

# Structural, functional and metabolic aspects of shortening and lengthening muscle contractions

Citation for published version (APA):

Hesselink, M. K. C. (1998). *Structural, functional and metabolic aspects of shortening and lengthening muscle contractions*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19980312mh>

## Document status and date:

Published: 01/01/1998

## DOI:

[10.26481/dis.19980312mh](https://doi.org/10.26481/dis.19980312mh)

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 20 Jul. 2024

---

## Summary

---

## **Summary**

Skeletal muscle comprises approximately 40% of adult human body mass. Based on their mass, skeletal muscle is the largest organ in the human body. Skeletal muscle is made up of different proteins, part of which are able to generate force due to their unique structure and interaction (the so-called contractile proteins). Part of the remaining proteins are designed to transmit force generated by the contractile proteins to the skeleton (the so-called cytoskeletal proteins). Due to their highly organized structure, skeletal muscle is capable to initiate movements as well as to stop locomotion.

Every movement initiated by muscle contraction requires conversion of chemical energy into mechanical energy. In skeletal muscle, breakdown of carbohydrates and fatty acids are the main pathways for generating chemical energy. During physical exercise the amount of chemical energy required to fulfill the increased demand for mechanical energy increases dramatically. Regular physical exercise induces adaptation of the exercised muscles to the increased workload. These adaptations involve energy metabolism as well as adaptations at the level of myofibrillar and cytoskeletal proteins. Adaptation of the exercised muscle depends among others on the type of contraction that is employed.

Force development in skeletal muscle may occur without a change in muscle length, e.g., while holding a load at a fixed elbow angle (isometric contraction). When a load is lifted and the muscle shortens, this is called a concentric or shortening contraction. Skeletal muscle is also capable to generate force while lengthening, e.g., while lowering a weight. This type of contraction is called an eccentric or lengthening contraction. In the present thesis we studied the effect of type of contraction on muscle structure and muscle function during, as well as after, shortening and lengthening contractions.

Chapter 1 is an introduction into muscle structure, force generation and transmission in skeletal muscle, as well as into generation of chemical energy. This chapter ends with defining the aims of the present thesis. To be able to assess muscle function in anaesthetized rats we designed a new experimental set-up. This set-up permits assessment of work generated by the muscle in an accurate and reproducible manner with minimal surgical intervention. The experiments outlined in chapter 3, confirm the well-known phenomenon that lengthening contractions induce damage to the exercised muscles whereas isometric contractions do not. The extent of muscle damage is exponentially related to the number of lengthening contractions. Furthermore, we observed that maximal muscle torque declined more following lengthening exercise than following isometric exercise. A weak correlation ( $R=0.593$ ) was observed between the number of lengthening contractions and the post-exercise force deficit between isometrically and eccentrically exercised muscles. Chapter 4 describes the effect of eccentric and isometric contractions on the metabolic status of the muscle immediately and 24 hours after exercise. Directly after both types of contraction, we observed a decline in total adenine nucleotide content. However, the decline after lengthening exercise was detectable already after 60 contraction and was more pronounced than following isometric contractions. Adenine nucleotide content remained depressed for at least 24 hours post-exercise. In concert with the decline in total

adenine nucleotide content, we observed a rise in the concentration of IMP. Twenty-four hours after lengthening exercise, IMP returned to normal levels while the content of total adenine nucleotides was still depressed. This may indicate a loss of adenine nucleotides from the muscle after lengthening exercise. In the experiments described in chapter 4 we also observed that 24 hours after lengthening exercise, in contrast to after isometric exercise, muscle glycogen stores were still depressed. The deplorable metabolic status 24 hours after lengthening exercise most likely affects the force deficit observed in chapter 3. For a better understanding of the profile of glycogen resynthesis after lengthening exercise, the experiments outlined in chapter 5 were performed. In these experiments we monitored muscle glycogen content as well as the activity of glycogen regulatory enzymes, together with muscle GLUT4 content, immediately, 6, 24 and 48 hours after shortening and lengthening exercise. It was observed that 6 hours after both types of exercise muscle glycogen did not differ from control values. However, the rate of glycogen resynthesis was lower after lengthening exercise than after shortening exercise. Remarkably, 24 and 48 hours after lengthening exercise, muscle glycogen dropped far below control values while after shortening contractions muscle glycogen content stabilized at control values. This bi-phasic response of muscle glycogen to lengthening exercise perfectly matches the response of muscle GLUT4 content to lengthening exercise. Since the activity of glycogen synthase remained depressed for the entire 48 hour post-exercise period, we postulate that muscle GLUT4 content is of greater importance for glycogen resynthesis after lengthening exercise than is activity of glycogen synthase. Transport of glucose across the cellular membrane of skeletal muscle largely relies on the presence of GLUT4 in the membrane. Under resting conditions these glucose transporting proteins are found in intracellular vesicles. Upon stimulation with insulin, and/or after contractile activity, these transporters migrate to the cellular membrane (translocation) to enhance glucose uptake several fold. In chapter 6 we qualitatively monitored the process of translocation at light microscopical level by using specific antibodies and fluorescence microscopy. A weak signal in vicinity of the cellular membrane was observed under resting conditions which, however, intensified upon stimulation with insulin and after contractile activity. This observation indicates that translocation of GLUT4 is detectable at light microscopical level. The technique used to monitor the translocation process can be easily combined with other staining techniques to study, for example, muscle glycogen depletion. Chapter 7 shows that muscles subjected to lengthening exercise twice, within 2 weeks, are able to generate more work and are less vulnerable to damage than muscles subjected to lengthening exercise preceded by shortening exercise 2 weeks before. This observation indicates a rapid adaptation to lengthening exercise. In chapter 8 we studied the role of myofibrillar and cytoskeletal proteins the process of adaptation to lengthening exercise. Using one- and two-dimensional gel electrophoresis we studied the profile of protein expression after shortening and lengthening exercise. A single shortening exercise session did not induce alterations in the protein expression profile of the exercised muscles, compared to non-exercised muscles. Four days after lengthening exercise, however, we observed a co-expression of the

cytoskeletal proteins desmin and vimentin, as is commonly observed during early myogenesis. After a second lengthening exercise session these alterations are less prominent. Lengthening exercise also induced a decrease in expression of  $\alpha$ -actinin and myosin light chain 1, 2, and 3. The reported changes in the protein expression profile indicate that both myofibrillar and cytoskeletal proteins are involved in remodeling of skeletal muscle after a single lengthening exercise session. No such alterations were detectable after a single shortening exercise session.

---

## **Samenvatting**

---

## **Samenvatting**

Het lichaamsgewicht van een volwassen mens wordt voor ongeveer 40% bepaald door het gewicht van de skeletspieren. Hiermee vormen de skeletspieren, gerekend naar hun massa, het grootste orgaansysteem in het menselijk lichaam. Skeletspieren zijn opgebouwd uit verschillende soorten eiwitten waarvan een deel door hun unieke opbouw en interactie in staat zijn kracht te genereren (de zogenaamde contractiele eiwitten) en een ander deel (o.a. cytoskeletaire eiwitten) met name geschikt is om kracht, die ontstaat bij het activeren van een spier, te transporteren naar het skelet. Door hun unieke opbouw zijn skeletspieren in staat om bewegingen te initiëren en reeds geïnitieerde bewegingen weer af te remmen.

Voor iedere beweging die door spieren tot stand gebracht wordt is de omzetting van chemische naar mechanische energie nodig. De chemische energie die in de spier gegenereerd wordt komt met name voort uit de afbraak van suikers (koolhydraten) en vetzuren. Tijdens lichamelijke inspanning neemt de hoeveelheid chemische energie, benodigd om aan de verhoogde vraag naar mechanische energie te voldoen, enorm toe. Wanneer men met enige regelmaat lichamenlijk actief is zullen de actieve spieren zich aanpassen aan hun nieuwe activiteiten patroon. Dergelijke aanpassingen vinden zowel plaats op metabool energetisch niveau (ten behoeve van de chemische energie voorziening) als op het niveau van de contractiele en cytoskeletaire eiwitten (ten behoeve van de mechanische energie leverantie). De wijze waarop, alsmede de tijdsperiode waarin, de spier zich aanpast aan een nieuw activiteiten patroon hangt onder andere samen met de omstandigheid waaronder de spier kracht levert.

Een spier kan kracht leveren terwijl zijn lengte niet verandert, zoals bij dragen van een last met een constante gewrichtshoek. Dit heet een isometrische contractie. Wanneer de spier verkort bijvoorbeeld bij het optillen van een last spreken we van een concentrische contractie. Echter een spier kan ook kracht leveren terwijl hij langer wordt, bijvoorbeeld bij het langzaam laten zakken van een last. In dat laatste geval spreken we van een excentrische contractie. In het onderzoek dat beschreven is in dit proefschrift, hebben we het effect bestudeerd van verschillende soorten spiercontracties op de structuur van de spier, de wijze waarop de spier mechanisch functioneert tijdens en na concentrische en excentrische contracties en de veranderingen in de energie stofwisseling die optreden bij concentrische en excentrische spiercontracties.

Hoofdstuk 1 is een inleidend hoofdstuk waarin achtereenvolgens beschreven wordt hoe de skeletspier is opgebouwd, hoe in skeletspier kracht geproduceerd en doorgegeven wordt, en hoe in skeletspieren chemische energie wordt gegenereerd. Deze inleiding mondt uit in de formulering van de doelstellingen van ons onderzoek. De experimenten beschreven in dit proefschrift zijn uitgevoerd bij verdoofde ratten. Teneinde bij verdoofde ratten de spierfunctie te kunnen meten hebben we een experimentele opstelling ontwikkeld die ons in staat stelt om, met een minimale chirurgische ingreep, een spiergroep te activeren via electrostimulatie en op betrouwbare en herhaalbare wijze de geleverde arbeid te meten. De karakterisering en validering van de gebruikte meetopstelling en de gevolgde procedures zijn beschreven in hoofdstuk 2. De experimenten beschreven in hoofdstuk 3 bevestigen het reeds bekende fenomeen dat bij

excentrische contracties spierschade optreedt die zich uit in o.a. ontstekingsreacties 24 uur na inspanning, dit in tegenstelling tot isometrische contracties. Uit de experimenten beschreven in dit hoofdstuk blijkt tevens dat de hoeveelheid schade exponentieel toeneemt met het aantal contracties. Na excentrische contracties blijkt de maximale kracht die de spier kan genereren sterker af te nemen dan na isometrische contracties. De grotere krachtsafname die we na excentrische contracties meten ten opzichte van de krachtsafname na eenzelfde hoeveelheid isometrische contracties, correleert zwak ( $R=0.593$ ) met de hoeveelheid opgetreden schade na excentrische inspanning. In hoofdstuk 4 is het effect van excentrische en isometrische contracties op de energie status van de spier direct na inspanning en 24 uur later. Direct na inspanning is er sprake van een daling in de totale hoeveelheid adenine nucleotiden, de directe bron voor chemische energie in de spier. Deze daling zien we zowel na isometrische als na excentrische contracties. Echter de daling na excentrische contracties die reeds na 60 contracties detecteerbaar is, is meer uitgesproken dan na isometrische contracties en houdt minstens gedurende de eerste 24 uur na excentrische arbeid stand. Met de daling in adenine nucleotiden wordt direct na inspanning een overeenkomstige stijging van IMP gerapporteerd, een afbraak product van één van de adenine nucleotiden. Wanneer we echter 24 uur na excentrische arbeid kijken valt op dat de concentratie IMP weer gedaald is tot een normaal niveau, terwijl de totale hoeveelheid adenine nucleotiden nog verlaagd is. Dit duidt er op dat een deel van de adenine nucleotiden de spier die excentrisch belast is geweest verlaten heeft, mogelijk ingegeven door het feit dat de excentrische belaste spieren beschadigd zijn. Tevens is uit de experimenten, beschreven in hoofdstuk 4, gebleken dat 24 uur na excentrische arbeid de voorraad suikers in de spieren (spierglycogeen), nodig om energierijke verbindingen tot stand te brengen, nog steeds verlaagd is. Dit in tegenstelling tot 24 uur na isometrische arbeid, wanneer de concentratie spierglycogeen niet meer significant verschilt van controle waarden. De slechte metabool energetische toestand, waarin excentrisch belaste spieren zich tot 24 uur na inspanning bevinden, wordt verondersteld bij te dragen aan daling in kracht zoals die in hoofdstuk 3 beschreven is. Teneinde een beter beeld te krijgen van het profiel van de nieuwvorming van spierglycogeen na excentrische en concentrische inspanning hebben we de experimenten, zoals beschreven in hoofdstuk 5, uitgevoerd. Bij deze experimenten hebben we direct na inspanning, alsmede 6, 24 en 48 uur later, de hoeveelheid spierglycogeen gemeten. Tegelijkertijd is de activiteit van de belangrijkste enzymen die de afbraak en opbouw van spierglycogeen reguleren bepaald en is de hoeveelheid GLUT4 gemeten (kwantitatief gezien het belangrijkste transport eiwit van suikers over de wand van de skeletspiercel). Uit deze studie is gebleken dat de mate van nieuwvorming van spierglycogeen 6 uur na excentrische arbeid lager is dan na concentrische arbeid, maar in beide gevallen niet meer significant lager is dan controle waarden, hetgeen direct na inspanning wel het geval is. Echter, 24 en 48 uur na inspanning is de hoeveelheid spierglycogeen in de excentrisch belastte spieren weer gedaald tot ver onder de uitgangsniveaus. Dit in tegenstelling tot na concentrische contracties, wanneer spierglycogeen binnen 6 uur na inspanning terug is op het uitgangsniveau en gedurende 48 uur stabiel blijft. De respons in



glycogeen nieuwvorming na excentrische inspanning vertoont hetzelfde opmerkelijke bi-fasische verloop als de concentratie GLUT4. Omdat gedurende de gehele periode na inspanning de activiteit van het enzym dat zorgt voor de glycogeen nieuwvorming (glycogeen synthase) verlaagd is, lijkt het erop dat na excentrische arbeid de concentratie GLUT4 in de skeletspier van groter belang is bij glycogeen nieuwvorming dan de activiteit van glycogeen synthase. Opname van suikers door de skeletspier wordt in belangrijke mate bepaald door de aanwezigheid van GLUT4 in de wand van de skeletspiercel. Deze suiker transporterende eiwitten kunnen zich onder invloed van het hormoon insuline en/of spiercontractie verplaatsen naar de wand van de skeletspiercel (translocatie), alwaar ze het transport van suikers over de celwand vele malen kunnen verhogen. In hoofdstuk 6 is middels specifieke antilichamen en fluorescentie microscopie getracht deze suiker transporterende eiwitten en het translocatie proces in beeld te brengen. Deze studie toont aan dat er sprake is van een zwak signaal in de celwand van de rustende skeletspier dat echter intenser wordt onder invloed van insuline of spieractiviteit. Dit duidt erop dat translocatie van GLUT4 op licht microscopisch niveau aantoonbaar is. De techniek die gebruikt is om het translocatie proces in beeld te brengen kan ook gebruikt worden om te bestuderen of de verminderde glycogeen nieuwvorming en GLUT4 hoeveelheid (zoals gerapporteerd in hoofdstuk 5) zich beperkt tot spiercellen die door excentrische arbeid daadwerkelijk beschadigd zijn of dat het probleem zich ook in onbeschadigde spiercellen voordoet. In hoofdstuk 7 hebben we aangetoond dat spieren die binnen 2 weken voor een tweede keer onderworpen worden aan een serie excentrische contracties in staat zijn meer arbeid te leveren en minder beschadigd worden dan spieren die 2 weken eerder concentrisch belast zijn. Het vermogen meer arbeid te kunnen leveren tijdens een tweede sessie excentrische contracties, alsmede de verminderde schade na de tweede excentrische inspannings sessie, duidt op een snelle adaptatie van de skeletspier aan excentrische inspanning. In hoofdstuk 8 is bekeken of er contractiele en/of cytoskeletaire eiwitten zijn die een rol zouden kunnen spelen bij deze snelle adaptatie. Middels één en twee-dimensionale gel electrophorese en immunoblotting is het patroon van eiwit expressie na concentrische en excentrische inspanning bestudeerd. Na concentrische inspanning zien we geen verschillen in de expressie van deze eiwitten, vergeleken met een controle spier. Vier dagen na de eerste serie excentrische contracties valt op dat de cytoskeletaire eiwitten desmine en vimentine samen tot expressie komen, een situatie die normaal alleen aangetroffen wordt tijdens embryologische ontwikkeling van spier. Na een tweede serie excentrische contracties zijn deze veranderingen minder uitgesproken. De expressie van  $\alpha$ -actinine en de lichte myosine ketens is tevens verminderd na excentrische arbeid. Gezamenlijk duiden de veranderingen in het eiwit expressie patroon erop dat er na excentrische inspanning aanpassingen plaatsvinden in de expressie van zowel de contractiele als de cytoskeletaire eiwitten. Dergelijk veranderingen zijn niet detecteerbaar na één serie concentrische contracties.