17;189]. Allerdings scheint der hier gesetzte Reiz für eine entsprechende Konditionierung des Serums der Schwimmer, welche eine signifikante Steigerung der migratorischen Aktivität der MSC induziert, zu gering gewesen zu sein. In der vorliegenden Studie wurde auf einer Höhe von ca. 2300 müNN trainiert. Das entspricht einem Sauerstoffpartialdruck von ca. 75 kpa. Rochefort hingegen ließ bei seinen Versuchen Ratten drei Wochen lang auf einer Höhe von ca. 5500 müNN trainieren und konnte eine um das 15-fache gesteigerte Menge an MSC im peripheren Blut feststellen [170]. Nun steht es aber außer Frage Trainingslager in vergleichbare Höhen zu verlegen (steigende Gefahr der akuten Höhenkrankheit, gesteigerter Muskelabbau, geringe relative Trainingsbelastung). Höhenniveaus von 3000-3200 müNN wären nach ausreichender Anpassung noch aus medizinischer- und trainingswissenschaftlicher Sicht zu vertreten. Auf der anderen Seite konnten von Schmidt et al eine Steigerung der migratorischen Aktivität der MSC durch eine ca. 8 Minuten dauernde maximale Belastung auf dem Radergometer hervorrufen [177;178]. Das deutet nun darauf hin, das bei einem nächsten Trainingslager evtl. nicht nur das Höhenniveau, sondern auch die Belastungsintensität gesteigert werden könnten, um so einen größeren Effekt auf die MSC zu erzielen.

Die migratorischen Eigenschaften der MSC werden von einer Vielzahl von Faktoren reguliert. Als potenteste Faktoren sind bFGF, VEGF, unter dem Einfluss von TNF- $\alpha$  auch IGF-1 und PDGF-AB und Hypoxie zu nennen. Da in der vorliegenden Studie die Faktoren im venösen Blut bestimmt wurden, lassen sich nur bedingt Rückschlüsse auf die in dem einzelnen Gewebe herrschenden Konzentrationen ziehen (vgl. Abb 39). Hier liegt die grundsätzliche Frage: Ist es der vorherrschende Prozess, dass MSC aus ihrer Nische die Endothelbarriere durchbrechen, in der Zirkulation zu ihren Zielorten transportiert werden, und hier wiederum das Endothel der Gefäße überwinden, um sich dann an den Remodeling- und Repairprozessen zu beteiligen, oder handelt es sich nicht zum größeren Teil um parakrine Informationsweiterleitung. Der parakrine Weg wäre, auf Grund der Tatsache, dass die MSC keine größeren Distanzen zurücklegen und somit die Endothelbarriere nicht überwinden müssten, für den Organismus weniger aufwendig. Die zweite Annahme wird durch die Tatsache, dass in nahezu jedem Gewebe des menschlichen Organismus MSC gefunden wurden, untermauert [46]. Außerdem könnte die sehr geringe Zahl der im venösen Blut befindlichen MSC (1-3 MSC pro  $10^6$  Mononuklearer Zelle) ebenfalls darauf hindeuten. Welcher dieser beiden Migrationsarten nun auch im Vordergrund stehen mag, es wird die Bedeutung der MSC im therapeutischen Einsatz in Zukunft jedenfalls immer weiter steigen. Hier sollte es nun das Ziel weiterer Studien sein, die genaueren GF- und Cytokinmuster aufzudecken, welche für die einzelnen Gewebearten typisch sind, um so entsprechende Bedingungen für den systemischen Einsatz der MSC herzustellen und gezielt die geschädigten Gewebe aufbauen zu können.

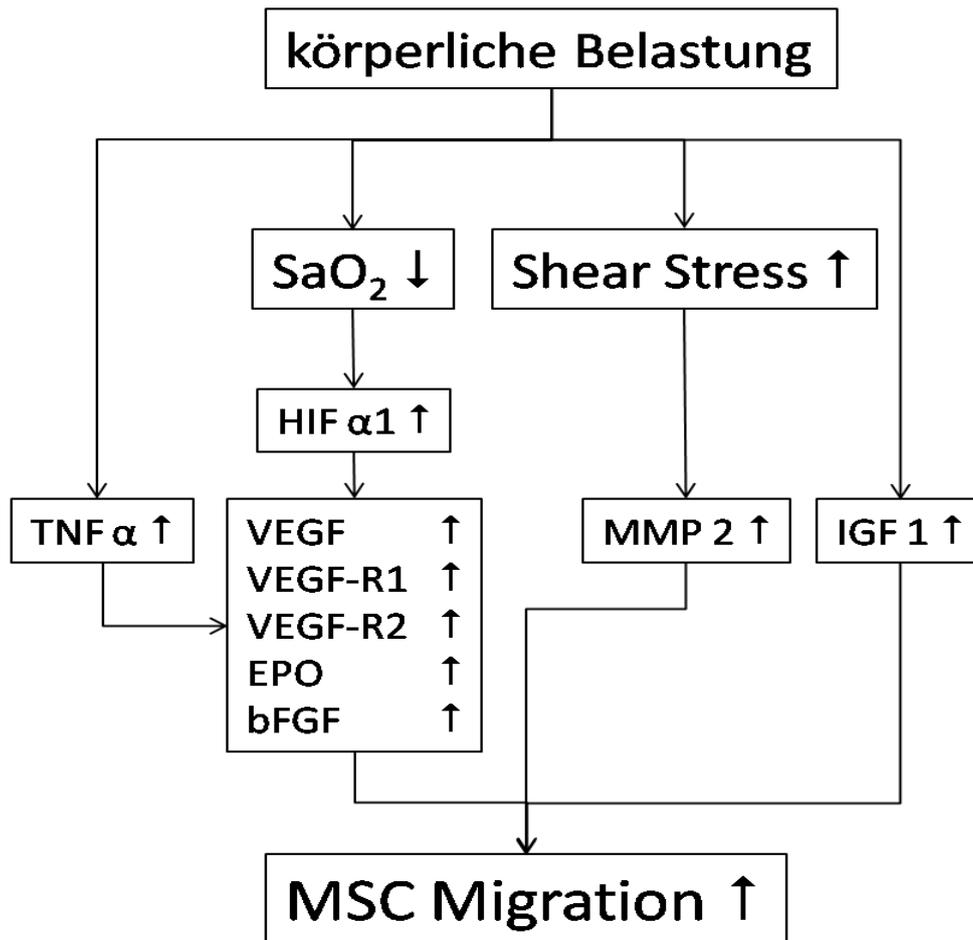


Abb. 39: Zusammenfassung der Einflussgrößen der migratorischen Aktivität der MSC

## 6 Zusammenfassung

Adulte Stammzellen sind für Regenerations- und Remodeling-Prozesse, wie sie ständig im menschlichen Körper ablaufen, von großer Bedeutung. Die vorliegende Studie stellt den Einfluss eines dreiwöchigen Hypoxietrainings auf physiologische Basisparameter und die migratorischen Eigenschaften der MSC dar. Das Studiendesign beinhaltete zwei Trainingslager von Schwimmern des NRW-Kaders, wobei ein Trainingslager auf einer Höhe von 2340 m durchgeführt wurde, das andere auf Meeresebene. Sechs Tage vor(-6), am dritten und 17. Tag (3,17) während und am vierten und elften Tag (+4, +11) nach dem Trainingslager wurden Blutentnahmen zur Bestimmung der migratorischen Fähigkeit der MSC entnommen. Die in der Einleitung aufgestellten Thesen werden im Folgenden beantwortet:

1. Nicht signifikante Leistungsverbesserungen hinsichtlich der  $VO_2\text{max}$  und der Laktatschwellen lagen in beiden Gruppen (Höhen- und Kontrollgruppe) vor. Für die Schwimmleistung wurden deutlich größere Zuwächse in der Höhen- gegenüber der Kontrollgruppe verzeichnet. Allerdings wurde auch hier die große Individualität auf die Hypoxieexposition deutlich. So lagen die Veränderungen der Schwimmleistung (LEN Punkte) der Mitglieder der Höhen- gegenüber der Kontrollgruppe zwischen -2,67% und 18,14%.
2. Die Werte für HB und Hct waren in der Höhen- gegenüber der Kontrollgruppe während des Trainingslagers und bis zum Zeitpunkt +11 für Hct und bis zum Zeitpunkt +4 für das Hb signifikant erhöht. Der sTfr war in der Höhen- gegenüber der Kontrollgruppe innerhalb des Trainingslagers am Tag neun und 20 signifikant erhöht, was als Zeichen für eine gesteigerte Produktion von Erythrozyten gewertet werden kann.
3. In Bezug auf die Analyse der migratorischen Eigenschaften der MSC konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer Zunahme der migrierten Zellen und körperlicher Belastung aufgezeigt werden. Zudem scheint ein zusätzlicher positiver Effekt der Hypoxieexposition wahrscheinlich. Bei Zusammenfassung der Ergebnisse während (Messzeitpunkt 3, 17) und nach Beendigung (Messzeitpunkt +4, +11) der Trainingslager wurden signifikante Anstiege für die migratorischen Eigenschaften der MSC für die Höhen- gegenüber der Kontrollgruppe aufgezeigt, nicht aber für die Kontrollgruppe aufgezeigt.

4. Die Konzentrationsveränderungen der für die Migration verantwortlichen Wachstumsfaktoren wurden für EPO und VEGF eher durch die akuten Auswirkungen der körperlichen Belastung (Leistungsdiagnostik) als durch den Hypoxiereiz beeinflusst. Für bFGF konnte allerdings ein deutlicher Einfluss der Hypoxieexposition während des Trainingslagers und danach festgestellt werden. Hier wurden deutlich erhöhte Spiegel detektiert, die der Kontrollgruppe waren nahezu unverändert.

Das gewählte Höhenniveau und das Trainingsdesign scheinen für eine Induzierung von signifikant unterschiedlichen Ergebnissen, sowohl auf physiologischer als auch auf zellbiologischer Ebene zu gering gewählt worden zu sein. Hier könnten folgende Studien ansetzen und eventuell ein hochintensives Trainingsprogramm auf einer größeren Höhe untersuchen. Die MSC betreffend könnte unter Einsatz von weiteren Techniken, z.B. Microarray, versucht werden, weitere Wachstumsfaktoren und Realisingmuster dieser Faktoren zu identifizieren, um hier mehr über die Signalwege, die chemotaktische Wirkung der einzelnen Wachstumsfaktoren in Bezug auf die MSC zu erfahren. Auch wäre es interessant mittels bioptischer Untersuchungstechniken die gewebspezifische Konzentrationen entsprechender Wachstumsfaktoren und Zytokine zu bestimmen. Auf Grundlage dieser Erkenntnis könnten so gezielt Zellen kultiviert und bei entsprechenden Beschwerdebildern transplantiert werden.

## 7 Literaturverzeichnis

### Literaturliste

1. Abbott JD, Huang Y, Liu D, Hickey R, Krause DS, Giordano FJ. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation* 2004; 110: 3300-3305.
2. Adams WC, Bernauer EM, Dill DB, Bomar JB, Jr. Effects of equivalent sea-level and altitude training on VO<sub>2</sub>max and running performance. *J Appl Physiol* 1975; 39: 262-266.
3. Asano M, Kaneoka K, Nomura T, Asano K, Sone H, Tsurumaru K, Yamashita K, Matsuo K, Suzuki H, Okuda Y. Increase in serum vascular endothelial growth factor levels during altitude training. *Acta Physiol Scand* 1998; 162: 455-459.
4. Ashcroft F. Life at the Top. *Life at the Extremes*. Flamingo; 2001. pp 9-10.
5. Ashenden MJ, Gore CJ, Parisotto R, Sharpe K, Hopkins WG, Hahn AG. Effect of altitude on second-generation blood tests to detect erythropoietin abuse by athletes. *Haematologica* 2003; 88: 1053-1062.
6. Ball SG, Shuttleworth CA, Kielty CM. Mesenchymal stem cells and neovascularization: role of platelet-derived growth factor receptors. *J Cell Mol Med* 2007; 11: 1012-1030.
7. Banfi G. Reticulocytes in sports medicine. *Sports Med* 2008; 38: 187-211.
8. Bartsch P, Mairbaur H, Maggiorini M, Swenson ER. Physiological aspects of high-altitude pulmonary edema. *J Appl Physiol* 2005; 98: 1101-1110.
9. Bartsch P, Swenson ER, Maggiorini M. Update: High altitude pulmonary edema. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502: 89-106.
10. Baxter MA, Wynn RF, Jowitt SN, Wraith JE, Fairbairn LJ, Bellantuono I. Study of telomere length reveals rapid aging of human marrow stromal cells following in vitro expansion. *Stem Cells* 2004; 22: 675-682.
11. Bert P. *La Pression Barométrique*. Columbus: Hitchcock M-A.; 1878. 581-659 p.
12. Beyer NN, da Silva ML. Mesenchymal stem cells: isolation, in vitro expansion and characterization. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 249-282.
13. Bhattacharya S, Michels CL, Leung MK, Arany ZP, Kung AL, Livingston DM. Functional role of p35srj, a novel p300/CBP binding protein, during transactivation by HIF-1. *Genes Dev* 1999; 13: 64-75.

14. Bikfalvi A, Klein S, Pintucci G, Rifkin DB. Biological roles of fibroblast growth factor-2. *Endocr Rev* 1997; 18: 26-45.
15. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell* 2001; 105: 829-841.
16. Bloch W, Brixius K. Sport und Stammzellen. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2006; 57: 68-72.
17. Bloor CM. Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005; 8: 263-271.
18. Bosch P, Musgrave DS, Lee JY, Cummins J, Shuler T, Ghivizzani TC, Evans T, Robbins TD, Huard. Osteoprogenitor cells within skeletal muscle. *J Orthop Res* 2000; 18: 933-944.
19. Braun KM, Niemann C, Jensen UB, Sundberg JP, Silva-Vargas V, Watt FM. Manipulation of stem cell proliferation and lineage commitment: visualisation of label-retaining cells in wholemounts of mouse epidermis. *Development* 2003; 130: 5241-5255.
20. Breen E, Tang K, Olfert M, Knapp A, Wagner P. Skeletal muscle capillarity during hypoxia: VEGF and its activation. *High Alt Med Biol* 2008; 9: 158-166.
21. Breen EC, Johnson EC, Wagner H, Tseng HM, Sung LA, Wagner PD. Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 1996; 81: 355-361.
22. Bruder SP, Jaiswal N, Haynesworth SE. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997; 64: 278-294.
23. Brugniaux JV, Schmitt L, Robach P, Nicolet G, Fouillot JP, Moutereau S, Lasne F, Pialoux V, Saas P, Chorvot MC, Cornolo J, Olsen NV, Richalet JP. Eighteen days of "living high, training low" stimulate erythropoiesis and enhance aerobic performance in elite middle-distance runners. *J Appl Physiol* 2006; 100: 203-211.
24. Bruick RK, McKnight SL. A conserved family of prolyl-4-hydroxylases that modify HIF. *Science* 2001; 294: 1337-1340.
25. Bundesregierung Deutschland. Gesetz zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher Embryonaler Stammzellen. web . 14-8-2008. Bundesministerium. Internet Communication
26. Burtcher M, Nachbauer W, Baumgartl P, Philadelphia M. Benefits of training at moderate altitude versus sea level training in amateur runners. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1996; 74: 558-563.
27. Cao Y, Linden P, Farnebo J, Cao R, Eriksson A, Kumar V, Qi JH, Claesson-Welsh L, Alitalo K. Vascular endothelial growth factor C induces angiogenesis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 14389-14394.

28. Caplan AI. The mesengenic process. *Clin Plast Surg* 1994; 21: 429-435.
29. Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *J Cell Physiol* 2007; 213: 341-347.
30. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. *J Pathol* 2009; 217: 318-324.
31. Carmeliet P. Basic Concepts of (Myocardial) Angiogenesis: Role of Vascular Endothelial Growth Factor and Angiopoietin. *Curr Interv Cardiol Rep* 1999; 1: 322-335.
32. Carmeliet P, Collen D. Vascular development and disorders: molecular analysis and pathogenic insights. *Kidney Int* 1998; 53: 1519-1549.
33. Chamberlain G, Fox J, Ashton B, Middleton J. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing. *Stem Cells* 2007; 25: 2739-2749.
34. Chen L, Tredget EE, Wu PY, Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PLoS ONE* 2008; 3: e1886.
35. Chen SL, Fang WW, Qian J, Ye F, Liu YH, Shan SJ, Zhang JJ, Lin S, Liao LM, Zhao RC. Improvement of cardiac function after transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cells in patients with acute myocardial infarction. *Chin Med J (Engl)* 2004; 117: 1443-1448.
36. Chong ZZ, Kang JQ, Maiese K. Erythropoietin: cytoprotection in vascular and neuronal cells. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2003; 3: 141-154.
37. Claffey KP, Abrams K, Shih SC, Brown LF, Mullen A, Keough M. Fibroblast growth factor 2 activation of stromal cell vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis. *Lab Invest* 2001; 81: 61-75.
38. Clark SA, Aughey RJ, Gore CJ, Hahn AG, Townsend NE, Kinsman TA, Chow CM, McKenna MJ, Hawley JA. Effects of live high, train low hypoxic exposure on lactate metabolism in trained humans. *J Appl Physiol* 2004; 96: 517-525.
39. Coates G, Sutton JR. Hypoxia and Mountain Medicine: Proceedings of the 7th International Hypoxia Symposium Held at Lake Louise. 1991.
40. Cockman ME, Masson N, Mole DR, Jaakkola P, Chang GW, Clifford SC, Maher ER, Pugh CW, Ratcliffe PJ, Maxwell PH. Hypoxia inducible factor- $\alpha$  binding and ubiquitylation by the von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *J Biol Chem* 2000; 275: 25733-25741.
41. Cohnheim J. Über Entzündung und Eiterung. Leipzig: Verlag von Johann Ambrosius Barth; 1867.
42. Colter DC, Class R, DiGirolamo CM, Prockop DJ. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 3213-3218.

43. Comoli P, Ginevri F, Maccario R, Avanzini MA, Marconi M, Groff A, Cometa A, Cioni M, Porretti L, Barberi W, Frassoni F, Locatelli F. Human mesenchymal stem cells inhibit antibody production induced in vitro by allostimulation. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1196-1202.
44. D'Ippolito G, Schiller PC, Ricordi C, Roos BA, Howard GA. Age-related osteogenic potential of mesenchymal stromal stem cells from human vertebral bone marrow. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1115-1122.
45. da Silva ML, Caplan AI, Nardi NB. In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2008; 26: 2287-2299.
46. da Silva ML, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006; 119: 2204-2213.
47. Daniels J, Oldridge N. The effects of alternate exposure to altitude and sea level on world-class middle-distance runners. *Med Sci Sports* 1970; 2: 107-112.
48. De Bari C, Dell'Accio F, Luyten FP. Human periosteum-derived cells maintain phenotypic stability and chondrogenic potential throughout expansion regardless of donor age. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 85-95.
49. de Mareés M, Wahl P, Schmidt A, Meinecke E, Mester J, Bloch W. Which influence do the current status of training and hypoxia have on human MSC? 2008. Kongress der Deutschen Physiologischen Gesellschaft 2008 Köln. 2-3-2008. Conference Proceeding
50. DiGirolamo CM, Stokes D, Colter D, Phinney DG, Class R, Prockop DJ. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. *Br J Haematol* 1999; 107: 275-281.
51. Distler JH, Hirth A, Kurowska-Stolarska M, Gay RE, Gay S, Distler O. Angiogenic and angiostatic factors in the molecular control of angiogenesis. *Q J Nucl Med* 2003; 47: 149-161.
52. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, Deans R, Keating A, Prockop D, Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315-317.
53. Ebert BL, Firth JD, Ratcliffe PJ. Hypoxia and mitochondrial inhibitors regulate expression of glucose transporter-1 via distinct Cis-acting sequences. *J Biol Chem* 1995; 270: 29083-29089.
54. Fehrenbach E. Cellular Responses to Environmental Stress. In: Mooren FC, Völker K, eds. *Molecular and Cellular Exercise Physiology*. Muenster: 2005. pp 199-217.
55. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997; 18: 4-25.
56. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-676.

57. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocr Rev* 1992; 13: 18-32.
58. Fickert S, Fiedler J, Brenner RE. Identification, quantification and isolation of mesenchymal progenitor cells from osteoarthritic synovium by fluorescence automated cell sorting. *Osteoarthritis Cartilage* 2003; 11: 790-800.
59. Firth JD, Ebert BL, Pugh CW, Ratcliffe PJ. Oxygen-regulated control elements in the phosphoglycerate kinase 1 and lactate dehydrogenase A genes: similarities with the erythropoietin 3' enhancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91: 6496-6500.
60. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, Semenza GL. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 4604-4613.
61. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. *Int Rev Cytol* 1976; 47: 327-359.
62. Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970; 3: 393-403.
63. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luria EA, Ruadkow IA. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1974; 2: 83-92.
64. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol* 1966; 16: 381-390.
65. Friedl P, Hegerfeldt Y, Tusch M. Collective cell migration in morphogenesis and cancer. *Int J Dev Biol* 2004; 48: 441-449.
66. Friedmann B, Frese F, Menold E, Kauper F, Jost J, Bartsch P. Individual variation in the erythropoietic response to altitude training in elite junior swimmers. *Br J Sports Med* 2005; 39: 148-153.
67. Friedmann B, Jost J, Rating T, Weller E, Werle E, Eckardt KU, Bartsch P, Mairbaurl H. Effects of iron supplementation on total body hemoglobin during endurance training at moderate altitude. *Int J Sports Med* 1999; 20: 78-85.
68. Fuchs E, Segre JA. Stem cells: a new lease on life. *Cell* 2000; 100: 143-155.
69. Fuchs E, Tumbar T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell* 2004; 116: 769-778.
70. Gage FH, Coates PW, Palmer TD, Kuhn HG, Fisher LJ, Suhonen JO, Peterson DA, Suhr ST, Ray J. Survival and differentiation of adult neuronal progenitor cells transplanted to the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 11879-11883.

71. Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. *Cells Tissues Organs* 2001; 169: 12-20.
72. Gavin TP, Robinson CB, Yeager RC, England JA, Nifong LW, Hickner RC. Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2004; 96: 19-24.
73. Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N. Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is up-regulated by hypoxia. *J Biol Chem* 1997; 272: 23659-23667.
74. Gerber HP, McMurtrey A, Kowalski J, Yan M, Keyt BA, Dixit V, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. Requirement for Flk-1/KDR activation. *J Biol Chem* 1998; 273: 30336-30343.
75. Gonzalez AM, Buscaglia M, Ong M, Baird A. Distribution of basic fibroblast growth factor in the 18-day rat fetus: localization in the basement membranes of diverse tissues. *J Cell Biol* 1990; 110: 753-765.
76. Gore CJ, Hahn A, Rice A, Bourdon P, Lawrence S, Walsh C, Stanef T, Barnes P, Parisotto R, Martin D, Pyne D. Altitude training at 2690m does not increase total haemoglobin mass or sea level VO<sub>2</sub>max in world champion track cyclists. *J Sci Med Sport* 1998; 1: 156-170.
77. Gore CJ, Hahn AG, Burge CM, Telford RD. VO<sub>2</sub>max and haemoglobin mass of trained athletes during high intensity training. *Int J Sports Med* 1997; 18: 477-482.
78. Gould E, Reeves AJ, Graziano MS, Gross CG. Neurogenesis in the neocortex of adult primates. *Science* 1999; 286: 548-552.
79. Green HJ, Sutton JR, Cymerman A, Young PM, Houston CS. Operation Everest II: adaptations in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1989; 66: 2454-2461.
80. Gu JW, Ito BR, Sartin A, Frascogna N, Moore M, Adair TH. Inhibition of adenosine kinase induces expression of VEGF mRNA and protein in myocardial myoblasts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H2116-H2123.
81. Gunga HC, Kirsch K, Rucker L, Behn C, Koralewski E, Davila EH, Estrada MI, Johannes B, Wittels P, Jelkmann W. Vascular endothelial growth factor in exercising humans under different environmental conditions. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1999; 79: 484-490.
82. Haditsch B, Roessler A, Hinghofer-Szalkay HG. Renal adrenomedullin and high altitude diuresis. *Physiol Res* 2007; 56: 779-787.
83. Heil M, Schaper W. Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis). *Circ Res* 2004; 95: 449-458.

84. Heinicke K, Heinicke I, Schmidt W, Wolfarth B. A three-week traditional altitude training increases hemoglobin mass and red cell volume in elite biathlon athletes. *Int J Sports Med* 2005; 26: 350-355.
85. Heissig B, Hattori K, Dias S, Friedrich M, Ferris B, Hackett NR, Crystal RG, Besmer P, Lyden D, Moore MA, Werb Z, Rafii S. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109: 625-637.
86. Hendriksen IJ, Meeuwssen T. The effect of intermittent training in hypobaric hypoxia on sea-level exercise: a cross-over study in humans. *Eur J Appl Physiol* 2003; 88: 396-403.
87. Hildebrandt W, Ottenbacher A, Schuster M, Swenson ER, Bartsch P. Diuretic effect of hypoxia, hypocapnia, and hyperpnea in humans: relation to hormones and O<sub>2</sub> chemosensitivity. *J Appl Physiol* 2000; 88: 599-610.
88. Hoffman TL. Counting Cells. In: Celis JE, ed. *Cell Biology. A Laboratory Handbook*. San Diego: Elsevier Academic Press; 2006.
89. Hoon RS, Balasubramanian V, Mathew OP, Tiwari SC, Sharma SC, Chadha KS. Effect of high-altitude exposure for 10 days on stroke volume and cardiac output. *J Appl Physiol* 1977; 42: 722-727.
90. Hoppeler H, Kleinert E, Schlegel C, Claassen H, Howald H, Kayar SR, Cerretelli P. Morphological adaptations of human skeletal muscle to chronic hypoxia. *Int J Sports Med* 1990; 11 Suppl 1: S3-S9.
91. Hoppeler H, Vogt M. Muscle tissue adaptations to hypoxia. *J Exp Biol* 2001; 204: 3133-3139.
92. Hoppeler H, Vogt M, Weibel ER, Fluck M. Response of skeletal muscle mitochondria to hypoxia. *Exp Physiol* 2003; 88: 109-119.
93. Horita Y, Honmou O, Harada K, Houkin K, Hamada H, Kocsis JD. Intravenous administration of glial cell line-derived neurotrophic factor gene-modified human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in the adult rat. *J Neurosci Res* 2006; 84: 1495-1504.
94. Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Deans RJ, Krause DS, Keating A. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7: 393-395.
95. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, Sussman M, Orchard P, Marx JC, Pyeritz RE, Brenner MK. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med* 1999; 5: 309-313.
96. Howald H, Pette D, Simoneau JA, Uber A, Hoppeler H, Cerretelli P. Effect of chronic hypoxia on muscle enzyme activities. *Int J Sports Med* 1990; 11 Suppl 1: S10-S14.
97. Hu J, Discher DJ, Bishopric NH, Webster KA. Hypoxia regulates expression of the endothelin-1 gene through a proximal hypoxia-inducible factor-1 bind-

- ing site on the antisense strand. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245: 894-899.
98. Hughes GC, Biswas SS, Yin B, Coleman RE, DeGrado TR, Landolfo CK, Lowe JE, Annex BH, Landolfo KP. Therapeutic angiogenesis in chronically ischemic porcine myocardium: comparative effects of bFGF and VEGF. *Ann Thorac Surg* 2004; 77: 812-818.
  99. Ingjer F, Myhre K. Physiological effects of altitude training on elite male cross-country skiers. *J Sports Sci* 1992; 10: 37-47.
  100. Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, Gassmann M, Gearhart JD, Lawler AM, Yu AY, Semenza GL. Cellular and developmental control of O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev* 1998; 12: 149-162.
  101. Jelkmann W. Molecular biology of erythropoietin. *Intern Med* 2004; 43: 649-659.
  102. Jelkmann W, Hellwig-Burgel T. Biology of erythropoietin. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502: 169-187.
  103. Jensen K, Nielsen JK, Fiskestrand A, Lund JO, Christiansen NJ, Secher NH. High-altitude training does not increase maximal oxygen uptake or work capacity at sea level in rowers. *Scand J Med Sci Sports* 1993; 3: 256-262.
  104. Jewell UR, Kvietikova I, Scheid A, Bauer C, Wenger RH, Gassmann M. Induction of HIF-1alpha in response to hypoxia is instantaneous. *FASEB J* 2001; 15: 1312-1314.
  105. Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O<sub>2</sub> tension. *Am J Physiol* 1996; 271: C1172-C1180.
  106. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, Reyes M, Lenvik T, Lund T, Blackstad M, Du J, Aldrich S, Lisberg A, Low WC, Largaespada DA, Verfaillie CM. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-49.
  107. Josko J, Gwozdz B, Jedrzejowska-Szypulka H, Hendryk S. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit* 2000; 6: 1047-1052.
  108. Joukov V, Pajusola K, Kaipainen A, Chilov D, Lahtinen I, Kukk E, Saksela O, Kalkkinen N, Alitalo K. A novel vascular endothelial growth factor, VEGF-C, is a ligand for the Flt4 (VEGFR-3) and KDR (VEGFR-2) receptor tyrosine kinases. *EMBO J* 1996; 15: 1751.
  109. Julian CG, Gore CJ, Wilber RL, Daniels JT, Fredericson M, Stray-Gundersen J, Hahn AG, Parisotto R, Levine BD. Intermittent normobaric hypoxia does not alter performance or erythropoietic markers in highly trained distance runners. *J Appl Physiol* 2004; 96: 1800-1807.
  110. Kabelitz D. Nobelpreis für Medizin 1990. *Deutsche Medizinische Wochenschau* 1990; 115: 1927-1928.

111. Katschinski DM, Le L, Heinrich D, Wagner KF, Hofer T, Schindler SG, Wenger RH. Heat induction of the unphosphorylated form of hypoxia-inducible factor-1alpha is dependent on heat shock protein-90 activity. *J Biol Chem* 2002; 277: 9262-9267.
112. Kawada H, Fujita J, Kinjo K, Matsuzaki Y, Tsuma M, Miyatake H, Muguruma Y, Tsuboi K, Itabashi Y, Ikeda Y, Ogawa S, Okano H, Hotta T, Ando K, Fukuda K. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood* 2004; 104: 3581-3587.
113. Kayser B, Narici M, Milesi S, Grassi B, Cerretelli P. Body composition and maximum alactic anaerobic performance during a one month stay at high altitude. *Int J Sports Med* 1993; 14: 244-247.
114. Kazemi S, Wenzel D, Kolossov E, Lenka N, Raible A, Sasse P, Hescheler J, Addicks K, Fleischmann BK, Bloch W. Differential role of bFGF and VEGF for vasculogenesis. *Cell Physiol Biochem* 2002; 12: 55-62.
115. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Kluter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006; 24: 1294-1301.
116. Kietzmann T, Roth U, Jungermann K. Induction of the plasminogen activator inhibitor-1 gene expression by mild hypoxia via a hypoxia response element binding the hypoxia-inducible factor-1 in rat hepatocytes. *Blood* 1999; 94: 4177-4185.
117. Kolf CM, Cho E, Tuan RS. Mesenchymal stromal cells. Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation. *Arthritis Res Ther* 2007; 9: 204.
118. Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 10711-10716.
119. Kotch LE, Iyer NV, Laughner E, Semenza GL. Defective vascularization of HIF-1alpha-null embryos is not associated with VEGF deficiency but with mesenchymal cell death. *Dev Biol* 1999; 209: 254-267.
120. Langer HF, Stellos K, Steingen C, Frohofer A, Schonberger T, Kramer B, Bigalke B, May AE, Seizer P, Muller I, Gieseke F, Siegel-Axel D, Meuth SG, Schmidt A, Wendel HP, Muller I, Bloch W, Gawaz M. Platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells in vitro. *J Mol Cell Cardiol* 2009.
121. Lapidot T, Dar A, Kollet O. How do stem cells find their way home? *Blood* 2005; 106: 1901-1910.
122. Lauffenburger DA, Horwitz AF. Cell migration: a physically integrated molecular process. *Cell* 1996; 84: 359-369.
123. Laufs U, Urhausen A, Werner N, Scharhag J, Heitz A, Kissner G, Bohm M, Kindermann W, Nickenig G. Running exercise of different duration and in-

- tensity: effect on endothelial progenitor cells in healthy subjects. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2005; 12: 407-414.
124. Laufs U, Werner N, Link A, Endres M, Wassmann S, Jurgens K, Miche E, Bohm M, Nickenig G. Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation* 2004; 109: 220-226.
125. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, Lanino E, Sundberg B, Bernardo ME, Remberger M, Dini G, Egeler RM, Bacigalupo A, Fibbe W, Ringden O. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet* 2008; 371: 1579-1586.
126. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Gotherstrom C, Hassan M, Uzunel M, Ringden O. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004; 363: 1439-1441.
127. Lee RH, Kim B, Choi I, Kim H, Choi HS, Suh K, Bae YC, Jung JS. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem* 2004; 14: 311-324.
128. Levine BD, Stray-Gundersen J. "Living high-training low": effect of moderate-altitude acclimatization with low-altitude training on performance. *J Appl Physiol* 1997; 83: 102-112.
129. Levine BD, Stray-Gundersen J. The effects of altitude training are mediated primarily by acclimatization, rather than by hypoxic exercise. *Adv Exp Med Biol* 2001; 502: 75-88.
130. Levy AP, Levy NS, Wegner S, Goldberg MA. Transcriptional regulation of the rat vascular endothelial growth factor gene by hypoxia. *J Biol Chem* 1995; 270: 13333-13340.
131. Li F, Chong ZZ, Maiese K. Erythropoietin on a tightrope: balancing neuronal and vascular protection between intrinsic and extrinsic pathways. *Neurosignals* 2004; 13: 265-289.
132. Liu LX, Lu H, Luo Y, Date T, Belanger AJ, Vincent KA, Akita GY, Goldberg M, Cheng SH, Gregory RJ, Jiang C. Stabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 291: 908-914.
133. Liu Y, Cox SR, Morita T, Kourembanas S. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5' enhancer. *Circ Res* 1995; 77: 638-643.
134. Liu Y, Song Z, Zhao Y, Qin H, Cai J, Zhang H, Yu T, Jiang S, Wang G, Ding M, Deng H. A novel chemical-defined medium with bFGF and N2B27 supplements supports undifferentiated growth in human embryonic stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 346: 131-139.
135. Lopez PA, Marais E, Gallay N, Langonne A, Delorme B, Herault O, Charbord P, Domenech J. The in vitro migration capacity of human bone marrow me-

- senchymal stem cells: Comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* 2007.
136. MacDougall JD, Green HJ, Sutton JR, Coates G, Cymerman A, Young P, Houston CS. Operation Everest II: structural adaptations in skeletal muscle in response to extreme simulated altitude. *Acta Physiol Scand* 1991; 142: 421-427.
137. Maxwell PH, Wiesener MS, Chang GW, Clifford SC, Vaux EC, Cockman ME, Wykoff CC, Pugh CW, Maher ER, Ratcliffe PJ. The tumour suppressor protein VHL targets hypoxia-inducible factors for oxygen-dependent proteolysis. *Nature* 1999; 399: 271-275.
138. McLain RF, Fleming JE, Boehm CA, Muschler GF. Aspiration of osteoprogenitor cells for augmenting spinal fusion: comparison of progenitor cell concentrations from the vertebral body and iliac crest. *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87: 2655-2661.
139. Meeuwssen T, Hendriksen IJ, Holewijn M. Training-induced increases in sea-level performance are enhanced by acute intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* 2001; 84: 283-290.
140. Melillo G, Musso T, Sica A, Taylor LS, Cox GW, Varesio L. A hypoxia-responsive element mediates a novel pathway of activation of the inducible nitric oxide synthase promoter. *J Exp Med* 1995; 182: 1683-1693.
141. Minchenko A, Leshchinsky I, Opentanova I, Sang N, Srinivas V, Armstead V, Caro J. Hypoxia-inducible factor-1-mediated expression of the 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase-3 (PFKFB3) gene. Its possible role in the Warburg effect. *J Biol Chem* 2002; 277: 6183-6187.
142. Mizuno M, Juel C, Bro-Rasmussen T, Mygind E, Schibye B, Rasmussen B, Saltin B. Limb skeletal muscle adaptation in athletes after training at altitude. *J Appl Physiol* 1990; 68: 496-502.
143. Mukhopadhyay CK, Mazumder B, Fox PL. Role of hypoxia-inducible factor-1 in transcriptional activation of ceruloplasmin by iron deficiency. *J Biol Chem* 2000; 275: 21048-21054.
144. Muschler GF, Boehm C, Easley K. Aspiration to obtain osteoblast progenitor cells from human bone marrow: the influence of aspiration volume. *J Bone Joint Surg Am* 1997; 79: 1699-1709.
145. Nagaya N, Fujii T, Iwase T, Ohgushi H, Itoh T, Uematsu M, Yamagishi M, Mori H, Kangawa K, Kitamura S. Intravenous administration of mesenchymal stem cells improves cardiac function in rats with acute myocardial infarction through angiogenesis and myogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287: H2670-H2676.
146. Nguyen SV, Claycomb WC. Hypoxia regulates the expression of the adrenomedullin and HIF-1 genes in cultured HL-1 cardiomyocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 265: 382-386.

147. Noth U, Osyczka AM, Tuli R, Hickok NJ, Danielson KG, Tuan RS. Multilineage mesenchymal differentiation potential of human trabecular bone-derived cells. *J Orthop Res* 2002; 20: 1060-1069.
148. Oh H, Bradfute SB, Gallardo TD, Nakamura T, Gaussen V, Mishina Y, Pocius J, Michael LH, Behringer RR, Garry DJ, Entman ML, Schneider MD. Cardiac progenitor cells from adult myocardium: homing, differentiation, and fusion after infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 12313-12318.
149. Ohh M, Park CW, Ivan M, Hoffman MA, Kim TY, Huang LE, Pavletich N, Chau V, Kaelin WG. Ubiquitination of hypoxia-inducible factor requires direct binding to the beta-domain of the von Hippel-Lindau protein. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 423-427.
150. Okino ST, Chichester CH, Whitlock JP, Jr. Hypoxia-inducible mammalian gene expression analyzed in vivo at a TATA-driven promoter and at an initiator-driven promoter. *J Biol Chem* 1998; 273: 23837-23843.
151. Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, Gaupp D, Baddoo M, Kaminski N, Phinney DG. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8407-8411.
152. Oswald J, Boxberger S, Jorgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhauser M, Werner C. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells* 2004; 22: 377-384.
153. Palmer LA, Gaston B, Johns RA. Normoxic stabilization of hypoxia-inducible factor-1 expression and activity: redox-dependent effect of nitrogen oxides. *Mol Pharmacol* 2000; 58: 1197-1203.
154. Palmer LA, Semenza GL, Stoler MH, Johns RA. Hypoxia induces type II NOS gene expression in pulmonary artery endothelial cells via HIF-1. *Am J Physiol* 1998; 274: L212-L219.
155. Park JE, Chen HH, Winer J, Houck KA, Ferrara N. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR. *J Biol Chem* 1994; 269: 25646-25654.
156. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-147.
157. Powers CJ, McLeskey SW, Wellstein A. Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocr Relat Cancer* 2000; 7: 165-197.
158. Pretorius HA. Effect of oxygen on night vision. *Aerosp Med* 1970; 41: 560-562.
159. Price MJ, Chou CC, Frantzen M, Miyamoto T, Kar S, Lee S, Shah PK, Martin BJ, Lill M, Forrester JS, Chen PS, Makkar RR. Intravenous mesenchymal stem cell therapy early after reperfused acute myocardial infarction improves left ventricular function and alters electrophysiologic properties. *Int J Cardiol* 2006; 111: 231-239.

160. Puissant B, Barreau C, Bourin P, Clavel C, Corre J, Bousquet C, Taureau C, Cousin B, Abbal M, Laharrague P, Penicaud L, Casteilla L, Blancher A. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol* 2005; 129: 118-129.
161. Rabbany SY, Heissig B, Hattori K, Rafii S. Molecular pathways regulating mobilization of marrow-derived stem cells for tissue revascularization. *Trends Mol Med* 2003; 9: 109-117.
162. Rice L, Alfrey CP. The negative regulation of red cell mass by neocytolysis: physiologic and pathophysiologic manifestations. *Cell Physiol Biochem* 2005; 15: 245-250.
163. Richalet JP, Mehdioui H, Rathat C, Vignon P, Keromes A, Herry JP, Sabatier C, Tanche M, Lhoste F. Acute hypoxia decreases cardiac response to catecholamines in exercising humans. *Int J Sports Med* 1988; 9: 157-162.
164. Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SR, Henry R, Noyszewski EA, Wagner PD. Human VEGF gene expression in skeletal muscle: effect of acute normoxic and hypoxic exercise. *Am J Physiol* 1999; 277: H2247-H2252.
165. Risso A, Turello M, Biffoni F, Antonutto G. Red blood cell senescence and neocytolysis in humans after high altitude acclimatization. *Blood Cells Mol Dis* 2007; 38: 83-92.
166. Robach P, Cairo G, Gelfi C, Bernuzzi F, Pilegaard H, Vigano A, Santambrogio P, Cerretelli P, Calbet JA, Moutereau S, Lundby C. Strong iron demand during hypoxia-induced erythropoiesis is associated with down-regulation of iron-related proteins and myoglobin in human skeletal muscle. *Blood* 2007; 109: 4724-4731.
167. Robach P, Fulla Y, Westerterp KR, Richalet JP. Comparative response of EPO and soluble transferrin receptor at high altitude. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36: 1493-1498.
168. Robach P, Schmitt L, Brugniaux JV, Nicolet G, Duvallet A, Fouillot JP, Moutereau S, Lasne F, Pialoux V, Olsen NV, Richalet JP. Living high-training low: effect on erythropoiesis and maximal aerobic performance in elite Nordic skiers. *Eur J Appl Physiol* 2006; 97: 695-705.
169. Robach P, Schmitt L, Brugniaux JV, Roels B, Millet G, Hellard P, Nicolet G, Duvallet A, Fouillot JP, Moutereau S, Lasne F, Pialoux V, Olsen NV, Richalet JP. Living high-training low: effect on erythropoiesis and aerobic performance in highly-trained swimmers. *Eur J Appl Physiol* 2006; 96: 423-433.
170. Rochefort GY, Delorme B, Lopez A, Herault O, Bonnet P, Charbord P, Eder V, Domenech J. Multipotential mesenchymal stem cells are mobilized into peripheral blood by hypoxia. *Stem Cells* 2006; 24: 2202-2208.
171. Rodriguez FA, Ventura JL, Casas M, Casas H, Pages T, Rama R, Ricart A, Palacios L, Viscor G. Erythropoietin acute reaction and haematological adaptations to short, intermittent hypobaric hypoxia. *Eur J Appl Physiol* 2000; 82: 170-177.

172. Roels B, Schmitt L, Libicz S, Bentley D, Richalet JP, Millet G. Specificity of VO<sub>2</sub>MAX and the ventilatory threshold in free swimming and cycle ergometry: comparison between triathletes and swimmers. *Br J Sports Med* 2005; 39: 965-968.
173. Rolfs A, Kvietikova I, Gassmann M, Wenger RH. Oxygen-regulated transferrin expression is mediated by hypoxia-inducible factor-1. *J Biol Chem* 1997; 272: 20055-20062.
174. Rusko HK, Tikkanen HO, Peltonen JE. Altitude and endurance training. *J Sports Sci* 2004; 22: 928-944.
175. Ryan HE, Lo J, Johnson RS. HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization. *EMBO J* 1998; 17: 3005-3015.
176. Sato M, Severinghaus JW, Powell FL, Xu FD, Spellman MJ, Jr. Augmented hypoxic ventilatory response in men at altitude. *J Appl Physiol* 1992; 73: 101-107.
177. Schmidt A, Bierwirth S, Weber S, Platen P, Rojas Vega S, Strüder HK, Bloch W. Sportliche Ausbelastung mobilisiert mesenchymale Stammzellen (MSC) ex-vivo. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2005; 56: 267.
178. Schmidt A, Bierwirth S, Weber S, Platen P, Schinkothe T, Bloch W. Short intensive exercise increase the migratory activity of mesenchymal stem cells. *Br J Sports Med* 2007.
179. Schmidt A, Ladage D, Schinkothe T, Klausmann U, Ulrichs C, Klinz FJ, Brixius K, Arnhold S, Desai B, Mehlhorn U, Schwinger RH, Staib P, Addicks K, Bloch W. Basic fibroblast growth factor controls migration in human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24: 1750-1758.
180. Schmidt W. Effects of intermittent exposure to high altitude on blood volume and erythropoietic activity. *High Alt Med Biol* 2002; 3: 167-176.
181. Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, Gualandris A, Pintucci G, Robbins ES, Shapiro RL, Galloway AC, Rifkin DB, Mignatti P. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries: an autocrine mechanism contributing to angiogenesis. *J Cell Biol* 1998; 141: 1659-1673.
182. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1474-1480.
183. Semenza GL. Oxygen-regulated transcription factors and their role in pulmonary disease. *Respir Res* 2000; 1: 159-162.
184. Semenza GL. Hydroxylation of HIF-1: oxygen sensing at the molecular level. *Physiology (Bethesda)* 2004; 19: 176-182.
185. Semenza GL, Roth PH, Fang HM, Wang GL. Transcriptional regulation of genes encoding glycolytic enzymes by hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem* 1994; 269: 23757-23763.

186. Sharp CR. Hypoxia and hyperventilation. In: Ernsting J, ed. *Aviation Medicine Physiology and Human Factors*. Tri-Med Books, London; 1978. pp 78.
187. Shih SC, Claffey KP. Regulation of human vascular endothelial growth factor mRNA stability in hypoxia by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L. *J Biol Chem* 1999; 274: 1359-1365.
188. Shintani S, Murohara T, Ikeda H, Ueno T, Honma T, Katoh A, Sasaki K, Shimada T, Oike Y, Imaizumi T. Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2001; 103: 2776-2779.
189. Simons M. Integrative signaling in angiogenesis. *Mol Cell Biochem* 2004; 264: 99-102.
190. Smith C.A. Control of Breathing at High Altitude. In: Hornbein T.F., Schoene R.B., eds. *High Altitude*. 2001. pp 139-173.
191. Stray-Gundersen J, Chapman RF, Levine BD. "Living high-training low" altitude training improves sea level performance in male and female elite runners. *J Appl Physiol* 2001; 91: 1113-1120.
192. Stroka DM, Burkhardt T, Desbaillets I, Wenger RH, Neil DA, Bauer C, Gassmann M, Candinas D. HIF-1 is expressed in normoxic tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia. *FASEB J* 2001; 15: 2445-2453.
193. Suhr F, Brixius K, de Marees M, Bolck B, Kleinoder H, Achtzehn S, Bloch W, Mester J. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J Appl Physiol* 2007; 103: 474-483.
194. Sujata L, Chaudhuri S. Stem cell niche, the microenvironment and immunological crosstalk. *Cell Mol Immunol* 2008; 5: 107-112.
195. Svedenhag J, Saltin B, Johansson C, Kaijser L. Aerobic and anaerobic exercise capacities of elite middledistance runners after two weeks of training at moderate altitude. *Scand J Med Sci Sports* 1991; 1: 205-214.
196. Tacchini L, Bianchi L, Bernelli-Zazzera A, Cairo G. Transferrin receptor induction by hypoxia. HIF-1-mediated transcriptional activation and cell-specific post-transcriptional regulation. *J Biol Chem* 1999; 274: 24142-24146.
197. Tang K, Breen EC, Gerber HP, Ferrara NM, Wagner PD. Capillary regression in vascular endothelial growth factor-deficient skeletal muscle. *Physiol Genomics* 2004; 18: 63-69.
198. Tazuke SI, Mazure NM, Sugawara J, Carland G, Faessen GH, Suen LF, Irwin JC, Powell DR, Giaccia AJ, Giudice LC. Hypoxia stimulates insulin-like growth factor binding protein 1 (IGFBP-1) gene expression in HepG2 cells: a possible model for IGFBP-1 expression in fetal hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 10188-10193.

199. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147.
200. TISSANDIER G. Le voyage a grande hauteur du ballon 'Le Zenith'. *La Nature* 1875; 3: 337-344.
201. Trial J, Rice L. Erythropoietin withdrawal leads to the destruction of young red cells at the endothelial-macrophage interface. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 183-190.
202. Truijens MJ, Toussaint HM, Dow J, Levine BD. Effect of high-intensity hypoxic training on sea-level swimming performances. *J Appl Physiol* 2003; 94: 733-743.
203. Veikkola T, Karkkainen M, Claesson-Welsh L, Alitalo K. Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors. *Cancer Res* 2000; 60: 203-212.
204. Ventura N, Hoppeler H, Seiler R, Binggeli A, Mullis P, Vogt M. The response of trained athletes to six weeks of endurance training in hypoxia or normoxia. *Int J Sports Med* 2003; 24: 166-172.
205. Viault F. Sur l'augmentation considérable du nombre des globules rouges dans le sang chez les habitants des hauts plateaux de l'Amérique du Sud. *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Académie des Sciences* 1890; 111: 917-918.
206. Vogt M, Puntschart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H. Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 2001; 91: 173-182.
207. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 5510-5514.
208. Wang GL, Semenza GL. Characterization of hypoxia-inducible factor 1 and regulation of DNA binding activity by hypoxia. *J Biol Chem* 1993; 268: 21513-21518.
209. Wehrlin JP, Zuest P, Hallen J, Marti B. Live high-train low for 24 days increases hemoglobin mass and red cell volume in elite endurance athletes. *J Appl Physiol* 2006; 100: 1938-1945.
210. Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression. *FASEB J* 2002; 16: 1151-1162.
211. West J. *High Altitude Medicine and Physiology*. 2007.
212. Wilber RL. Application of altitude/hypoxic training by elite athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 1610-1624.

213. Wilber RL, Stray-Gundersen J, Levine BD. Effect of hypoxic "dose" on physiological responses and sea-level performance. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39: 1590-1599.
214. Witzensichler B, Asahara T, Murohara T, Silver M, Spyridopoulos I, Magner M, Principe N, Kearney M, Hu JS, Isner JM. Vascular endothelial growth factor-C (VEGF-C/VEGF-2) promotes angiogenesis in the setting of tissue ischemia. *Am J Pathol* 1998; 153: 381-394.
215. Wolff E. Vor 50 Jahren: Paul Niehaus bringt den Begriff "Zellulärtherapie" in die Öffentlichkeit. *Schweizer Ärztezeitung* 2002; 83: 1726-1727.
216. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61: 364-370.
217. Yasuda Y, Masuda S, Chikuma M, Inoue K, Nagao M, Sasaki R. Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implication in uterine angiogenesis. *J Biol Chem* 1998; 273: 25381-25387.
218. Yin T, Li L. The stem cell niches in bone. *J Clin Invest* 2006; 116: 1195-1201.
219. Zhang D, Zhang F, Zhang Y, Gao X, Li C, Yang N, Cao K. Combining erythropoietin infusion with intramyocardial delivery of bone marrow cells is more effective for cardiac repair. *Transpl Int* 2007; 20: 174-183.
220. Zhu H, Jackson T, Bunn HF. Detecting and responding to hypoxia. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 Suppl 1: 3-7.
221. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, Alfonso ZC, Fraser JK, Benhaim P, Hedrick MH. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 4279-4295.
222. Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, Benhaim P, Lorenz HP, Hedrick MH. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; 7: 211-228.
223. Zvaifler NJ, Marinova-Mutafchieva L, Adams G, Edwards CJ, Moss J, Burger JA, Maini RN. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res* 2000; 2: 477-488.

## 8 Vorabveröffentlichungen

1. de Marées, M., Wahl, P., Knuth, S., Buitrago, S., Suhr, F., Tandi, S., Achtzehn, S., and Mester, J. Effects of altitude training on vasculogenic/angiogenic growth factors. Hoppeler, H., Reilly, T., Tsolakidis, E., Gfeller, L., and Klossner, S. 277. 2006. Book of abstracts. 11th annual ECSS Congress; Lausanne 2006 - Switzerland. Ref Type: Conference Proceeding
2. de Marées, M., Knuth, S., Wahl, P., Achtzehn, S., Buitrago, S., Tandi, S., Sommerhäuser, T., Suhr, F., Schmidt, A., Bloch, W., and Mester, J. Influence of altitude training on the migratory activity of mesenchymal stem cells. Kallio, J., Komi, P. V., Komulainen, J., and Avela, J. 2007. Proceedings of 12th Annual Congress of the European College of Sport Science, Jyväskylä. Ref Type: Conference Proceeding
3. de Marées, M., Suhr, F., Wahl, P., Achtzehn, S., Schmidt, A., Bloch, W., and Mester, J. Hypoxic training influences the migratory activity of mesenchymal stem cells. 2007. Proceedings of the 4th International Congress on Science and Skiing, St. Christoph am Arlberg. Ref Type: Conference Proceeding
4. de Marées, M., Wahl, P., Knuth, S., Buitrago, S., Suhr, F., Tandi, S., Achtzehn, S., Schmidt, A., Bloch, W., and Mester, J. Change of the migratory activity of mesenchymal stem cells influenced by hypoxia. 2007. 4th European Congress on Medicine in Space and in Extreme Environments - Achievements for Health Care on Earth, Berlin. Ref Type: Conference Proceeding
5. de Marées, M., Wahl, P., Knuth, S., Buitrago, S., Suhr, F., Tandi, S., Achtzehn, S., Schmidt, A., Bloch, W., and Mester, J. Einfluss von Hypoxietraining auf die migratorische Aktivität von Mesenchymalen Stammzellen (MSC). 2007. 40. Deutscher Sportärztekongress, Köln. Ref Type: Conference Proceeding

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Geburtsdatum/-ort	10. 04. 1966 in Hannover
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	Deutsch

### Ausbildung/Berufstätigkeit

1985-1988	Ev. Krankenhaus Mülheim/Ruhr Examen in allg. Krankenpflege
1992-1994	Universitätsspital Zürich Examen in Intensivmedizin und Reanimation
1991-2000	Universitätsspital Zürich Intensivkrankenpfleger auf fünf fachlich unterschiedlichen Intensivstationen
1999-2001	Intensivkrankenpfleger auf Intensivstationen verschiedener Krankenhäuser Hamburgs

### Studium

1996-2003	Studium der Humanmedizin an den Universitäten zu Hamburg: Sommer Sem. 1996 - Sommer Sem. 2000 und Köln: Winter Sem. 2000 – Winter Sem. 2003 PJ: Innere Medizin: Universitätsspital Zürich Chirurgie: Elisabeth Krankenhaus Hohenlind, Köln Pädiatrie Kinder Krankenhaus Amsterdamer Straße, Köln
-----------	--

### Berufliche Tätigkeit

2004-dato	Leiter des Bereiches für Leistungsphysiologie und Höhenmedizin am Institut für Trainingswissenschaften und Sportinformatik an der Deutschen Sporthochschule Köln Medizinische Betreuung von Kader Athleten Lehrauftrag
-----------	--

### Wissenschaftliche Tätigkeit

2001-2003	Wissenschaftliche Untersuchungen an der Neurophysiologischen Fakultät der Universität zu Köln bei Prof. Dr. Hescheler über“ Der Einfluss von Chinesischen Heilkräutern auf die Angioneogenese “
2004-dato	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Institut für Trainingswissenschaft und Sportinformatik bei Prof. Dr. Mester in Zusammenarbeit mit dem Institut für Molekulare und Zelluläre Sportmedi-

- zin bei Prof Dr. W. Bloch zum Thema „Die Auswirkungen von Hypoxie auf die Epithelialen und Mesenchymalen Stammzellen“
- 2005 Medizinisch wissenschaftliche Leitung und Betreuung einer vierwöchigen Laufexpedition in den Hochlagen der Anden ([www.inkastaffel.de](http://www.inkastaffel.de))
- 2006 Medizinisch wissenschaftliche Leitung und Durchführung eines vierwöchigen Hypoxietrainingslagers in der Sierra Nevada (Spanien)
- 2006 Leitung und Durchführung einer medizinisch wissenschaftlichen Untersuchung der deutschen, schwedischen und französischen Skilanglauf-Nationalmannschaften in Les Diablerets (Frankreich), Livigno (Schweiz), Ramsau und Willingen (Deutschland), in Zusammenarbeit mit der WADA
- 2007 Wissenschaftliche Mitarbeit an dem Symposium: “Hypoxic Training” - Beijing Sport University Beijing (China) April 2007
- 2008/2009 Medizinische und Wissenschaftliche Leitung von drei Höhentrainingslagern der Deutschen National Mannschaft der Mittel- und Langstreckenläufer in Flagstaff/ Arizona USA

Köln den 20.07.2009

Markus de Marées