

VU Research Portal

Sensory pathways of muscle phenotypic plasticity: Calcium signalling through CaMKII

Eilers, W.

2013

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

Eilers, W. (2013). *Sensory pathways of muscle phenotypic plasticity: Calcium signalling through CaMKII*.

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 ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

De regulatie van skeletspieradaptatie: CaMKII als sensor van calcium signalen

Skeletspierweefsel heeft als kenmerk dat het de eigen structuur en functie aanpast aan de belasting die aan het weefsel wordt opgelegd als gevolg van het menselijk bewegen. Hierdoor worden spieren over het algemeen groter en sterker door krachttraining en neemt de weerstand tegen spiervermoeidheid toe door duurtraining. De influx van calcium in de spiervezels tijdens spiercontracties wordt verondersteld een belangrijk signaal te zijn voor de vezels om deze aanpassingen door te voeren. Echter, over de precieze rol van de enzymen die door de calcium-influx in spiervezels worden geactiveerd is nog veel onbekend. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMKII) is een calcium-afhankelijk enzym dat in de spieren geactiveerd wordt tijdens fietstraining, maar hoe deze activiteit gereguleerd wordt door het specifieke spier-activatiepatroon is onbekend. Verder is CaMKII in gekweekte spiercellen noodzakelijk om de transcriptie van genen te activeren die belangrijk zijn voor de mitochondriële biosynthese. Deze en andere mogelijke functies van CaMKII in skeletspieren zijn echter nog niet onderzocht *in vivo*, waardoor de relevantie van CaMKII voor skeletspieradaptatie als gevolg van training nog onduidelijk is.

Het doel van dit proefschrift is om te onderzoeken hoe de activiteit van CaMKII wordt gereguleerd door stimulatie van skeletspieren, en welke effecten CaMKII heeft op skeletspierstructuur en functie *in vivo*. Hiervoor wordt een ratmodel gebruikt om de volgende redenen: 1) de spieren van de ratten hebben goed gedefinieerde eigenschappen en kunnen elektrisch worden gestimuleerd met precies gecontroleerde stimulatiepatronen, en 2) CaMKII kan tot overexpressie gebracht worden in de spieren van de ratten door middel van gen-electrotransfer, waardoor een indruk verkregen kan worden van de specifieke effecten van dit enzym in volgroeide spiervezels *in vivo*. De verwachting was dat CaMKII geactiveerd zou worden op een spier- en stimulatiepatroon-afhankelijke wijze, en dat CaMKII overexpressie de expressie van mitochondriële markers zou doen toenemen.

Hoofdstuk 2 beschrijft hoe het effect van spierstimulatiefrequentie op CaMKII fosforylering werd onderzocht. CaMKII fosforylering werd gebruikt als maat voor CaMKII activatie. Verder werd het verloop van deze fosforylering na afloop van de

spierstimulatie onderzocht. CaMKII fosforylering was toegenomen in fast-twitch *m. gastrocnemius* na een stimulatieprotocol bestaande uit 100 pulsen (equivalent aan één korte maximale contractie of een submaximale contractie van tien seconden). Tegen de verwachting in was er geen effect van de snelheid waarmee deze pulsen elkaar opvolgden. In de slow-twitch *m. soleus* was de CaMKII fosforylering niet toegenomen na stimulatie. Een contractieprotocol bestaande uit 24 maximale contracties resulteerde niet in een significante toename van de CaMKII fosforylering in *m. gastrocnemius*. Deze resultaten suggereren dat CaMKII zeer snel wordt geactiveerd tijdens spiercontracties, maar dat voortdurende contracties wellicht ook de deactivatie van CaMKII in gang zetten, waardoor de CaMKII activiteit niet blijvend is.

In hoofdstukken 3 en 4 worden de effecten van *in vivo* CaMKII overexpressie in *m. soleus* en *m. gastrocnemius medialis* onderzocht. Hoofdstuk 3 focust op het effect van CaMKII overexpressie op de expressie van genen die betrokken zijn bij de mitochondriële biosynthese, en de contractiele eigenschappen van de spieren. De expressie van verscheidene mitochondriële markers was niet toegenomen in CaMKII-getransfecteerde spieren. Echter, de relaxatietijd van de CaMKII-getransfecteerde spieren was afgenomen, en dit ging gepaard met een toename van de expressie van SERCA2, het enzym dat calcium vanuit het cytoplasma terugpompt in het sarcoplasmatisch reticulum. Hoofdstuk 4 beschrijft het effect van CaMKII overexpressie op de activiteit van een cruciaal deel van de promotor van het skeletal alpha-actin gen. Dit gen codeert voor een belangrijk deel van de contractiele filamenten in spiervezels. Deze activiteit was significant lager in CaMKII-getransfecteerde spieren. De resultaten beschreven in hoofdstukken 3 en 4 suggereren dat toename van CaMKII expressie *in vivo* niet voldoende is om mitochondriële biosynthese te stimuleren, maar dat het wel de expressie van SERCA2 en skeletal alpha-actin beïnvloedt.

In hoofdstuk 5 wordt een mathematisch model van CaMKII activatie beschreven en gebruikt om de activatie van CaMKII op het niveau van een sarcomeer te onderzoeken. CaMKII stimuleert mogelijk de flux van calcium in en uit het cytoplasma door de calciumkanalen ryanodine receptor en SERCA direct te activeren. Daarom werd met het model onderzocht wat het effect van toegenomen CaMKII concentratie is op de snelheid waarmee calcium in het cytoplasma wordt vrijgelaten en weer uit het cytoplasma wordt verwijderd. De simulaties suggereren dat CaMKII het sterkst wordt geactiveerd in de buurt van de calciumkanalen waardoor calcium uit het

sarcoplasmatisch reticulum stroomt. Het verhogen van de CaMKII concentratie in het model had echter geen effect op de snelheid waarmee calcium het cytoplasma in of uit stroomde.

De resultaten in dit proefschrift suggereren dat CaMKII wordt geactiveerd na een zeer korte periode van spierstimulatie op een wijze die onafhankelijk is van de stimulatiefrequentie, en dat een toename van de CaMKII expressie in spiervezels zorgt voor een toename van de expressie van SERCA2, maar niet van genen betrokken bij mitochondriële biosynthese. Mogelijk is CaMKII alleen in combinatie met andere signaalroutes betrokken bij de stimulatie van de mitochondriële biosynthese. Verder onderzoek moet daarom onder andere uitwijzen of selectieve inhibitie van CaMKII *in vivo* aanpassingen van skeletspieren aan inspanning voorkomt.