
Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV,
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Martin Reincke



Endokrine und neurogene Einflussfaktoren in der Pathogenese der Sarkopenie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Stefanie Jarmusch

aus

Koblenz

2022

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

| | |
|--|--|
| Berichterstatter: | Prof. Dr. Michael Drey |
| Mitberichterstatter: | Prof. Dr. Thomas Klopstock Prof. Dr. Wolfgang Müller-Felber |
| Mitbetreuung durch die promovierte Mitarbeiterin: | PD Dr. Uta Ferrari |
| Dekan: | Prof. Dr. med. Thomas Gudermann |
| Tag der mündlichen Prüfung: | 30.06.2022 |

Meiner Familie

*„Man braucht im Leben nichts zu fürchten, man muss es nur verstehen.
Jetzt ist es an der Zeit, mehr zu verstehen, damit wir weniger fürchten.“
— Marie Curie*

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----------|
| Zusammenfassung | 1 |
| Tabellenverzeichnis | 4 |
| Abbildungsverzeichnis | 6 |
| Abkürzungsverzeichnis | 8 |
| 1 Einleitung | 9 |
| 1.1 Sarkopenie | 9 |
| 1.1.1 Definition..... | 9 |
| 1.1.2 Diagnosekriterien Sarkopenie nach EGWSOP II | 9 |
| 1.1.3 Prävalenz der Sarkopenie | 10 |
| 1.1.4 Bedeutung für die Gesellschaft | 11 |
| 1.1.5 Diagnostik..... | 12 |
| 1.1.6 Therapiemöglichkeiten | 13 |
| 1.2 Pathophysiologie der Sarkopenie | 15 |
| 1.2.1 Neurodegenerative Aspekte der Sarkopenie..... | 16 |
| 1.2.2 Die GH/IGF-I Hormon Achse..... | 20 |
| 2 Zielsetzung | 26 |
| 3 Material und Methoden | 28 |
| 3.1 Patientenkollektiv | 28 |
| 3.1.1 Rekrutierungsprozess..... | 28 |
| 3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien | 28 |
| 3.2 Klinische Untersuchungen | 29 |
| 3.2.1 Sarkopenie Diagnostik..... | 29 |
| 3.3 MUNIX Messung | 31 |
| 3.4 Muskelbiopsie | 33 |
| 3.4.1 Biopsie aus dem Musculus vastus lateralis | 33 |
| 3.4.2 Kryokonservierung und Anfertigung der Kryoschnitte | 33 |
| 3.4.3 Färbungen | 34 |
| 3.4.4 Auswertung der Muskelbiopsie..... | 37 |
| 3.5 Bestimmung der Hormonkonzentrationen im Serum | 40 |
| 3.6 Statistik | 42 |
| 4 Ergebnisse | 43 |
| 4.1 Patientenkollektiv | 43 |
| 4.1.1 Demographische Parameter und Sarkopenie-Parameter der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht..... | 43 |

| | | |
|------------|---|-----------|
| 4.1.2 | MUNIX-Messung | 44 |
| 4.1.3 | Histologie..... | 45 |
| 4.1.4 | Immunfluoreszenz Färbungen für Ki67 und NCAM..... | 47 |
| 4.1.5 | Hormonkonzentrationen | 47 |
| 4.2 | Stratifizierung der Kohorte nach MUNIX Messung..... | 48 |
| 4.3 | Stratifizierung der Kohorte nach IGF-I Serumkonzentration..... | 52 |
| 4.4 | Korrelationen..... | 53 |
| 4.4.1 | z-Score Sarkopenie | 53 |
| 4.4.2 | MUNIX Messung | 55 |
| 4.4.3 | GH/IGF-I Achse | 57 |
| 4.4.4 | Histologische Parameter | 59 |
| 5 | Diskussion | 61 |
| 5.1 | Histologische Veränderungen im alternden Muskel | 61 |
| 5.2 | Verlust von Motorischen Einheiten..... | 64 |
| 5.3 | Insuffizienz der GH/IGF-I Achse im Alter | 67 |
| 5.4 | Diskussion der Methodik und Limitationen | 72 |
| 5.5 | Schlussfolgerung und Ausblick..... | 75 |
| | Literaturverzeichnis | 77 |
| | Anhang | 91 |
| | Danksagung | 92 |
| | Affidavit | 93 |
| | Publikationsliste | 94 |

Zusammenfassung

Die Pathogenese der Sarkopenie, des Muskelschwunds im Alter, stellt ein multifaktorielles Problem dar. Aufgrund der zunehmenden Alterung der Gesellschaft und den mit einer Sarkopenie verbundenen Folgen von Immobilität, Einschränkungen der körperlichen Leistungsfähigkeit, erhöhten Sturz- und Frakturnraten und hohen Kosten für das Gesundheitssystem ist das Interesse an der Erforschung pathogenetischer Faktoren und neuen Therapiemöglichkeiten groß. Diese Arbeit stellt Ergebnisse zu histopathologischen, neurogenen und endokrinen Faktoren in der Pathogenese der Sarkopenie dar.

Bekannt ist eine altersbedingte Degeneration von Neuronen und folglich eine Denervation von Muskelfasern, welche dadurch atrophieren. Dieser Verlust von motorischen Einheiten trägt wesentlich zur Entstehung einer Sarkopenie bei. Weiterhin sind endokrine Veränderungen des Alters am Prozess einer muskulären Atrophie beteiligt. Insbesondere die Reduktion der Serumkonzentrationen der anabolen Hormonachse von Growth Hormone (GH) und Insulin-like Growth Faktor 1 (IGF-I) im Alter hat enormen Einfluss auf den Muskelmetabolismus und führt zu einer verminderten Stimulation anaboler Signalwege. Daneben vermittelt IGF-I auch einen neurotrophischen Effekt, indem es als Wachstumshormon auch ein Aussprossen von Axonendigungen in Neuronen stimulieren kann; ein Mechanismus, welcher zur Reinnervation nach Denervationsatrophie einer Muskelfaser essenziell ist.

Es war daher das Ziel dieser Arbeit, einen Zusammenhang zwischen neurodegenerativen und endokrinen Aspekten in der Pathogenese der Sarkopenie im Rahmen einer Querschnittsstudie an geriatrischen Patienten zu untersuchen. Dazu wurden im Zeitraum von November 2017 bis März 2019 insgesamt 42 Patienten älter als 60 Jahre rekrutiert, welche aufgrund einer akuten Hüftfraktur operativ im Klinikum Großhadern der LMU versorgt werden mussten. Intraoperativ wurde eine Muskelbiopsie aus dem Musculus vastus lateralis zur Untersuchung von histopathologischen Veränderungen im alternden Muskel entnommen. Die weiteren studienbezogenen Untersuchungen

beinhalteten eine Sarkopenie-Diagnostik mit Messung von Handkraft und Muskelmasse nach Kriterien der EWGSOP II (European Working Group of Sarcopenia in Older People), eine Bestimmung der Anzahl von motorischen Einheiten im Kleinfingermuskel mit dem elektromyographischen Verfahren der MUNIX-Messung (Motor Unit Number Index, MUNIX), sowie die Bestimmung der Hormone der GH/IGF-I Achse im Serum der Probanden.

Die Auswertung der Muskelbiopsien zeigte eine für altersbedingte Vorgänge typische Atrophie der Typ II Muskelfasern, mit kompensatorischer Hypertrophie der Typ I Muskelfasern. Die Kohorte wurde anhand der MUNIX Werte in eine Kohorte mit Werten ober- bzw. unterhalb des Cut-Offs von 80 eingeteilt. Knapp die Hälfte (41.9%) aller Probanden präsentierte einen Verlust von motorischen Einheiten. Niedrige MUNIX-Werte waren signifikant mit einer Sarkopenie assoziiert. Diese Probanden zeigten ebenfalls konstant reduzierte Konzentrationen des Hormons IGF-I und seiner Bindungspartner Insulin-like-Growth-Faktor Binding Protein 3 (IGFBP-3) und Acid labile subunit (ALS). Reduzierte Konzentrationen der Hormone korrelierten signifikant mit dem Lebensalter, im Sinne einer altersbedingten „Somatopause“. Weiterhin waren niedrige IGF-I Konzentrationen mit einem höheren Schweregrad einer Sarkopenie, mit einem Verlust von motorischen Einheiten (niedrigen MUNIX-Werten) und einem verminderten Proliferationspotential (Expression von Ki67 in Myoblasten) assoziiert. Die vermutlich zugrunde liegende Denervation von Muskelfasern wurde durch die Expression des Denervationsmarkers Neural cell adhesion molecule (NCAM) in 12 von 31 Muskelbiopsien nachgewiesen. Der Grad der Expression korrelierte ebenfalls signifikant mit niedrigen IGF-I Konzentrationen.

Die Daten dieser Studie lassen vermuten, dass IGF-I eine essenzielle Rolle im Stoffwechsel von alterndem Muskelgewebe spielt. Eine Reduktion dieses anabolen Hormons mit zunehmendem Alter scheint zum Verlust von motorischen Einheiten durch Denervation und folglich auch zu einer Sarkopenie beizutragen. Zur erfolgreichen Reinnervation und Erhalt der muskulären Funktion sind demnach suffiziente IGF-I Konzentrationen in geriatrischen Patienten essenziell.

Studien zu IGF-I Supplementation als therapeutische Option in der Behandlung der Sarkopenie erscheinen daher dringend notwendig.

Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1: Diagnosekriterien der Sarkopenie nach EWGSOP II (6)..... | 10 |
| Tabelle 2: Referenzwerte für durchschnittliche Durchmesser und prozentualen Anteil von Muskelfasern Typ I und II im Musculus vastus lateralis gesunder Erwachsener nach Dubowitz et al. (47)..... | 39 |
| Tabelle 3: Referenzwerte für Atrophie- und Hypertrophiefaktoren im Musculus vastus lateralis gesunder Erwachsenen nach Dubowitz et al. (47) | 39 |
| Tabelle 4: Referenzwerte der Hormonkonzentrationen im Serum | 41 |
| Tabelle 5: Demographische und Sarkopenie-Parameter der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht..... | 43 |
| Tabelle 6: Ergebnisse der MUNIX Messung der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht..... | 45 |
| Tabelle 7: Histologische Parameter der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht..... | 46 |
| Tabelle 8: Ki67 bzw. NCAM Expression gesamt und getrennt nach Geschlecht | 47 |
| Tabelle 9: Serumkonzentrationen der Hormone GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3, ALS der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht..... | 48 |
| Tabelle 10: Demographische und klinische Parameter der Subgruppen aufgeteilt nach MUNIX..... | 49 |
| Tabelle 11: Histologische Parameter getrennt nach MUNIX Werten | 49 |
| Tabelle 12: Ki67 bzw. NCAM Expression innerhalb der Gruppen getrennt nach MUNIX Werten | 51 |

| | |
|--|----|
| Tabelle 13: Serumkonzentrationen von GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS der Subgruppen getrennt nach MUNIX Werten..... | 51 |
| Tabelle 14: Demographische und histologische Parameter, MUNIX-Messung und Immunhistochemie stratifiziert nach Serumkonzentration von IGF-I | 52 |
| Tabelle 15: Lineare Regressionsrechnungen für z-Score Sarkopenie, MUNIX, IGF-I, Ki67 und NCAM..... | 91 |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1: Pathogene Einflussfaktoren in der Entstehung von Sarkopenie, adaptiert nach Cruz-Jentoft et al., Sarcopenia (19)..... | 15 |
| Abbildung 2: Hormoneller Regelkreis der GH-/IGF-I Achse | 20 |
| Abbildung 3: Der IGF-I / Akt / mTOR Signalweg | 22 |
| Abbildung 4: Positionierung der Elektroden zur Bioelektroimpedanzanalyse ... | 30 |
| Abbildung 5: Positionierung der Elektroden zur MUNIX/MUSIX Messung. 1 = Messelektrode; 2 = Referenzelektrode; 3 = Erdungselektrode. | 32 |
| Abbildung 6: Immunfluoreszenz mit Ki67 und NCAM..... | 37 |
| Abbildung 7: Beispiel einer immunhistochemischen Färbung einer Muskelbiopsie sowie Messung des Faserdurchmessers | 40 |
| Abbildung 8: Korrelation des Alters und z-Score Sarkopenie..... | 54 |
| Abbildung 9: Korrelation des z-Score Sarkopenie mit den Hormonen GHBP, ALS, IGF-I..... | 54 |
| Abbildung 10: Korrelation der Expression von Ki67 in Myoblasten und z-Score Sarkopenie | 55 |
| Abbildung 11: Korrelation MUNIX mit z-Score Sarkopenie | 56 |
| Abbildung 12: Korrelation der MUNIX-Werte mit Serumkonzentrationen von GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS | 56 |
| Abbildung 13: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit z-Score Sarkopenie . | 57 |
| Abbildung 14: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit Expression von Ki67 in Myoblasten | 58 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 15: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit Expression von NCAM in Muskelfasern. | 59 |
| Abbildung 16: Korrelation des Durchmessers der Typ II Fasern zu Handkraft und Muskelmasse..... | 60 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------|--|
| AF | Atrophiefaktor |
| ALS | Acid labile subunit |
| BIA | Bioelektroimpedanzanalyse |
| BMI | Body Mass Index |
| DXA | Dual X-Ray Absorptiometrie |
| EGWSOP | European Working Group of Sarcopenia in Older People |
| FT | Fasertyp |
| GH | Growth Hormone |
| GHBP | Growth Hormone Binding Protein |
| HF | Hypertrophiefaktor |
| HK | Handkraft |
| IGF-I | Insulin-like Growth Faktor 1 |
| IGFBP-3 | Insulin-like-Growth-Faktor Binding Protein 3 |
| MFT | Mixed fiber type |
| MHC | Myosin heavy chain |
| MUNIX | Motor Unit Number Index |
| MUSIX | Motor Unit Size Index |
| NCAM | Neural cell adhesion molecule |
| NMJ | Neuromuscular junction = neuromuskuläre Endplatte |
| SD | Standardabweichung |
| SMI | Skeletal Muscle Index |

1 Einleitung

1.1 Sarkopenie

1.1.1 Definition

Der Begriff Sarkopenie stammt aus dem Griechischen. „Sarx“ bedeutet Fleisch, „penia“ steht für Schwund, Verlust. Er wurde erstmals in den 1980er Jahren von Irwing Rosenberg beschrieben und als einen altersbedingten Verlust der Muskelmasse definiert, welcher die Mobilität und Bewegungsfreiheit, den Ernährungsstatus und die Unabhängigkeit des Individuum beeinflusst (1). Diese erste Definition betrachtete lediglich den Verlust der Muskelmasse, die Muskelkraft und die resultierende körperliche Leistungsfähigkeit fanden keine Beachtung. Mit fortschreitenden Erkenntnissen zeigte sich jedoch, dass eine reduzierte Muskelfunktion ein geeigneterer Parameter zur Einschätzung der Folgen der resultierenden eingeschränkten Leistungsfähigkeit, darunter Immobilität, Gebrechlichkeit und Frakturen, darstellt (2–4). 2010 wurde durch die European Working Group of Sarcopenia in Older People (EWGSOP), einer Experten Arbeitsgruppe, ein erstes Konsensus Papier zur Definition, Pathophysiologie und Diagnostik der Sarkopenie veröffentlicht (5). Darin wurde die Sarkopenie als ein geriatrisches Syndrom mit generalisiertem und progressivem Verlust von Muskelmasse und Muskelfunktion, vor allem von Muskelkraft, definiert, wodurch ein erhöhtes Risiko für körperliche Behinderung, Immobilität, Stürze und Morbidität besteht.

1.1.2 Diagnosekriterien Sarkopenie nach EGWSOP II

Zur Diagnosestellung einer Sarkopenie musste nach EWGSOP I (erste Fassung) neben einer reduzierten Muskelmasse zusätzlich entweder eine reduzierte Handkraft oder eine reduzierte körperliche Leistungsfähigkeit vorliegen. 2018 wurden die diagnostischen Kriterien der Sarkopenie von der EWGSOP erneut überarbeitet. Diese revidierten Kriterien nach EGWSOP II (6) gelten seitdem als die in Europa allgemein gebräuchlichsten Kriterien zur Diagnose einer Sarkopenie. In der revidierten Fassung wird die Sarkopenie nun als eine progressive und generalisierte Muskelkrankheit definiert, welche mit einer

erhöhten Rate an Stürzen, Frakturen, körperlicher Behinderung und Mortalität einhergeht (6). Als primären Parameter der Sarkopenie definiert die EGWSOP II eine reduzierte Muskelkraft. Bei reduzierter Muskelkraft ist das Vorliegen einer Sarkopenie wahrscheinlich, die Diagnose wird bestätigt, wenn gleichzeitig eine reduzierte Muskelmasse oder Muskelfunktion vorliegt. Liegen alle drei Kriterien gleichzeitig vor, wird von einer schweren Sarkopenie gesprochen (Tabelle 1).

Tabelle 1: Diagnosekriterien der Sarkopenie nach EWGSOP II (6)

Diagnose Sarkopenie nach EGWSOP II

| | |
|---------------------------|---|
| Sarkopenie wahrscheinlich | Reduzierte Muskelkraft (i.e. Handkraft) |
| Sarkopenie | + Reduzierte Muskelmasse |
| Schwere Sarkopenie | + Reduzierte körperliche Leistungsfähigkeit |

Neben dem europäischen Konsensus der EWGSOP wurden von auch von mehreren nationalen Arbeitsgruppen teilweise regional gültige Diagnosekriterien erarbeitet, beispielsweise von der Asian Working Group for Sarcopenia (AWGS) (7), der Foundation for the National Institutes of Health (FINH) (8), der International Working Group of Sarcopenia (IWGS) (9) sowie der European Society of Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN) (10).

Bis 2016 galt die Sarkopenie als geriatrisches Syndrom. In 2016 wurde die Sarkopenie von der World Health Organisation (WHO) als Krankheit anerkannt und in das Klassifikationssystem der Krankheiten ICD-10 aufgenommen und ist seitdem dort unter dem Code M62.5- gelistet (11).

1.1.3 Prävalenz der Sarkopenie

Die Sarkopenie stellt ein häufiges Krankheitsbild im Bereich der Geriatrie dar. Die Prävalenz in der Bevölkerung älter als 65 Jahre wird zwischen 6-22 % geschätzt (12). Ca. 20% der über 70 Jährigen gelten als sarkopen, bei den über 80 Jährigen steigt die Zahl sogar auf 50% (13). Angaben zur Prävalenz in der Literatur variieren jedoch zum einen aufgrund regionaler und institutioneller Unterschiede sowie zum anderen aufgrund der unterschiedlichen nebeneinander existierenden

Diagnosekriterien der einzelnen Fachgesellschaften und Expertengremien (14–16). Für den deutschsprachigen Raum lieferte die KORA-Age Studie 2017 Daten von 927 Probanden älter als 65 Jahren aus Süddeutschland und bezifferte die Prävalenz der Sarkopenie nach EWGSOP I Kriterien auf 5,7% (Männer 4,0%, Frauen 7,5%) (17). Eine Metaanalyse zur Prävalenz der Sarkopenie von Cruz-Jentoft et al. zeigte, dass die Prävalenzen je nach Setting (betreute Wohneinrichtungen, Pflegeeinrichtungen oder akute stationäre Krankenversorgung) zwischen 1-33 % schwanken (18). Die tatsächliche Prävalenz könnte höher liegen, da viele Patienten mit Sarkopenie nicht diagnostiziert werden (19). Aufgrund der zunehmenden Alterung der Gesellschaft wird von einem weiteren Anstieg der Prävalenz der Sarkopenie in den nächsten Jahren ausgegangen (20).

1.1.4 Bedeutung für die Gesellschaft

Nach einem Bericht der Weltgesundheitsorganisation WHO aus dem Jahr 2011 waren 8% der Weltbevölkerung älter als 65 Jahre, dies entspricht 524 Millionen Menschen. Bis 2050 wird diese Zahl auf rund 1,5 Milliarden Menschen ansteigen, entsprechend 16% der Weltbevölkerung (21). Bei einer geschätzten Prävalenz der Sarkopenie von 6-22% innerhalb der Bevölkerung werden somit mehr als 200 Millionen Menschen in den nächsten Jahren davon betroffen sein (5). Sarkopenie führt zu einer erhöhten Morbidität (22) und Mortalität (23), körperlichen Einschränkungen und eingeschränkter Mobilität (24) sowie zu hohen Gesundheitskosten (25). Bereits im Jahr 2000 waren 1,5% der Ausgaben im Gesundheitswesen in den Vereinigten Staaten von Amerika auf die Folgen der Sarkopenie zurückzuführen (25); dies entspricht 18,5 Milliarden US \$. Schon eine Reduktion der Prävalenz der Sarkopenie um 10% könnte die Sarkopenie bezogenen Ausgaben um 1,1 Milliarde US \$ reduzieren. Diese hohen Kosten verdeutlichen die zunehmende finanzielle Belastung des Gesundheitssektors durch eine alternde Bevölkerung sowie das ökonomische Interesse an Therapiemöglichkeiten und Verbesserung der Versorgung von Patienten mit Sarkopenie.

1.1.5 Diagnostik

Die Diagnose einer Sarkopenie wird nach Diagnostik einer reduzierten Muskelkraft, reduzierten Muskelmasse und/oder reduzierten körperliche Leistungsfähigkeit gestellt. Dazu werden verschiedene klinische Untersuchungen und Tests zur Messung von muskulärer Masse, Kraft und Funktion durchgeführt. Diese unterscheiden sich im wissenschaftlichen und klinischen Setting. Methoden zur Bestimmung der Muskelmasse sind bildmorphologische Verfahren wie Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT), sowie die Messung der Körperzusammensetzung mittels Dual Energy X-Ray Absorptiometrie (DXA) oder Bioimpedanzanalyse (BIA). Die Muskelkraft lässt sich anhand einer Messung der Handkraft (HK) oder der maximalen Knieflexion-/Extensions-Kraft bestimmen. Zur Einschätzung der körperlichen Leistungsfähigkeit eignen sich die Messung der Ganggeschwindigkeit, die Durchführung der Short Physical Performance Battery (SPPB; Score mit Erfassung von Balance, Kraft und Gehgeschwindigkeit) oder der Timed-up-and-go-Test zur Unterscheidung zwischen der Fähigkeit zum selbstständigen oder nicht-selbstständigen Gehens. Im klinischen Alltag beinhaltet das geriatrische Assessment meist eine Handkraftmessung, die Durchführung einer DXA oder BIA sowie die Tests der SPPB. Die Referenzwerte zur Diagnose einer reduzierten Handkraft, Muskelmasse oder Funktion unterscheiden sich je nach verwendeter Messmethodik und entsprechenden Cut-Off-Werten aus den verwendeten Diagnosekriterien (5).

Zum Screening einer Sarkopenie in älteren Patienten empfiehlt die EWGSOP II die Abfrage des SARC-F Fragebogen. Dieser Fragebogen erfragt anhand fünf Fragen in den Kategorien Kraft, Gehen, Aufstehen, Treppensteigen und Stürze das Risiko einer Sarkopenie und wird als einfache und kostengünstige Methode zur Detektion von potentiellen sarkopenen Patienten angesehen (6). Mit einer moderaten Sensitivität jedoch hoher Spezifität (26) kann er eine verminderte Muskelkraft andeuten und damit zum Screening von Patienten genutzt werden,

welche bei auffälligem Testergebnis einer erweiterten Diagnostik der Sarkopenie zugeführt werden sollten.

1.1.6 Therapiemöglichkeiten

Eine spezifische Therapie der Sarkopenie gibt es zum jetzigen Stand noch nicht. Verschiedene Therapieoptionen befinden sich in der experimentellen und klinischen Erprobung und beruhen auf unterschiedlichen pathophysiologischen Ansätzen des multifaktoriellen pathophysiologischen Modells. Mit jetzigem Stand der Forschung werden sowohl medikamentöse als auch nicht-pharmakologische Therapien in der Behandlung der Sarkopenie im klinischen Alltag und in Studien angewendet.

Körperliche Aktivität und Krafttraining gelten bisher als die primäre Therapie bei Sarkopenie. Es ist die einzige evidenzbasierte Therapie mit starker Empfehlung durch die ICFSR (12). Widerstandstraining wird ebenfalls als Therapie eingesetzt. In zwei Metaanalysen zum Effekt dieser Trainingsform in sarkopenen Patienten wurde ein positiver Effekt auf Muskelkraft (27) und Muskelmasse (28) gezeigt und legt somit ein Nutzen in der Behandlung der Sarkopenie nahe. Ein weiterer therapeutischer Ansatz zielt auf eine erhöhte Proteinzufuhr durch Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten sowie durch Supplementierung von Nahrungsergänzungsmitteln ab. Diskutiert werden beispielsweise eine proteinreichere Ernährung mit antioxidativen Nahrungsmitteln oder die Einnahme von Vitamin-D Hormonpräparaten oder langkettigen Fettsäuren (29).

Medikamentöse Therapien der Sarkopenie befinden sich ebenfalls noch in der Erforschung, dennoch gibt es bisher keine Zulassung für ein Medikament. In einer Metaanalyse untersuchten De Spiegeleer et al. den Effekt von zehn potentiellen pharmakologischen Interventionen (darunter Substitution von Vitamin D, Hormonen wie Östrogen-Progesteron, Growth Hormone, Testosteron allein und in Kombination mit GH und Angiotensin-Converting-Enzym Inhibitoren (ACE-Hemmern)) auf Muskelmasse, Muskelkraft oder Muskelfunktion in Probanden ≥ 65 Jahre (30). Lediglich für eine Substitution von Vitamin D für Frauen und Testosteron Supplementierung für Männer konnte ein Nutzen zur

Verbesserung der Muskelmasse, Muskelkraft und körperlichen Leistungsfähigkeit nachgewiesen werden. Diese Empfehlung konnte nur für ältere Menschen im Allgemeinen, nicht jedoch für prä- oder sarkopene Patienten ausgesprochen werden, da in den meisten Studien nicht explizit ein Sarkopenie Status erhoben wurde. Ein weiterer therapeutischer Ansatz sind Selektive Androgen-Rezeptor Modulatoren (SARMs), welche initial aufgrund kardiovaskulärer Nebenwirkungen der Therapien mit Testosteron allein (31) entwickelt wurden. Nach anfänglichem großen Interesse in Phase I und II Studien (32,33), welche Verbesserungen in Muskelmasse und körperlicher Leistungsfähigkeit zeigten, konnte der Nutzen jedoch nicht in größeren Studien nachgewiesen werden, sodass der klinische Gebrauch der SARMs nicht empfohlen wird. Ebenso vielversprechend galt die Behandlung mit Myostatin-Inhibitoren. Myostatin wirkt hemmend auf Muskelwachstum und Regeneration von Satellitenzellen (34). Über die Hemmung dieses Stoffwechselforgangs zeigte sich eine Zunahme der Muskelmasse, Abnahme der Fettmasse und positive Einflüsse auf die Muskelkraft (35). Aufgrund schwerer Nebenwirkungen wie Urtikaria und aseptische Meningitiden ist man jedoch mittlerweile von weiteren Studien und dem klinischen Gebrauch abgerückt (36).

Aufgrund eines bisher fehlendem Wirksamkeitsnachweis zur spezifischen medikamentösen Therapie stützt sich die Therapie der Sarkopenie daher gegenwärtig auf eine Kombination aus Bewegung, körperlichem Training, Vitamin-D Supplementierung und proteinreicher Ernährung (19).

1.2 Pathophysiologie der Sarkopenie

Die Pathogenese des altersbedingten Muskelschwundes, der Sarkopenie, ist noch immer nicht vollständig erforscht. Es wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen. Abbildung 1 (Abb.1) zeigt die wichtigsten bisher bekannten pathogenen Faktoren im Muskelstoffwechsel und Alterungsprozess. Alterung allgemein führt zu einer Dysbalance in anabolen und katabolen molekularen Signalwegen im Muskel und resultiert folglich in einer Muskelatrophie (19). Generell wird in diesem Zusammenhang in sarkopenen Patienten vor allem eine Veränderung der Muskelfaserzusammensetzung durch einen Verlust von Typ II Muskelfasern, jedoch nicht Typ I Muskelfasern, beobachtet (37). Die zugrunde liegenden pathophysiologischen Vorgänge sind Gegenstand der aktuellen Forschungen.

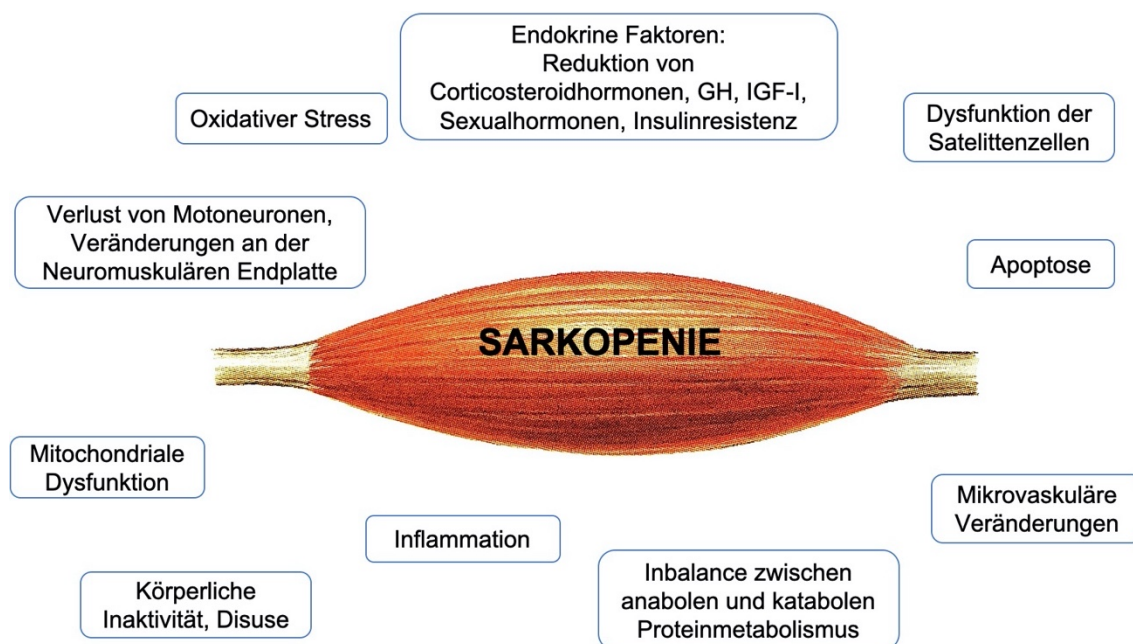


Abbildung 1: Pathogene Einflussfaktoren in der Entstehung von Sarkopenie, adaptiert nach Cruz-Jentoft et al., Sarcopenia (19)

Als primäre Sarkopenie wird der primär auf altersbedingten reduzierten Stoffwechselfvorgängen beruhende Muskelschwund definiert. Im Alter nimmt die Funktion der Mitochondrien ab (38) und es tritt vermehrt oxidativer Stress in den Zellen auf (19). Veränderungen in komplexen anabolen Signalwegen, vor allem des Proteinsynthese stimulierenden Akt-, mammalian target of rapamycin

(Akt/mTOR) Signalweges führen zu einer Inbalance zwischen anabolem und katabolem Stoffwechsel und tragen zur vermehrten Apoptose und Abbau von Proteinen in alternden Muskeln bei (19,39). Fehlende körperliche Betätigung und Bewegung im Alter stellen einen weiteren wichtigen Risikofaktor in der Entstehung einer Sarkopenie dar (40), sei es aufgrund einer vermehrt sitzenden Lebensweise oder durch andere Krankheiten entstandene Immobilität oder körperlicher Behinderung (41). Malnutrition und Malabsorption mit folglich reduzierter Proteinzufuhr tragen ebenso zu verminderter Proteinsynthese im Muskel und damit zu Muskelatrophie bei (5). Inflammation, ein Mangel an Vitamin D sowie mikrovaskuläre Veränderungen mit reduzierter Perfusion von Muskelgewebe (34) sind weitere Faktoren eines alterndem Muskelstoffwechsels.

Weiterhin stellt die Reduktion von anabolen Hormonen im Alter, darunter vor allem von Sexualhormonen sowie Wachstumshormonen (GH und IGF-I), einen wesentlichen Faktor zur Entstehung einer Sarkopenie dar (42). Mit Abnahme der Serumkonzentrationen dieser Hormone fällt deren anaboler Effekt auf den Stoffwechsel der Muskulatur weg und trägt so zum Verlust von Muskelkraft und Masse bei (43–45). Neuronale Veränderungen im Alter, darunter ein Verlust von Motorischen Einheiten und Alterationen an der neuromuskulären Endplatte (neuromuscular junction, NMJ), welche die Signalübertragung beeinträchtigen, resultieren letztlich ebenfalls in einer Atrophie des Muskelgewebes (46).

Die endokrinen und neurodegenerativen Einflüsse werden in dieser Arbeit untersucht und daher in den folgenden Kapiteln ausführlicher erläutert.

1.2.1 Neurodegenerative Aspekte der Sarkopenie

Im Rahmen des natürlichen Altersprozesses kommt es zu neuromuskulären und neurodegenerativen Veränderungen im Muskelgewebe, welche sich histopathologisch vor allem als eine Atrophie der Typ II Muskelfasern darstellen.

Muskulatur ist das zur Kontraktion und Bewegung befähigte Gewebe des Körpers. Lichtmikroskopisch wird quergestreifte von glatter Muskulatur unterschieden. Die lichtmikroskopische Querstreifung entsteht durch die

regelmäßige Anordnung von Aktin- und Myosinfilamenten, des Kontraktions- und Stützapparates des Muskelgewebes. Die einzelne Zelle der Skelettmuskulatur ist eine Muskelfaser, welche mehrere Zentimeter lang sein kann und einen Durchmesser zwischen 40 µm und 80 µm aufweist (47). Im Zytoplasma der Muskelfaser, auch Sarkoplasma genannt, finden sich die Myofibrillen, welche die kontraktile Elemente Aktin und Myosin enthalten, sowie Mitochondrien und das sarkoplasmatische Retikulum. Eine Faser enthält viele nicht mehr teilungsfähige und randständige Zellkerne. Der Muskelfaser liegen außerhalb der Basalmembran Satellitenzellen an, diese sind ruhende Myoblasten und somit Stammzellen zur Regeneration der Muskelfasern. Angeregt durch Proliferationsfaktoren wie z.B. IGF-I (48) fusionieren Satellitenzellen mit der Muskelfaser, wodurch die Faser wächst und an Faserdicke zunimmt (49). Die meisten Muskelfasern des Menschen sind Zuckungsfasern (twitch fibers). Sie besitzen eine Synapse mit einem innervierenden Axon, über welche ein Aktionspotential generiert und fortgeleitet werden kann. Es werden drei Arten dieser Muskelfasern, Typ I, Typ IIA und Typ IIB Fasern. Typ I Fasern sind langsame Muskelfasern, sie besitzen viele Mitochondrien und viel Myoglobin und sind daher wenig ermüdend und für Dauerleistungen angelegt. Typ IIA und IIB Fasern dagegen sind schnelle Muskelfasern. Mit weniger Myoglobin und Mitochondrien sind sie für kurze und schnelle Bewegungen angelegt und ermüden sehr viel schneller als Typ I Fasern (47). Unterschieden werden die Fasertypen immunhistochemisch nach dem Expressionsmuster des Muskelproteins myosin heavy chain (MHC), von welchem mehrere Isoformen existieren. Typ I Fasern exprimieren MHC slow, Typ II Fasern MHC fast. In den meisten Muskelfasern wird nur eine Isoform des MHC exprimiert, selten bzw. vor allem im pathologischen Muskel, finden sich hybride Fasern (auch Mixed fibers genannt), welche mehr als eine Isoform exprimieren (47). Die Zusammensetzung der Fasertypen in einem Muskel ist von Typ und Beanspruchung des Muskels abhängig und unterliegt individuellen Unterschieden. Der Fasertyp wird des Weiteren von dem innervierenden Neuron bestimmt. Alle von einem Neuron innervierten Muskelfasern bilden zusammen mit dem Neuron eine motorische Einheit. Ein Axon des motorischen Neurons bildet mit jeder Muskelfaser eine

neuromuskuläre Synapse, die motorische Endplatte. Aufbau und Funktionsweise der motorischen Endplatte gleichen grundsätzlich derer anderer Synapsen. Als Neurotransmitter fungiert Acetylcholin (ACh) (49).

Mit zunehmendem Alter nimmt die Muskelmasse aufgrund verschiedener Faktoren nach und nach ab. Die Reduktion einer Gewebemasse beruht generell entweder auf einer Abnahme der Zellgröße (Einfache Atrophie, Hypotrophie) oder einer Reduktion der Zellzahl aufgrund eines echten Verlustes von Gewebe (Numerische Atrophie) (50). Die Abnahme der Muskelmasse im Alter scheint demnach hauptsächlich auf einer Reduktion der Größe (einfache Atrophie) der Muskelfasern aber auch auf dem Verlust von Muskelfasern zu beruhen (47). Lexell et al. zeigten als erste anhand von Biopsien aus dem Musculus vastus lateralis von jungen und alten Männern, dass die Anzahl der Muskelfasern ab einem Alter von 25 Jahren abnimmt und diese Reduktion bis zu einem Alter von 80 Jahren circa 50% betragen kann (51). Andere Studien berichteten von einer erheblichen Reduktion der Fasergröße in älteren Probanden verglichen zu jüngeren Kontrollen (52–54). Dabei wird eine faserspezifischer Verlust von hauptsächlich Typ II Muskelfasern beobachtet sowie eine Veränderung der Muskelfaserzusammensetzung hin zu einem relativ gesehen höheren prozentualen Anteil an Typ I Fasern (37,53,54). Im alternden Menschen tragen beide Mechanismen unterschiedlich stark zum Verlust der Muskelmasse bei, vermutlich aufgrund genetischer Faktoren und abhängig von der körperlichen Aktivität (55). Die Gründe für den Verlust von Muskelfasern sind vielfältig und noch nicht vollständig erforscht. Vermehrte Zellapoptose und oxidativer Stress, welche zu einer Dysbalance zwischen Proteinsynthese und Proteinabbau im Muskel führen (56) sind als pathogenetische Faktoren zu nennen, sowie neurogene und endokrine Faktoren und ein Zusammenspiel dieser Faktoren.

Für eine normale Muskelfunktion ist eine nervale Innervation des Muskels unerlässlich. Eine Denervierung, sei es durch den direkten Verlust von Motorneuronen, durch Durchtrennung des Nervens oder durch Degradation der neuromuskulären Endplatte (NMJ), führt zu einer gruppierten Atrophie der betroffenen Muskelfasern. Ein Verlust von motorischen Einheiten (Motorunits)

wurde als pathogener Faktor in der Entstehung der Sarkopenie beschrieben (57,58) ebenso wie altersbedingte Veränderungen an der neuromuskulären Endplatte (59,60). Erste Hinweise auf eine Abnahme der Anzahl an Motorischen Einheiten im Alter stammten von Analysen und Auszählungen von Neuronen im spinalen Vorderhorn in Autopsien (61). Gleichzeitige Ergebnisse aus elektromyographischen Untersuchungen in vivo bestätigten einen Verlust von Motorunits in Fußmuskeln im Alter (62). Weitere Studien mit moderneren EMG Verfahren reproduzierten die Ergebnisse in verschiedenen Muskeltypen (57). Drey et al. zeigten als Erste den Verlust von Motorunits in sarkopenen Probanden (58). Des Weiteren scheint es als Reaktion auf den Verlust von Motorunits im Alter zu einer Größenzunahme der verbleibenden motorischen Einheiten zu kommen (57). Diese reaktive Größenzunahme resultiert zum einen aus einer kompensatorischen Hypertrophie der verbleibenden Muskelfasern (50) und zum anderen aus einer Reinnervation einer denervierten und atrophierten Muskelfaser durch Aussprossen (Sprouting) von neuen Axonendigungen benachbarter Neurone (63,64). Dieser Kompensationsmechanismus ist in sarkopenen Patienten jedoch reduziert und gestört und trägt so zur Progression der Sarkopenie bei (64). Da das innervierende Neuron den Fasertyp einer Muskelfaser bestimmt, kann es in Folge einer Reinnervation zu einem Wechsel des Fasertyps kommen (50). Dadurch kommt es nach Sprouting zu einem Grouping der Muskelfasern des selben Fasertyps und stellt ein histologisches Merkmal aufgrund von Denervation atrophierten Muskels dar (47). Weitere histologische Befunde einer Denervation einer Muskelfaser können eine anguläre Faserform, eine Re-Expression von fetalem Myosin oder eine Co-Expression von fast Myosin in slow Myosin Fasern sein (Mixed fibers). Diese Co-Expression wird wiederum als Zeichen einer Regeneration des denervierten Muskels angesehen (47). Ein immunhistochemischer Marker einer Denervation ist die Expression des Neural cell adhesion molecules (NCAM), ein von Muskelzellen exprimiertes Molekül auf der Zelloberfläche, welches postnatal in gesundem Muskel nicht exprimiert jedoch nach Denervation wieder vermehrt exprimiert wird (65). Auch an den neuromuskulären Synapsen zeigen sich mit zunehmendem Alter Alterationen im Sinne einer Fragmentierung der

neuromuskulären Endplatten (66). Ebenso nimmt die postsynaptische Dichte an Acetylcholin-Rezeptoren ab, wodurch die Übertragung des Aktionspotentials über den Neurotransmitter Acetylcholin auf die Muskelfaser beeinträchtigt ist (60). In welchem Ausmaß die jeweiligen genannten neurogenen pathophysiologischen Mechanismen an der Entwicklung einer Sarkopenie beteiligt sind, ist weiterhin Gegenstand aktueller Forschung.

1.2.2 Die GH/IGF-I Hormon Achse

Die anabolen Hormone Growth Hormone (GH) und Insulin-like Growth Faktor I (IGF-I) sind wichtige Mediatoren im Metabolismus und Wachstum von Muskelgewebe.

1.2.2.1 Synthese und Signalweg

GH wird in der Adenohypophyse produziert und nach Freisetzung von Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) aus dem Hypothalamus pulsatil freigesetzt und im Blut zu den Zielorganen transportiert (Abb. 2). Über Bindung an den gleichnamigen GH-Rezeptor, welcher sich vor allem in Knochen und Leber findet, werden direkte Wirkungen von GH in den Zielorgane vermittelt und die Produktion von IGF-I als Haupthormon induziert.

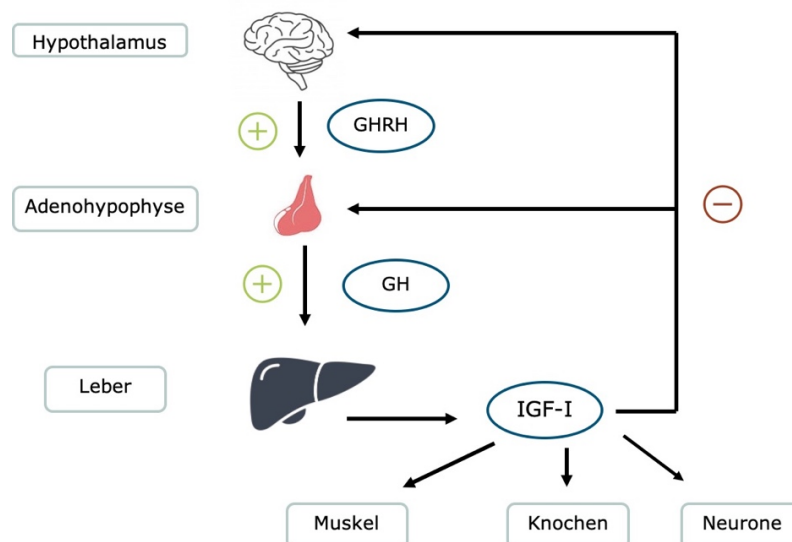


Abbildung 2: Hormoneller Regelkreis der GH-/IGF-I Achse

GH vermittelt seine Wirkung direkt über den GH-Rezeptor an Knochen und indirekt in der Leber über eine Induktion der Produktion von IGF-I. Nach Bindung an den Rezeptor kommt es zur Aktivierung der intrinsischen Tyrosinkinase des Rezeptors, die Janus Kinase 2 (JAK2) sowie von STAT5B (signal transducer and activator of transcription 5B). Dieser Signalweg führt zu einer vermehrten Expression von Genen, welche für IGF-I, Insulin-like Growth-Faktor Binding Protein 3 (IGFBP-3) und acid labile subunit (ALS) kodieren. Diese drei Proteine werden zusammen als den so genannten ternary-complex ins Blut sezerniert, wobei IGFBP-3 und ALS als Transportproteine und Bindungspartner fungieren (67). IGF-I wird zum Großteil in der Leber produziert, eine direkte Produktion ist aber auch im Muskelgewebe möglich (68,69).

Nach Bindung von IGF-I an seinen Rezeptor, den Insulin-like Growth Faktor I Rezeptor (IGFR), welcher sich auf vielen Geweben, darunter Muskel-, Fett-, Gehirn- und Herzmuskelgewebe findet, wird über das Insulin-Rezeptor-Substrat-1 und 2 (IRS1, IRS2) die Phosphoinositid-3-Kinase (P3K) aktiviert (Abb. 3). Diese generiert aus Phosphatidylinositol-(4,5)-Bisphosphat (PIP₂) schließlich Phosphatidylinositol-(3,4,5)-Triphosphat (PIP₃). PIP₃ bindet an die Phosphoinositidin-dependent Kinase-1 (PDK1). Diese Kinase bindet wiederum an Akt und aktiviert den Akt/mammalian target of rapamycin (Akt/mTOR) Signalweg, ein wichtiger zentraler Stoffwechselweg für Zellüberleben und Hemmung von Apoptose (69). Es existieren drei Isoformen des Akt-Proteins, Akt1, Akt2 und Akt3. Akt1 hemmt Apoptose und fördert damit Zellüberleben (70), Akt2 liegt hauptsächlich im Skelettmuskel vor, während Akt3 vor allem eine Rolle in der Gehirnentwicklung spielt (71). Akt hemmt den Abbau von Proteinen durch Hemmung von Transkriptionsfaktoren der FoxO-Familie (Forkhead box class O factors) und fördert gleichzeitig über Aktivierung des mammalian target of rapamycin (mTOR) die Synthese von Proteinen (72). Weiterhin fördert IGF-I die Transkription des antiapoptotischen Proteins bcl2 und hemmt die Expression der apoptotischen Proteine GSK-3 β (Glykogensynthase-Kinase-3 β) und p27.

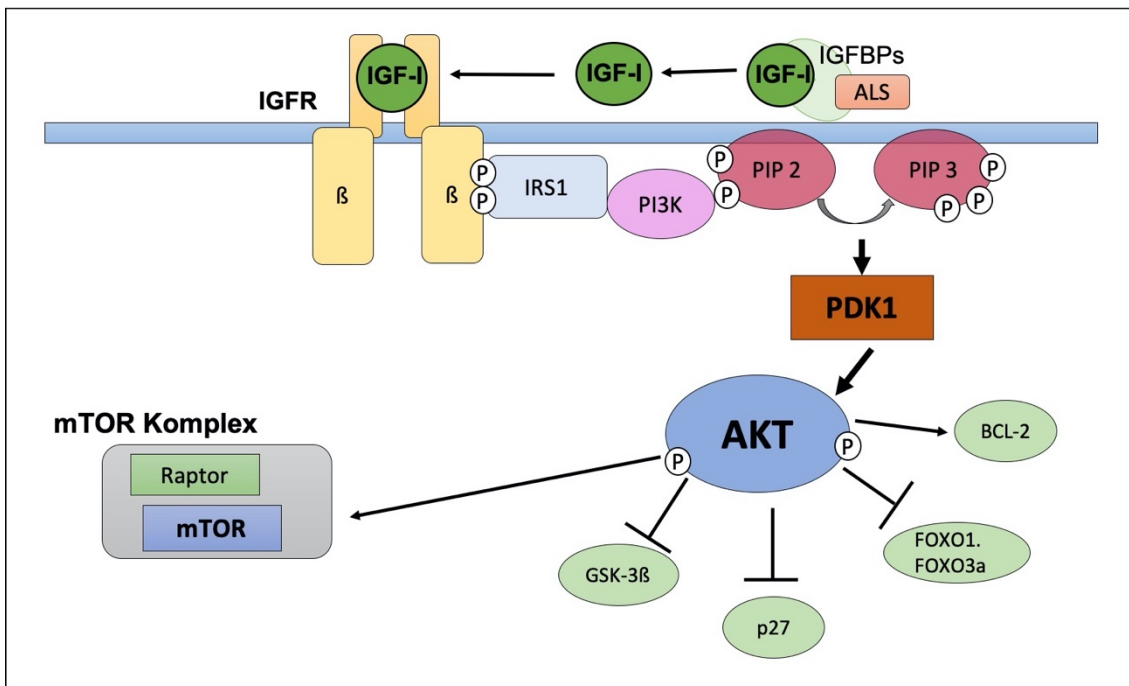


Abbildung 3: Der IGF-I / Akt / mTOR Signalweg

1.2.2.2 Effekte von IGF-I im Muskel

IGF-I spielt eine zentrale anabole Rolle im Metabolismus von Muskelgewebe und gilt als der wichtigste Mediator für Muskelwachstum und Muskelregeneration. Die meisten Erkenntnisse zur Wirkung des Hormons stammen aus Studien an Mausmodellen, insbesondere an Mäusen mit IGF-I-Knockout. Diese zeigen aufgrund des Mangels an IGF-I massive Wachstumsretardierungen und versterben kurz nach Geburt (73,74). Im Gegensatz dazu führt eine Überexpression von IGF-I in Mäusen zu Muskelhypertrophie, schützt vor Muskelatrophie im Alter und erhält das regenerative Potential im Muskel dieser Mäuse (75,76). Der hyperplastische Effekt von IGF-I wird auch über eine Aktivierung und Stimulation von Satellitenzellen vermittelt, wodurch die Proliferation von Myoblasten zu Muskelfasern gefördert wird (77). Neuere Studien deuten darauf hin, dass IGF-I zur schnelleren Heilung von verletzten Muskeln beiträgt, indem es die Immunantwort moduliert und fibrotischen Umbau des Gewebes verhindert (78). Daran scheint vor allem eine im Muskel selbst produzierte lokale Isoform des IGF-I beteiligt zu sein. Es wurde eine Zunahme der Muskelmasse nach Infusionen von IGF-I direkt in Muskelgewebe (79)

berichtet sowie eine vermehrte Expression von lokalem IGF-I nach Widerstandstraining beobachtet, welche zu Muskelhypertrophie führte (80,81). Über die Aktivierung des zuvor beschriebenen Akt/mTOR Signalweges durch IGF-I wird eine Muskelproteinsynthese gefördert und Apoptose gehemmt. Somit vermittelt IGF-I anabole Effekte, welche zu einer Zunahme der Muskelmasse führen und die funktionale Leistungsfähigkeit des Muskels verbessern (82).

1.2.2.3 Effekte von IGF-I im zentralen und peripheren Nervensystem

IGF-I hat ebenfalls einen wichtigen anabolen Einfluss auf das zentrale und periphere Nervensystem. Als Wachstumsfaktor beeinflusst IGF-I auch das Wachstum und die Regeneration von Neuronen sowie die Entwicklung des Gehirns. So fördert es die Neuausbildung von Neuriten und Überleben von Neuronen sowie das Remodelling in Motoneuronen (83–85). Insbesondere stimuliert IGF-I ein Sprouting in Axonen, also die Ausbildung von neuen Axonfortsätzen, und vermittelt somit Reparaturvorgänge bei Nervenverletzungen (85–87). Diese Wirkung wird hauptsächlich auch über den IGF-Rezeptor und die assoziierten Signalwege vermittelt (88). Mehrere Studien im Tiermodell zeigen die Regeneration fördernde Wirkung von IGF-I. Ein IGF-I vermitteltes Sprouting wurde beispielsweise von Özdinler et al. in kortikospinalen Motorneuronen in vivo beobachtet (89) und durch ein Ausbleiben von Axonwachstum nach Blockade des IGF-Rezeptors bestätigt. Nach Verletzung eines peripheren Nervens kommt es zu einer vermehrten Expression von IGF-I in Axonen und Schwann-Zellen (90) und auch in Muskelgewebe nach Denervierung infolge einer Durchtrennung des innervierenden Nervens (91,92). Kanje et al. berichteten von 49% mehr Axonwachstum im durchtrennten Nervus ischiadicus in Ratten nach Applikation von IGF-I (93). Weiterhin führt eine Behandlung mit IGF-I in einem Modell nach Transplantation des Nervus facialis in den Musculus orbicularis oculi zu einer Zunahme der Anzahl der innervierten motorischen Endplatten (94). IGF-I ist außerdem an der Ausbildung von neuromuskulären Endplatten (NMJ) beteiligt, indem es die Downregulation von sogenannten growth-associated proteins (GAPs, darunter GAP-43, NCAM) im Rahmen einer Zerstörung von Synapsen verhindert (95). Messi et al. zeigten, dass die mit zunehmendem Alter

auftretenden Veränderungen an den NMJ bei Überexpression von IGF-I verhindert werden können (96). Als neuroprotektives Hormon wurde IGF-I daher bereits als therapeutischer Ansatz in der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen wie Amyotropher Lateralsklerose (97–99) und Multipler Sklerose (MS) (100) getestet, ohne jedoch einen signifikanten Vorteil in Krankheitsprogression oder Überleben zeigen zu können.

1.2.2.4 Veränderungen der GH/IGF-I Achse im Alter

Mit zunehmendem Alter nimmt die Produktion und Freisetzung von GH aus der Hypophyse ab (101) und folglich kommt es auch zu einer Reduktion der Serumkonzentrationen von GH und IGF-I (102); in diesem Rahmen wird auch von einer „Somatopause“ gesprochen (103). Die tägliche Produktion von GH sinkt ab einem Alter von 30 Jahren um 14% alle 10 Jahre (104). Diese Abnahme der GH Konzentrationen scheint wesentlich an verschiedenen Symptomen des Alterungsprozesses beteiligt zu sein, wie dem Verlust von Muskelmasse und abnehmender Knochendichte und reduzierter körperlicher Leistungsfähigkeit (105). Weiterhin treten mit zunehmendem Alter auch Veränderungen am IGF-Rezeptor auf, insbesondere eine Reduktion der Anzahl und Dichte der Rezeptoren (106) aber auch eine Abnahme der Bindungsaffinität zu IGF-I (107) wurden beschrieben. Auf molekularer Ebene wurde eine altersbedingte reduzierte Funktion des wichtigsten durch IGF-I stimulierten Signalweges, des Akt/mTOR Weges, berichtet (108). Eine Somatopause schwächt die anabolen Effekte von IGF-I im Muskelstoffwechsel ab und stellt daher einen wichtigen Risikofaktor für Sarkopenie darstellen. Dieser Zusammenhang konnte in einer Analyse des Sarkopeniestatus und IGF-I Konzentrationen an 730 Probanden der inCHIANTI-Studie verdeutlicht werden, welche zeigte, dass Patienten mit reduzierten IGF-I Konzentrationen ein höheres Risiko haben, eine Sarkopenie zu entwickeln (109). In früheren Analysen dieser Kohorte wurde bereits eine Assoziation von reduzierten IGF-I Levels und verminderter Muskelkraft bei Aufforderung zur Streckung des Kniegelenks, langsamerer Gehgeschwindigkeiten und von den Probanden selbst beschriebenen Schwierigkeiten in Bewegungsabläufen berichtet (110). Ähnliche Ergebnisse

wurden auch von Bian et al. publiziert, welche in einer großen Kohorte von 3276 Probanden älter als 60 Jahre ebenfalls eine positive Assoziation zwischen reduzierten IGF-I Konzentrationen und Sarkopenie nachweisen konnten (111).

2 Zielsetzung

Die Pathogenese des altersbedingten Muskelschwundes sowie der zugrundeliegenden histologischen Veränderungen ist multifaktoriell. Dabei spielen eine Reduktion des anabolen Hormons IGF-I sowie ein Verlust an motorischen Einheiten (Motorunits) eine wesentliche Rolle in der Entstehung der Sarkopenie und den assoziierten histopathologischen Veränderungen einer Typ II Muskelfaseratrophie.

Das anabole Hormon IGF-I vermittelt als Wachstumsfaktor zum einen die Förderung der Proliferation von Muskelgewebe und zum anderen im peripheren und zentralen Nervensystem neuroprotektive Effekte. Der Einfluss von suffizienten IGF-I Konzentrationen als potenzielles Verbindungsglied in der neurogenen und endokrinen Pathogenese der Sarkopenie bleibt unklar und soll daher im Rahmen dieser wissenschaftlichen Arbeit untersucht werden.

Anhand von Muskelbiopsien von geriatrischen Patienten sollen Veränderungen in Größe und Zusammensetzung der Muskelfasertypen sowie das Regenerationspotential in alterndem Muskel allgemein sowie bei Vorliegen von reduzierten Serumkonzentrationen der GH/IGF-I Hormonachse im Alter als auch bei abnehmender Anzahl an motorischen Einheiten untersucht werden. Dazu erfolgt die Bestimmung der Hormone der GH/IGF-I Hormonachse im Serum und die Bestimmung der Anzahl von Motorischen Einheiten anhand einer elektrophysiologischen Messung (MUNIX). Des Weiteren soll der Einfluss von reduzierten Konzentrationen von IGF-I auf die muskuläre Regenerationskapazität alternden Muskels durch Reinnervation nach Denervation im Rahmen des Verlustes von motorischen Einheiten untersucht werden. Folgende Fragestellungen werden dazu betrachtet:

1. Zeigen sich an Muskelbiopsien geriatrischer Patienten auf histologischer Ebene Veränderungen in der Faserzusammensetzung bzw. Fasergröße in Assoziation zu reduzierten Hormonkonzentrationen der GH/IGF-I Achse bzw. bei einem Verlust von Motoneuronen?

2. Führt eine altersbedingte Reduktion der GH/IGF-I Achse zu einem Verlust von motorischen Einheiten und trägt so als neurogener Risikofaktor zur Entstehung einer Sarkopenie bei?
3. Spielt eine reduzierte IGF-I-Konzentration eine Rolle in Regenerationsvorgängen bei denervationsbedingter Muskeldegeneration im Rahmen der Sarkopenie?

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass IGF-I das entscheidende anabole Hormon im geriatrischen Muskelstoffwechsel und das Bindeglied zwischen endokrinen und neurogenen pathophysiologischen Mechanismen der Sarkopenie darstellt. Die Ergebnisse dieser Studie sollen daher helfen, weitere Daten für einen möglichen therapeutischen Einsatz des Hormons in der Behandlung der Sarkopenie zu erfassen.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Rekrutierungsprozess

In Zusammenarbeit mit der Klinik für Unfallchirurgie und Traumatologie des Klinikums der Universität München am Campus Großhadern wurden in einem Zeitraum von siebzehn Monaten (November 2017 bis März 2019) insgesamt 42 Patienten im Alter von 65 bis 90 Jahren mit einer akuten Hüftgelenksnahen Fraktur rekrutiert, welche entweder mit einer Hüftendoprothese oder Marknagelung operativ versorgt werden mussten. Präoperativ wurden die Probanden über die Studie und die dazugehörigen Untersuchungen aufgeklärt und das Einverständnis zur Teilnahme an der Studie NEUSARC sowie zur intraoperativen Gewinnung einer Muskelbiopsie aus dem Musculus vastus lateralis eingeholt. Die Zustimmung der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München lag vor Durchführung der Studie vor (Nr.328-15). Bei der Planung, Durchführung und Auswertung wurden die ethischen Grundsätze der Deklaration von Helsinki in der derzeit gültigen Fassung berücksichtigt. Die Richtlinien des Datenschutzes des Klinikums der Universität München (KUM) wurden eingehalten.

3.1.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

In die Studie eingeschlossen wurden Patienten älter als 60 Jahre, die aufgrund einer proximalen Femurfraktur operativ in der Klinik für Unfallchirurgie und Alterstraumatologie des Klinikums der Universität München mittels Hüftendoprothese oder Marknagelung versorgt werden mussten.

Ausschlusskriterien:

Patienten mit einem Body Mass Index (BMI) $> 30\text{kg/m}^2$, betreute Patienten bzw. Pflegeheimbewohner sowie Patienten unter systemischer Kortisondauertherapie oder einer Krebserkrankung in den letzten fünf Jahren wurden nicht in die Studie eingeschlossen. Ebenfalls ausgeschlossen wurden Patienten mit speziellen

neuromuskulären Erkrankungen (Myasthenia gravis, Muskeldystrophie, ALS, Poliomyelitis), mit chronisch entzündlichen Erkrankungen (z.B. M. Crohn, Colitis ulcerosa, rheumatoide Arthritis) sowie Patienten mit mittelschwerer- bis schwerer Demenz.

3.2 Klinische Untersuchungen

3.2.1 Sarkopenie Diagnostik

3.2.1.1 Bestimmung der Handkraft

Zur Quantifizierung der Muskelkraft wurde mit einem hydraulischen Dynamometer der Firma Saehan (DHD-1 Digital Hand Dynamometer) die Handkraft der Probanden bestimmt. Dazu wurde dem aufrecht sitzenden Patienten das Dynamometer in die Hand des im 90 Grad angewinkelten Armes gelegt. Der Patient wurde daraufhin unter verbaler Motivation des Untersuchers aufgefordert, mit maximaler Kraft den Messbalken zu drücken. An beiden Händen wurden je 3 Messungen durchgeführt und die Werte notiert. Der höchste Messwert entsprach der maximalen Handkraft. Es wurden die von der EWGSOP II vorgeschlagenen Cut-Off Werte zur Handkraftmessung verwendet. Demnach spricht eine maximale Handkraft von <16kg bei Frauen, sowie <27kg bei Männern für eine verminderte Muskelkraft (6). Diese Cut-off Werte wurden von Dodds et. al. durch Messungen an 49.964 Probanden aus 12 Studien in Großbritannien mittels Perzentilenkurven im Alter von 4 bis 90 Jahren ermittelt (23).

3.2.1.2 Messung der Muskelmasse mittels Bioimpedanzanalyse

Zur quantitativen Bestimmung der Muskelmasse erfolgte eine Messung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektroimpedanzanalyse (BIA). Das kostengünstige und nichtinvasive Verfahren der BIA basiert auf einer Charakterisierung der verschiedenen Gewebetypen des menschlichen Körpers anhand der elektrischen Leitfähigkeit des Gewebes nach Anlegen einer alternierenden elektrischen Spannung an den Körper. Flüssigkeiten und elektrolytreiche Gewebe (Blut, Muskelgewebe) besitzen eine hohe elektrische Leitfähigkeit, Fettgewebe, Knochen und luftgefüllte Räume sind nicht-leitende

Gewebe (112). Gemessen wird der Spannungsabfall im Gewebe sowie der Phasenwinkel. Zu den physikalischen Hintergründen wird auf Mulasi et al. (112) verwiesen. Anhand der gemessenen Daten werden die unterschiedlichen Kompartimente des Körpers errechnet und quantitativ bestimmt. Im Wesentlichen besteht der menschliche Körper somit in seiner Gesamtmasse (TBW=Total Body Weight) aus der fettfreien Körpermasse (LBM=Lean Body Mass, bestehend aus Muskel, Knochen, Flüssigkeit) und der Fettmasse (FM=Fat Mass).

Zur Messung wurden dem ruhig liegenden Patienten mit leicht abgespreizten Armen und Beinen je eine Spannungselektrode sowie eine Messelektrode an Hand- und Fußgelenk der nicht operierten Körperseite befestigt (Abb. 4).

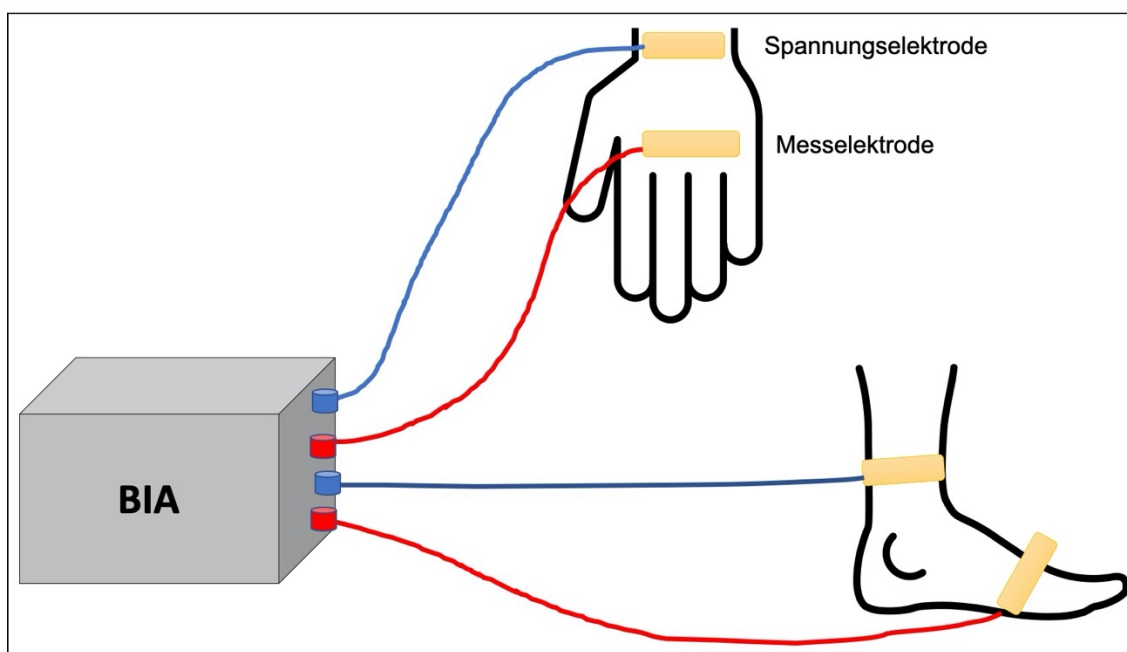


Abbildung 4: Positionierung der Elektroden zur Bioelektroimpedanzanalyse

Die Messung erfolgte mit dem Gerät Imp SFB7 der Firma ImpediMed, Carlsbad CA, USA und beinhaltet eine Multifrequenzanalyse. Zur Auswertung mit der zugehörigen Software SFB17 wurden die Messdaten bei 50kHz verwendet. Bestimmt wurde die LBM sowie die FM. Die Skelettmuskelmasse wurde anhand der von der EWGSOP II empfohlenen Formel zur Berechnung der appendikularen Skelettmuskelmasse (ASMM; [kg]) nach Sergi et al. (113) berechnet ($[ASMM (kg) = -3.964 + (0.277 \times RI) + (0.095 \times weight) + (1.384 \times sex)]$)

+ (0.064 x Xc)] (mit RI (Resistance-Index) = $\frac{(\text{Körpergröße in cm})^2}{R_z}$, R_z=Widerstand aus BIA [Ohm], weight = Körpergewicht [kg], sex= Geschlechtskonstante: 0 für Männer, 1 für Frauen und Xc= Reaktanz). Durch Adjustierung der ASMM an die Körperoberfläche wurde ein Skeletal Muscle Mass Index [$SMI = \frac{ASM}{(\text{Körpergröße in m})^2}$] errechnet. Nach dem Konsensus der EWGSOP II besteht bei einem SMI von <7.00 kg/m² (Männer) bzw. <5.5 kg/m² (Frauen) eine reduzierte Muskelmasse (6).

3.2.1.3 Sarkopenie Diagnose

Die Diagnose einer Sarkopenie wurde anhand der Kriterien der EWGSOP II bei Vorliegen einer reduzierten Handkraft und reduzierter Muskelmasse gestellt (6). Zur besseren Vergleichbarkeit des Schweregrades der Sarkopenie wurde mittels z-Transformation ein z-Score Sarkopenie aus Handkraft und Muskelmasse getrennt für Männer [z-Score Sarkopenie_{Männer} = [(27 – Handkraft) / SD (Handkraft)] + [(7.0 – SMI) / SD (SMI)] und Frauen [z-Score Sarkopenie_{Frauen} = [(16 – Handkraft) / SD (Handkraft)] + [(5.5 – SMI) / SD (SMI)] berechnet. Je positiver der z-Score eines Probanden, umso sarkopener ist der Proband.

3.3 MUNIX Messung

Die Abkürzungen MUNIX und MUSIX stehen für MUNIX = Motor Unit Number Index und MUSIX = Motor Unit Size Index und repräsentieren Anzahl und Größe von motorischen Einheiten in einem definierten Muskel. Eine motorische Einheit umfasst ein Motorneuron mit allen innervierten Muskelfasern. Es handelt sich bei der Messung um ein elektrophysiologisches Verfahren, welches auf einem von Nandedkar et al. (114) entwickelten mathematischen Model basiert. Zu diesem mathematischen Hintergrund sei auf Drey et al. (115) verwiesen.

Dieses elektromyographische Messverfahren wurde mit einem Elektromyographiegerät der Firma NATUS (Natus, Pleasanton, CA, USA) durchgeführt und beinhaltete drei Messschritte. Zuerst erfolgte die Messung des Compound Muscle Action Potential (CMAP = Oberflächen-Muskelaktionspotential). Dazu wurden nach Reinigung der Haut mit NaCl-Lösung

zwei Oberflächenelektroden auf den Hypothenar Muskel (Kleinfingermuskel) der nicht operierten Körperseite des Patienten angebracht. Die Messelektrode wurde über dem Muskelbauch des Kleinfingermuskels platziert, die Referenzelektrode an der distalen Phalanx des kleinen Fingers. Am Handgelenk wurde eine Erdungselektrode befestigt (Abb.5).

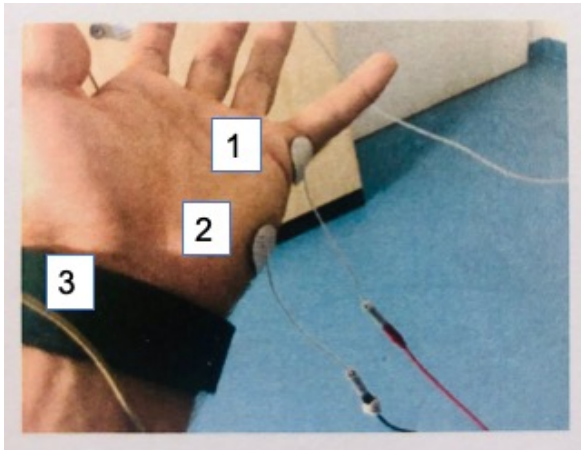


Abbildung 5: Positionierung der Elektroden zur MUNIX/MUSIX Messung. 1 = Messelektrode; 2 = Referenzelektrode; 3 = Erdungselektrode.

Nach Aufsuchen des Nervus ulnaris auf Höhe des Handgelenks wurde die Bestimmung der CMAP durchgeführt. Dazu erfolgten mehrere aufeinanderfolgende supramaximale Stimulationen des Nervus ulnaris, um die höchstmögliche CMAP Amplitude zu erreichen. Im zweiten Schritt wurden die Surface Electromyographic Interference Pattern (SIPs) gemessen. Dazu wurde der Patient aufgefordert, eine isometrische Kontraktion des Kleinfingermuskels mit verschiedenen Kraftgraden auszuüben und zu halten, um mindestens 30 SIPs mit je einer Länge von mindestens 500ms messen zu können. Schließlich werden im dritten Schritt die CMAP und SIPs in eine von Nandedkar et al. (114) entwickelte Software eingespielt, welche daraus Stärke und Amplitude des Signals berechnet. MUNIX berechnet sich aus der Formel $MUNIX = A \cdot (20 \text{ mV ms})^\alpha$. A und α ergeben sich aus einer logistischen Regressionsanalyse durch die Software. MUSIX errechnet sich aus der Formel $MUSIX = \frac{\text{Amplitude CMAP}}{MUNIX}$. Je drei Durchgänge des Messverfahrens wurden durchgeführt und ein Durchschnittswert von MUNIX und MUSIX berechnet. Um Artefakte in der SIP-

Messung auszuschließen, wurden nur SIPs in die Berechnung eingeschlossen, welche die folgenden von Nandedkar vorgeschlagenen Kriterien (116) erfüllten: a) SIPs Fläche >20mVms; b) Ideal case motor unit count (ICMUC)<100, c) SIP Fläche / CMAP > 1. Nach den von Nandedkar definierten Cut-Off Werten wurden MUNIX-Werte <80 sowie MUSIX-Werte >100 μ V als pathologisch angesehen (116).

3.4 Muskelbiopsie

3.4.1 Biopsie aus dem Musculus vastus lateralis

Durch die chirurgischen Kollegen der Klinik für Unfallchirurgie und Traumatologie des Klinikums der LMU München wurde intraoperativ während der Versorgung der Hüftfraktur eine ca. 0,5cm x 2,0cm x 0,5cm messende Biopsie aus dem Musculus vastus lateralis der frakturierten Körperseite der Probanden entnommen. Diese wurde sofort nach der Entnahme in einem sterilen Gefäß (ohne Formalineinbettung) in einer mit Eis gefüllten Styroporbox zur weiteren Verarbeitung in das Myologische Labor des Friedrich-Baur-Institutes des Klinikums der Universität München, Campus Innenstadt transportiert. Dort erfolgte die Aufteilung des Muskelstückes in eine größere und eine kleinere Portion, wobei der größere Teil für die histologischen Untersuchungen und das kleinere Stück für das Anlegen einer Primärzellkultur durch eine andere Doktorandin der Arbeitsgruppe (Lisa Baber) verwendet wurde.

3.4.2 Kryokonservierung und Anfertigung der Kryoschnitte

Nach Entfernen von eventuell noch vorhandenen Fetteinlagerungen oder Restanteilen von Sehnenmaterial an der Muskelbiopsie, wurde das verbleibende Gewebe mit zwei Skalpellens in transversaler Schnitfführung zur Muskelfaserrichtung in mehrere kleinere je ca. 0,5cm x 0,5cm messende Portionen geteilt. Die Probe mit der besten Qualität wurde für die histologischen Untersuchungen kryokonserviert. Dazu wurde zunächst das Material auf ein mit Tragacanth (Einbettmedium für Gefrierschnitte) bestrichenes Korkplättchen eingebettet. Dabei wurde auf eine senkrechte Ausrichtung der Muskelfaserrichtung zur Korkplatte geachtet, um eine Querschnittsansicht des

Muskels garantieren zu können. Anschließend wurde die Kryokonservierung mit flüssigem Stickstoff (N₂) durchgeführt. Dazu wurde ein mit 2-Methylbutan gefüllter Behälter zur Kühlung für mindestens vier Minuten in einen mit Flüssigstickstoff gefüllten Thermobecher gestellt. Nach Bildung eines Eisringes auf dem Boden des 2-Methylbutanbechers begann das Einfrierens des Muskelstückes, wozu das fertig auf dem Korkplättchen ausgerichtete Muskelstück für eine Minute in das mit 2-Methylbutan gefüllte Gefäß gegeben wurde. Nach Ablauf der Minute wurde das Methylbutangefäß aus dem Flüssigstickstoff entfernt und die fertig kryokonservierte Probe erneut in den Flüssigstickstoff gegeben. Die endgültige Lagerung der Probe erfolgte in einem nicht-luftdichten und nicht vollständig verschlossenen Gefäß bei -80° C.

Die Anfertigung der Kryoschnitte zur histologischen Auswertung erfolgte durch eine andere Doktorandin der Arbeitsgruppe (Fabiana Tanganelli). Von allen kryokonservierten Biopsien wurden 10µm dicke Kryoschnitte bei -26°C in einem Cryostat (HM505E; Micron, Walldorf, Deutschland) angefertigt, auf Objektträger (double frosted microscope slides; Fisher Scientific) aufgetragen und nach 2h Trocknung an der Luft bis zur weiteren Verwendung bei -80°C gelagert.

3.4.3 Färbungen

Die folgenden Färbungen wurden ebenfalls von Fabiana Tanganelli durchgeführt.

3.4.3.1 Eosin-Hämatoxylin Färbung (HE)

Die bekannteste und wichtigste Färbung ist die Eosin-Hämatoxylin Färbung (HE). Sie beruht auf verschiedenen pH-Werten der unterschiedlichen Zellkompartimente. Saure Organellen (Nukleus, Ribosomen, säurehaltige Bestandteile) färben sich bläulich durch den basischen Stoff Hämatoxylin, basische Komponenten (Zytoplasma, Muskel- und Bindegewebe) färben sich rötlich durch den sauren Stoff Eosin. Mittels dieser Färbung wurden die allgemeine Struktur und die Zellorganellen der Muskelschnitte dargestellt.

3.4.3.2 Immunhistochemie

Dazu wurden die bei -80°C gelagerten Kryoschnitte der Muskelbiopsien bei Raumtemperatur vorsichtig für 15 min aufgetaut. Anschließend wurden die Schnitte dreimal für 5 Minuten mit 1xTris-Buffered Saline (TBS) gewaschen und dann für 1 Stunde bei Raumtemperatur mit Blockierungslösung (1xTBS+0.1% Tween und 0.9% Fischgelatine) und schließlich über Nacht mit den primären Antikörpern inkubiert. Danach erfolgten weitere Waschschrte mit 1xTBS +0.1% und eine erneute Inkubation für 1 Stunde mit den sekundären Antikörpern. Im Anschluss an weitere Waschschrte mit 1xTBS wurden die Objektträger der Muskelschnitte mit Mountingmedium und Deckgläsern zur Auswertung bedeckt.

Folgende primäre Antikörper und Verdünnungen wurden für die immunhistochemischen Färbungen verwendet:

- anti-MHC slow (monoclonal mouse, M8421, Sigma-Aldrich, 1:3000)
- anti-MHC fast (monoclonal mouse, M4276, Sigma-Aldrich, 1:3000)

Als sekundäre Antikörper wurden Discovery™ Universal Secondary antibodies (anti-mouse Alexa Fluor plus 488 und anti-rabbit Alexa Fluor plus 594, beide Invitrogen, 1: 500) zusammen mit den Discovery™ Detection kits und der Ventana Discovery™ Staining Platform verwendet.

3.4.3.2 Immunfluoreszenz

Aus einem Teil der gewonnenen Muskelbiopsie erfolgte durch Lisa Baber die Anlegung einer Myoblasten-Kultur. Diese wurden für einen immunhistochemischen Assay zum Nachweis des **Proliferationsmarkers Ki67** verwendet und die Ergebnisse innerhalb der Arbeitsgruppe geteilt.

Die Myoblastenkulturen wurden zur immunhistochemischen Färbung dreimal mit 1xTBS für jeweils 5 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Rührer gewaschen und anschließend für 1 Stunde in Blockierungslösung (bestehend aus TBS/Tween 20% + 10% Fischgelatine) in einem Verhältnis von 10:1 inkubiert. Die Inkubation mit der primären Antikörperlösung (bestehend aus Ki67 (1:100

Donkey anti Rabbit IgG Alexa Fluor™ Plus 594, Invitrogen aufgelöst in Blockierungslösung) erfolgte über Nacht bei 4°C in einer Färbekammer. Am nächsten Tagen wurden die Myoblasten erneut dreimal für je 5 Minuten mit TBS/Tween 20% gewaschen. Im Anschluss erfolgte die Inkubation für 1 Stunde mit der sekundären Antikörperlösung (bestehend aus 1:500 Donkey anti-Mouse IgG [H+L] Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor Plus 594 aufgelöst in Blockierungslösung). Nach weiteren 4 Waschschrinen mit je zweimal TBS/Tween 20% und 1xTBS, wurden die Objektträger mit 30 µl Mounting Medium bestehend aus DAPI (Vectashield) bedeckt und für 15 Minuten in einer Dunkelkammer bei Raumtemperatur inkubiert und im Anschluss ausgewertet.

Zum Nachweis einer stattgehabten Denervation von Muskelfasern erfolgte durch Fabiana Tanganelli eine Immunfluoreszenzfärbung der Kryoschnitte zum Nachweis des **Neural cell adhesion molecule (NCAM)**, einem histologischen Marker für Denervation. Nach vorsichtigem Auftauen der bei -80°C gelagerten Muskelschnittpräparate bei Raumtemperatur und Waschschrinen mit 1xTBS und Blockierungslösung (1xTBS+0.1% Tween und 0.9% Fischgelatine) erfolgte über Nacht die Inkubation mit den primären Antikörpern. Nach weiteren Waschschrinen mit 1xTBS +0.1% erfolgte die Inkubation mit den sekundären Antikörpern für eine Stunde. Im Anschluss an zwei weitere Waschschrine mit TBS_t 0.1% wurden die Objektträger der Muskelschnitte mit Mountingmedium für Fluoreszenz (DAPI, Vector Laboratories, Inc. Burlingame, CA 94010) bedeckt.

Folgende primäre Antikörper und Verdünnungen wurden für die Immunfluoreszenz verwendet:

- anti-MHC slow (monoclonal mouse, M8421, Sigma-Aldrich, 1:600)
- anti-MHC fast (polyclonal rabbit, ab91506, Abcam, 1:500)
- anti-NCAM (polyclonal rabbit, ab5032, Millipore Sigma, 1:100)

Als sekundäre Antikörper wurden anti-mouse Alexa Fluor plus 488 und anti-rabbit Alexa Fluor plus 594, beide Invitrogen, 1: 500 (Discovery™ Universal Secondary antibodies) zusammen mit den Discovery™ Detection kits und der Ventana Discovery™ Staining Plattform verwendet.

Mit einem Immunfluoreszenz-Mikroskop (Olympus Fluoview FV1000 für Ki67 bzw. Zeiss Axiovert 200 M fluorescence microscope, Zeiss, Oberkochen, Deutschland, für NCAM), einem 20x Ölimmersions-Objektiv und der Software Olympus Fluoview (Version 4.2.a) wurden Bilder der Immunfluoreszenz-Färbungen akquiriert. Die optischen Felder wurden zufällig ausgewählt und ein Minimum von 100 Zellen (durchschnittlich 150 Zellen) ausgezählt. Dabei wurde der prozentuale Anteil von Ki67 exprimierenden Myoblasten bzw. NCAM exprimierenden Muskelfasern an allen vermessenen Zellen bestimmt (Ki67⁺ [%]; NCAM⁺ [%]).

Abbildung 6 zeigt beispielhaft die Immunfluoreszenz von Ki67 und NCAM einer Myoblastenkultur bzw. Muskelbiopsie.

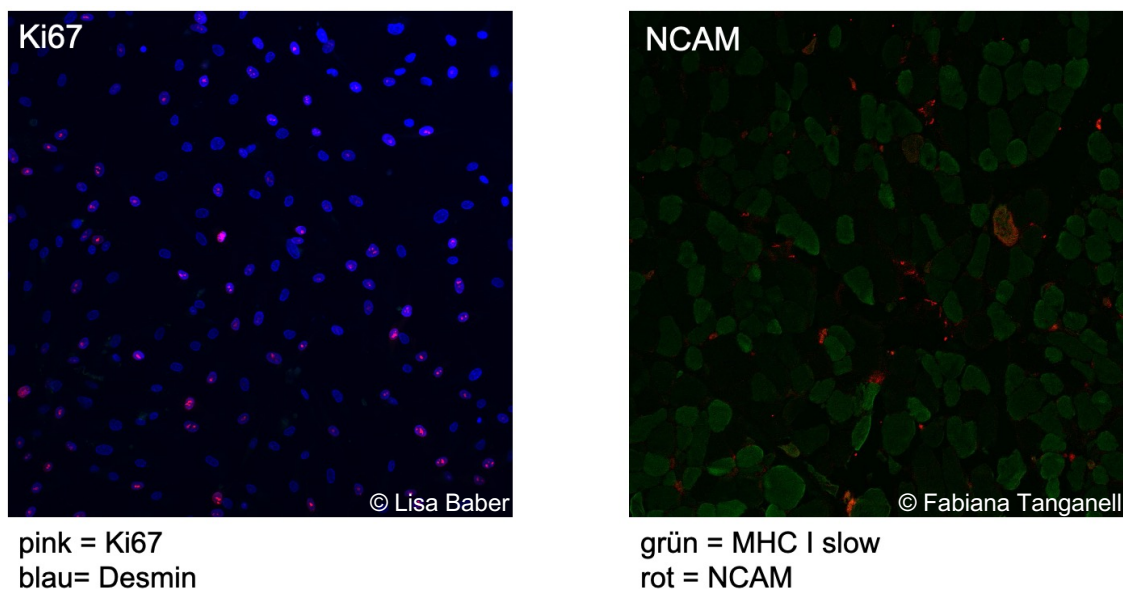


Abbildung 6: Immunfluoreszenz mit Ki67 und NCAM

3.4.4 Auswertung der Muskelbiopsie

Die histologische Auswertung der Schnitte erfolgte mit einem Mikroskop (CKX53 Olympus), ausgestattet mit einer UC90 Kamera (Olympus). Die optischen Felder wurden zufällig ausgewählt und ein Minimum von 100 Zellen (durchschnittlich 150 Zellen) ausgezählt. Dazu wurde die Software Image J verwendet.

Von mindestens 100 Muskelfasern wurden anhand der immunhistochemischen Färbungen der Anteil und Durchmesser der verschiedenen Muskelfasern, getrennt nach Expressionsmuster von MHC-Slow (Muskelfasern Typ I) und MHC-Fast (Muskelfasern Typ II), gemessen (Durchmesser FT 1 / FT 2, Anteil Typ I / II Fasern [%]). Zur Vermessung des Faserdurchmessers wurde sich am von Dubowitz et al. (47) veröffentlichten Verfahren der Messung des „lesser diameter“ (Messung des maximalen Durchmesser am kleinsten Anteil der Muskelfaser) orientiert, welches mögliche Messverfälschungen durch eine schräge Schnittführung der Biopsie ausgleichen soll. Anschließend wurde der prozentuale Anteil der Typ I bzw. Typ II Muskelfasern, sowie der Anteil der MHC I und MHC II coexprimierenden Fasern, der Mixed fibers (MFT [%]), an allen vermessenen Fasern bestimmt (FT 1 [%] bzw. FT 2 [%] bzw. MFT [%]) = $\frac{\text{Anzahl FT 1 bzw. FT 2 bzw. MFT}}{N \text{ vermessene Muskelfasern}}$). Zur quantitativen Einschätzung der Variabilität der Muskelfaser-Durchmesser, wurden ein Atrophie-Faktor (AF) und ein Hypertrophie-Faktor (HF) nach Brooke und Engel (117) errechnet. Der Atrophie-Faktor errechnet sich aus $AF = \frac{1a+2b+3c+4d}{N_{total}} \times 1000$ (mit a=Anzahl Muskelfasern mit Durchmesser zwischen 30 und 40µm; b = Anzahl Muskelfasern mit Durchmesser zwischen 20 und 30µm; c = Anzahl Muskelfasern mit Durchmesser zwischen 10 und 20µm; d = Anzahl Muskelfasern mit Durchmesser kleiner 10µm; N_{total} = Gesamtanzahl der Fasern) und ist somit ein Produkt aus gewichtet gewerteten Faserdurchmessern geteilt zur Anzahl der Gesamtanzahl an Fasern x 1000. Der Hypertrophie-Faktor quantifiziert den Anteil der Muskelfasern mit einem Durchmesser >80 µm (Männer) bzw. >70µm (Frauen) in Relation zur Gesamtanzahl der Fasern und errechnet sich mit der Formel $HF = \frac{N_{>80\mu m} \text{ bzw. } N_{>70\mu m}}{N_{total}} \times 1000$. Zur weiteren Klassifizierung wurden fasertypspezifische Atrophie- und Hypertrophiefaktoren errechnet (AF FT 1=Atrophiefaktor Typ I Fasern; AF FT=Atrophiefaktor Typ II Fasern; HF FT 1=Hypertrophiefaktor Typ I Fasern; HF FT2=Hypertrophiefaktor Typ II Fasern). Als Cut-offs wurden die von Dubowitz et al. vorgeschlagenen Grenzwerte verwendet (47). Tabelle 2 zeigt durchschnittliche Werte von

Durchmesser und Anzahl der Muskelfasern für Biopsien aus dem Musculus vastus lateralis von gesunden Erwachsenen.

Tabelle 2: Referenzwerte für durchschnittliche Durchmesser und prozentualen Anteil von Muskelfasern Typ I und II im Musculus vastus lateralis gesunder Erwachsener nach Dubowitz et al. (47)

| | <u>Typ I Fasern</u> | | <u>Typ II Fasern</u> | |
|--------------------------------|---------------------|--------|----------------------|--------|
| | Männer | Frauen | Männer | Frauen |
| <i>Durchmesser Fasern [µm]</i> | 61 | 53 | 62-69 | 42-52 |
| <i>Anteil Fasern [%]</i> | 36 | 39 | 64 | 61 |

Errechnete Atrophie- und Hypertrophiefaktoren aus Biopsien aus dem Musculus vastus lateralis von gesunden Erwachsenen, welche oberhalb der in Tabelle 3 gezeigten Grenzwerte liegen, sprechen für vermehrte Atrophie bzw. Hypertrophie im untersuchten Muskel.

Tabelle 3: Referenzwerte für Atrophie- und Hypertrophiefaktoren im Musculus vastus lateralis gesunder Erwachsener nach Dubowitz et al. (47)

| | AF FT1 | HF FT1 | AF FT2 | HF FT2 |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| <i>Frauen</i> | 100 | 400 | 200 | 150 |
| <i>Männer</i> | 150 | 150 | 150 | 400 |

Abbildung 7 zeigt beispielhaft eine immunhistochemische Färbung einer Muskelbiopsie mit MHC slow und fast sowie die Messung der Faserdurchmesser beider Fasertypen.

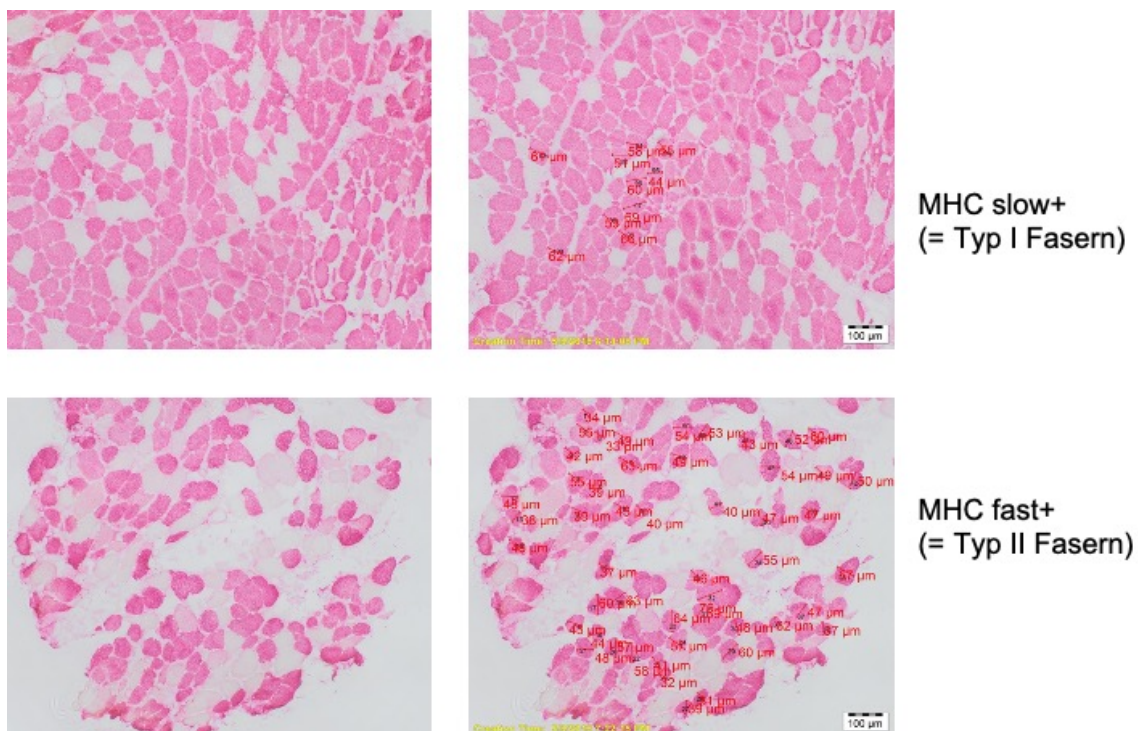


Abbildung 7: Beispiel einer immunhistochemischen Färbung einer Muskelbiopsie sowie Messung des Faserdurchmessers

3.5 Bestimmung der Hormonkonzentrationen im Serum

Während dem postoperativen stationären Aufenthalt erfolgte spätestens am dritten postoperativen Tag eine venöse Blutentnahme von ca. 20ml aus der Vena mediana cubiti in zwei Serum-A Röhrchen. Diese wurden innerhalb von vier Stunden bei 2000 Umdrehungen bei +4°C für 10 min zentrifugiert (Zentrifuge 5417, 5417R (Eppendorf, Hamburg, Deutschland)), woraus eine Auftrennung der Blutbestandteile in Serum und zelluläre Bestandteile resultierte. Das so gewonnene Serum wurde bei -20°C bis zur weiteren Verwendung gelagert.

Aus den Serumproben der Probanden wurde im Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV des Klinikums der Universität München das Hormonprofil bestimmt. Dies beinhaltete die Messung folgender Hormone:

Growth Hormone (GH), Growth Hormone Binding Protein (GHBP), Insulin-like Growth Faktor I (IGF-I), Insulin-like-Growth-Faktor-I Binding Protein 3 (IGFBP-3) und Acid labile Subunit (ALS). Die Messung von ALS und GHBP erfolgte mittels doppelter Messung eines Sandwich-Type Immunofluorometrischen Assay (IFMA) anhand gegen spezifische N- und C-terminale Oligopeptide gerichteter monoklonaler Antikörper (118). Zur Kalibrierung wurden Serumproben aus einem Pool von gesunden männlichen Freiwilligen benutzt und als 1000 U/L kalibriert. Der Messbereich liegt zwischen 100 – 1500 mU/ml, die Intra- und Inter-Assay-Variationskoeffizienten waren kleiner als 9%. Die restlichen Hormone wurden mittels iSYS-Analyser (einem automatisiertem Chemilumineszenz-Immunoassay der Firma Immunodiagnostic System (IDS) Ltd, Boldon, England UK) bestimmt. Für Methodik, Validierungsdaten und Referenzintervalle sei auf frühere Publikationen verwiesen (119,120). Die Assays wurden anhand der letzten rekombinanten Standards (98/574 für GH und 02/254 für IGF-I) kalibriert.

Als Cut-Off Werte wurden die Referenzbereiche des LMU Labors der jeweiligen Altersgruppen und getrennt nach Geschlecht angewendet (121):

Tabelle 4: Referenzwerte der Hormonkonzentrationen im Serum

| Hormon | Frauen | Männer | Quelle der Referenzwerte |
|----------------|---|-------------------|---------------------------------|
| GH | Aufgrund pulsatiler Sekretion keine Referenzwertangaben | | |
| GHBP | 536 - 3634 mU/mL | 536 - 3634 mU/mL | (121) |
| IGF-I | 33 - 174 ng/ml | 33 – 167 ng/ml | (119) |
| IGFBP-3 | 1917 - 5528 ng/ml | 1604 – 5053 ng/ml | (120) |
| ALS | 277 - 940 mU/mL | 277 - 940 mU/mL | (121) |

3.6 Statistik

Zur Auswertung der Daten wurde die Kohorte nach Geschlecht, nach einer pathologischen MUNIX-Messung (MUNIX <80, nach Nandedkar et al. (116)) in eine Gruppe mit reduzierten (MUNIX <80) und eine Gruppe mit normalen MUNIX-Werten (MUNIX>80), sowie nach einer reduzierten Serumkonzentration von IGF-I (IGF-I <33 ng/ml (119)) in eine Gruppe mit Serumkonzentrationen unterhalb oder oberhalb des Referenzwertes von 33ng/ml aufgeteilt. Zur statistischen Auswertung der Daten wurde die Software SPSS Version 26 (IBM-SPSS Inc., Chicago, IL, USA) verwendet. Berechnet wurden Mittelwerte mit Standardabweichung der klinischen und histologischen Parameter, der MUNIX-Messung sowie der Hormonlevels im Serum. Mittels Students t-Test bei normalverteilten bzw. Chi² Test oder Exakter Test nach Fisher bei nominal verteilten Variablen wurden Mittelwerte auf signifikante Unterschiede getestet. Korrelationen der einzelnen Parameter zueinander wurden als Pearson's Korrelationskoeffizienten r dargestellt. Mittels linearer Regressionsrechnungen erfolgte für die ausgewählten Parameter z-Score Sarkopenie, MUNIX, IGF-I, Durchmesser FT2 und AF FT2, NCAM und Ki67 eine Stratifizierung nach Geschlecht und Alter. Die linearen Regressionskoeffizienten wurden als β dargestellt. Für alle Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von 5% ($p < 0.05$) festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum von November 2017 bis März 2019 wurden insgesamt 42 Probanden für die Studie NEUSARC rekrutiert. Von diesen 42 konnte jedoch nur von 31 Probanden (20 Frauen, 11 Männer) eine Blutabnahme zur Bestimmung des Hormonprofils gewonnen werden. Bei 29 dieser 31 Probanden konnten alle studienbezogenen Untersuchungen durchgeführt werden, lediglich 2 Patienten lehnten die MUNIX-Messungen schmerzbedingt ab. Da sich die Fragestellungen auf endokrine und neurogene pathogene Faktoren der Sarkopenie beziehen, wurden nur die 31 Probanden, bei denen auch eine Blutprobe vorhanden war, in die Analysen eingeschlossen.

4.1.1 Demographische Parameter und Sarkopenie-Parameter der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht

Die 31 Probanden teilten sich in 11 Männer (35.5%) und 20 Frauen (64.5%) auf. Tabelle 5 zeigt die demographischen Charakteristika und Mittelwerte der Messergebnisse der Sarkopeniediagnostik der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht.

Tabelle 5: Demographische und Sarkopenie-Parameter der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht

| | Gesamt (n=31) | Männer (n=11) | Frauen (n=20) | p-Wert |
|---|-----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Alter [Jahre] | 80.6 (7.4) | 82.5 (5.2) | 79.6 (8.4) | 0.306 |
| Handkraft [kg] (% reduziert) | 23.2 (8.9) (41.9%) | 27.8 (10.6) (35.0%) | 20.6 (6.9) (54.5%) | 0.030 0.291 ¹ |
| SMI [kg/m ²] (% reduziert) | 6.9 (1.2) (16.1) | 7.3 (1.3) (27.3) | 6.7 (1.2) (10.0) | 0.163 0.317 ² |
| z-Score Sarkopenie | -1.2 (1.8) | -0.3 (1.9) | -1.7 (1.6) | 0.040 |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Chi² Test, ²Exakter Test nach Fisher

Im Durchschnitt waren die Probanden 80.6 (\pm 7.4) Jahre alt (Frauen 79.6 \pm 8.4 Jahre, Männer 82.5 \pm 5.2 Jahre). Ein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern fand sich in der gemessenen Handkraft ($p = 0.030$) sowie für den Sarkopeniegrad anhand des z-Score Sarkopenie ($p = 0.040$). So waren die Männer zum Zeitpunkt des Sturzes signifikant sarkopener als die Frauen, welche wiederum eine signifikant niedrigere Handkraft zeigten als die Männer, wobei 54.5% der Frauen auch eine Handkraft unterhalb des Referenzwertes zeigten. Insgesamt wurde bei 41.9% der Probanden eine reduzierte Handkraft unterhalb des Cut-Off Wertes gemessen. Eine reduzierte Muskelmasse (SMI) wurde bei 16.1% aller Probanden diagnostiziert, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern.

Nach Anwendung der Kriterien der EWGSOPII wurden 4 Probanden (12.9%) aufgrund verminderter Muskelmasse und verminderter Handkraft als sarkopen diagnostiziert, darunter je 2 Männer und 2 Frauen. 9 weitere Probanden (29.0%) erfüllten nur das Kriterium einer verminderten Handkraft und wurden daher als wahrscheinlich sarkopen diagnostiziert. 18 Probanden (58.1%) hatten weder eine verminderte Muskelmasse noch eine verminderte Muskelkraft und wurden somit als nicht sarkopen klassifiziert.

4.1.2 MUNIX-Messung

Zwei Probanden (ein Mann, eine Frau) brachen die MUNIX-Messung schmerzbedingt ab, daher lagen nur von 29 Probanden Messdaten vor. Innerhalb der gesamten Kohorte hatten 13 Probanden (7 Männer, 6 Frauen) reduzierte MUNIX-Werte unterhalb des definierten Grenzwertes von 80 (Tab. 6).

Tabelle 6: Ergebnisse der MUNIX Messung der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht

| | Gesamt (n=29) | Männer (n=10) | Frauen (n=19) | p-Wert |
|------------------|------------------|------------------|------------------|--------------------|
| MUNIX | 94.6 (42.6) | 71.6 (32.7) | 106.7 (42.9) | 0.032 |
| (n<80; (%)) | 13 (44.8) | 7 (70.0) | 6 (31.6) | 0.064 ¹ |
| MUSIX [μ V] | 87.1 (35.4) | 106.4 (51.3) | 76.9 (17.9) | 0.030 |
| (n>100; (%)) | 7 (24.1) | 4 (40.0) | 3 (15.8) | 0.193 ¹ |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Chi² Test

Der durchschnittliche MUNIX-Wert der gesamten Kohorte (94.6 ± 42.6) lag nicht unter dem Cut-Off von 80. Die gemessenen mittleren MUNIX-Werte der Männer waren signifikant niedriger als die der Frauen ($p = 0.032$). Von 29 Probanden wurde bei 7 Probanden (24.1%, 4 Männer und 3 Frauen) erhöhte MUSIX-Werte oberhalb des Cut-Offs von 100 μ V gemessen. Die männlichen Probanden zeigten signifikant höhere MUSIX-Werte als die weiblichen Probanden ($p = 0.030$).

4.1.3 Histologie

Aufgrund von Lagerungsfehlern oder zu wenig vorhandenem Material der Muskelbiopsien konnten nicht alle histologischen Parameter an allen 31 Muskelbiopsien vollständig ausgewertet werden.

Tabelle 7 zeigt die gemessenen histologischen Parameter der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht.

Tabelle 7: Histologische Parameter der Gesamtkohorte und getrennt nach Geschlecht

| | Gesamt (n=31) | Männer (n=11) | Frauen (n=20) | p-Wert |
|---|----------------------------|---------------------------|---------------------------|--|
| Durchmesser Typ I Fasern [µm] | 64.2 (17.3) | 62.5 (14.2) | 65.2 (19.2) | 0.692 |
| Durchmesser Typ II Fasern [µm] | 46.5 (10.6) | 50.7 (12.4) | 43.7 (8.6) | 0.091 |
| Anteil Typ I Fasern [%] | 62.8 (19.9) | 62.3 (16.0) | 63.0 (22.3) | 0.922 |
| Anteil Typ II Fasern [%] | 28.9 (15.3) | 29.1 (14.0) | 28.9 (16.3) | 0.970 |
| Anteil Mixed fibers [%] | 8.3 (11.2) | 8.6 (10.9) | 8.1 (11.6) | 0.901 |
| Hypertrophiefaktor Typ I (n über Cut-Off [%]) | 531.2 (751.7) 15 (48.4) | 336.3 (496.5) 6 (54.5) | 650.3 (863.8) 9 (45.0) | 0.283 0.611 ¹ |
| Hypertrophiefaktor Typ II (n über Cut-Off [%]) | 95.2 (199.7) 3 (9.7) | 137.3 (293.9) 1 (9.1) | 67.9 (106.1) 2 (10.0) | 0.379 0.935 ¹ |
| Atrophiefaktor Typ I (n über Cut-Off [%]) | 52.9 (113.2) 2 (6.5) | 122.9 (163.3) 2 (18.2) | 10.1 (17.7) 0 (0.0) | 0.007 0.049¹ |
| Atrophiefaktor Typ II (n über Cut-Off [%]) | 256.4 (304.2) 13 (41.9) | 385.5 (421.9) 8 (72.7) | 172.8 (161.2) 5 (25.0) | 0.070 0.010¹ |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Chi² Test

Die durchschnittlichen Faserdurchmesser der Typ I und Typ II Muskelfasern der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht wichen nicht wesentlich von Referenzwerten gesunder Erwachsener ab. Der prozentuale Anteil der Muskelfasern Typ I an allen Fasern war sowohl bei den Männern (62.3 ± 16.0%) als auch bei den Frauen (63.0 ± 22.3%) deutlich gegenüber den Referenzwerten (Männer: 36%, Frauen: 39%) erhöht, während der Anteil der Typ II Muskelfasern dagegen bei beiden Geschlechtern (Männer 29.1 ± 14.0%, Frauen 28.9 ± 16.3%) im Vergleich zu gesundem Referenzmuskel reduziert war. Das Verhältnis der beiden Fasertypen (Typ I : Typ II) betrug 2:1. Durchschnittlich zeigte sich bei beiden Geschlechtern ein Anteil der Mixed fibers von knapp 8%. Bei 54.5% der Männer und 45.0% der Frauen wurde ein Hypertrophiefaktor der Typ I Fasern oberhalb der Grenzwerte errechnet. Der Hypertrophiefaktor der Typ II Fasern lag nur bei 9.7% der Gesamtkohorte oberhalb der Cut-Off Werte. Die absoluten Werte der Hypertrophiefaktoren Typ I und II unterschieden sich nicht signifikant

zwischen Männern und Frauen. Ein erhöhter Atrophiefaktor der Typ I Muskelfasern wurde nur bei zwei der 31 Probanden (6.5%, 2 Männer) errechnet, der Atrophiefaktor Typ II lag dagegen bei 13 Probanden (41.9%, 8 Männer, 5 Frauen oberhalb der Referenzwerte. Die männlichen Probanden hatten signifikant höhere Atrophiefaktoren der Typ I und II Fasern.

4.1.4 Immunfluoreszenz Färbungen für Ki67 und NCAM

Die Immunfluoreszenz-Färbungen mit Antikörpern gegen Ki67 und NCAM gelang aufgrund unzureichender Antikörperbindung für Ki67 nur bei 29 der 31 Biopsien und für NCAM nur bei 30 von 31 Biopsien.

In den Myoblastenkulturen aller Muskelproben wurde durchschnittlich eine Expression von Ki67 in 48.6% (\pm 17.9%) der Myoblasten gemessen, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern. Eine Expression von NCAM wurde nur in 12 von 31 untersuchten Muskelbiopsien registriert. Im Durchschnitt wurde in 1.1% der Muskelfasern dieser Biopsien eine Expression von NCAM gemessen, welche sich ebenfalls nicht zwischen den Geschlechtern unterschied (Tab.8).

Tabelle 8: Ki67 bzw. NCAM Expression gesamt und getrennt nach Geschlecht

| | Gesamt (n=31) | Männer (n=11) | Frauen (n=20) | p-Wert |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|--------|
| Ki67+ Myoblasten [%] | 48.6 (17.9) | 46.3 (18.0) | 50.0 (18.2) | 0.600 |
| NCAM+ Fasern [%] | 1.1 (1.6) | 1.0 (1.2) | 1.1 (1.8) | 0.797 |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, += positiv

4.1.5 Hormonkonzentrationen

Tabelle 9 listet die gemessenen Konzentrationen der Hormone GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3, ALS im Serum der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht auf.

Tabelle 9: Serumkonzentrationen der Hormone GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3, ALS der Gesamtkohorte sowie getrennt nach Geschlecht

| | Gesamt (n=31) | Männer (n=11) | Frauen (n=20) | p-Wert |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| GH [ng/ml] | 1.2 (1.9) | 2.1 (3.0) | 0.8 (0.7) | 0.073 |
| GHBP [pM] | 801.3 (443.9) | 569.0 (356.0) | 929.0 (442.8) | 0.028 |
| (n unter Cut-Off; [%]) | 11 (35.5) | 7 (63.6) | 4 (20.0) | 0.023¹ |
| IGF-I [ng/ml] | 64.1 (25.6) | 57.5 (26.7) | 67.8 (25.0) | 0.296 |
| (n unter Cut-Off; [%]) | 5 (16.1) | 3 (27.3) | 2 (10.0) | 0.317 ¹ |
| IGFBP-3 [ng/ml] | 1576.8 (544.4) | 1299.9 (446.3) | 1729.0 (542.4) | 0.033 |
| (n unter Cut-Off; [%]) | 24 (77.4) | 9 (81.8) | 15 (75.0) | 1.000 ¹ |
| ALS [mU/ml] | 258.9 (130.8) | 182.1 (104.2) | 301.2 (126.4) | 0.013 |
| (n unter Cut-Off; [%]) | 18 (58.1) | 9 (81.8) | 9 (45.0) | 0.066 ¹ |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Exakter Test nach Fisher

In der Gesamtkohorte lagen die durchschnittlich gemessenen Konzentrationen im Serum von GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS nicht unterhalb der Referenzwerte. Die Serumkonzentrationen von GHBP lagen bei 35.5% der Probanden unterhalb der Referenzwerte, für IGF-I bei 16.1%, für IGFBP-3 bei 77.4% sowie für ALS bei 58.1% aller Probanden. Bei getrennter Betrachtung nach Geschlechtern zeigten sich signifikant niedrigere Konzentrationen für GHBP ($p = 0.028$), ALS ($p = 0.013$) und IGFBP-3 ($p = 0.033$) bei den Männern. Die IGF-I Konzentrationen unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Geschlechtern.

4.2 Stratifizierung der Kohorte nach MUNIX Messung

Die Kohorte wurde für die weiteren Analysen anhand einer pathologischen MUNIX-Messung in eine Gruppe mit reduzierten MUNIX-Werten (MUNIX <80) sowie eine Gruppe mit normalen MUNIX-Werten (MUNIX >80) aufgeteilt.

Tabelle 10 zeigt die demographischen Charakteristika und Ergebnisse der Sarkopeniediagnostik dieser Subgruppen.

Tabelle 10: Demographische und klinische Parameter der Subgruppen aufgeteilt nach MUNIX

| | MUNIX <80 (n=13) | MUNIX >80 (n=16) | p-Wert |
|---|----------------------|----------------------|-----------------------------------|
| Alter [Jahre] | 83.3 (5.2) | 77.8 (8.2) | 0.043 |
| Geschlecht weiblich, n [%] | 6 (46.2) | 13 (81.3) | 0.048¹ |
| Handkraft [kg] (% reduziert) | 21.8 (8.6) (69.2) | 24.1 (8.0) (22.2) | 0.463 0.018¹ |
| SMI [kg/m ²] (% reduziert) | 6.9 (1.1) (23.1) | 6.7 (1.3) (11.1) | 0.655 0.453 ¹ |
| z-Score Sarkopenie | -0.5 (1.2) | -1.7 (2.1) | 0.079 |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Chi² Test

Probanden mit pathologischen MUNIX Werten waren signifikant älter als Probanden mit normalen MUNIX Werten (p = 0.043). Es zeigten signifikant mehr Männer als Frauen reduzierte MUNIX Werte. Der Anteil der Probanden mit einer reduzierten Handkraft (69.2%) war signifikant (p = 0.018) höher in der Gruppe der Probanden mit pathologischen MUNIX-Werten als in der Kontrollgruppe (22.2%). Die absolut gemessenen Werten der Handkraft unterschieden sich jedoch nicht signifikant (p = 0.463). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Muskelmasse (SMI; p = 0.655). Zudem erschienen Probanden mit reduzierten MUNIX-Werten anhand des z-Scores Sarkopenie sarkopener, wenngleich dieser Trend nicht signifikant war (p = 0.079).

Tabelle 11 fasst die histologischen Parameter beider Subgruppen zusammen.

Tabelle 11: Histologische Parameter getrennt nach MUNIX Werten

| | MUNIX <80 (n=13) | MUNIX >80 (n=16) | p-Wert |
|--------------------------------|---------------------|---------------------|--------|
| Durchmesser Typ I Fasern [µm] | 63.6 (14.3) | 65.5 (20.7) | 0.794 |
| Durchmesser Typ II Fasern [µm] | 48.6 (11.2) | 44.3 (10.1) | 0.313 |
| Anteil Typ I Fasern [%] | 59.4 (15.7) | 63.4 (22.8) | 0.607 |
| Anteil Typ II Fasern [%] | 32.6 (12.8) | 27.4 (16.9) | 0.385 |

| | | | |
|--|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Anteil Mixed fibers [%] | 8.0 (10.7) | 9.2 (12.3) | 0.794 |
| Hypertrophiefaktor Typ I Fasern (n über Cut-Off [%]) | 479.3 (527.4) 6 (46.2) | 617.4 (940.5) 9 (56.3) | 0.654 0.588 ¹ |
| Hypertrophiefaktor Typ II Fasern (n über Cut-Off [%]) | 135.6 (281.9) 2 (15.4) | 65.8 (112.3) 1 (6.3) | 0.402 0.422 ¹ |
| Atrophiefaktor Typ I Fasern (n über Cut-Off [%]) | 84.1 (167.4) 2 (15.4) | 29.8 (45.3) 0 (0.0) | 0.238 0.104 ¹ |
| Atrophiefaktor Typ II Fasern (n über Cut-Off [%]) | 243.8 (188.7) 6 (46.2) | 279.6 (400.0) 7 (43.8) | 0.729 0.897 ¹ |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, ¹Chi² Test

Nach Betrachtung der Kohorte getrennt nach MUNIX Werten ober- bzw. unterhalb des Grenzwertes von 80, lagen die durchschnittlichen Durchmesser der Typ I und Typ II Muskelfasern ebenfalls im Normbereich von gesunden Erwachsenen (Tab.11). Das prozentuale Verhältnis von Typ I zu Typ II Fasern betrug in beiden Gruppen 2:1. Der prozentuale Anteil der Typ I Fasern war in beiden Subgruppen (59.4% bei MUNIX <80, 63.4% bei MUNIX >80) in etwa doppelt so hoch verglichen mit Referenzwerten aus gesunden Muskeln. Der prozentuale Anteil der Typ II Fasern war in beiden Gruppen entsprechend halb so hoch (32.6% bzw. 27.4%). Der prozentuale Anteil an Mixed fibers unterschied sich in den beiden Gruppen nicht. In jeweils der Hälfte der Probanden beider Gruppen wurde eine vermehrte Typ I Hypertrophie beobachtet (46.2 % bzw. 56.3 % der HF FT1 oberhalb des Cut-Offs). Lediglich zwei Probanden mit reduzierten MUNIX Werten und ein Proband mit normalem MUNIX Wert präsentierten eine vermehrte Hypertrophie der Typ II Muskelfasern, ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Eine Atrophie der Typ I Fasern (erhöhter AF FT1) wurde nur bei zwei Probanden (15.4%) aus der Gruppe mit reduzierten MUNIX Werten beobachtet. Die Atrophiefaktoren der Typ II Muskelfasern lagen wiederum bei knapp der Hälfte der Probanden beider Gruppen (46.2 % bzw. 43.8 %) oberhalb des Cut-Offs. Insgesamt ergaben sich keine signifikanten Unterschiede in der Histologie der Muskelbiopsien der Probanden mit normalen und reduzierten MUNIX-Werten.

Die gemessene durchschnittliche Expression von Ki67 und NCAM in den Myoblasten bzw. Muskelfasern war bei Probanden mit reduzierten MUNIX-Werten in absoluten Zahlen geringer als in der Kontrollgruppe, jedoch war der Unterschied nicht signifikant (Tab. 12).

Tabelle 12: Ki67 bzw. NCAM Expression innerhalb der Gruppen getrennt nach MUNIX Werten

| | MUNIX <80 (n=13) | MUNIX >80 (n=16) | p-Wert |
|----------------------|---------------------|---------------------|--------|
| Ki67+ Myoblasten [%] | 42.4 (13.6) | 53.7 (20.1) | 0.118 |
| NCAM+ Fasern [%] | 0.9 (1.2) | 1.3 (1.8) | 0.480 |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, += positiv

Innerhalb der Gruppe der Probanden mit reduzierten MUNIX-Werten fielen konstant und signifikant reduzierte Konzentrationen der Hormone GHBP, ALS, IGF-I und IGFBP-3 im Vergleich zur Kontrollgruppe auf (Tab. 13), wenngleich nur die durchschnittlichen Konzentrationen von IGFBP-3 und ALS unterhalb der Referenzwerte lagen.

Tabelle 13: Serumkonzentrationen von GH, GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS der Subgruppen getrennt nach MUNIX Werten

| | MUNIX <80 (n=13) | MUNIX >80 (n=16) | p-Wert |
|-----------------|---------------------|---------------------|--------------|
| GH [ng/ml] | 1.7 (2.7) | 0.6 (0.6) | 0.117 |
| GHBP [pM] | 626.0 (322.9) | 979.3 (487.8) | 0.034 |
| IGF-I [ng/ml] | 52.8 (21.9) | 71.9 (26.4) | 0.047 |
| IGFBP-3 [ng/ml] | 1322.7 (495.1) | 1816.1 (519.7) | 0.015 |
| ALS [mU/ml] | 196.4 (106.4) | 315.3 (134.4) | 0.015 |

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl

4.3 Stratifizierung der Kohorte nach IGF-I Serumkonzentration

Die Kohorte wurde für die weiteren Analysen außerdem anhand des Referenzwertes des LMU Labors der IGF-I Konzentration im Serum in eine Gruppe mit reduzierten IGF-I Serumkonzentrationen (IGF-I <33 ng/ml, 5 Probanden) sowie eine Gruppe mit normalen IGF-I Serumkonzentrationen (IGF-I >33 ng/ml, 26 Probanden) aufgeteilt. In Tabelle 14 sind alle gemessenen Parameter aufgelistet.

Tabelle 14: Demographische und histologische Parameter, MUNIX-Messung und Immunhistochemie stratifiziert nach Serumkonzentration von IGF-I

| | IGF-I <33 ng/ml (n=5) | IGF-I >33 ng/ml (n=26) | p-Wert |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------|
| Alter [Jahre] | 84.8 (1.5) | 79.8 (7.9) | 0.170 |
| Handkraft [kg] | 22.4 (10.3) | 23.3 (8.9) | 0.829 |
| SMI [kg/m ²] | 6.6 (1.7) | 7.0 (1.2) | 0.494 |
| z-Score Sarkopenie | -0.2 (2.4) | -1.4 (1.6) | 0.178 |
| MUNIX | 69.1 (11.6) | 100.0 (44.9) | 0.144 |
| MUSIX [μV] | 94.7 (17.6) | 85.5 (38.2) | 0.603 |
| Durchmesser Typ I Fasern [μm] | 70.0 (63.0) | 63.0 (17.7) | 0.416 |
| Durchmesser Typ II Fasern [μm] | 48.6 (18.1) | 46.0 (8.8) | 0.630 |
| Anteil Typ I Fasern [%] | 50.8 (10.0) | 65.1 (20.7) | 0.144 |
| Anteil Typ II Fasern [%] | 44.2 (9.9) | 25.9 (14.4) | 0.012 |
| Anteil Mixed fibers [%] | 5.0 (6.4) | 9.0 (11.9) | 0.480 |
| Hypertrophiefaktor Typ I Fasern | 699.1 (690.5) | 496.3 (773.1) | 0.592 |
| Hypertrophiefaktor Typ II Fasern | 236.6 (425.7) | 65.8 (112.3) | 0.080 |
| Atrophiefaktor Typ I Fasern | 29.0 (55.8) | 57.9 (122.1) | 0.612 |
| Atrophiefaktor Typ II Fasern | 508.9 (630.0) | 201.5 (154.1) | 0.038 |
| Ki67+ Myoblasten [%] | 41.1 (5.1) | 50.1 (19.2) | 0.311 |

| | | | |
|------------------|-----------|-----------|-------|
| NCAM+ Fasern [%] | 0.6 (1.0) | 1.1 (1.6) | 0.523 |
|------------------|-----------|-----------|-------|

Mittelwert (Standardabweichung). n= Anzahl, += positiv

Innerhalb dieser Subgruppen fanden sich keine signifikanten demographischen Unterschiede im Alter oder Sarkopeniegrad (z-Score Sarkopenie), wengleich der z-Score Sarkopenie bei den Probanden mit reduzierten IGF-I Konzentrationen höher war und die Probanden somit sarkopener schienen. Die gemessenen durchschnittlichen MUNIX-Werte der Probanden mit reduzierten IGF-I Konzentrationen (69.1) waren zwar niedriger als die der Probanden mit IGF-I Konzentrationen oberhalb des Referenzwertes (80), jedoch war der Unterschied nicht signifikant ($p = 0.144$). Weiterhin zeigten sich keine wesentlichen signifikanten Unterschiede in den histologischen Parametern beider Subgruppen. Die Probanden mit reduzierten IGF-I Konzentrationen wiesen signifikant höhere Atrophiefaktoren der Typ II Fasern auf, bei ebenfalls signifikant höherem prozentualem Anteil der Typ II Muskelfasern (Tab. 14). In der Expression des Proliferationsmarkers Ki67 und des Denervationsmarkers NCAM fanden sich keine signifikanten Unterschiede in beiden Gruppen.

4.4 Korrelationen

Die folgenden Parameter wurden für weitere Analysen ausgewählt:

- z-Score Sarkopenie als Wert für den Schweregrad einer Sarkopenie
- MUNIX zur Bestimmung der Anzahl von motorischen Einheiten
- Serumkonzentrationen der Hormone der GH/IGF-I Achse
- Histologische Parameter (Durchmesser und Anteil der Fasertypen, Hypertrophie und Atrophiefaktoren)
- Proliferationsmarker Ki67 und Denervations-Reinnervationsmarker NCAM

4.4.1 z-Score Sarkopenie

Der z-Score Sarkopenie als Messwert zur Einschätzung des Schweregrades einer Sarkopenie korrelierte signifikant mit einem höheren Lebensalter ($r = 0.357$,

$p = 0.048$) (Abb. 8), dem männlichen Geschlecht ($r = 0.370$, $p = 0.040$) und erniedrigten MUNIX Werten ($r = -0.411$, $p = 0.027$) (siehe Abb. 11).

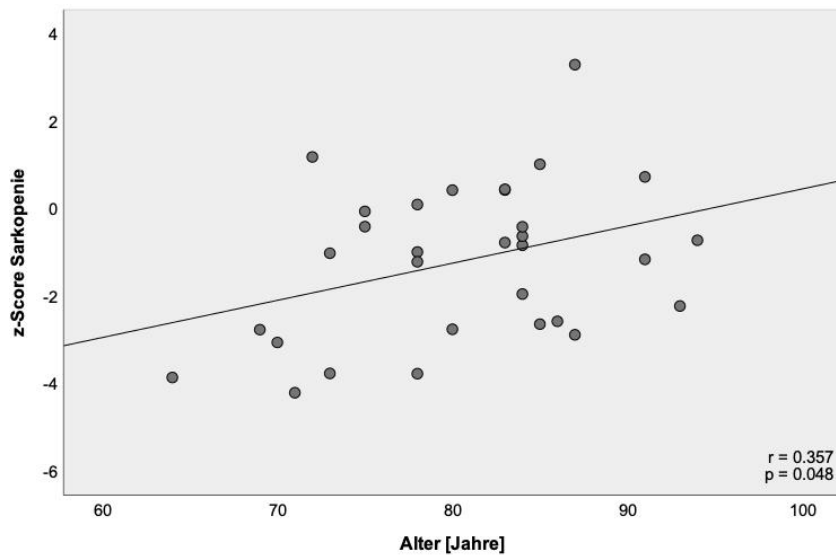


Abbildung 8: Korrelation des Alters und z-Score Sarkopenie

Ebenso korrelierten erniedrigte Konzentrationen der Hormone GHBP ($r = -0.466$, $p = 0.008$), IGF-I ($r = -0.360$, $p = 0.047$) und ALS ($r = -0.466$, $p = 0.008$) signifikant mit einem höheren Grad an Sarkopenie (Abb. 9). Für IGFBP-3 war der Trend ebenfalls darstellbar, jedoch statistisch nicht signifikant ($r = -0.343$, $p = 0.059$).

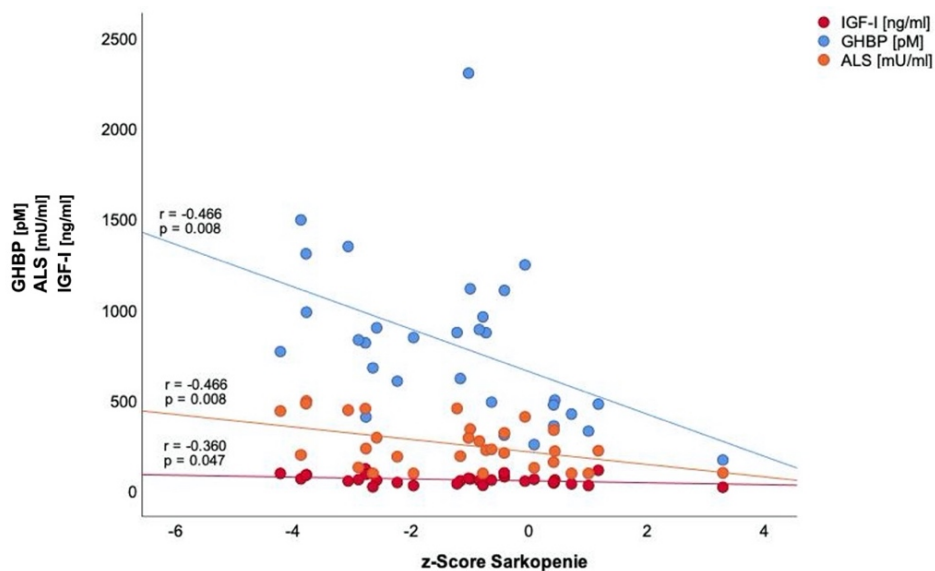


Abbildung 9: Korrelation des z-Score Sarkopenie mit den Hormonen GHBP, ALS, IGF-I

Außer dem Atrophiefaktor der Typ II Fasern (AF FT 2, $\beta = 0.531$, $p = 0.004$) zeigten keine der histologischen Parameter eine signifikante Korrelation zum Schweregrad der Sarkopenie. Nach Adjustierung nach Geschlecht und Alter bestand eine signifikante Korrelation zwischen dem Durchmesser der Typ II Muskelfasern ($\beta_3 = -0.397$, $p = 0.047$; siehe Tab. 15) und dem z-Score Sarkopenie.

Weiterhin waren positivere Werte des z-Score Sarkopenie (sarkopenere Patienten) mit niedrigeren Expressionsraten des Proliferationsmarkers Ki67 in Myoblasten assoziiert ($r = -0.374$, $p = 0.046$) (Abb. 10), nicht jedoch mit der Expressionsrate von NCAM.

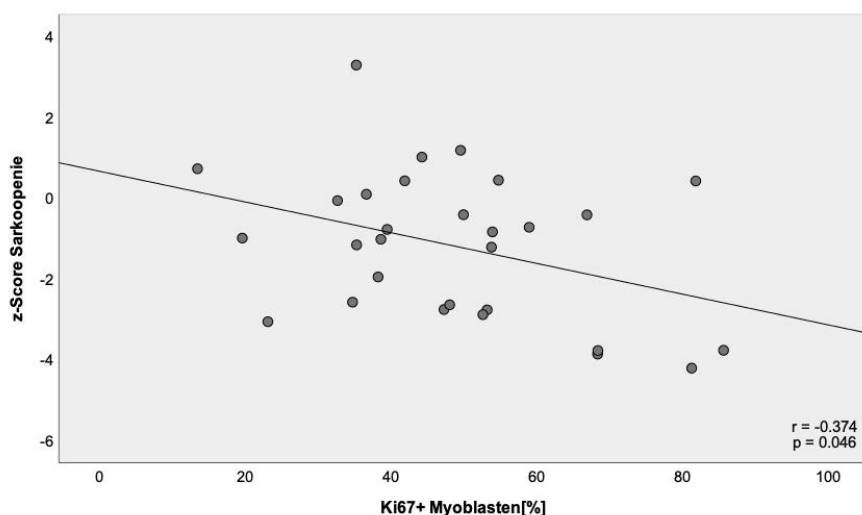


Abbildung 10: Korrelation der Expression von Ki67 in Myoblasten und z-Score Sarkopenie

4.4.2 MUNIX Messung

Reduzierte MUNIX Werte (MUNIX <80), entsprechend einer verringerten Anzahl an motorischen Einheiten, waren signifikant mit höheren Sarkopenie-Schweregraden (z-Score Sarkopenie, $r = -0.411$, $p = 0.027$, Abb. 11) sowie einem höheren Lebensalter assoziiert ($r = -0.500$, $p = 0.006$).

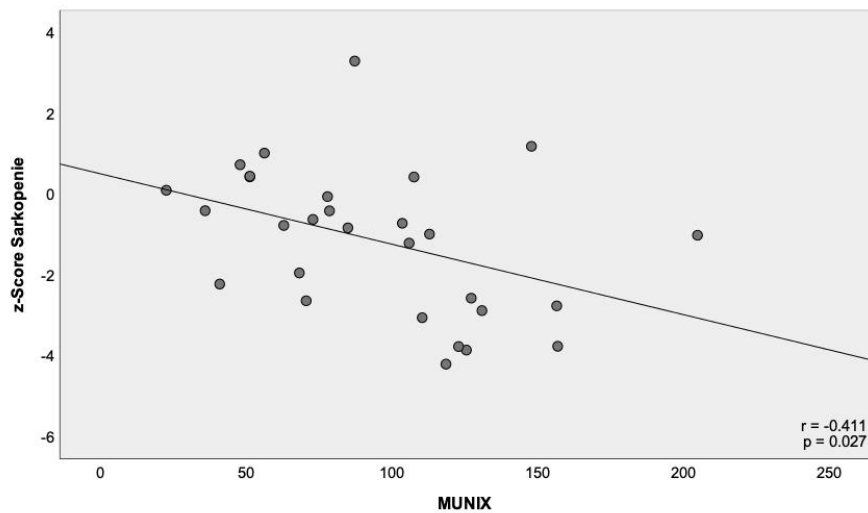


Abbildung 11: Korrelation MUNIX mit z-Score Sarkopenie

Außerdem korrelierten der Verlust von motorischen Einheiten (niedrige MUNIX-Werte) konstant signifikant mit reduzierten Konzentrationen der GH/IGF-I Hormonachse GHBP ($r = 0.593$, $p = 0.001$), IGF-I ($r = 0.512$, $p = 0.005$), IGFBP-3 ($r = 0.467$, $p = 0.011$) und ALS ($r = 0.460$, $p = 0.012$) (Abb. 12).

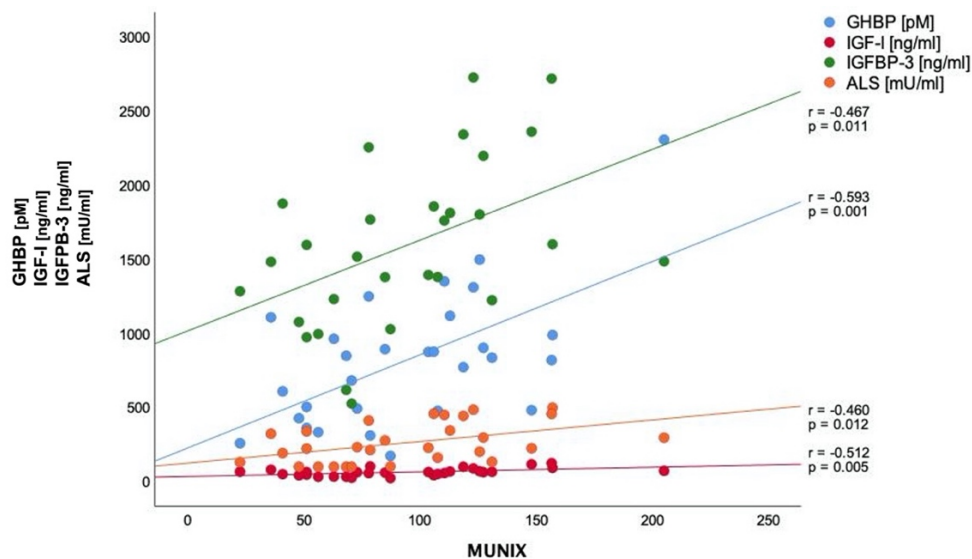


Abbildung 12: Korrelation der MUNIX-Werte mit Serumkonzentrationen von GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS

Zwischen der Größe der motorischen Einheiten (MUNIX) und den ausgewählten Parametern zeigten sich keine signifikanten Korrelationen.

4.4.3 GH/IGF-I Achse

Verminderte Konzentrationen der Hormone der GH/IGF-I Achse, insbesondere von IGF-I im Serum, waren signifikant mit positiveren Werten des z-Score Sarkopenie (höherer Schweregrad) assoziiert ($r = -0.360$, $p = 0.047$) (Abb. 13). Dieser signifikante lineare Zusammenhang stellte sich ebenfalls für GHBP ($r = -0.466$, $p = 0.008$) und ALS ($r = -0.466$, $p = 0.008$) dar (Abb. 9). Zwischen IGFBP-3 und z-Score Sarkopenie wurde ein linearer Zusammenhang angedeutet, jedoch ohne statistische Signifikanz ($r = -0.343$, $p = 0.059$).

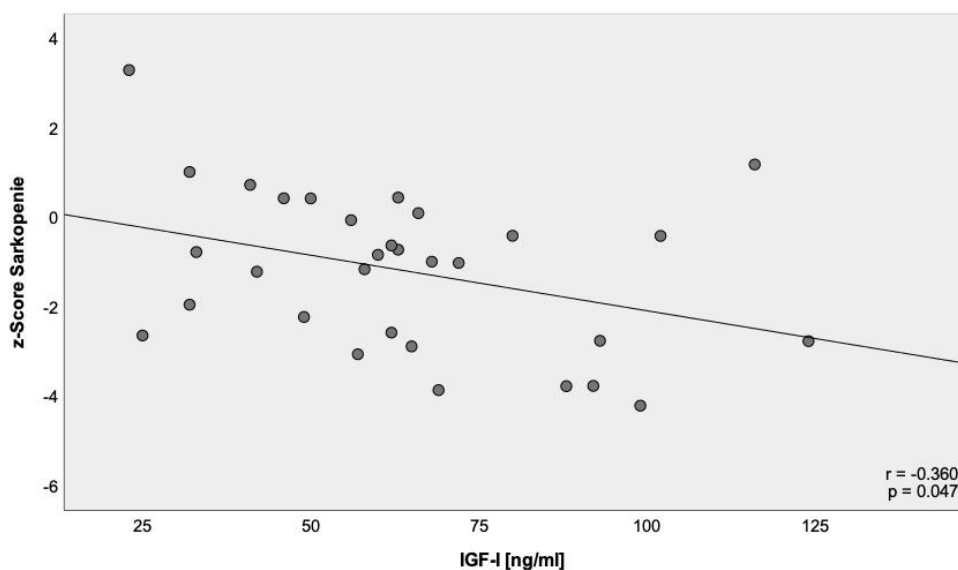


Abbildung 13: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit z-Score Sarkopenie

Reduzierte Konzentrationen der Hormone GHBP ($r = -0.493$, $p = 0.005$), IGF-I ($r = -0.532$, $p = 0.002$), IGFBP-3 ($r = -0.500$, $p = 0.004$) und ALS ($r = -0.571$, $p = 0.001$) waren signifikant mit einem höheren Lebensalter assoziiert.

Außerdem korrelierten reduzierte IGF-I Konzentrationen, sowie reduzierte Konzentrationen der Bindungspartner IGFBP-3 und ALS mit einer verminderten Anzahl an motorischen Einheiten (reduzierte MUNIX Werte, siehe Abb. 12). Diese Zusammenhänge bestanden für die drei Hormone auch nach Adjustierung nach Geschlecht (Tab. 15), nicht jedoch nach Adjustierung nach dem Alter.

Zwischen den histologischen Parametern, insbesondere der Typ II Fasern, und der Serumkonzentration von IGF-I wurden keine signifikanten Assoziationen gefunden. Zwischen reduzierten Konzentrationen von IGF-I und erhöhten Atrophiefaktoren Typ II (AF FT 2) zeigte sich ein Trend zum linearen Zusammenhang, jedoch ohne Signifikanz ($r = -0.361$, $p = 0.059$).

Des Weiteren korrelierten reduzierte IGF-Konzentrationen signifikant mit erniedrigten Expressionen des Proliferationsmarkers Ki67 ($r = 0.424$, $p = 0.022$) (Abb. 14) als auch mit NCAM, dem Marker für Denervation/ Reinnervation ($r = 0.380$, $p = 0.039$) (Abb. 15).

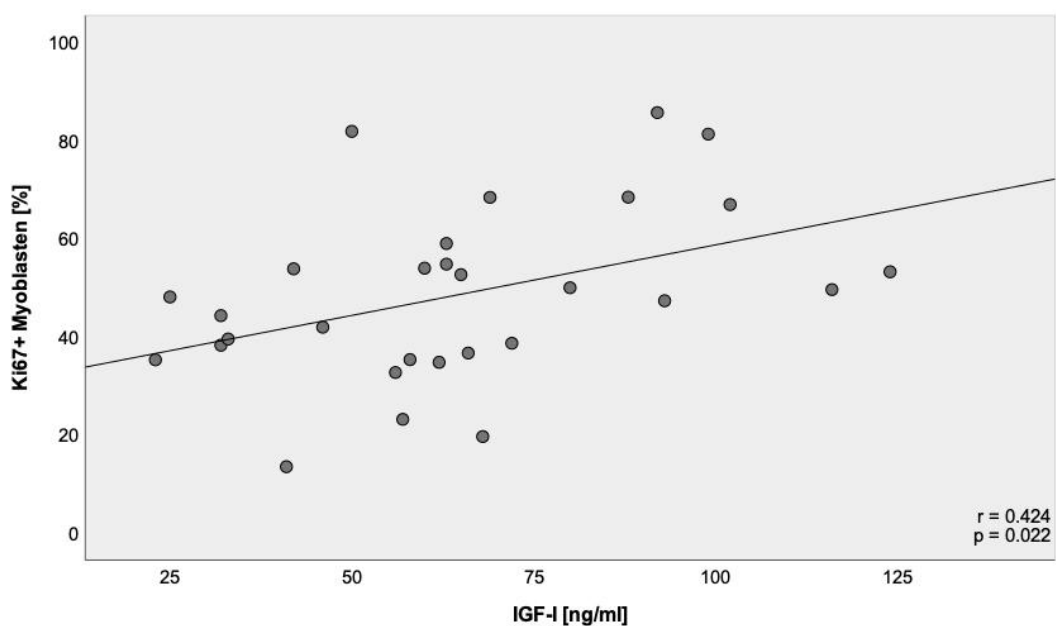


Abbildung 14: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit Expression von Ki67 in Myoblasten

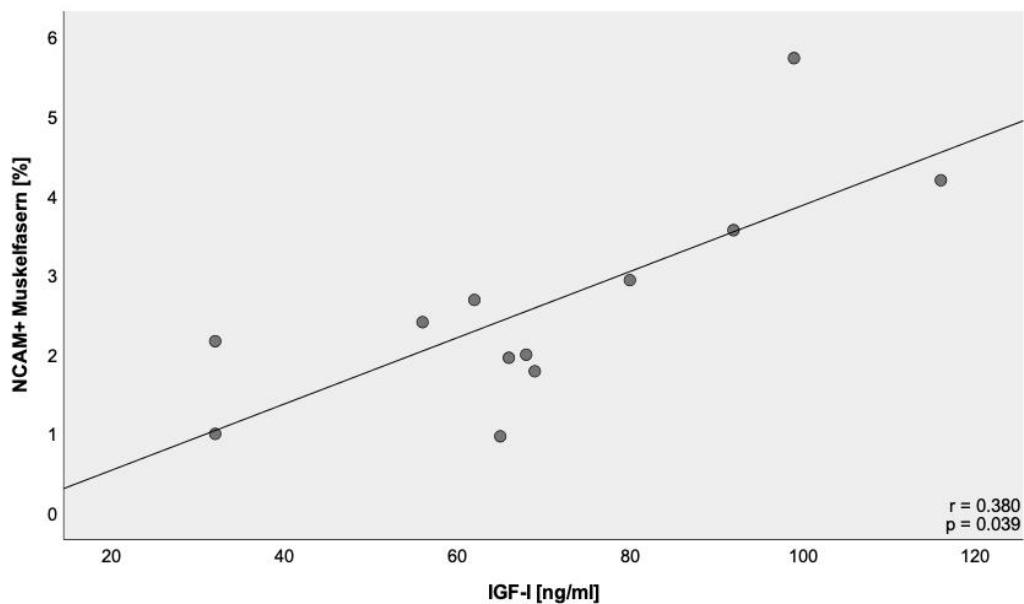


Abbildung 15: Korrelation Serumkonzentration IGF-I mit Expression von NCAM in Muskelfasern.

4.4.4 Histologische Parameter

Die gemessenen Werte der Muskelfasern Typ I (Durchmesser, prozentualer Anteil, Hypertrophie- und Atrophiefaktoren) zeigten keine signifikanten Assoziationen zu Sarkopenie, MUNIX- Werten oder den Serumkonzentrationen der GH/IGF-I Hormonachse.

Der durchschnittliche Faserdurchmesser der Muskelfasern Typ II korrelierte signifikant mit einer erhöhten Muskelmasse (SMI; $r = 0.492$, $p = 0.008$) und erhöhten Handkraft ($r = 0.534$, $p = 0.003$) (Abb. 16). Ein linearer Zusammenhang zum z-Score Sarkopenie wurde jedoch nicht beobachtet.

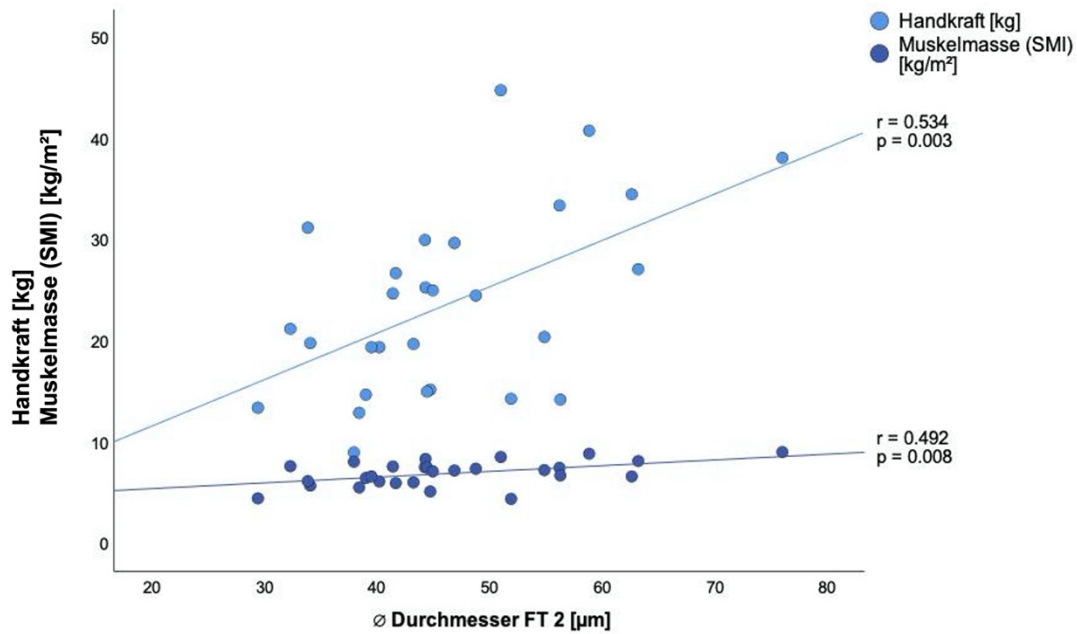


Abbildung 16: Korrelation des Durchmessers der Typ II Fasern zu Handkraft und Muskelmasse

Der prozentuale Anteil der Typ II Fasern an allen Muskelfasern stand in keinem linearen Zusammenhang zu den endokrinen oder neurologischen Parametern. Eine vermehrte Typ II Faser Atrophie (erhöhte AF FT2) war signifikant mit einem positiveren z-Score Sarkopenie ($r = 0.531$, $p = 0.004$) sowie mit dem Lebensalter der Probanden ($r = 0.396$, $p = 0.037$) assoziiert. Zu MUNIX und MUSIX Werten sowie den Hormonkonzentrationen bestanden keine signifikanten Korrelationen der Typ II Muskelfaser-Parameter. Lediglich erhöhte AF FT2 zeigten einen nicht signifikanten Trend einer linearen Korrelation mit erniedrigten IGF-I ($r = -0.361$, $p = 0.059$) und GHBP ($r = -0.361$, $p = 0.059$) Konzentrationen.

5 Diskussion

Ziel dieser Studie war es, histopathologische Veränderungen im alternden Muskel, die Reduktion der Hormonkonzentrationen der anabolen GH/IGF-I Hormonachse und der Verlust von motorischen Einheiten als eigenständige pathogene Faktoren in der Entstehung einer Sarkopenie sowie einen möglichen Zusammenhang zwischen den genannten endokrinen und neurogenen Faktoren zu untersuchen. Anhand der vorliegenden Daten aus elektrophysiologischen Messungen (MUNIX), Bestimmungen der Hormone der IGF-I Hormonachse sowie der histologischen Auswertungen von Muskelbiopsien von 31 geriatrischen Patienten, zeigten sich signifikante Assoziationen zwischen einem höheren Schweregrad der Sarkopenie (z-Score Sarkopenie) und reduzierten IGF-I Konzentrationen (Abb. 13) und reduzierten MUNIX-Werten (Abb. 11). Als histologisches Korrelat einer Sarkopenie zeigte sich eine vermehrte Atrophie der Typ II Muskelfasern (Tab. 7). Weiterhin wurde eine signifikante Assoziation zwischen erniedrigten IGF-I Konzentrationen und einer verringerten Anzahl an motorischen Einheiten (Abb. 12) und einem verringerten Regenerationspotential der atrophierten Muskelfasern (reduzierte Expression von Ki67 und NCAM, Abb. 14 und 15) beobachtet. Diese Ergebnisse lassen auf eine entscheidende Rolle von suffizienten IGF-I Konzentrationen bei geriatrischen sarkopenen Patienten in der Kapazität zur muskulären Regeneration schließen.

5.1 Histologische Veränderungen im alternden Muskel

Die in dieser Studie gewonnenen und aufgrund der schwierigen und mühseligen Rekrutierung sehr wertvollen Muskelbiopsien von Patienten mit akuter Hüftfraktur älter als 60 Jahre wurden hinsichtlich altersbedingter histopathologischer Veränderungen ausgewertet und Assoziationen der erfassten Parameter zum Schweregrad einer Sarkopenie, einer reduzierten IGF-I Serumkonzentration sowie dem Verlust von Motoneuronen untersucht.

Auswertungen von humanen Muskelbiopsien verschiedener Altersklassen sowie anhand von Maus- und Rattenmodellen konnten bisher einige histologische Charakteristika des alternden Muskelgewebes identifizieren. Die Reduktion der

Muskelmasse scheint demnach auf einer Abnahme der Größe der Muskelfasern, vor allem des Faserdurchmessers zu beruhen, aber auch auf dem numerischen Verlust von Muskelfasern selbst (47). Dabei wurde konstant eine spezifische Atrophie der Typ II Muskelfasern beobachtet, neben einer Reduktion der Muskelfaseranzahl insgesamt (55). Die neueren Erkenntnisse berichten, dass eine Typ II Faser Atrophie allein für den altersbedingten Verlust von Muskelmasse verantwortlich sein soll (122). In den 31 Muskelbiopsien dieser Kohorte dieser Studie wurde keine Reduktion der Durchmesser der Fasertypen I und II beobachtet, jedoch eine numerische Atrophie der Typ II Fasern hin zu einem alterstypischen Verhältnis der Typ I zu Typ II Fasern von 2:1 (Tab. 7). Aus Analysen von gesundem Muskelgewebe des Musculus vastus lateralis ist ein umgekehrtes Verhältnis der Fasertypen bekannt. Zwei Drittel der Muskelfasern werden den Typ I Fasern zugeordnet und nur ein Drittel den Typ II Fasern (47,123,124). Das umgedrehte Verhältnis der Faserzusammensetzung in dieser Kohorte demonstriert daher zum einen eine stattgehabte numerische Atrophie der Typ II Fasern und zum anderen eine kompensatorische Hypertrophie der Typ I Muskelfasern, welche durch einen erhöhten Hypertrophiefaktor Typ I bei 48% der Probanden verdeutlicht wird (Tab. 7). Diese Beobachtung deckt sich mit den bisherigen Erkenntnissen zu histopathologischen Veränderungen des alternden Muskels. Bereits 1988 beschrieben Lexell et al. die spezifische Reduktion der Anzahl an Typ II Muskelfasern mit zunehmendem Alter (51) sowie einer Änderung der prozentualen Anteile beider Fasertypen. Eine neuromuskuläre Muskelatrophie beruht auf einer fehlenden Innervation des Muskels oder auf Proteinddefekten im Muskel selbst (z.B. Muskeldystrophien) (47). Im Rahmen dieser Analysen wurde nur eine Denervation des Muskels als Ursache untersucht. Nach einer Denervation einer Muskelfaser kommt es entweder zur Atrophie dieser Faser oder es erfolgt eine Reinnervation der Muskelfaser durch eine Axonendigung eines umliegenden Motoneurons (63), wodurch es zu einem Wechsel des Fasertyps von Typ II zu Typ I kommen kann (Fiber Grouping). Kelly et al. wiesen nach, dass reinnervierte Fasern anschließend Charakteristika von Typ II Fasern darstellen (125). Ein Grouping von Typ I Fasern gilt daher als histologischer Marker für stattgehabte Denervation und erfolgreiche

Reinnervation, was in dieser Studie jedoch nicht untersucht wurde. Es erfolgte stattdessen die immunhistochemische Bestimmung von Mixed fibers, (Muskelfasern, welche sowohl das für Typ I Fasern typische MHC slow und das für Typ II Fasern typische MHC fast exprimieren), welche ebenfalls eine Reinnervation durch umliegende Neurone nach Denervation markieren. Der Anteil der Mixed fibers lag in dieser Kohorte durchschnittlich bei 8.3% aller Muskelfasern (Tab. 7), somit lässt sich ein Teil der beobachteten Atrophie auf eine Denervation mit stattgehabter Reinnervation durch ein umliegendes Axon zurückführen.

Weiterhin wurde bei 13 Probanden ein erhöhter Atrophiefaktor Typ II (AF FT2) errechnet, darunter fanden sich signifikant mehr Männer als Frauen. Die erhöhten AF FT2 korrelierten dazu signifikant mit dem Lebensalter. Diese Probanden waren auch signifikant stärker von einer Sarkopenie betroffen (positiverer z-Score Sarkopenie, Tab. 7). Der errechnete z-Score Sarkopenie beinhaltet die individuellen Messwerte der Handkraft und Muskelmasse. SMI und Handkraft korrelierten ebenfalls signifikant mit dem Faserdurchmesser der Typ II Fasern (Abb. 16). Die in vielen Studien bereits gezeigte mit dem Alter assoziierte Typ II Faser Atrophie (37,51,124) spiegelt sich auch in diesen Daten wieder. Diese Daten zeigen jedoch auch eine signifikante Assoziation zur Sarkopenie, sodass eine Typ II Atrophie auch als histologisches Merkmal der Sarkopenie angesehen werden kann (126). Typ II Fasern sind in Übereinstimmung mit der Literatur daher anscheinend vor allem für den Erhalt der Kraft und Muskelmasse im Alter essenziell, ein Verlust verstärkt eine Sarkopenie. Ob Männer generell, wie in den Daten dieser Kohorte, stärker von einer Typ II Atrophie betroffen sind, lässt sich anhand der kleinen Studienpopulation (11 Männer, 20 Frauen) nicht verifizieren. Studien deuten jedoch auf einen Geschlechtsunterschied hin, welcher vermutlich auf endokrinen Ursachen beruht. Dazu seien vor allem die unterschiedlichen Serumkonzentrationen von Testosteron in Männern und Frauen genannt. Testosteron dient als Geschlechtshormon der Differenzierung des Geschlechts und liegt in Männern in deutlich höheren Konzentrationen vor als in Frauen. Weiterhin vermittelt es ebenfalls anabole Mechanismen im Muskelstoffwechsel (102,127). Verdijk et al. zeigten einen signifikanten

Zusammenhang zwischen den Testosteronkonzentrationen in älteren Männern und der Muskelfasergröße (128). Außerdem scheinen Männer mit akuten Hüftfrakturen ein höheres Risiko zu haben, eine Sarkopenie zu entwickeln (129), welche wiederum auf einer Atrophie der Muskelfasern beruht. Die Serumkonzentrationen von Testosteron und weiblichen Geschlechtshormonen wurde zwar ebenfalls bei den Probanden dieser Studie bestimmt, die Analyse der Geschlechtsunterschiede ist aber nicht Teil dieser Arbeit.

5.2 Verlust von Motorischen Einheiten

Mithilfe des elektromyographischen Verfahrens MUNIX wurde bei den geriatrischen Probanden Anzahl (MUNIX) und Größe (MUSIX) von motorischen Einheiten eines definierten idealen Muskels bestimmt. In der multifaktoriellen Pathogenese der Sarkopenie spielen neurogene Veränderungen und Prozesse, die zur Denervation einer Muskelfaser führen, darunter die Degradation von neuromuskulären Endplatten, der Verlust von Motorischen Einheiten oder eine Kombination dieser pathogenen Mechanismen eine wichtige Rolle (130). 13 Probanden (44.8%) der vorliegenden Kohorte wiesen dabei reduzierte MUNIX-Werte unterhalb des Cut-Offs von 80 auf, darunter signifikant mehr männliche Probanden (Tab. 6). Innerhalb der Kohorte korrelierten niedrigere MUNIX-Werte, entsprechend einer verminderten Anzahl an motorischen Einheiten, mit einem höheren Schweregrad der Sarkopenie (z-Score Sarkopenie, Abb. 11). Wenngleich der Trend nicht signifikant war ($p = 0.079$), zeigten sich höhere Grade an Sarkopenie unter den 13 Probanden mit reduzierten MUNIX-Werten. Diese Daten unterstützen die Hypothese, dass der Verlust an motorischen Einheiten jedweder Genese der Pathophysiologie einer Sarkopenie zugrunde liegen könnte. Studien mit höheren Fallzahlen hatten bereits gezeigt, dass motorische Einheiten im Alter degenerieren und die Anzahl abnimmt (131), während die verbleibenden motorischen Einheit kompensatorisch hypertrophieren und an Größe zunehmen (132). Ein Verlust von motorischen Einheiten in sarkopenen Patienten wurde erstmals von Drey et al. beschrieben (58). Dazu wurde in dieser Studie ebenfalls die MUNIX Methode nach Nandedkar et al. (114) zur Bestimmung von Anzahl und Größe der motorischen Einheiten in

älteren Erwachsenen verwendet. Dieses elektromyographische Verfahren wurde initial zur Diagnostik und Evaluation der Krankheitsprogression für Patienten mit Amyotropher Lateralsklerose entwickelt (114). Die Probanden dieser Studie waren zwar Patienten mit akuten Hüftfrakturen ohne neurologische Grunderkrankungen. Dennoch ist die MUNIX Messung eine valide elektromyographische Methode Bestimmung von Anzahl und Größe der motorischen Einheiten, da ein Einsatz und die Validität bei sarkopenen Patienten bereits beschrieben wurde (115). Interessanterweise wurde bei Patienten mit reduzierten MUNIX-Werten auch erhöhte MUSIX-Werte gemessen, entsprechend vergrößerten motorischen Einheiten. Es lässt sich vermuten, dass zumindest teilweise eine Hypertrophie der verbliebenen Muskelfasern die Atrophie kompensiert und deshalb keine Defizite in der muskulären Leistungsfähigkeit (Handkraft, Muskelmasse) der Probanden beobachtet wurden (133). Da diese Probanden auch häufiger und schwerer von einer Sarkopenie betroffen waren, unterstützen diese Ergebnisse die Annahme, dass alterndes Muskelgewebe zumindest teilweise zur Kompensation durch Hypertrophie befähigt ist. Unklar bleibt, welche Reize und Mechanismen zu einer Hypertrophie führen, beispielweise welche Signale umliegende Neurone zur Reinnervation durch Aussprossen von neuen Axonendigungen (Sprouting) stimulieren. Die Wahrscheinlichkeit, dass bei erniedrigten MUNIX Werten und/oder erhöhten MUSIX Werten eine Sarkopenie vorliegt, ist nach Drey et al. allerdings dreimal höher als in einer gesunden Kontrollgruppe (58). Dies rechtfertigt die Nutzung der MUNIX Methodik auch im klinischen Alltag als einfach anzuwendende Methodik in der erweiterten Diagnostik einer möglichen Sarkopenie. Der gemessene MUNIX Wert eines Probanden stellt sogar einen potenziellen Biomarker einer Sarkopenie auf dem Boden eines Verlustes von motorischen Einheiten dar.

Histologisch zeigten sich an den Muskelbiopsien der Probanden mit reduzierten MUNIX-Werten keine signifikanten Unterschiede in Größe der Muskelfasern oder Zusammensetzung der Muskelfasern dar, als die bereits diskutierte Typ II Atrophie als Merkmal von sarkopenem Muskel. Der Verlust von motorischen Einheiten resultiert auch in dieser Kohorte zumindest teilweise aus einer

Denervation, dem Verlust der nervalen Innervation einer motorischen Einheit. Diese wurde durch die Messung der Expression des Neural cell adhesion molecules (NCAM) untersucht. Covault et al. zeigten als Erste eine Akkumulation von NCAM in denervierten und gelähmten Skelettmuskelzellen (134). Erhöhte NCAM Expressionen werden daher seitdem als Marker einer Denervation in alterndem Muskelgewebe gewertet. In circa einem Drittel (38.7%) der Muskelbiopsien dieser Studie wurde in durchschnittlich 1.1% der Fasern eine Expression von NCAM nachgewiesen. Dies demonstriert, dass in diesen Muskelbiopsien eine Denervierung stattgefunden haben muss. Das ebenfalls beobachtete Typ I Faser Grouping und Vorliegen von Mixed fibers spricht für eine Reinnervation mit Wechsel des Fasertyps. Der der Denervation zugrundeliegende Mechanismus kann mit dieser Studienkonzeption und den Daten nicht spezifiziert werden. Allgemeine Ursachen einer Denervierung sind eine Durchtrennung des Neurons, pathogene Mechanismen, die zu einer Unterbrechung der Signalübertragung an der neuromuskulären Endplatte führen sowie ein Verlust an motorischen Einheiten (135). Der Verlust von motorischen Einheiten im Alter wurde bereits beobachtet (46,58,136) und wird als zugrundeliegender Pathomechanismus in alterndem Muskel und speziell in dieser Kohorte vermutet. Dass in dieser Kohorte kein Zusammenhang zwischen Anzahl der motorischen Einheiten und Durchmesser oder prozentualem Anteil der Typ II Fasern identifiziert wurde, liegt zum einen vermutlich an der sehr kleinen Studienpopulation (n = 31) oder aber eine Denervierung als pathogener Mechanismus spielt in dieser Kohorte wider Erwarten eine untergeordnete Rolle in der eigentlich erwarteten Typ II Atrophie. Es erscheint jedoch eher plausibel, dass im Großteil der älteren Probanden eine bereits langandauernde Denervation stattgefunden hat, welche bereits durch Hypertrophie oder einem Shift der Fasertypen zum Typ I kompensiert wurde, da in knapp der Hälfte der Probanden (48.4%) auch eine vermehrte Hypertrophie der Typ I Muskelfasern (erhöhte HF FT1) registriert wurde. In neurogen induzierten Muskelatrophien, wie beispielsweise der erblichen Spinalen Muskelatrophie (SMA), wird in Muskelbiopsien einerseits eine generelle Atrophie von Typ I und Typ II Fasern beobachtet, zum anderen ist aber vor allem eine Hypertrophie der Typ I

Muskelfasern charakteristisch (47). Die Hypertrophie der Typ I Fasern in den Muskelbiopsien dieser Studie verdeutlicht daher den neurogenen Hintergrund der histologischen Veränderungen.

5.3 Insuffizienz der GH/IGF-I Achse im Alter

Der Verlust von Muskelmasse und Muskelkraft im Rahmen einer Sarkopenie beruht wesentlich auf einer Dysbalance zwischen Proteinsynthese und Proteindegradation. Eine Abnahme der Proteinsynthese und/oder ein zunehmender Abbau von Proteinen führen zu einer katabolen Stoffwechsellage, in welcher mehr Proteine vornehmlich aus dem Muskel abgebaut werden als neu synthetisiert werden (127). Die zellulären Mechanismen der Synthese und Degradation von Proteinen werden überwiegend über den Phosphoinositide-3-Kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR) Signalweg und das Ubiquitin Proteasom System (UPS) reguliert (48). Beide Wege werden vom Wachstumsfaktor IGF-I aktiviert und erzielen somit eine anabole Wirkung durch Förderung von Proteinsynthese und Hemmung von apoptotischen Vorgängen (69). Die Erkenntnisse aus den letzten Jahrzehnten aus Studien an Menschen und Mausmodellen konnten die anabole Wirkung von IGF-I als Wachstumsfaktors im Muskelstoffwechsel klären (137). IGF-I stellt durch Stimulation der genannten Signalwege sowie durch Stimulation zum Wachstum von Satellitenzellen und Myoblasten somit ein essentielles Hormon für Proliferation und Differenzierung von Muskelgewebe (102) dar. Mit zunehmendem Alter nimmt die Funktion der GH/IGF-I Achse jedoch ab und die Konzentrationen von GH und IGF-I im Serum sinken (102). Die Konzentrationen der Hormone GHBP, IGF-I, IGFBP-3 und ALS der Probanden dieser geriatrischen Kohorte waren in 35.5% (GHBP), 16.1% (IGF-I), 77.4% (IGFBP-3) und 58.1% (ALS) der Fälle reduziert. Verminderte Konzentrationen von IGF-I, GHBP und ALS waren signifikant mit einem höheren Schweregrad einer Sarkopenie (z-Score Sarkopenie, Abb. 9 und 13) assoziiert. Die Assoziation zwischen reduzierten IGF-I Konzentrationen mit einem erhöhten Risiko zur Entwicklung einer Sarkopenie wurde bereits in der InCHIANTI Studie mit 730 Probanden gezeigt (109). Selbst in dieser verglichen sehr kleinen Kohorte (n = 31) konnte dieser signifikante Zusammenhang dargestellt werden.

Das Ergebnis unterstützt die Annahme des pathogenen Einflusses von reduzierten IGF-I Konzentrationen in der Sarkopenie.

Zur Beantwortung der eigentlichen Fragestellung eines Zusammenhangs zwischen endokrinen und neurologischen Veränderungen im Alter, wurden die Kohorte anhand der durch MUNIX bestimmten Anzahl an Motorischen Einheiten aufgeteilt. Knapp die Hälfte der Probanden (41.9%) hatten MUNIX Werte unterhalb von 80. Diese Patienten zeigten zudem eine signifikant reduzierte GH/IGF-I Achse im Sinne einer „Somatopause“ (103) (Tab. 13). Außerdem korrelierten reduzierte IGF-I Konzentrationen und reduzierte Konzentrationen der Bindungspartner IGFBP-3 und ALS signifikant mit einer verminderten Anzahl an motorischen Einheiten (MUNIX, Abb. 12). Der durchschnittlich gemessene MUNIX- Wert der Probanden mit reduzierter IGF-I Konzentration lag mit 69.1 deutlich unter dem Cut-off von 80. Damit scheint ein Zusammenhang zwischen einer Somatopause und einem Verlust von motorischen Einheiten als pathogene Faktoren in der Sarkopenie naheliegend. Ein neuroprotektiver Effekt von IGF-I im Nervensystem ist bekannt und bereits mehrfach sowohl in Studien am Menschen und im Mausmodell beschrieben worden (138). Insbesondere stimuliert IGF-I nach Nervenverletzungen ein Aussproießen von neuen Axonendigungen (85) und unterstützt damit die Regeneration und Reinnervation einer Muskelfaser. Nach Verletzung eines peripheren Nervens kommt es zu einer vermehrten Expression von IGF-I in Axonen und Schwann-Zellen (90) und auch in Muskelgewebe nach Denervierung infolge einer Durchtrennung des innervierenden Nervens (91,92). Kanje et al. berichteten von 49% mehr Axonwachstum im durchtrennten Nervus ischiadicus in Ratten nach Applikation von IGF-I (93). Musaro et al. entwickelten ein transgenes Mausmodell mit Expression einer Vorstufe einer muskelspezifischen lokalen IGF-I Isoform, mIGF-I, deren Expression physiologisch nach Muskelschäden induziert wird. Diese muskelspezifische Isoform erhält das regenerative Potenzial im alternden Muskel (75) beispielsweise durch Unterstützung der Rekrutierung von Muskelstammzellen in verletzten Muskelzellen (139) und trägt über Stimulation der assoziierten Signalwege zur Zunahme von Muskelmasse und Muskelkraft bei (137). IGF-I wurde daher bereits in neurodegenerativen Krankheiten wie

Amyotropher Lateralsklerose als medikamentöse Therapie getestet. Bei dieser Krankheit kommt es sporadisch aufgrund unbekannter Ursache zu einer Degeneration des 1. und 2. Motorneurons, welche zu einer Denervation der Muskelgruppen führt. Folglich treten spastische (1. Motorneuron) und schlaffe atrophische Paresen (2. Motorneuron) verschiedener Muskelgruppen auf. Dieser pathophysiologische Mechanismus ähnelt dem Verlust von Motorneuronen im Rahmen der Pathogenese der Sarkopenie. Eine Somatopause führt somit zum einem über die Reduktion der anabolen IGF-I vermittelten Stoffwechselwege als auch über die Reduktion des neuroprotektiven Effekts zu einem vermehrten Verlust an motorischen Einheiten und trägt schließlich zur Sarkopenie bei.

Nach Aufteilung der Kohorte nach Vorliegen eines IGF-I Konzentration unterhalb des Referenzwertes von 33ng/ml, wurden in der Kohorte keine signifikanten demographischen Unterschiede beobachtet. Histologisch zeigte sich ein signifikant höherer Anteil an Typ II Muskelfasern und ein signifikant höherer Atrophiefaktor der Typ II Fasern bei Probanden mit reduzierten IGF-I Konzentrationen. Dieses widersprüchliche Ergebnis lässt sich vermutlich auf die kleine Gruppengröße (n=5) der untersuchten Biopsien bei Probanden mit reduzierten IGF-I Konzentrationen zurückführen, unter denen ein Proband mit sehr schwerer Sarkopenie entsprechend extreme Messwerte hatte, welche diese verfälschen könnten. In dieser Kohorte waren niedrige Serumkonzentrationen von IGF-I und den Bindungspartnern IGFBP-3 und ALS mit erhöhten Atrophiefaktoren der Typ II Fasern assoziiert, wenngleich diese Korrelation keine statistische Signifikanz erreichte ($p = 0.059$). Das Ergebnis liefert jedoch weitere Daten für den relevanten Einfluss der IGF-I Hormonachse im alternden Muskelmetabolismus, speziell der Einfluss auf Größe und Anzahl der Typ II Muskelfasern. Neben dem bereits diskutierten Konzept der Denervation/Reinnervation, wird auch eine Reduktion der Anzahl an Satellitenzellen in alterndem Muskel mit einem reduzierten regenerativen Potenzial des Muskels als mögliche Ursache einer Typ II Atrophie vermutet. Satellitenzellen bilden die Stammzellen des Muskelgewebes (140). Sie liegen normalerweise in einem ruhenden Zustand der Basalmembran einer Muskelfaser an. Verschiedene Stimuli aktivieren Satellitenzellen und veranlassen die Zelle zur

Proliferation und Differenzierung zu neuen Myofibrillen und sind somit essentiell zur Erhaltung, Regeneration und Hypertrophie von Muskelgewebe (141). In der vorliegenden Studie wurden im Rahmen einer anderen Dissertation immunhistochemische Färbungen zur Bestimmung der Anzahl an Satellitenzellen im Muskelgewebe durchgeführt, die Daten werden daher hier nicht verwendet. Verschiedene Autoren berichteten aber von einer Reduktion der Satellitenzellanzahl mit zunehmendem Alter (142,143). Verdijk et al. konnten zeigen, dass dieser Verlust vor allem die Satellitenzellen in Typ II Muskelfasern betrifft (37). Die beobachtete Atrophie der Typ II Fasern dieser Muskelbiopsien kann aufgrund der fehlenden Daten nicht durch einen Verlust an Satellitenzellen erklärt werden, sollte aber als Faktor der Atrophie berücksichtigt werden. Denn es ist bekannt, dass IGF-I als anaboles Hormon Satellitenzellen im Muskel stimulieren und zu Proliferation und Differenzierung anregen kann (137,144). Zur Erklärung eines Einflusses der mit dem Alter abnehmenden IGF-I Konzentrationen auf das regenerative Potential der Satellitenzellen reichen diese Daten aufgrund der kleinen Studienpopulation jedoch nicht aus und erfordern weitere Untersuchungen an größeren Studienpopulationen.

Als Wachstumshormon trägt IGF-I wesentlich zum regenerativen Potential von Muskelzellen, vor allem auch im Alter, bei. Die Somatopause geht daher auch mit einem verminderten Proliferationspotential von Muskelzellen einher. Dieses wurde in der vorliegenden Studie anhand der Expression des Protein Ki67 in Myoblasten aus einer der Muskelbiopsie entstammten Myoblastenkultur bestimmt. Das Protein Ki67 ist ein weit verbreiteter Marker für Proliferation einer Zelle, vor allem in menschlichen Tumorzellen (145). Insbesondere in der Diagnostik des Mamma Karzinoms wird die Expression des Ki67 Proteins bestimmt. Es ist außerdem ein gebräuchlicher Marker in Immunfluoreszenz Färbungen zur Detektion von proliferierenden Zellen jedes Gewebes, weshalb Ki67 in dieser Studie ebenfalls dazu verwendet wurde (146). Im Durchschnitt wurde in knapp der Hälfte aller Myoblasten (48.6%) aus der Zellkultur der Biopsie eine Ki67 Expression registriert. Es konnte kein Unterschied im Expressionsgrad von Ki67 in Probanden mit reduzierten MUNIX Werten nachgewiesen werden. Jedoch korrelierten niedrigere Werte der Expression von Ki67 signifikant mit

reduzierten IGF-I Konzentrationen (Abb. 14) sowie höheren Sarkopenieschweregraden (z-Score Sarkopenie) (Abb. 10). Der anabole Einfluss von IGF-I auf Proliferation und Wachstum von Muskelgewebe durch Stimulation assoziierter Stoffwechselwege wurde bereits diskutiert. Eine Somatopause führt somit auch zu einer Reduktion des muskulären Regenerationspotenzials. Die anabole molekulare Wirkung von IGF-I erklärt eine Korrelation der Ki67 Expression zu reduzierten IGF-I Konzentrationen in einer geriatrischen Kohorte und rechtfertigen damit ebenso den Einsatz von Ki67 als Marker zur Detektion von Proliferation. Inwieweit IGF-I jedoch direkt auf molekularer Ebene die Expression von Ki67 hochregulieren kann, wurde bisher noch nicht beschrieben. Dass sich eine Korrelation zwischen verminderter Ki67 Expression und höherer Sarkopenieschwere darstellte, deutet auf eine reduzierte Fähigkeit zur Proliferation und Wachstum in alternden Myoblasten hin. Interessanterweise zeigte sich außerdem ein signifikanter linearer Zusammenhang zwischen dem Anteil der NCAM exprimierenden Muskelfasern und IGF-I Konzentrationen (Abb. 15). NCAM dient, wie bereits diskutiert, als histologischer Marker einer stattgehabten Denervation in Muskelgewebe (147). Diese Assoziation lässt spekulieren, dass eine ausreichende Reinnervation einer Muskelfaser nach Denervation in sarkopenen Muskel abhängig von suffizienten IGF-I Konzentrationen ist. Der Prozess der Reinnervation einer denervierten atrophischen Muskelfaser nach Nervenverletzung oder Verlust von motorischen Einheiten, kann als Reparaturmechanismus des neuromuskulären Systems verstanden werden. Kanda et al. vermuteten, dass auch alternde Motoneurone die Kapazität zum Sprouting und Reinnervation erhalten, nachdem sie beobachteten, dass alternde Mäusen nach Nervenverletzung ihre motorischen Funktionen im Gastrocnemius Muskel wieder erlangen (148). Mit fortschreitender Forschung konnte diese Annahme jedoch nicht bestätigt werden. Stattdessen zeigten mehrere Studien, dass das Potential zur Reinnervation in alternden Muskeln reduziert ist und nicht erhalten werden kann (149,150). Für eine erfolgreiche Reinnervation einer atrophischen Muskelfaser muss von der betroffenen Muskelfaser nach Denervierung ein Signal ans Umfeld ausgehen und umliegende Motoneurone müssen auf dieses Signal mit Sprouting reagieren

können (150). Die Hochregulation von NCAM nach erfolgter Denervation scheint ein solches Signal zu sein (134,151). Gillon et al. konnten an Mäusen zeigen, dass alternde Muskelfasern zwar normale Konzentrationen an NCAM aufweisen, jedoch diese nach Verlust der Innervation nicht ausreichend hochreguliert werden kann (150). Sie äußerten bereits die Hypothese, dass eine Beeinträchtigung der NCAM Signalgebung zum Teil für die Muskelatrophie nach Denervierung in alterndem Muskel verantwortlich sein könnte (150). Dass in unserer Kohorte nur in 12 von 31 eine NCAM Expression detektiert werden konnte, könnte demnach zum einen an einem altersbedingt beeinträchtigten Potential zur Expression von NCAM als Signal liegen oder an einem insuffizienten hormonellen Environment zur Reinnervation durch benachbarte Neurone. Unter den Probanden mit niedrigen MUNIX-Werten war die Expression niedriger als in der Vergleichsgruppe (Tab. 10), zusätzlich bestand eine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl an motorischen Einheiten und der IGF-I Konzentration. IGF-I wird daher wohl zum einen für eine erfolgreiche Regeneration nach Denervation benötigt und zum anderen zur Erhaltung von motorischen Einheiten im Allgemeinen. In Zusammenschau mit dem bereits diskutierten bekannten neuroprotektiven Effekt von IGF-I (138) deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass IGF-I das entscheidende Hormon zu sein scheint, um ein anaboles Environment für eine suffiziente Reinnervation nach Denervation in alterndem Muskelgewebe herzustellen. Eine Supplementation von IGF-I in einer Subgruppe von sarkopenen Patienten, deren Muskelatrophie zumindest teilweise auf dem Verlust von motorischen Einheiten beruht, wäre damit eine in Betracht zu ziehende Therapiemöglichkeit der Sarkopenie. Mit jetzigem Stand sind dazu nach unserem Wissen noch keine Studien bekannt.

5.4 Diskussion der Methodik und Limitationen

Die Probanden dieser Studie waren Patienten älter 60 Jahre mit proximalen Femurfrakturen oder pertrochantären Femurfrakturen nach Sturz, welche operativ versorgt werden mussten. Der operative Zugang zur Frakturversorgung am lateralen oder anterioren Oberschenkel ermöglichte durch die anatomische Nähe die chirurgische Entnahme einer Muskelbiopsie aus dem Musculus vastus

lateralis in der gleichen Sitzung. Somit konnte eine erneute offene Entnahme einer Muskelbiopsie nur zu Studienzwecken verhindert werden und dennoch Muskelgewebe zur Analyse von histopathologischen Veränderungen des alternden Muskels gewonnen werden. Letztlich wurde durch Auswahl von Hüftfrakturpatienten jedoch eine Selektion des Patientenkollektivs vorgenommen. Hüftnahe Frakturen werden zu den osteoporotischen Frakturen gezählt, diese sind mit Immobilität und erhöhter Mortalität assoziiert. Osteoporose und Sarkopenie treten oft miteinander auf als „Osteosarkopenie“ (152). 20 – 30 % der Patienten mit Hüftfraktur leiden auch an einer Sarkopenie (153,154). Mit einer Prävalenz von 12,9% in unserer Kohorte, lag der Anteil der sarkopenen Patienten etwas unterhalb der in der Literatur genannten Prävalenz bei Patienten mit Hüftfraktur. Zusammen mit den 9 weiteren Probanden (29.0%), welche als wahrscheinlich sarkopen diagnostiziert waren, waren 41.9% (n = 13) der Probanden potenziell von einer Sarkopenie betroffen. Durch den Einfluss einer Fraktur ist somit eine Überschätzung der eigentlichen Prävalenz der Sarkopenie in dieser Kohorte nicht auszuschließen. Unter Berücksichtigung der sehr niedrigen Studiengröße (n = 31) und dem Ziel der histopathologischen Analyse der Muskelbiopsien, wurde diese Verzerrung für den Gewinn von wertvollem Gewebematerial in Kauf genommen.

Zur Bestimmung der Muskelmasse stehen mehrere Verfahren zur Verfügung. Generell gelten Magnetresonanztomographie (MRT) oder Computertomographie (CT) als Goldstandard zur Messung einer Muskelmasse (155). Allerdings wird eine MRT oder CT aufgrund der höheren Kosten, Notwendigkeit von Equipment und geschultem Personal zur Auswertung der akquirierten Schnittbilder sowie bisher noch nicht eindeutig definierten Referenzwerten nur im stationären oder wissenschaftlichen Rahmen durchgeführt (6,155). Die EWGSOP empfiehlt die Durchführung einer DXA als primäre Methode zur Bestimmung der Muskelmasse. Als nicht-invasive und weit verbreitete Methode bietet eine DXA den Vorteil, dass bei Benutzung des selben Gerätes und derselben Cut-Off Werte schnell verfügbare und reproduzierbare Ergebnisse erhalten werden können (6). Die Bestimmung der Muskelmasse erfolgte innerhalb dieser Studie allerdings mittels Bioelektroimpedanzanalyse (BIA), einem Verfahren, bei dem die totale

oder appendikuläre Muskelmasse (ASM) anhand der unterschiedlichen Leitfähigkeiten für Strom der verschiedenen Gewebe im Körper errechnet wird. Hierbei handelt es um ein kostengünstiges, weitverbreitetes, transportables und einfach durchzuführendes Messinstrument. Zur Vermeidung einer Strahlenbelastung durch eine DXA sowie hohem logistischem Aufwand wurde in dieser Studie eine BIA durchgeführt. Zur besseren Vergleichbarkeit wurden die von der EWGSOP empfohlenen Referenzwerte nach Sergi et al. (113) angewendet, welche anhand Daten von europäischen älteren Populationen validiert wurden und somit besser auf diese Studienpopulation angewendet werden können.

Das elektromyographische Verfahren MUNIX wird in der klinischen Praxis vor allem in der Diagnostik und Verlaufskontrolle der Amyotrophen Lateralsklerose angewendet zur Quantifizierung des der Krankheit zugrundeliegenden Verlustes von Motorneuronen (156). Unter der Annahme eines ähnlichen Pathomechanismus in der Sarkopenie, nämlich dem Verlust von Muskelmasse in Folge eines Verlustes von Motorneuronen, wurde dieses Verfahren von Drey et al. zum ersten Mal in sarkopenen Probanden angewendet. Die gemittelten MUNIX-Werte der sarkopenen Patienten lagen in dieser Studie zwischen denen von ALS Patienten und gesunden Probanden (115). Neben MUNIX existieren weitere Messverfahren zur Bestimmung der Anzahl der Motorischen Einheiten (Motor Unit Number Estimation (MUNE) methods) in Motorneuron-Krankheiten, basierend auf der 1971 erstmals von McComas et al. beschriebenen Methodik (62). Die Techniken sind jedoch zeitaufwendig, technisch anspruchsvoll in der Ausführung oder invasiv. Die von Nandedkar et al. entwickelte MUNIX Methode bietet den Vorteil, dass sie nicht-invasiv, einfacher in der Durchführung und schmerzfreier für die Probanden ist (114) und deshalb in dieser Studie angewendet wurde.

Bei den erhobenen Daten handelt sich um eine Querschnittsstudie, die gewonnenen Ergebnisse können daher lediglich Zusammenhänge, aber keine Kausalitäten belegen. In dieser Studie ist die kleine Studienpopulation (n=31) als limitierender Faktor zu nennen, es lassen sich daraus keine allgemeingültigen

Aussagen für die allgemeine Bevölkerung ableiten. Aufgrund der schwierigen Rekrutierung von Probanden mit Einwilligung zur chirurgischen Muskelentnahme sind die vorliegenden Muskelbiopsien und die Möglichkeit der histologischen Auswertung daher als wertvoll anzusehen. Durch die Auswahl von Hüftfrakturpatienten und die damit verbundene Selektion an prä Sarkopenen Patienten lassen sich die Aussagen jedoch nicht generalisieren auf geriatrische Patienten ohne Frakturen.

5.5 Schlussfolgerung und Ausblick

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen erneut, dass die Pathogenese der Sarkopenie nicht auf einen speziellen Pathomechanismus zurückzuführen ist, sondern ein multifaktorielles Problem darstellt. In dieser Querschnittstudie wurde zum ersten Mal ein Zusammenhang zwischen endokrinen Faktoren, im Sinne einer Somatopause, sowie neurogenen Faktoren, wie der beschriebene Verlust von motorischen Einheiten, beobachtet. Die Daten lassen daher vermuten, dass IGF-I als Wachstumsfaktor das essenzielle Hormon für eine suffiziente und erfolgreiche Regeneration des Muskels im Alter ist, sowohl durch direkte Stimulation von wachstumsfördernden Signalwegen in der Zelle als auch über den neurotrophen Effekt auf ein Sprouting aus Axonendigungen. Daher erscheinen weitere Analysen in einer Subgruppe von Sarkopenen Patienten mit reduzierter Anzahl an motorischen Einheiten notwendig. Gleichzeitig sollten die Erkenntnisse dieser Studie als Grundlage zur Eröffnung der Diskussion über IGF-I Supplementierung in Sarkopenen Patienten, insbesondere Patienten mit nachgewiesenem Verlust von motorischen Einheiten, in Betracht gezogen werden. Die Studienlage dazu ist kontrovers. Bisher wurden erst zwei Studien zur Wirkung einer IGF-I Supplementierung in älteren Erwachsenen durchgeführt. Butterfield et al. untersuchten in 14 Frauen älter als 60 Jahren die Wirkung von rekombinantem IGF-I (rhIGF-I) auf die Proteinsynthese im Muskel über einen Zeitraum von 4 Wochen. Sie beobachteten eine Zunahme der Proteinsynthese im Muskel und Körper allgemein, jedoch ohne statistische Signifikanz (157). Friedlander et al. konnten in der zweiten Studie auch nach einem Jahr IGF-I Supplementierung keine Veränderung in der Körperzusammensetzung, der

Knochendichte oder der Handkraft beobachten (158). Studien an eindeutig sarkopen diagnostizierten Patienten wurden bisher aber noch nicht durchgeführt. Boonen et al. zeigten lediglich in Frauen älter als 60 Jahre mit akuten Hüftfrakturen einen potentiellen Nutzen einer Behandlung mit rekombinatem humanen IGF-I (rhIGF-I) im Hinblick auf eine Verbesserung der Muskelkraft (159). In der Behandlung mit IGF-I wurden allerdings auch Nebenwirkungen wie Flüssigkeitsretention, Gynäkomastie oder orthostatische Hypotension beobachtet (160), die studienlimitierend sein könnten. Im Mausmodell konnten Barton-Davis et al. schon 1998 nach viralem Gentransfer von IGF-I in verschiedene Muskelfasern einen Anstieg der absoluten Muskelmasse und Kraft beobachten, während die Zusammensetzung der Muskelfasern gleich blieb, weshalb sie die Hypertrophie auf eine Satellitenzellenstimulation durch IGF-I zurückführten (76) und IGF-I ebenfalls als entscheidendes Hormon zur Erhaltung des regenerativen Potentials in alterndem Muskel ansahen. Außerdem zeigten Shiotani et al., nach Transfer des humanes Insulin-like Growth Faktor-I Genes (hIGFI) in gelähmte Larynxmuskulatur von Ratten einen signifikanten Anstieg der Kontakte zwischen neuromuskulären Endplatten und Muskel und eine Zunahme des Muskeldurchmessers (161). Nach bestem Wissen der Autorin finden sich keine Studien zu oraler oder genbasierter IGF-I Supplementation speziell an sarkopenen Patienten und insbesondere nach Verlust von motorischen Einheiten. Diese Studien erscheinen im Rahmen der anhaltend alternden Bevölkerung relevant und notwendig, um einen möglichen Einsatz als Therapeutikum in der Sarkopenie aufgrund der genannten anabolen Wirkungen zu ermöglichen und die mit Sarkopenie assoziierten individuellen Folgen (Immobilität, Sturzneigung, erhöhte Morbidität und Mortalität) sowie ökonomische Folgen (hohe Kosten für das Gesundheitssystem) zu reduzieren.

Literaturverzeichnis

1. Rosenberg I. Sarcopenia : Diagnosis and Mechanisms Sarcopenia : Origins and Clinical Relevance. *Clin Geriatr Med.* 1997;27(3):337–9.
2. Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, Kritchevsky SB, Nevitt M, Schwartz A V., et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: The Health, Aging and Body Composition Study. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2006;
3. Clark BC, Manini TM. Sarcopenia ≠ dynapenia. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences.* 2008.
4. Delmonico MJ, Harris TB, Visser M, Park SW, Conroy MB, Velasquez-Mieyer P, et al. Longitudinal study of muscle strength, quality, and adipose tissue infiltration. *Am J Clin Nutr.* 2009;
5. Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, et al. Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing [Internet].* 2010;39(4):412–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20392703>
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC2886201>
6. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyère O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: Revised European consensus on definition and diagnosis. *Age and Ageing.* 2019.
7. Chen LK, Liu LK, Woo J, Assantachai P, Auyeung TW, Bahyah KS, et al. Sarcopenia in Asia: Consensus report of the Asian working group for sarcopenia. *Journal of the American Medical Directors Association.* 2014.
8. Studenski SA, Peters KW, Alley DE, Cawthon PM, McLean RR, Harris TB, et al. The FNIH sarcopenia project: Rationale, study description, conference recommendations, and final estimates. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2014;
9. Fielding R, Vellas B, Evans WJ. Sarcopenia: an undiagnosed condition in older adults. Consensus Definition: Prevalence, Etiology, and Consequences. *J Am Med Dir Assoc.* 2012;
10. Cederholm T, Barazzoni R, Austin P, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. ESPEN guidelines on definitions and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr.* 2017;

11. Cao L, Morley JE. Sarcopenia Is Recognized as an Independent Condition by an International Classification of Disease, Tenth Revision, Clinical Modification (ICD-10-CM) Code. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2016;
12. Dent E, Morley JE, Cruz-Jentoft AJ, Arai H, Kritchevsky SB, Guralnik J, et al. International Clinical Practice Guidelines for Sarcopenia (ICFSR): Screening, Diagnosis and Management. *J Nutr Heal Aging*. 2018;
13. Thomas DR. Sarcopenia. *Clinics in Geriatric Medicine*. 2010.
14. Bianchi L, Abete P, Bellelli G, Bo M, Cherubini A, Corica F, et al. Prevalence and Clinical Correlates of Sarcopenia, Identified According to the EWGSOP Definition and Diagnostic Algorithm, in Hospitalized Older People: The GLISTEN Study. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci*. 2017;
15. Sánchez-Rodríguez D, Marco E, Ronquillo-Moreno N, Miralles R, Vázquez-Ibar O, Escalada F, et al. Prevalence of malnutrition and sarcopenia in a post-acute care geriatric unit: Applying the new ESPEN definition and EWGSOP criteria. *Clin Nutr*. 2017;
16. Cerri AP, Bellelli G, Mazzone A, Pittella F, Landi F, Zambon A, et al. Sarcopenia and malnutrition in acutely ill hospitalized elderly: Prevalence and outcomes. *Clin Nutr*. 2015;
17. Phillips A, Strobl R, Vogt S, Ladwig KH, Thorand B, Grill E. Sarcopenia is associated with disability status—results from the KORA-Age study. *Osteoporos Int*. 2017;28(7):2069–79.
18. Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Schneider SM, Zúñiga C, Arai H, Boirie Y, et al. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: A systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing*. 2014;43(6):48–759.
19. Cruz-Jentoft AJ, Sayer AA. Sarcopenia. *Lancet*. 2019;393(10191):2636–46.
20. Ethgen O, Beaudart C, Buckinx F, Bruyère O, Reginster JY. The Future Prevalence of Sarcopenia in Europe: A Claim for Public Health Action. *Calcif Tissue Int*. 2017;
21. WHO, National Institute on Aging, National Institutes of Health, U.S. Department of Health and Human Services. *Global health and ageing. Global Health and Aging*. 2011.
22. Sayer AA, Dennison EM, Syddall HE, Gilbody HJ, Phillips DIW, Cooper C. Type

- 2 diabetes, muscle strength, and impaired physical function: The tip of the iceberg? *Diabetes Care*. 2005;
23. Dodds RM, Syddall HE, Cooper R, Benzeval M, Deary IJ, Dennison EM, et al. Grip strength across the life course: Normative data from twelve British studies. *PLoS One*. 2014;
 24. Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability. *J Am Geriatr Soc*. 2002;
 25. Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R. The Healthcare Costs of Sarcopenia in the United States. *Journal of the American Geriatrics Society*. 2004.
 26. Bahat G, Yilmaz O, Kiliç C, Oren MM, Karan MA. Performance of SARC-F in Regard to Sarcopenia Definitions, Muscle Mass and Functional Measures. *J Nutr Heal Aging*. 2018;
 27. Peterson MD, Rhea MR, Sen A, Gordon PM. Resistance exercise for muscular strength in older adults: A meta-analysis. *Ageing Research Reviews*. 2010.
 28. Peterson MD, Sen A, Gordon PM. Influence of resistance exercise on lean body mass in aging adults: A meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;
 29. Robinson SM, Reginster JY, Rizzoli R, Shaw SC, Kanis JA, Bautmans I, et al. Does nutrition play a role in the prevention and management of sarcopenia? *Clinical Nutrition*. 2018.
 30. De Spiegeleer A, Beckwée D, Bautmans I, Petrovic M, Beaudart C, Beyer I, et al. Pharmacological Interventions to Improve Muscle Mass, Muscle Strength and Physical Performance in Older People: An Umbrella Review of Systematic Reviews and Meta-analyses. *Drugs and Aging*. 2018.
 31. Snyder PJ, Bhasin S, Cunningham GR, Matsumoto AM, Stephens-Shields AJ, Cauley JA, et al. Lessons from the Testosterone Trials. *Endocrine Reviews*. 2018.
 32. Papanicolaou DA, Ather SN, Zhu H, Zhou Y, Lutkiewicz J, Scott BB, et al. A phase IIA randomized, placebo-controlled clinical trial to study the efficacy and safety of the selective androgen receptor modulator (SARM), MK-0773 in female participants with sarcopenia. *J Nutr Heal Aging*. 2013;
 33. Dalton JT, Barnette KG, Bohl CE, Hancock ML, Rodriguez D, Dodson ST, et al. The selective androgen receptor modulator GTx-024 (enobosarm) improves lean

- body mass and physical function in healthy elderly men and postmenopausal women: Results of a double-blind, placebo-controlled phase II trial. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2011;
34. Stangl MK, Böcker W, Chubanov V, Ferrari U, Fischereder M, Gudermann T, et al. Sarcopenia - Endocrinological and Neurological Aspects. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2019.
 35. Becker C, Lord SR, Studenski SA, Warden SJ, Fielding RA, Recknor CP, et al. Myostatin antibody (LY2495655) in older weak fallers: A proof-of-concept, randomised, phase 2 trial. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2015;
 36. Morley JE. Pharmacologic Options for the Treatment of Sarcopenia. *Calcif Tissue Int*. 2016;98(4):319–33.
 37. Nilwik R, Snijders T, Leenders M, Groen BBL, van Kranenburg J, Verdijk LB, et al. The decline in skeletal muscle mass with aging is mainly attributed to a reduction in type II muscle fiber size. *Exp Gerontol*. 2013;
 38. Picca A, Calvani R, Bossola M, Allocca E, Menghi A, Pesce V, et al. Update on mitochondria and muscle aging: All wrong roads lead to sarcopenia. *Biological Chemistry*. 2018.
 39. Ziaaldini MM, Marzetti E, Picca A, Murlasits Z. Biochemical Pathways of Sarcopenia and Their Modulation by Physical Exercise: A Narrative Review. *Front Med [Internet]*. 2017;4(October). Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmed.2017.00167/full>
 40. Abate M, Di Iorio A, Di Renzo D, Paganelli R, Saggini R, Abate G. Frailty in the elderly: The physical dimension. *Eura Medicophys*. 2007;
 41. Mijnders DM, Koster A, Schols JMGA, Meijers JMM, Halfens RJG, Gudnason V, et al. Physical activity and incidence of sarcopenia: The population-based AGES-Reykjavik Study. *Age Ageing*. 2016;
 42. McKee A, Morley JE, Matsumoto AM, Vinik A. Sarcopenia: an Endocrine Disorder? *Endocr Pract [Internet]*. 2017;(aop):EP171795.RA. Available from: <http://journals.aace.com/doi/10.4158/EP171795.RA>
 43. Roy TA, Blackman MR, Mitchell Harman S, Tobin JD, Schragger M, Jeffery Metter E. Interrelationships of serum testosterone and free testosterone index with FFM and strength in aging men. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2002;
 44. Cawthon PM, Ensrud KE, Laughlin GA, Cauley JA, Dam TTL, Barrett-Connor E, et al. Sex hormones and frailty in older men: The osteoporotic fractures in men

- (MrOS) study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;
45. Scicchitano BM, Rizzuto E, Musarò A. Counteracting muscle wasting in aging and neuromuscular diseases: the critical role of IGF-1. *Aging (Albany NY).* 2009;
 46. Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle and Nerve.* 2002.
 47. Dubowitz V, Sewry CA, Oldfors A, Lane RJM. *Muscle Biopsy: A Practical Approach.* Muscle Biopsy: A Practical Approach. 2013.
 48. Glass DJ. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 2005.
 49. Lüllmann-Rauch R, Asan E. *Taschenlehrbuch Histologie.* Taschenlehrbuch Histologie. 2019.
 50. Kellner U, Frahm SO, Mawrin C, Krams M, Schüller S. *Kurzlehrbuch Pathologie.* Kurzlehrbuch Pathologie. 2019.
 51. Lexell J, Taylor CC, Sjöström M. What is the cause of the ageing atrophy? *J Neurol Sci.* 1988;
 52. Dreyer HC, Blanco CE, Sattler FR, Schroeder ET, Wiswell RA. Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle and Nerve.* 2006;
 53. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HHCM, Van Loon LJC. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol - Endocrinol Metab.* 2007;
 54. Larsson L, Sjödin B, Karlsson J. Histochemical and biochemical changes in human skeletal muscle with age in sedentary males, age 22–65 years. *Acta Physiol Scand.* 1978;
 55. Faulkner JA, Larkin LM, Claflin DR, Brooks S V. Age-related changes in the structure and function of skeletal muscles. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology.* 2007.
 56. Wilkinson DJ, Piasecki M, Atherton PJ. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. Vol. 47, *Ageing Research Reviews.* 2018. p. 123–32.
 57. Piasecki M, Ireland A, Jones DA, McPhee JS. Age-dependent motor unit remodelling in human limb muscles. *Biogerontology.* 2016.
 58. Drey M, Krieger B, Sieber CC, Bauer JM, Hettwer S, Bertsch T. Motoneuron loss

- is associated with sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* [Internet]. 2014;15(6):435–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jamda.2014.02.002>
59. Valdez G, Tapia JC, Kang H, Clemenson GD, Gage FH, Lichtman JW, et al. Attenuation of age-related changes in mouse neuromuscular synapses by caloric restriction and exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;
 60. Chai RJ, Vukovic J, Dunlop S, Grounds MD, Shavlakadze T. Striking denervation of neuromuscular junctions without lumbar motoneuron loss in geriatric mouse muscle. *PLoS One*. 2011;
 61. Tomlinson BE, Irving D. The numbers of limb motor neurons in the human lumbosacral cord throughout life. *J Neurol Sci*. 1977;
 62. McComas AJ, Fawcett PR, Campbell MJ, Sica RE. Electrophysiological estimation of the number of motor units within a human muscle. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1971;
 63. R. Deschenes M. Motor Unit and Neuromuscular Junction Remodeling with Aging. *Curr Aging Sci*. 2012;
 64. Piasecki M, Ireland A, Piasecki J, Stashuk DW, Swiecicka A, Rutter MK, et al. Failure to expand the motor unit size to compensate for declining motor unit numbers distinguishes sarcopenic from non-sarcopenic older men. *J Physiol*. 2018;
 65. Covault J, Merlie JP, Gordinis C, Sanes JR. Molecular forms of N-CAM and its RNA in developing and denervated skeletal muscle. *J Cell Biol*. 1986;
 66. Li Y, Lee Y II, Thompson WJ. Changes in aging mouse neuromuscular junctions are explained by degeneration and regeneration of muscle fiber segments at the synapse. *J Neurosci*. 2011;
 67. Ranke MB, Wit JM. Growth hormone-past, present and future. *Nature Reviews Endocrinology*. 2018.
 68. Turner JD, Rotwein P, Novakofski J, Bechtel PJ. Induction of mRNA for IGF-I and -II during growth hormone-stimulated muscle hypertrophy. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 1988;
 69. Barclay RD, Burd NA, Tyler C, Tillin NA, Mackenzie RW. The Role of the IGF-1 Signaling Cascade in Muscle Protein Synthesis and Anabolic Resistance in Aging Skeletal Muscle. *Front Nutr*. 2019;6(September):1–9.
 70. Manning BD. Insulin signaling: Inositol phosphates get into the akt. *Cell*. 2010.
 71. Easton RM, Cho H, Roovers K, Shineman DW, Mizrahi M, Forman MS, et al.

- Role for Akt3/Protein Kinase B in Attainment of Normal Brain Size. *Mol Cell Biol.* 2005;
72. Schiaffino S, Mammucari C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: Insights from genetic models. *Skeletal Muscle.* 2011.
 73. Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell.* 1993;
 74. Powell-Braxton L, Hollingshead P, Warburton C, Dowd M, Pitts-Meek S, Dalton D, et al. IGF-I is required for normal embryonic growth in mice. *Genes Dev.* 1993;
 75. Musarò A, McCullagh K, Paul A, Houghton L, Dobrowolny G, Molinaro M, et al. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Genet.* 2001;
 76. Barton-Davis ER, Shoturma DI, Musaro A, Rosenthal N, Lee Sweeney H. Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;
 77. Foulstone EJ, Huser C, Crown AL, Holly JMP, Stewart CEH. Differential signalling mechanisms predisposing primary human skeletal muscle cells to altered proliferation and differentiation: Roles of IGF-I and TNF α . *Exp Cell Res.* 2004;
 78. Pelosi L, Giacinti C, Nardis C, Borsellino G, Rizzuto E, Nicoletti C, et al. Local expression of IGF-1 accelerates muscle regeneration by rapidly modulating inflammatory cytokines and chemokines. *FASEB J.* 2007;
 79. Adams GR, McCue SA. Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J Appl Physiol.* 1998;
 80. Hill M, Goldspink G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. *J Physiol.* 2003;
 81. Hameed M, Lange KHW, Andersen JL, Schjerling P, Kjaer M, Harridge SDR, et al. The effect of recombinant human growth hormone and resistance training on IGF-I mRNA expression in the muscles of elderly men. *Journal of Physiology.* 2004.
 82. Martín AI, Priego T, López-Calderón A. Hormones and muscle atrophy. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2018.

83. Hughes RA, Sendtner M, Thoenen H. Members of several gene families influence survival of rat motoneurons in vitro and in vivo. *J Neurosci Res.* 1993;
84. Ishii DN, Glazner GW, Pu SF. Role of insulin-like growth factors in peripheral nerve regeneration. *Pharmacology and Therapeutics.* 1994.
85. Vergani L, Di Giulio AM, Losa M, Rossoni G, Muller EE, Gorio A. Systemic administration of insulin-like growth factor decreases motor neuron cell death and promotes muscle reinnervation. *J Neurosci Res.* 1998;
86. Lewis ME, Neff NT, Contreras PC, Stong DB, Oppenheim RW, Grebow PE, et al. Insulin-like growth factor-I: Potential for treatment of motor neuronal disorders. *Exp Neurol.* 1993;
87. Festoff BW, Yang SX, Vaught J, Bryan C, Ma JY. The insulin-like growth factor signaling system and ALS neurotrophic factor treatment strategies. *J Neurol Sci.* 1995;
88. Sullivan KA, Kim B, Feldman EL. Minireview: Insulin-like growth factors in the peripheral nervous system. *Endocrinology.* 2008.
89. Özdinler PH, Macklis JD. IGF-I specifically enhances axon outgrowth of corticospinal motor neurons. *Nat Neurosci.* 2006;
90. Hansson HA, Rozell B, Skottner A. Rapid axoplasmic transport of insulin-like growth factor I in the sciatic nerve of adult rats. *Cell Tissue Res.* 1987;
91. Glazner GW, Morrison AE, Ishii DN. Elevated insulin-like growth factor (IGF) gene expression in sciatic nerves during IGF-supported nerve regeneration. *Mol Brain Res.* 1994;
92. Siu LT, Gordon T. Mechanisms controlling axonal sprouting at the neuromuscular junction. *Journal of Neurocytology.* 2003.
93. Kanje M, Skottner A, Sjöberg J, Lundborg G. Insulin-like growth factor I (IGF-I) stimulates regeneration of the rat sciatic nerve. *Brain Res.* 1989;
94. Thanos PK, Tiangco DA, Terzis JK. Enhanced reinnervation of the paralyzed orbicularis oculi muscle after insulin-like growth factor-I (IGF-I) delivery to a nerve graft. *J Reconstr Microsurg.* 2001;
95. Caroni P, Becker M. The downregulation of growth-associated proteins in motoneurons at the onset of synapse elimination is controlled by muscle activity and IGF 1. *J Neurosci.* 1992;
96. Messi ML, Delbono O. Target-derived trophic effect on skeletal muscle innervation in senescent mice. *J Neurosci.* 2003;

97. Borasio GD, Robberecht W, Leigh PN, Emile J, Guilloff RJ, Jerusalem F, et al. A placebo-controlled trial of insulin-like growth factor-I in amyotrophic lateral sclerosis. *Neurology*. 1998;
98. Lai EC, Felice KJ, Festoff BW, Gawel MJ, Gelinias DF, Kratz R, et al. Effect of recombinant human insulin-like growth factor-I on progression of ALS: A placebo-controlled study. *Neurology*. 1997;
99. Sorenson EJ, Windbank AJ, Mandrekar JN, Bamlet WR, Appel SH, Armon C, et al. Subcutaneous IGF-1 is not beneficial in 2-year ALS trial. *Neurology*. 2008;
100. Frank JA, Richert N, Lewis B, Bash C, Howard T, Civil R, et al. A pilot study of recombinant insulin-like growth factor-I in seven multiple sclerosis patients. *Mult Scler*. 2002;
101. Goya RG, Brown OA, Bolognani F. The thymus-pituitary axis and its changes during aging. *Neuroimmunomodulation*. 1999;
102. Vitale G, Cesari M, Mari D. Aging of the endocrine system and its potential impact on sarcopenia. *Eur J Intern Med* [Internet]. 2016;35:10–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2016.07.017>
103. Ghigo E, Arvat E, Gianotti L, Lanfranco F, Broglio F, Aimaretti G, et al. Hypothalamic growth hormone-insulin-like growth factor-I axis across the human life span. In: *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2000.
104. Veldhuis JD, Liem AY, South S, Weltman A, Weltman J, Clemmons DA, et al. Differential impact of age, sex steroid hormones, and obesity on basal versus pulsatile growth hormone secretion in men as assessed in an ultrasensitive chemiluminescence assay. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;
105. Bartke A, Chandrashekar V, Dominici F, Turyn D, Kinney B, Steger R, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and aging: Controversies and new insights. *Biogerontology*. 2003.
106. Martineau LC, Chadan SG, Parkhouse WS. Age-associated alterations in cardiac and skeletal muscle glucose transporters, insulin and IGF-1 receptors, and PI3-kinase protein contents in the C57BL/6 mouse. *Mech Ageing Dev*. 1999;
107. Arvat E, Broglio F, Ghigo E. Insulin-like growth factor I: Implications in aging. *Drugs and Aging*. 2000.
108. Léger B, Derave W, De Bock K, Hespel P, Russell AP. Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of Akt

- phosphorylation. *Rejuvenation Res.* 2008;
109. Volpato S, Bianchi L, Cherubini A, Landi F, Maggio M, Savino E, et al. Prevalence and clinical correlates of sarcopenia in community-dwelling older people: Application of the EWGSOP definition and diagnostic algorithm. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2014;
 110. Cappola AR, Bandeen-Roche K, Wand GS, Volpato S, Fried LP. Association of IGF-I levels with muscle strength and mobility in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;
 111. Bian A, Ma Y, Zhou X, Guo Y, Wang W, Zhang Y, et al. Association between sarcopenia and levels of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the elderly. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;
 112. Mulasi U, Kuchnia AJ, Cole AJ, Earthman CP. Bioimpedance at the bedside: Current applications, limitations, and opportunities. *Nutr Clin Pract.* 2015;
 113. Sergi G, De Rui M, Veronese N, Bolzetta F, Berton L, Carraro S, et al. Assessing appendicular skeletal muscle mass with bioelectrical impedance analysis in free-living Caucasian older adults. *Clin Nutr.* 2015;
 114. Nandedkar SD, Nandedkar DS, Barkhaus PE, Stalberg E V. Motor unit number index (MUNIX). *IEEE Trans Biomed Eng.* 2004;
 115. Drey M, Grösch C, Neuwirth C, Bauer JM, Sieber CC. The Motor Unit Number Index (MUNIX) in sarcopenic patients. *Exp Gerontol.* 2013;48(4):381–4.
 116. Nandedkar SD, Barkhaus PE, Stålberg E V. Motor unit number index (MUNIX): Principle, method, and findings in healthy subjects and in patients with motor neuron disease. *Muscle and Nerve.* 2010;42(5):798–807.
 117. Brooke MH, Engel WK. The histographic analysis of human muscle biopsies with regard to fiber types: I. Adult male and female. *Neurology.* 1969;
 118. Stadler S, Wu Z, Dressendörfer RA, Morrison KM, Khare A, Lee PD., et al. Monoclonal anti-acid-labile subunit oligopeptide antibodies and their use in a two-site immunoassay for ALS measurement in humans. *J Immunol Methods.* 2001 Jun;252(1–2):73–82.
 119. Bidlingmaier M, Friedrich N, Emeny RT, Spranger J, Wolthers OD, Roswall J, et al. Reference Intervals for Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-I) From Birth to Senescence: Results From a Multicenter Study Using a New Automated Chemiluminescence IGF-I Immunoassay Conforming to Recent International Recommendations. *J Clin Endocrinol Metab [Internet].* 2014 May 1;99(5):1712–

21. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article/99/5/1712/2537423>
120. Friedrich N, Wolthers OD, Arafat AM, Emeny RT, Spranger J, Roswall J, et al. Age- and sex-specific reference intervals across life span for insulin-like growth factor binding protein 3 (igfbp-3) and the igf-i to igfbp-3 ratio measured by new automated chemiluminescence assays. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;
121. Bidlingmaier M, Schilbach K, Kühnle T. *Einsenderhandbuch Endokrinologisches Labor Medizinische Klinik und Poliklinik IV der LMU München.* 2020;1–48.
122. Kramer IF, Snijders T, Smeets JSJ, Leenders M, Van Kranenburg J, Den Hoed M, et al. Extensive Type II Muscle Fiber Atrophy in Elderly Female Hip Fracture Patients. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 2017;72(10):1369–75.
123. Staron RS, Hagerman FC, Hikida RS, Murray TF, Hostler DP, Crill MT, et al. Fiber type composition of the vastus lateralis muscle of young men and women. *J Histochem Cytochem.* 2000;
124. Lexell J. Human aging, muscle mass, and fiber type composition. In: *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences.* 1995.
125. Kelly NA, Hammond KG, Stec MJ, Bickel CS, Windham ST, Tuggle SC, et al. Quantification and characterization of grouped type I myofibers in human aging. *Muscle and Nerve.* 2018;57(1):E52–9.
126. Tanganelli F, Meinke P, Hofmeister F, Jarmusch S, Baber L, Mehaffey S, et al. Type-2 muscle fiber atrophy is associated with sarcopenia in elderly men with hip fracture. *Exp Gerontol.* 2021;144.
127. Anderson LJ, Liu H, Garcia JM. Sex differences in muscle wasting. In: *Advances in Experimental Medicine and Biology.* 2017.
128. Verdijk LB, Snijders T, Beelen M, Savelberg HHCM, Meijer K, Kuipers H, et al. Characteristics of muscle fiber type are predictive of skeletal muscle mass and strength in elderly men. *J Am Geriatr Soc.* 2010;
129. Di Monaco M, Castiglioni C, Vallero F, Di Monaco R, Tappero R. Sarcopenia is more prevalent in men than in women after hip fracture: A cross-sectional study of 591 inpatients. *Arch Gerontol Geriatr.* 2012;
130. Delbono O. Neural control of aging skeletal muscle. *Aging cell.* 2003.
131. McNeil CJ, Doherty TJ, Stashuk DW, Rice CL. Motor unit number estimates in the tibialis anterior muscle of young, old, and very old men. *Muscle and Nerve.* 2005;
132. Doherty TJ, Vandervoort AA, Brown WF. Effects of ageing on the motor unit: a

- brief review. Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquée. 1993.
133. Clark DJ, Fielding RA. Neuromuscular contributions to age-related weakness. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*. 2012.
 134. Covault J, Sanes JR. Neural cell adhesion molecule (N-CAM) accumulates in denervated and paralyzed skeletal muscles. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;
 135. Wolf M, Wolf C, Weber MA. Neurogene Myopathien und Bildung der Muskeldenervation. *Radiologe*. 2017.
 136. Piasecki M, Ireland A, Stashuk D, Hamilton-Wright A, Jones DA, McPhee JS. Age-related neuromuscular changes affecting human vastus lateralis. *J Physiol*. 2016;594(16):4525–36.
 137. Ascenzi F, Barberi L, Dobrowolny G, Villa Nova Bacurau A, Nicoletti C, Rizzuto E, et al. Effects of IGF-1 isoforms on muscle growth and sarcopenia. *Aging Cell*. 2019;18(3):1–11.
 138. Musarò A, Dobrowolny G, Rosenthal N. The neuroprotective effects of a locally acting IGF-1 isoform. *Exp Gerontol*. 2007;
 139. Musaró A, Giacinti C, Borsellino G, Dobrowolny G, Pelosi L, Cairns L, et al. Stem cell-mediated muscle regeneration is enhanced by local isoform of insulin-like growth factor 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;
 140. MAURO A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol*. 1961;
 141. Verdijk LB, Snijders T, Drost M, Delhaas T, Kadi F, Van Loon LJC. Satellite cells in human skeletal muscle; From birth to old age. *Age (Omaha)*. 2014;
 142. Renault V, Thornell LE, Eriksson PO, Butler-Browne G, Mouly V. Regenerative potential of human skeletal muscle during aging. *Aging Cell*. 2002;
 143. Kadi F, Charifi N, Denis C, Lexell J. Satellite cells and myonuclei in young and elderly women and men. *Muscle and Nerve*. 2004;
 144. Scicchitano BM, Dobrowolny G, Sica G, Musaro A. Molecular Insights into Muscle Homeostasis, Atrophy and Wasting. *Curr Genomics*. 2018;
 145. Scholzen T, Gerdes J. The Ki-67 protein: From the known and the unknown. *Journal of Cellular Physiology*. 2000.
 146. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marker. *Chromosoma*. 2018.

147. Hendrickse P, Galinska M, Hodson-Tole E, Degens H. An evaluation of common markers of muscle denervation in denervated young-adult and old rat gastrocnemius muscle. *Exp Gerontol*. 2018;
148. Kanda K, Hashizume K. Recovery of motor-unit function after peripheral nerve injury in aged rats. *Neurobiol Aging*. 1991;
149. Aare S, Spendiff S, Vuda M, Elkrief D, Perez A, Wu Q, et al. Failed reinnervation in aging skeletal muscle. *Skelet Muscle* [Internet]. 2016;6(1):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13395-016-0101-y>
150. Gillon A, Sheard P. Elderly mouse skeletal muscle fibres have a diminished capacity to upregulate NCAM production in response to denervation. *Biogerontology*. 2015;
151. Andersson AM, Olsen M, Zhernosekov D, Gaardsvoll H, Krog L, Linnemann D, et al. Age-related changes in expression of the neural cell adhesion molecule in skeletal muscle: a comparative study of newborn, adult and aged rats. *Biochem J*. 1993;
152. Drey M, Sieber CC, Bertsch T, Bauer JM, Schmidmaier R, The FiAT intervention group. Osteosarcopenia is more than sarcopenia and osteopenia alone. *Aging Clin Exp Res*. 2016;
153. González-Montalvo JI, Alarcón T, Gotor P, Queipo R, Velasco R, Hoyos R, et al. Prevalence of sarcopenia in acute hip fracture patients and its influence on short-term clinical outcome. *Geriatr Gerontol Int*. 2016;
154. Steihaug OM, Gjesdal CG, Bogen B, Kristoffersen MH, Lien G, Ranhoff AH. Sarcopenia in patients with hip fracture: A multicenter cross-sectional study. *PLoS One*. 2017;12(9):1–13.
155. Beaudart C, McCloskey E, Bruyère O, Cesari M, Rolland Y, Rizzoli R, et al. Sarcopenia in daily practice: assessment and management. *BMC Geriatr*. 2016;
156. Neuwirth C, Nandedkar S, Stålberg E, Weber M. Motor Unit Number Index (MUNIX): A novel neurophysiological technique to follow disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. *Muscle and Nerve*. 2010;
157. Butterfield GE, Thompson J, Rennie MJ, Marcus R, Hintz RL, Hoffman AR. Effect of rhGH and rhIGF-I treatment on protein utilization in elderly women. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 1997;
158. Friedlander AL, Butterfield GE, Moynihan S, Grillo J, Pollack M, Holloway L, et al. One year of insulin-like growth factor I treatment does not affect bone density,

- body composition, or psychological measures in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;
159. Boonen S, Rosen C, Bouillon R, Sommer A, McKay M, Rosen D, et al. Musculoskeletal effects of the recombinant human IGF-I/IGF binding protein-3 complex in osteoporotic patients with proximal femoral fracture: A double-blind, placebo-controlled pilot study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;
160. Sullivan DH, Carter WJ, Warr WR, Williams LH. Side effects resulting from the use of growth hormone and insulin-like growth factor-I as combined therapy to frail elderly patients. *Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci.* 1998;
161. Shiotani A, O'Malley J, Coleman ME, Alila HW, Flint PW. Reinnervation of motor endplates and increased muscle fiber size after human insulin-like growth factor I gene transfer into the paralyzed larynx. *Hum Gene Ther.* 1998;9(14).

Anhang

Lineare Regressionsrechnung

Tabelle 15: Lineare Regressionsrechnungen für z-Score Sarkopenie, MUNIX, IGF-I, Ki67 und NCAM

| Abhängige Variable | Unabhängige Variable | β / p | +Geschlecht β_2 / p | + Geschlecht + Alter β_3 / p |
|--------------------|----------------------|-----------------|--------------------------------|--|
| z-Score Sarkopenie | IGF-I | -0.360 / 0.047* | -0.299 / 0.089 | -0.199 / 0.324 |
| | MUNIX | -0.411 / 0.027* | -0.284 / 0.137 | -0.186 / 0.378 |
| | Ki67 | -0.374 / 0.046* | -0.339 / 0.057 | -0.272 / 0.129 |
| | NCAM | -0.194 / 0.303 | -0.177 / 0.324 | -0.038 / 0.845 |
| | Durchmesser FT 2 | -0.301 / 0.120 | -0.475 / 0.011* | -0.397 / 0.047* |
| | AF FT 2 | 0.531 / 0.004* | 0.456 / 0.015* | 0.382 / 0.050* |
| MUNIX | IGF-I | 0.512 / 0.005* | 0.436 / 0.014* | 0.291 / 0.047* |
| | IGFBP-3 | 0.467 / 0.011* | 0.368 / 0.053 | 0.206 / 0.302 |
| | ALS | 0.460 / 0.012* | 0.351 / 0.078 | 0.141 / 0.521 |
| | Durchmesser FT2 | -0.152 / 0.488 | -0.030 / 0.877 | -0.193 / 0.333 |
| IGF-I | Durchmesser FT2 | 0.030 / 0.879 | 0.125 / 0.545 | -0.113 / 0.571 |
| | AF FT2 | -0.361 / 0.059 | -0.312 / 0.126 | -0.151 / 0.436 |
| Ki67 | IGF-I | 0.424 / 0.022* | 0.407 / 0.028* | 0.296 / 0.087 |
| NCAM | IGF-I | 0.380 / 0.039* | 0.370 / 0.043* | 0.192 / 0.297 |

β =Regressionskoeffizient, p = p-value, *= $p < 0.05$

Danksagung

Mein Dank gilt an erster Stelle meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Michael Drey, für die Überlassung dieses interessanten Dissertationsthemas und die hervorragende fachliche und persönliche Betreuung meiner Doktorarbeit.

Frau PD Dr. med. Uta Ferrari möchte ich für die Betreuung sowie die Unterstützung bei der Auswertung der Daten danken.

Herrn PD Dr. med. Carl Neuerburg sowie Herrn Dr. med. Stefan Mehaffey danke ich für die exzellente Zusammenarbeit mit der Klinik für Unfallchirurgie und Alterstraumatologie im Rahmen der Rekrutierung und chirurgischen Entnahme der Muskelbiopsien.

Ein weiterer Dank gilt zum einen dem Endokrinologischen Labor der Medizinischen Klinik IV der LMU München unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. Martin Bidlingmaier, welche dankenswerterweise die Serumanalysen durchführten und bei Fragen jederzeit zur Verfügung standen. Zum anderen danke ich den Mitarbeitern des Myologischen Labors des Friedrich-Baur-Institutes der LMU München für die Bereitstellung der Laborräume und die fachliche Unterstützung.

Ebenso möchte ich Fabian Hofmeister, Lisa Baber und Fabiana Tanganelli für die kollegiale Zusammenarbeit als Doktoranden im Projekt NEUSARC danken. Zusammen danken wir allen Probanden, die durch ihre Teilnahme diese Studie erst ermöglicht haben.

Besonders möchte ich meiner Großmutter und meiner Mutter danken, die mir beide als starke und emanzipierte Ärztinnen den Mut und das Vertrauen gegeben haben, diesen Lebensweg einzuschlagen. Meiner Familie und meinen Großeltern gilt mein großer Dank von Herzen für ihre unermüdliche Unterstützung und Ermutigung sowohl während des Studiums als auch darüber hinaus. Ihnen widme ich diese Arbeit.

Affidavit



Eidesstattliche Versicherung

Jarmusch, Stefanie

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel:

Endokrine und neurogene Einflussfaktoren in der Pathogenese der Sarkopenie

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 05.07.2022

Ort, Datum

Stefanie Jarmusch

Unterschrift Doktorandin bzw. Doktorand

Publikationsliste

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

- Jarmusch Stefanie; Baber L; Bidlingmaier M; Ferrari U; Hofmeister F; Hintze S; Mehaffey S; Meinke P; Neuerburg C; Schoser B; Tanganelli F; Drey M.

Influence of IGF-I serum concentration on muscular regeneration capacity in sarcopenic patients

BMC Musculoskeletal Disorders 22, 807 (2021).

<https://doi.org/10.1186/s12891-021-04699-3>

Weitere Ergebnisse der Studie NEUSARC wurden veröffentlicht in:

- Tanganelli F, Meinke P, Hofmeister F, Jarmusch S, Baber L, Mehaffey S, Hintze S, Ferrari U, Neuerburg C, Kammerlander C, Schoser B, Drey M.
Type 2 muscle fiber atrophy is associated with sarcopenia in elderly men with hip fracture.

Experimental Gerontology Volume 144, February 2021, 111171

<https://doi.org/10.1016/j.exger.2020.111171>

- Hofmeister F; Baber L; Ferrari U; Hintze S; Jarmusch S; Krause S; Meinke P; Mehaffey S; Neuerburg C; Tanganelli F; Schoser B; Drey M.
Late-onset neuromuscular disorders in the differential diagnosis of sarcopenia

BMC Neurology, 21, 241 (2021).

<https://doi.org/10.1186/s12883-021-02264-y>