

DISS. ETH NO. 22439

Changes in satellite cell quantity following acute and long-term exercise
in humans

A thesis submitted to attain the degree of

DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

David Aguayo

MSc HMS, ETH ZURICH

born on *08.03.1985*

citizen of Fällanden ZH

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. David P. Wolfer, examiner

Dr. Marco Toigo, co-examiner

Prof. Dr. Urs Bouteiller, co-examiner

2014

Summary

Physical activity relies on the production of muscular force. The human skeletal muscle produces this force by the contraction of muscle fibers. These muscle fibers have different contractile and metabolic properties. The human body is comprised of more than 600 separate skeletal muscles, which differ in size, shape and function. The muscles adapt to various physiological demands, such as resistance and endurance training or inactivity (*e.g.* immobilization). The ability to recover after damage is a remarkable property of the muscle. Skeletal muscle mass represents a major determinant of functional performance and health, comprising ~70% of body mass and playing an essential role in metabolism of protein, fat and glucose.

The main components of skeletal muscles, the muscle fibers, are long cylindrical cells containing multiple subsarcolemmal nuclei (myonuclei). The subsarcolemmal myonuclei are located close to the plasma membrane, at the periphery of the muscle fiber. Of particular interest is the fact, that subsarcolemmal myonuclei are post-mitotic, and for that reason, they are unable to divide. Thus, another cell source is needed for the facilitation of both cell repair or during phases for cell production. A very specific cell population, which is of crucial importance to the promotion of cell production, is the satellite cell (SC). Skeletal muscle SCs were first identified by electron microscopy as cells that are located between the basal lamina and the plasma membrane of muscle fibers.

In response to different stimuli (*e.g.* resistance exercise), quiescent SCs are activated to proliferate, and then subsequently, either to differentiate into myogenic cells, or to return to the quiescent state. These processes are regulated mainly by the family of myogenic regulatory factors and by cell cycle regulators. Therefore, in postnatal skeletal muscle, SCs act as a type of “reserve pool”, demonstrating the capacity to be activated for proliferation and self-renewal. Thus, SCs are essential for muscle growth, repair and regeneration. Skeletal muscle fibers differ in their properties, and can be classified according to their myosin heavy chain isoform. Although the SCs are located in close apposition to the muscle fibers, there is no evidence for the existence of different types of SCs being associated with different fiber types.

In a first study, in order to shed light upon the relationship between SCs and different exercise modalities, we investigated the influence of performing a static half-squat standing on a side-alternating vibration plate with simultaneous blood flow restriction in increasing SC quantity in young men within 24 h. SC quantity and frequency, quantity and frequency of differentiated SCs were increased in the combination group, while no increases were present in the whole body vibration (WBV) and blood flow restriction (BFR) group. This study has provided evidence that modification of WBV by superimposing vascular occlusion induced activation and differentiation of SCs, all of which had not been observed with WBV or BFR alone.

In a second study, we investigated SC quantity, capillarization and oxidative enzyme activity during 8 weeks of high-intensity interval training and the acute responses of SCs (*i.e.* 24 h after the 1st and 20th training) in young healthy men. We investigated a non hypertrophic stimulus and its relationship to the SC quantity. Although neither acute nor chronic applied cycling high-intensity interval training were seen to enhance SC quantity, reductions in myofiber cross-sectional area were accompanied by improved capillarization and oxidative enzyme activity in order to prevent aerobic power output. We could show, that in a homeostatic controlled milieu (*i.e.* trained muscle) SCs did not respond in terms of mediating hypertrophy. This observation indicates that a nonhypertrophic role of SCs in response to cycling high-intensity interval training may have occurred. With this research, we propose an association between constant steady-state condition of SCs and angio-myogenesis.

Apart of age-related differences in SC quantity, an age-related impairment in the ability of SCs to respond to anabolic stimuli in order to become activated, proliferate and/or differentiate might exist. We investigated a consecutive training modality, by preparing elderly adults to resistance exercise by elevating the SC quantity and therefore enhancing the anabolic potential in terms of SC activation, proliferation and differentiation by endurance training. We conclude that preparing elderly adults to resistance exercise by prior endurance exercise for enhancing the anabolic potential in terms of SC activation, proliferation and differentiation did not result in superior increase of SC quantity. Despite of no additional benefit of the endurance exercise, all our trainings modalities proved to be efficient in inducing muscle fiber cross-sectional area hypertrophy. On the basis of these findings, we recommend that elderly adults who aim to preserve or improve their muscle mass and their muscle function should consider a high intensity mechanical load activity (*i.e.* resistance and/or endurance training) at least two to three times per week.

Zusammenfassung

Die Muskelkraft ist die Fähigkeit des neuromuskulären Systems, durch Ansteuerungs- und Stoffwechselprozesse mit Muskelkontraktion Widerstände zu überwinden, ihnen entgegenzuwirken oder sie zu halten. In der Skelettmuskulatur entsteht diese durch Kontraktionen von Muskelfasern. Der menschliche Körper besteht aus über 600 verschiedenen Muskeln, welche sich durch Grösse, Form und Funktion unterscheiden. Muskelfasern sind in der Lage, sich an neue mechano-physiologische Gegebenheiten anzupassen, wie zum Beispiel Muskeltraining oder Alter. Ebenfalls, besitzt die Skelettmuskulatur die bemerkenswerte Fähigkeit nach Schädigung zu regenerieren. Die Muskelmasse, eine Hauptkomponente körperlicher Leistung und Gesundheit, repräsentiert ca. 70% der Körpermasse und spielt daher eine essentielle Rolle im Protein-, Fett- und Kohlenhydratmetabolismus. Die Hauptkomponenten der Muskeln, die Muskelfasern, sind lange, zylindrische Zellen, welche mehrere Zellkerne besitzen. Die Muskelfaserzellkerne sind nahe an Oberfläche, der sogenannten Plasmamembran, gelegen. Von besonderem Interesse ist dass Muskelfaserzellkerne postmitotisch sind, und daher nicht in der Lage sind, sich weiter zu teilen. Dadurch wird eine zusätzliche Quelle für Regeneration und Wachstum benötigt. Eine spezifische Zellpopulation, welche von entscheidender Wichtigkeit ist, sind die Satellitenzellen. Satellitenzellen positionieren sich in der Peripherie der Zelle, zwischen Basallamina und Plasmamembran. Als Antwort auf verschiedene Reize (z. B. Muskeltraining) werden ruhende Satellitenzellen aktiviert, damit sie proliferieren und sich differenzieren können, oder in den ruhenden Zustand zurückkehren können. Diese Prozesse werden hauptsächlich durch Muskelregulationsfaktoren reguliert. Im postnatalen adulten Skelettmuskel, spielen demnach die Satellitenzellen eine Art Reservoir, um Regenerations- und Wachstumsprozesse zu regulieren. Satellitenzellen sind essentiell für das Muskelwachstum und die Regeneration.

In einer ersten Studie untersuchten wir den Zusammenhang zwischen den Satellitenzellen und verschiedenen “neuen” Trainingsreizen. Wir haben die akute Satellitenzellantwort von jungen, gesunden Männern auf einen Ganzkörpervibrationsreiz bei einer statischen Kniebeuge (135° Kniewinkel) gemessen und verglichen diese mit einem Reiz, welcher aus unterbundenem Blutfluss zu und aus den Beinen bestand. Zusätzlich kombinierten wir die

Reize, unterbinden des Blutflusses und Vibration, und verglichen auch hier die Satellitenzellantworten mit den anderen Trainingsmodalitäten. Wir konnten aufzeigen, dass 24 Stunden nach einer einzelnen Reizsetzung nur die Kombination der Trainingsreize zu einer substantiellen Erhöhung der aktivierten und differentiierten Satellitenzellen führte.

In einer zweiten Studie unternahmen wir den Effekt eines 8-wöchigen, hochintensiven Intervallausdauertrainings auf die Anzahl Satellitenzellen, die Kapillarisierung und die oxidativen Enzyme. Wir haben die akuten und chronischen Anpassungen eines nonhypertrophen Reizes auf die Satellitenzellantwort gemessen. Die ausbleibende Antwort der Satellitenzellen ging mit einer Abnahme der Muskelfaserquerschnittsfläche einher. Gleichzeitig wurde eine Verbesserung der Kapillarisierung und der oxidativen Enzyme gemessen. Wir konnten aufzeigen, dass im Gegensatz zu kranken und alten Menschen, junge moderat trainierte Männer nicht mit einer Erhöhung der Anzahl Satellitenzellen antworteten. Unsere Beobachtungen deuten auf eine nicht hypertrophe Rolle der Satellitenzellen als Antwort auf ein hoch-intensives Intervalltraining. Mit dieser Studie zeigen wir eine Assoziation zwischen dem ruhenden Zustand der Satellitenzellen und der Angiomyogenese.

Zusätzlich zu den altersbedingten Unterschieden in der Anzahl Satellitenzellen existieren eventuell auch altersbedingte Störungen in der Fähigkeit der Satellitenzellen auf anabole Reize zu reagieren. Es scheint, dass die altersbedingten biologischen Anpassungen und deren Einfluss auf das Zusammenspiel der Satellitenzellen mit deren Makro- und Mikroumgebung eine essentielle Rolle spielen. In einer dritten Studie untersuchten wir den Zusammenhang eines konsekutiven Trainingsregimens (*i.e.* Ausdauer- vor Krafttraining) auf die Satellitenzellantwort und verglichen diese mit konventionellem Krafttraining während verschiedener Zeitspannen. Wir konnten aufzeigen, dass unabhängig von der Trainingsmodalität im Alter der Satellitenzellenpool als Antwort auf Trainingsreize aufreguliert wird. Ebenfalls konnten wir eine Muskelfaserhypertrophie unabhängig von der Trainingsmodalität feststellen. Aufgrund dieser Beobachtung empfehlen wir eine hochintensive mechanische Belastung der Skelettmuskulatur zwei bis drei mal pro Woche im Alter durchzuführen.