

Aus der Klinik für Unfallchirurgie, Orthopädie und Plastische Chirurgie

(Prof. Dr. med. W. Lehmann)

der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Auswirkungen einer Therapie mit dem
nicht-steroidalen Androgenrezeptor-
Modulator Ligandrol auf die
Skelettmuskulatur im ovariectomierten
Rattenmodell**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizinischen Fakultät der

Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Jan Christoph Carstens

aus

Eckernförde

Göttingen 2021

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss:

Betreuer/-in: Prof. Dr. med. S. Sehmisch

Ko-Betreuer/-in: Prof. Dr. rer. nat. H. Jarry

Prüfungskommission:

Referent/-in: PD Dr. med. D. Hoffmann

Ko-Referent/-in Prof. Dr. mult. T. Meyer

Drittreferent/-in Prof. Dr. hum. biol. M. Schön

Datum der mündlichen Prüfung: 21.09.2022

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Auswirkungen einer Therapie mit dem nicht-steroidalen Androgenrezeptor-Modulator Ligandrol auf die Skelettmuskulatur im ovariectomierten Rattenmodell“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

.....

(Unterschrift)

Die Daten, auf denen die vorliegende Arbeit basiert, wurden teilweise publiziert:

Carstens JC, Hoffmann D, Lehmann W, Schilling A, Krischek C, Sehmisch S, Komrakova M (2018): Die Wirkung des selektiven Androgenrezeptormodulators Ligandrol auf die Muskulatur im ovariectomierten Rattenmodell. Posterpräsentation im Rahmen des deutschen Kongresses für Orthopädie und Unfallchirurgie 2018, Berlin, 23.10.-26.10.2018

Roch PJ, Henkies D, Carstens JC, Krischek C, Lehmann W, Komrakova M, Sehmisch S (2020): Ostarine and Ligandrol Improve Muscle Tissue in an Ovariectomized Rat Model. *Front Endocrinol* 11, 556581

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Zielsetzung	1
1.2 Muskulatur.....	2
1.2.1 Quergestreifte Skelettmuskulatur	2
1.2.2 Innervation der Skelettmuskulatur	8
1.2.3 Ablauf der Skelettmuskelkontraktion.....	9
1.2.4 Einfluss der Sexualhormone auf die Muskulatur	10
1.3 Sarkopenie	11
1.3.1 Pathophysiologie der Sarkopenie.....	13
1.3.2 Diagnosekriterien	15
1.3.3 Screeningverfahren	16
1.3.4 Epidemiologie	16
1.3.5 Therapie und Prävention	18
1.3.6 Pharmakotherapie	19
1.4 Die Ratte als Tiermodell postmenopausaler Osteoporose und Sarkopenie	26
1.5 Untersuchungsmethoden der Muskulatur.....	27
2 Material und Methoden.....	29
2.1 Tierkollektiv	29
2.2 Versuchsaufbau	30
2.2.1 Ovariectomie	31
2.2.2 Medikamentöse Therapie.....	32
2.2.3 Tötung der Versuchstiere	33
2.2.4 Entnahme der Proben	33
2.2.5 Histologische Analysen der Muskeln.....	34
2.3 Auswertung.....	40
2.3.1 Auswertung der Kapillarisation	41
2.3.2 Auswertung des Muskelfaserquerschnitts.....	42
2.3.3 Statistische Auswertung	44
3 Ergebnisse	45
3.1 Körpergewichte	45

3.2	Futteraufnahme.....	46
3.3	Ligandrol-Dosis	47
3.4	Uterusgewicht	48
3.5	Muskelgewichte.....	49
3.5.1	Gewicht <i>M. gastrocnemius</i>	50
3.5.2	Gewicht <i>M. soleus</i>	51
3.6	Konzentration der Creatinkinase (CK)	53
3.7	Kapillarisierung	53
3.7.1	<i>M. gastrocnemius</i>	53
3.7.2	<i>M. longissimus</i>	55
3.7.3	<i>M. soleus</i>	56
3.8	Muskelfaserdurchmesser und -querschnitt	58
3.8.1	<i>M. gastrocnemius</i>	58
3.8.2	<i>M. longissimus</i>	61
3.8.3	<i>M. soleus</i>	64
3.9	Zellzahlen	65
4	Diskussion	70
4.1	Körpergewichte und Futteraufnahme.....	70
4.2	Uterusgewicht	72
4.3	Serum CK.....	73
4.4	Kapillarisierung der Muskulatur	73
4.5	Muskelgewicht und -faserquerschnitt.....	75
4.6	Zellzahl im <i>M. longissimus</i>	78
4.7	Schlussfolgerung.....	79
5	Zusammenfassung	81
6	Anhang	83
7	Literaturverzeichnis	85

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung des Muskelaufbaus	5
Abb. 2: Strukturformel Ligandrol	25
Abb. 3: Käfige der Versuchstiere mit Futter- und Trinkwasserversorgung	30
Abb. 4: Seitliche Darstellung einer Ratte mit ligiertem Ovar	32
Abb. 5: <i>M. gastrocnemius</i> in Amylase-PAS-Färbung	35
Abb. 6: <i>M. longissimus</i> in ATPase-/Diaphorase-Färbung	37
Abb. 7: Auszählung der Zellen und Kapillaren im <i>M. soleus</i>	41
Abb. 8: Bestimmung von Faserquerschnitt und -fläche der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i>	42
Abb. 9: <i>M. soleus</i> nach ATPase-/Diaphorase-Färbung	43
Abb. 10: Darstellung der MW des Körpergewichts der Tiere im vierzehnwöchigen Versuchsverlauf	45
Abb. 11: Tägliche Futtermenge pro Tier in g im vierzehnwöchigen Versuchsverlauf ...	46
Abb. 12: Uterusgewichte zum Zeitpunkt des Versuchsendes	49
Abb. 13: Gewicht des <i>M. gastrocnemius</i> zum Zeitpunkt des Versuchsendes.....	50
Abb. 14: Gewichte des <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG des jeweiligen Versuchstieres zum Zeitpunkt des Versuchsendes	51
Abb. 15: Gewicht des <i>M. soleus</i> zum Zeitpunkt des Versuchsendes.....	52
Abb. 16: Gewicht des <i>M. soleus</i> bezogen auf das KG zum Zeitpunkt des Versuchsendes..	52
Abb. 17: Konzentration der CK im Serum zum Zeitpunkt des Versuchsendes.....	53
Abb. 18: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG	55
Abb. 19: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG	56
Abb. 20 Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. soleus</i> bezogen auf das KG	58
Abb. 21: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG.....	60
Abb. 22: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG.....	61
Abb. 23: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG.....	62
Abb. 24: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG	63
Abb. 25: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im <i>M. soleus</i> bezogen auf das KG	65
Abb. 26: Anzahl der glykolytischen Zellen bezogen auf das KG im <i>M. longissimus</i>	67
Abb. 27: Anzahl der intermediären und oxidativen Zellen bezogen auf das KG im <i>M. longissimus</i>	68
Abb. 28: Quotient aus der Anzahl der glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG	69

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Eigenschaften der verschiedenen Skelettmuskelfasertypen	7
Tabelle 2: Bezeichnung der Versuchsgruppen	33
Tabelle 3: Komponenten der Amylase-PAS-Färbung.....	36
Tabelle 4: Durchführung der Amylase-PAS-Färbung	37
Tabelle 5: Zusammensetzung der ATPase-/Diaphorase-Färbelösung.....	38
Tabelle 6: Zusammensetzung der Komponenten der ATPase-/Diaphorase-Färbung.....	39
Tabelle 7: Durchführung der ATPase-/Diaphorase-Färbung	40
Tabelle 8: Das Körpergewicht in g über den 14-wöchigen Versuchsverlauf	46
Tabelle 9: Futterraufnahme über den 14-wöchigen Versuchsverlauf.....	47
Tabelle 10: Ligandrol Dosis	48
Tabelle 11: Uterusgewichte zum Zeitpunkt des Versuchsendes.....	49
Tabelle 12 Gewichte des <i>M. gastrocnemius</i> zum Zeitpunkt des Versuchsendes.....	50
Tabelle 13: Gewichte des <i>M. soleus</i> zum Zeitpunkt des Versuchsendes	51
Tabelle 14: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. gastrocnemius</i>	54
Tabelle 15: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das Körpergewicht .	54
Tabelle 16: MW des Kapillar-Zell-Quotienten im <i>M. longissimus</i>	55
Tabelle 17: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG	56
Tabelle 18: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. soleus</i>	57
Tabelle 19: Kapillar-Zell-Quotient im <i>M. soleus</i> bezogen auf das KG.....	57
Tabelle 20: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen und der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i>	59
Tabelle 21: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG.....	59
Tabelle 22: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. gastrocnemius</i> bezogen auf das KG.....	60
Tabelle 23: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen und der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. longissimus</i>	61
Tabelle 24: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG.....	62
Tabelle 25: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. longissimus</i> bezogen auf das KG	63
Tabelle 26: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im <i>M. soleus</i>	64
Tabelle 27: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im <i>M. soleus</i> bezogen auf das KG	64
Tabelle 28: Zellzahl der glykolytischen Zellen im <i>M. longissimus</i>	65
Tabelle 29: Zellzahl der intermediären/oxidativen Zellen im <i>M. longissimus</i>	66
Tabelle 30: Quotient aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen, prozentuale Anteile der Zelltypen im <i>M. longissimus</i>	66
Tabelle 31: Zellzahl der glykolytischen Zellen bezogen auf das KG im <i>M. longissimus</i>	67
Tabelle 32: Zellzahl der intermediären/oxidativen Zellen bezogen auf das KG im <i>M. longissimus</i>	68
Tabelle 33: Quotient aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen bezogen auf das KG im <i>M. longissimus</i>	69

Abkürzungsverzeichnis

ACh	Acetylcholin
ACI	<i>Arteria carotis interna</i>
ADP	Adenosindiphosphat
AR	Androgenrezeptor
ATP	Adenosintriphosphat
BIA	Bioimpedanzanalyse
BMD	<i>bone mineral density</i> = Knochenmineraldichte
BMI	<i>Body-mass-Index</i>
CK	Creatinkinase
CT	Computertomographie
DHPR	Dihydropyridinrezeptor
DXA	Dualröntgenabsorptiometrie
EWGSOP	<i>European Working Group on Sarcopenia in Older People</i>
EPSP	Exzitatorisches postsynaptisches Potential
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
G6P	Glukose-6-Phosphat
HDL	<i>High-density-Lipoprotein</i>
HGH	<i>Human-growth-Hormon</i>
ICD 10	<i>international classification of diseases</i>
IGF	<i>insulinlike growth factor</i>
IWGS	<i>International Working Group on Sarcopenia</i>
KG	Körpergewicht
LBM	<i>lean body mass</i> = fettfreie Körpermasse
LDL	<i>Low-density Lipoprotein</i>
LH	Luteinisierendes Hormon
M.	<i>Musculus</i>
MG	Muskelgewicht
MHC	<i>myosin heavy chain</i>
MMI	Muskelmasseindex

MRT	Magnetresonanztomographie
mTORC1	Rapamycinkomplex 1
MYOD1	<i>myogenic differentiation 1</i>
NADP / NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NIK	Nuklearfaktor- κ B-induzierende Kinase
Non OVX	nicht ovariectomiertes Rattenkollektiv (Kontrollgruppe)
OVX	ovariectomiertes Rattenkollektiv
P	Phosphat
p70S6K1	70-kD-ribosomale-Protein-S6-Kinase-1
pAVK	periphere Arterielle Verschlusskrankheit
PET	Positronenemissionstomographie
PRT	<i>Progressive-resistance-Training</i>
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
RyR1	Ryanodinrezeptor
SARM(s)	selektive(r) Androgenrezeptor Modulator(en)
SHBG	Sexualhormon-bindendes-Globulin
SPECT	Single-Photon-Emissions-Tomographie
SPPB	<i>Short-physical-performance-battery-Test</i>
SR	Sarkoplasmatisches Retikulum
TSP-1	Thrombospondin 1
VEGF-A	<i>vascular endothelium growth factor A</i>
ZTE	Zentrale Tierexperimentelle Einrichtung

1 Einleitung

1.1 Zielsetzung

Durch die permanent ansteigende Lebenserwartung der Bevölkerung von Industrienationen (Mathers 2015) gewinnen Erkrankungen, die vorwiegend den „alten Menschen“ betreffen, zunehmend an Bedeutung. Dazu zählen u. a. kardiovaskuläre, onkologische und neurologische Erkrankungen, doch auch muskuloskeletale Strukturveränderungen rückten als Resultat dieser Entwicklung in den Fokus der modernen Medizin.

Stürze, pathologische Frakturen und schwere Folgeerkrankungen im Rahmen der Hospitalisierung sind gravierende Einschnitte in persönliche Schicksale, aber auch eine immense finanzielle Belastung des Gesundheitssystems, welche durch frakturdisponierende Faktoren wie die postmenopausale Osteoporose und Sarkopenie deutlich aggraviert werden kann (Bleibler et al. 2014).

Eine einheitliche Definition der Sarkopenie erwies sich auf Grund der zahlreichen unterschiedlichen Schwerpunkte der verschiedenen Expertengremien, welche sich mit dem Krankheitsbild befassten, lange Zeit als schwierig, was nicht nur ätiologische und epidemiologische Untersuchungen, sondern auch Diagnose und Behandlung deutlich erschwerte (Edwards et al. 2015). Es blieb unter anderem unklar, ob erkrankungsbedingte Sarkopenie bei z. B. Tumorleiden, aber auch chronischen Erkrankungen wie Osteoporose in die Definition eingeschlossen werden sollten.

Bereits ab dem 35. Lebensjahr kommt es zu einer Reduktion von Muskelmasse und -funktion, welche sich mit fortschreitendem Alter stärker ausprägt und in letzter Konsequenz zu den o. g. Komplikationen führen kann (Edwards et al. 2015).

Das Skelettsystem steht in einer beide Systeme beeinflussenden Wechselwirkung mit der Muskulatur. Deutliche Hinweise darauf, dass Muskelmasse, mehr aber noch die Muskelfunktion, eine positive Auswirkung auf die Entwicklung der Knochendichte und -struktur und somit auch auf das individuelle Frakturrisiko haben, ließen sich bereits mehrfach aufzeigen (Edwards et al. 2013; Pasco et al. 2015).

Die postmenopausale Osteoporose sowie eine östrogenmangelbedingte Sarkopenie treten in der Regel erst nach dem 50. Lebensjahr auf (Baccaro et al. 2015). Es wäre folgerichtig, die positiven Effekte des Erhalts einer gesunden Muskelfunktion auf Knochendichte

und -stabilität zu nutzen, um eine physiologische Knochenintegrität länger aufrechtzuerhalten und somit eine zu frühe Hospitalisierung mit allen aufgezeigten Konsequenzen zu vermeiden. Die natürlichste Weise, dies zu erreichen, wäre ein moderates körperliches Training. Doch da, sobald eine manifeste Osteoporose und Sarkopenie bestehen, nicht selten schwere Komorbiditäten wie kardiovaskuläre Erkrankungen oder Tumorleiden auftreten (O'Malley et al. 2014), sollten auch die Alternativen zu körperlichem Training, wie eine medikamentöse Therapie, welche eben nicht die körperliche Leistungsfähigkeit voraussetzt, um dieselbe zu erhalten, weiter erforscht werden.

Eine Option, welche bisher mit vielversprechenden Resultaten in Phase-I- und -II-Studien zur Therapie der Tumorkachexie getestet wird (Mueller et al. 2014), könnte in den selektiven Androgenrezeptormodulatoren (SARMs) bestehen. Diese weisen eine ähnlich anabole Wirkung auf den Skelettmuskel auf wie eine Behandlung mit androgenen Steroiden bei einem vermutlich deutlich geringeren erwarteten Nebenwirkungsspektrum wie z. B. thrombembolischen Ereignissen, Virilisierung, Ödemen und Hepatotoxizität (Bhasin et al. 2006; Mueller et al. 2014; Morimoto et al. 2017).

Diese Studie untersucht die Auswirkungen des nichtsteroidalen SARM Ligandrol auf die Struktur der quergestreiften Skelettmuskulatur im ovariectomierten Rattenmodell. Für diesen SARM konnte bereits eine Zunahme der fettfreien Körpermasse in gesunden männlichen Probanden nachgewiesen werden (Basaria et al. 2013). Studien zur Wirkung auf Frauen oder weibliche Tiermodelle gibt es derzeit noch nicht.

1.2 Muskulatur

1.2.1 Quergestreifte Skelettmuskulatur

Die quergestreifte Skelettmuskulatur ermöglicht unter anderem die Verrichtung mechanischer Arbeit durch unseren Körper. Bewegung in verschiedene Richtungen wird durch ein System von agonistisch und antagonistisch fungierenden Muskeln gewährleistet. Das zugrundeliegende Prinzip aller derartigen Bewegung ist die Kontraktion, welche in Abhängigkeit von Dauer und Intensität der Belastung durch verschiedene Stoffwechselwege ermöglicht wird, welche die Bereitstellung des energiereichen Adenosintri-phosphats (ATP) als gemeinsames Resultat aufweisen. Wesentlich ist zudem die Versorgung der Muskulatur mit Sauerstoff und somit die Durchblutung, da systemisch und auch lokal in den Muskeln zwar

genügend energiereiche Substrate verfügbar sind, eine Möglichkeit der längerfristigen Sauerstoffspeicherung aber nicht besteht (Hoppeler und Billeter 2003).

Der Aufbau der Skelettmuskulatur ist hierarchisch strukturiert: Das Primärbündel bildet die Funktionseinheiten des Muskels und setzt sich aus mehreren parallel verlaufenden Muskelfasern zusammen, welche vom *Perimysium internum*, einer feinen Bindegewebsschicht, umfasst werden. Diese gewährleistet die Verschieblichkeit der Primärbündel untereinander. Das Sekundärbündel setzt sich aus mehreren Primärbündeln zusammen und ist vom *Perimysium externum* umhüllt, innerhalb dessen Septen Blutgefäße und Nerven ins Muskelinnere ziehen. Die Sekundärbündel werden vom *Epimysium* zum Gesamtmuskel zusammengefasst und von derber, bindegewebiger Faszie umgeben.

Nachdem die Blutgefäße durch die Septen des *Perimysium externum* in den Muskel gelangt sind, legen sie sich als weit verzweigtes Kapillarnetz innerhalb des *Endomysium* um die einzelnen Muskelfasern. Die einzelnen Kapillaren ordnen sich im Ruhezustand in Schlingen an, was eine Anpassung an Längenunterschiede des Muskels ermöglicht und eine Ruptur bei starker Dehnung verhindert (Welsch und Deller 2010).

1.2.1.1 Mikroskopischer Aufbau

Jede der multinukleären Muskelfasern hat etwa einen Durchmesser von 50 μm und ist bis zu 10 cm lang. Sie weisen oft hunderte flache Kerne auf und setzen sich zu 80 % aus Myofibrillen zusammen, den kontraktile Einheiten, welche wiederum aus den Proteinen Aktin, Troponin und Tropomyosin aufgebaut sind (Schiaffino et al. 1989).

Mikroskopisch lassen sich unterschiedliche Segmente der einzelnen Myofibrillen abgrenzen, welche nach ihren lichtbrechenden Eigenschaften unter dem Polarisationsmikroskop benannt sind (Abb. 1): Einfachbrechende, isotrope I-Bande, doppeltbrechende, anisotrope A-Bande, in deren Mitte sich die hellen Hensen- oder H-Streifen darstellen, welche wiederum mittig durch die dunklen unter anderem aus Myomesin und Creatinkinase bestehenden Mittel- oder M-Streifen unterbrochen werden.

Die kleinste Einheit der Kontraktion befindet sich jeweils zwischen zwei Zwischenstreifen oder Z-Streifen, ist etwa 2,2 μm lang und wird als Sarkomer bezeichnet. Hunderte bis Tausende solcher Sarkomere bilden eine Fibrille.

Die Z-Streifen, welche sich in der Mitte der I-Bande befinden, sind unter dem Licht-, besser aber noch unter dem Elektronenmikroskop als dunkle, schmale Linien zu erkennen und stellen gitterförmige Strukturen aus verschiedenen Proteinen dar, an welchen die Enden der Aktinfilamente verankert sind.

Innerhalb der A-Bande überlappen sich polare Aktin- und Myosinfilamente, welche ausschließlich dort vorkommen. Dabei umgeben immer sechs Aktinfilamente ein Myosinfilament, während jedes einzelne Aktinfilament immer zwei angrenzenden Myosinfilamenten zugeordnet werden kann. An der M-Linie werden die Myosine durch die dort vorhandenen Proteine untereinander verbunden und stabilisiert. Aktinfilamente wiederum machen den Hauptbestandteil der I-Banden aus und liegen zwischen den Myosinfilamenten bis an die H-Streifen heran. Diese enthalten kein Aktin.

Myosinmoleküle bestehen jeweils aus zwei schweren und vier leichten Polypeptidketten. Die schweren Ketten (*myosin heavy chain*, MHC) weisen zwei sich umeinanderwindende Schwanzteile, flexible Halsteile und seitlich abstehende Kopfteile auf. Die Köpfe können Brücken zwischen Aktin und Myosin bilden und weisen eine Bindungsstelle für energiereiches ATP auf.

Aktinfilamente setzen sich aus zwei Ketten polaren, filamentären Aktins zusammen, deren Plusende am Z-Streifen verankert ist. Jeweils zwischen zwei Aktinfilamenten befindet sich ein regulatorischer Proteinkomplex, das Tropomyosin. Ausschließlich in der quergestreiften Muskulatur lagern sich dem Regulatorkomplex in Abständen von 40 nm Troponinkomplexe an: Troponin T, welches der Bindung an Tropomyosin dient, Troponin C zur Kalziumbindung und Troponin I, welches in Ruhe verhindert, dass Myosinköpfe ans Aktin binden können.

Das elastische Titin oder Connektin verbindet Myosin und Z-Streifen miteinander und ist die längste Polypeptidkette des menschlichen Körpers. Wird eine Myofibrille gedehnt, bis Aktin und Myosin sich nicht mehr überlappen, stellt die elastische Rückstellkraft des Titins bei Sistieren des Dehnungsreizes die normale Überlappung wieder her. (Welsch und Deller 2010)

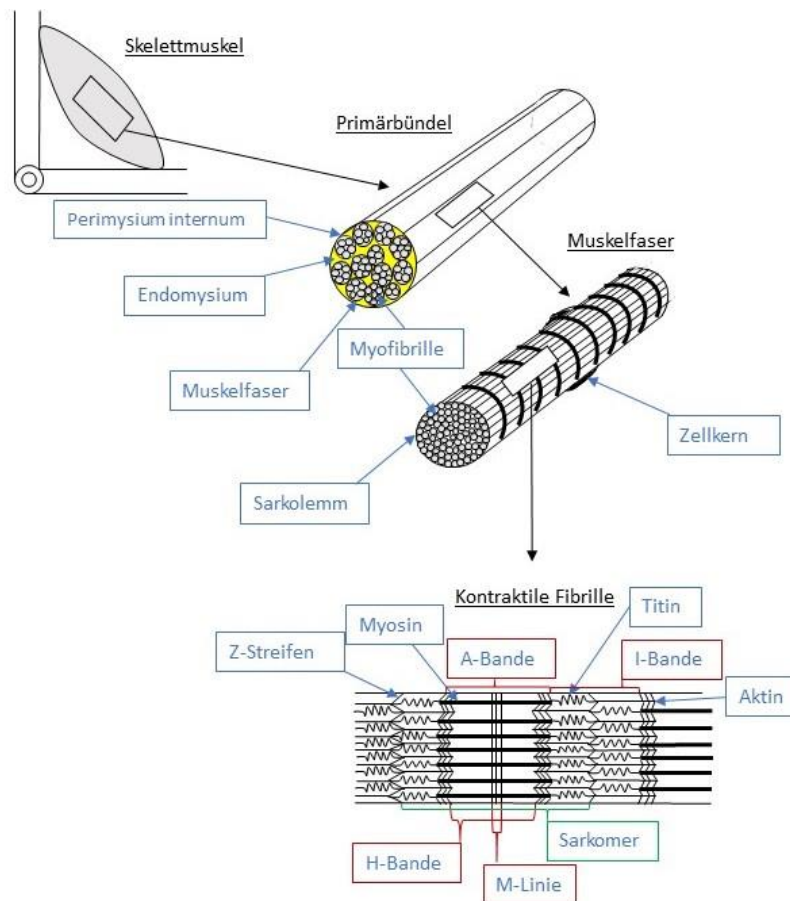


Abb. 1: Schematische Darstellung des Muskelaufbaus (eigene Darstellung, basierend auf Welsch und Deller 2010)

1.2.1.2 Fasertypen der Skelettmuskulatur

Innerhalb jedes Muskels kommen unterschiedliche Arten von Fasern vor, die anhand ihres Durchmessers, aber auch ihrer physiologischen Eigenschaften voneinander unterscheidbar sind (Tabelle 1).

Neben der in dieser Studie untersuchten quergestreiften Skelettmuskulatur kommt noch die hochspezialisierte quergestreifte Herzmuskulatur sowie die im Gastrointestinaltrakt vorherrschende glatte Muskulatur vor.

Die für die Funktion der quergestreiften Skelettmuskulatur relevanten und weitaus häufigsten sind sogenannte Zuckungsfasern. Untereinander unterscheidet man Typ-I-Fasern, welche auch ihrer Farbe nach als rote und ihrer kontraktilen Eigenschaft nach als Typ-S-Fasern (*S = slow*) bezeichnet werden und Typ-II-Fasern, welche auch als weiße oder Typ-F-Fasern (*F = fast*) bezeichnet werden.

Typ-I-Fasern weisen viele Mitochondrien und oxidative Enzyme auf, weshalb ihnen vor allem eine Funktion bei wenig energieaufwändigen Bewegungen bei aerober Stoffwechsellage zukommt. Des Weiteren enthalten sie viel Myoglobin, woraus die rote Färbung resultiert.

Typ-II-Fasern hingegen sind ärmer an Myoglobin und erscheinen daher heller. Sie weisen hohe Konzentrationen an Glykogen und glykolytischen Enzymen auf. Bei anaerober Stoffwechsellage können durch Typ-II-Fasern über kurze Zeit größere Kräfte generiert und eine deutlich schnellere Kontraktion erreicht werden als durch Typ-I-Fasern, allerdings ermüden sie auch wesentlich schneller (Welsch und Deller 2010).

Innerhalb der Gruppe der Typ-II-Fasern lassen sich außerdem Typ-IIa- von Typ-IIb-Fasern abgrenzen. Die Fasertypen unterscheiden sich sowohl durch ihre MHC-Moleküle als auch durch ihre metabolischen Eigenschaften: Typ-II-a-Fasern weisen eine höhere Konzentration oxidativer Enzyme auf und sind weniger ermüdungsanfällig (Schiaffino et al. 1989).

Parallel zu den unterschiedlichen Kontraktionsgeschwindigkeiten der einzelnen Fasern lassen sich auch funktionell verschiedene motorische Einheiten unterscheiden: Typ-S-Einheiten (*slow*) kontrahieren langsam und sind kaum ermüdbar, was sie für Halte- und Ausdauerleistungen prädestiniert. Typ-FF-Einheiten (*fast-fatiguable*) kontrahieren schnell und sind ermüdbar. Sie eignen sich für schnelle, ballistische Bewegungen. Typ-FR-Einheiten (*fatigue resistant*) kontrahieren schnell und sind dennoch ermüdungsresistent. Dies ist nötig bei Bewegungen, die eine kräftige Kontraktion erfordern, die auf Grund ihrer Dauer aber den anaeroben Stoffwechselweg bemüht, da die Muskelkontraktion selbst die Durchblutung einschränkt (Brenner et al. 2009).

Tabelle 1: Eigenschaften der verschiedenen Skelettmuskelfasertypen nach Schiaffino (1989) und Welsch und Deller (2010)

Kontraktionsverhalten	Slow-twitch I	Fast-twitch II	
		Ila, glykolytisch	Ilb, glykolytisch
Fasertyp	I, intermediär/oxidativ	Ila, glykolytisch	Ilb, glykolytisch
Energiegewinnung	aerob	aerob/anaerob	anaerob
Glykogenanteil	niedrig	mittel	hoch
Krafterzeugung	niedrig	moderat	hoch
Ermüdung	langsam	moderat	schnell
Funktion	Haltearbeit, geringer Kraftaufwand	Hoher Kraftaufwand	Maximaler Kraftaufwand

1.2.1.3 Satellitenzellen

Eine entscheidende Rolle sowohl in der Fähigkeit der Muskulatur zur Regeneration als auch zum Wachstum als Antwort auf anabole Reize, spielen die Satellitenzellen. Diese mononukleären Zellen befinden sich innerhalb der adulten Skelettmuskulatur. In einer intakten Muskelfaser liegen die Satellitenzellen in deren Peripherie und sind weniger stoffwechselaktiv. Die Basallamina der Muskelfaser schließt charakteristischerweise mit der der Satellitenzelle ab. Durch eine Verletzung der Muskelfaser aber auch durch Stimuli wie mechanische Belastung oder hormonelle Wachstumsreize kommt es zur Aktivierung. Dies wird durch Makrophagen über *insulinlike growth factor* I und II (IGF-I und -II) und andere Wachstumsfaktoren initiiert.

Über Chemotaxis ist es den Satellitenzellen möglich zu der verletzten Muskelfaser zu migrieren, mit der sie fusionieren und an deren Heilungsprozess sie mitwirken. Aber auch die Entstehung neuer Myozyten aus Satellitenzellen ist auf Grund ihres Stammzellcharakters möglich (Hawke and Garry 2001; Welsch und Deller 2010).

1.2.1.4 Das sarkoplasmatische Retikulum

Das glatte endoplasmatische Retikulum wird im Muskel als sarkoplasmatisches Retikulum (SR) bezeichnet. Es handelt sich um ein hoch differenziertes System von longitudinal zur Zelle angeordneten, die Myofibrillen umgebenden membranösen Schläuchen, welches der

Kalziumspeicherung in Ruhephasen dient. Die longitudinalen L-Tubuli interagieren mit transversal verlaufenden Zellmembraneinstülpungen, den T-Tubuli und münden in die Terminalzisternen, welche die Myofibrillen zirkulär zwischen A- und I-Bande umschließen. Die Terminalzisternen wiederum sind mit den T-Tubuli über einen Kanalproteinkomplex verbunden. Die Gesamtheit dieses tubulären Systems wird als Triade bezeichnet.

Der Kanalkomplex umfasst den zellmembranständigen, spannungsabhängigen Dihydropyridinrezeptor (DHPR), sowie einen in der Terminalzisternenmembran befindlichen Kalziumkanal, den Ryanodinrezeptor (RyR1) (Brenner et al. 2009; Welsch und Deller 2010).

1.2.2 Innervation der Skelettmuskulatur

Die Innervation der Skelettmuskulatur erfolgt durch große, multipolare α -Motoneurone. Ein α -Motoneuron und alle durch dieses Neuron innervierten Muskelfasern bezeichnet man als motorische Einheit. Je größer die Tätigkeit der innervierten Muskeln, desto größer die motorische Einheit. Ein einzelnes Motoneuron innerviert z. B. im *M. gluteus maximus* etwa 5000 Muskelfasern, in den äußeren Augenmuskeln nur 5-10 Muskelfasern (Brenner et al. 2009).

1.2.2.3 Neuromuskuläre Übertragung

Erreicht ein Aktionspotential über ein Motoneuron die neuromuskuläre Endplatte, kommt es über spannungssensible Kalziumkanäle zum Einstrom von Kalziumionen, welcher die Ausschüttung des Neurotransmitters Acetylcholin (ACh) aus präsynaptischen Vesikeln in den synaptischen Spalt induziert.

Postsynaptisch bindet des ACh an nikotinerge Acetylcholinrezeptoren. Dabei handelt es sich um ionotrope Rezeptoren, deren Bindung ihres Liganden insbesondere den Einstrom von Natriumionen zur Folge hat, wodurch es zur lokalen Depolarisation kommt, die man als exzitatorisches postsynaptisches Potential (EPSP) bezeichnet. Das EPSP breitet sich entlang der Muskelfaser aus und aktiviert dort weitere spannungsabhängige Natriumkanäle.

Das ACh wird innerhalb des synaptischen Spalts durch die Cholinesterase inaktiviert und anschließend der Resynthese zugeführt (Brenner et al. 2009; Welsch und Deller 2010).

1.2.3 Ablauf der Skelettmuskelkontraktion

Das Aktionspotential breitet sich über die Membran der Muskelzellen entlang der T-Tubuli bis in die Tiefe der Muskelzellen aus und führt dort über die Umstrukturierung der DHPR zur Öffnung von RyR1. Die in den Terminalzisternen in hoher Konzentration vorhandenen Kalziumionen strömen in das Sarkoplasma und erreichen somit Aktin- und Myosinfilamente.

Die erhöhte Kalziumkonzentration wird durch Troponin-C registriert. Steigt diese Konzentration über 10^{-7} mol/l, führt eine Konformationsänderung des Troponin-Komplexes zu einer Umlagerung des Tropomyosinmoleküls und somit zur Freigabe der hochaffinen Bindungsstellen für die Myosinköpfe.

Die Kontraktion der Skelettmuskulatur folgt der Gleitfilamenttheorie. Diese besagt, dass es zu keiner Änderung der Länge der Myosin- oder Aktinfilamente kommt, sondern diese aneinander entangleiten. Bei einer Kontraktion werden die Aktinfilamente tiefer in die A-Bande gezogen, wodurch sich sowohl die I-Bande als auch der H-Streifen verkürzt, während die A-Bande längenkonstant bleibt.

Auf molekularer Ebene ist der Querbrückenzyklus, also die Interaktion zwischen den Kopfteilen der MHC und den Aktinfilamenten, die Basis der Kontraktion. Der Myosinkopf bindet ein ATP-Molekül an seinem aktiven Zentrum, wodurch der Kopf sich vom Aktinmonomer löst. Die Energie aus der Hydrolyse von ATP zu Adenosindiphosphat (ADP) und anorganischem Phosphat (P) führt zu einem Abkippen des Halsteils, wodurch der Kopf in Richtung Z-Streifen verschoben wird und nun einem neuen Aktinmonomer anliegt.

Es folgt eine Bindung zwischen Aktin und Myosinkopf und anschließend eine Umorientierung des Halsteils, die mit einer Abdissoziation zunächst des Phosphats und dann des ADP einhergeht und bewirkt, dass sich durch den sogenannten Kraftschlag in zwei Schritten Aktin und Myosin insgesamt 8-12 nm gegeneinander verschieben. Anschließend erfolgt eine erneute hochaffine Bindung zwischen Aktin und Myosin, die sich erst durch die Bindung eines neuen ATP wieder löst. Die Fibrille steht nun für einen erneuten Kraftschlag zur Verfügung.

Das makroskopisch sichtbare Korrelat dieses Querbrückenzyklus, den jeder Myosinkopf etwa 5-50-mal pro Sekunde durchläuft, ist eine aktive Verkürzung des Muskels (Brenner et al. 2009; Welsch und Deller 2010).

1.2.4 Einfluss der Sexualhormone auf die Muskulatur

Einen bedeutenden Einfluss auf die Masse und Funktion der Skelettmuskulatur beider Geschlechter üben die Sexualhormone aus. Beim Mann wird der Großteil des Hauptandrogens Testosteron in den Leydigzellen der Hoden synthetisiert, kleinere Mengen in der Nebennierenrinde. Bei der Frau findet die Testosteronsynthese in den Ovarien und der Nebennierenrinde, allerdings in viel geringerer Konzentration statt. Im Blut bindet Testosteron an Albumin und Sexualhormon bindendes Globulin (SHBG) und gelangt so in die Muskulatur und andere Zielorgane.

Dort angelangt dissoziiert es von seinem Transportprotein und dockt entweder direkt an den Androgenrezeptor (AR) an oder wird zunächst zum potenteren Dihydrotestosteron reduziert, welches mit höherer Affinität an den gleichen Rezeptor bindet oder es wird zu Estradiol konvertiert. Die Bindung des Liganden bewirkt eine Aktivierung des AR, welche wiederum zu einer Bindung der DNA-Bindungsdomäne an spezifische hormonsensitive Elemente führt. In Abhängigkeit von der hormonellen Bindung an den AR einer Zelle werden im Anschluss also bestimmte Zielgene verstärkt und andere vermindert exprimiert (Wieacker und Ledig 2011). Auf welche Gene dieser Transkriptionsfaktor einwirkt, ist äußerst komplex und hängt unter anderem vom Gewebe des entsprechenden Zielorgans ab (MacLean and Handelsman 2009).

Testosteron bewirkt im Menschen unter anderem die Zunahme der fettfreien Körpermasse über die Steigerung der Muskelmasse durch eine gesteigerte muskuläre Proteinbiosynthese (Griggs et al. 1989; Wang et al. 2012).

Wie Testosteron und andere Androgene auf molekularer Ebene genau wirken, ist nicht abschließend geklärt. Jedoch gilt die Beeinflussung von Transkriptionsfaktoren durch Testosteron, insbesondere des Rapamycinkomplex 1 (mTORC1), welcher über die Phosphorylierung von Substraten wie der 70 kD-ribosomaler-Protein-S6-Kinase-1 (p70S6K1) einen Protein- und Muskelzuwachs induziert, als gesichert, was sich jedoch bisher nur *in vitro* als reproduzierbar erwies (Rossetti et al. 2018).

Testosteron wirkt positiv auf den *Notch*-Signalweg ein, welcher für die regelrechte Funktion der Satellitenzellen und somit für die muskuläre Regeneration essenziell ist (Kovacheva et al. 2010). Außerdem lassen sich über eine Suppression der c-jun-NH₂-Terminalkinase (JNK) ein antiapoptotischer Effekt sowie über die Aktivierung der Serin-Threonin-Kinase (Akt) die

direkte Induktion einer muskulären Hypertrophie vermuten (Lai et al. 2004; Kovacheva et al. 2010)

Wurde zunächst davon ausgegangen, dass die weiblichen Sexualhormone Progesteron und Östrogen keinen nennenswerten Effekt auf die Muskulatur ausüben, ließ sich aus tierexperimentellen Studien ein regulatorischer, hemmender Effekt der muskulären Proteinbiosynthese folgern (Toth et al. 2001).

Für Östrogen konnte allerdings auch eine direkte positive Beeinflussung der Muskelkraft und -masse in Tierversuchen mit adulten Tieren gezeigt werden. Bei Östrogenmangel im Sinne eines postmenopausalen Defizits konnte durch eine Hormontherapie mit Östrogen eine Dezeleration des Fortschreitens der Atrophie erzielt werden (Tiidus et al. 2013).

Es ließ sich die Existenz spezifischer Östrogenrezeptoren im Muskelgewebe aufzeigen, deren Expression durch die Plasmaöstrogenkonzentration beeinflussbar ist. Die Ergebnisse von Studien *in vitro* suggerieren bisher eine anabole Wirkung über die Modifikation verschiedener Transkriptionsfaktoren (Baltgalvis et al. 2010).

Auch für Progesteron ließ sich ein anaboler Effekt nachweisen. Durch eine Progesterontherapie postmenopausaler Frauen konnte die *messenger*-RNA-Expression für *myogenic differentiation 1* (MYOD1) gesteigert werden, einen potenten anabolen Transkriptionsfaktor (Smith et al. 2014).

1.3 Sarkopenie

Der Terminus „Sarkopenie“ ist ein verhältnismäßig junger Begriff, welcher erstmals 1989 von Irwin H. Rosenberg auf einer Konferenz in New Mexico gebraucht wurde, um den Verlust von Muskelmasse im alternden Menschen zu beschreiben (Rosenberg 1997). Diese Beschreibung wurde zunächst dadurch präzisiert, dass ein Katabolismus durch den Hungerstoffwechsel sowie fortgeschrittene konsumierende Erkrankungen nicht unter die Definition der Sarkopenie fielen, sondern es ausschließlich um den Muskelverlust gehen sollte, der den gesunden alten vom gesunden jungen Menschen unterscheidet (Roubenoff 2000).

Diese Exklusionen erscheinen retrospektiv unpraktikabel, da auch ein sekundärer, also z. B. krankheitsbedingter Verlust der Muskelfunktion die gleichen Konsequenzen wie etwa ein erhöhtes Sturzrisiko, eine erhöhte Frakturgefahr und das Risiko einer Behinderung und er-

höhten Sterblichkeit bergen (Edwards et al. 2015). Daher verwundert es nicht, dass die aktuell gültigen Versionen der Definition auch chronische Erkrankungen wie beispielsweise Diabetes mellitus, Krebsleiden und Infektionen nicht aussondern explizit einschließen (Cruz-Jentoft et al. 2010).

Im Jahr 2009 trat in Rom die „*International Working Group on Sarcopenia*“ (IWGS), ein Gremium aus GeriaterInnen und WissenschaftlerInnen zusammen, um sich einstimmig auf eine allgemein gültige Definition der Sarkopenie festzulegen. Dieser zufolge ist die Sarkopenie ein komplexes Syndrom, das den dem Altern zugeschriebenen Verlust von Skelettmuskelmasse und -funktion bezeichnet. Das Einhergehen mit einer erhöhten Fettmasse ist möglich, aber nicht obligat. Die Gründe für das Auftreten werden unter anderem in fehlender Bewegung, einer veränderten endokrinen Funktion, Infektionen, Ernährungsfaktoren und Insulinresistenz gesehen. Kachexie hingegen kann ein Teilaspekt der Sarkopenie sein, es handelt sich aber nicht um Synonyme für denselben Zustand (Fielding 2011).

Allerdings blieb dies nicht der einzige derartige Vorstoß. Die *European Working Group on Sarcopenia in Older People* (EWGSOP) erarbeitete zwischen 2009 und 2010 eine eigene Definition, welche die Sarkopenie als ein Syndrom beschreibt, bei dem das Fortschreiten und die Generalisation des Verlusts von Skelettmuskelmasse im Vordergrund stehen, wodurch ein ungünstiges *Outcome* wie Behinderung, reduzierte Lebensqualität und Tod begünstigt werden. Als Kriterien zur Diagnosestellung werden das gleichzeitige Bestehen von niedriger Muskelmasse und Muskelfunktion (Kraft oder Leistung) genannt. Dabei ist die niedrige Muskelmasse das obligate Kriterium, welches entweder durch niedrige Kraft oder geringe Leistungsfähigkeit komplettiert zur Diagnose führt (Cruz-Jentoft et al. 2010).

Während die IWGS die Ursachen für Sarkopenie beleuchtet, setzt die EWGSOP in ihrer Definition mit der Betonung der Folgen einen anderen Schwerpunkt. Neben diesen Definitionen gibt es zahlreiche weitere, deren weitere Abhandlung auf Grund von Redundanzen hier allerdings unterbleiben soll.

Um eine Vorstellung davon zu gewinnen, was Sarkopenie bedeutet, ist es sinnvoll, die Gemeinsamkeiten der gängigen Definitionen zu beleuchten, denn diese weisen durchaus entscheidende Parallelen auf. So spielt der mit dem Alter fortschreitende Verlust von Muskelmasse, ebenso wie der Funktionsverlust und die Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit in all diesen Varianten eine entscheidende Rolle.

Um wirksam einschreiten zu können und der Sarkopenie vorbeugen oder sie behandeln zu können, reicht es allerdings nicht, sich lediglich auf eine wörtliche Definition zu verständigen. Es ist genauso wichtig ein messbares Korrelat der beschriebenen Veränderungen zu finden und festzulegen, ab wann eine Intervention sinnvoll oder notwendig wird.

Dass aber mittlerweile ein Bewusstsein für die Existenz der Sarkopenie und die mit ihr einhergehenden Problematiken entstanden ist, zeigt sich auch daran, dass die neueste Auflage der internationalen statistischen Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme (ICD) die Sarkopenie oder „Muskelschwund und -atrophie“ als Diagnose führt (ICD-10-GM Version 2018).

1.3.1 Pathophysiologie der Sarkopenie

Neben den zahlreichen krankheitsassoziierten Gründen für Muskelatrophie im Alter besteht auch im gesunden Menschen eine Tendenz, ab etwa dem 35. Lebensjahr an Muskelmasse und -funktion zu verlieren (Edwards et al. 2015). Die Gründe dafür sind bislang nur sehr unzureichend verstanden und stehen gegenwärtig noch im Mittelpunkt der Forschung. Gezeigt werden konnte bereits, dass es sich um ein komplexes, multifaktorielles Problem handelt.

Unter anderem kommt es mit zunehmendem Alter zu einem Anstieg des oxidativen Stresses und proinflammatorischer Zytokine innerhalb der Myozyten sowie zu einer Abnahme der Produktion anaboler Hormone wie z. B. Testosteron und Östrogen (Buford et al. 2010) und des *Human-growth-Hormons* (HGH), welches seine anabole Wirkung insbesondere durch IGF-1 erreicht. Auch der Mangel an körperlicher Aktivität älterer Menschen sowie Mangel- oder Fehlernährung tragen erheblich zum Fortschreiten der Sarkopenie bei (Valdez et al. 2010; Keller 2019).

Auf zellulärer Ebene lässt sich die Abnahme der Muskelfaserdicke und -zahl, insbesondere durch den Verlust an Typ-II-Fasern hervorheben. Allerdings konnte in einer tierexperimentellen Studie gezeigt werden, dass die Muskelfasern selbst einen eher kleinen Anteil der von altersassoziierten Apoptose betroffenen Zellen stellen. In wesentlich größerem Ausmaß betrifft dies Zellen der extrazellulären Matrix (v. a. Satellitenzellen) sowie zu einem Anteil von bis zu 75% Zellen des Kapillarendothels. Resultat des Untergangs von Endothel-

und Satellitenzellen ist eine Minderversorgung der Myofibrillen mit Sauerstoff und Nährstoffen sowie eine eingeschränkte Regenerationsfähigkeit, was ein Nachlassen der Muskelfunktion und eine Reduktion der Muskelmasse erklären könnte. Möglicherweise lässt außerdem die Tatsache, dass vor allem Zellen betroffen sind, die direkt mit dem Blut in Kontakt kommen, sowie nachfolgend die juxtakapillär liegenden Satellitenzellen den Schluss zu, dass die Apoptose durch zirkulierende Triggerfaktoren zentral initiiert wird (Buford et al. 2010; Wang et al. 2014).

Ein weiterer potenzieller Einflussfaktor ist ein grundsätzlicher Überschuss des Proteinabbaus über die Neusynthese. Dies könnte das Resultat einer verminderten Sensibilität auf anabole Reize, insbesondere die postprandiale Insulinausschüttung sein. Die Intensität der Stimuli bleibt gleich, allerdings entwickelt sich mit zunehmendem Alter eine progrediente Resistenz gegen die anabole Wirkung des Insulins auch bei gesunden, nicht an Diabetes mellitus erkrankten Erwachsenen (Fujita et al. 2009).

Zudem gibt es zahlreiche Hinweise auf erhöhte Raten von latenten Entzündungsprozessen, welche vorwiegend ältere Menschen betreffen und ohne zu einem klinisch fassbaren Krankheitsbild zu führen, erhöhte Spiegel verschiedener proinflammatorischer Zytokine bedingen. Auch wurden in von Sarkopenie Betroffenen erhöhte Spiegel von Glukokortikoiden gemessen, was ebenfalls, auch wenn der genaue Mechanismus der Induktion einer gesteigerten Proteolyse durch Glukokortikoide noch zu klären ist, einen starken katabolen Stimulus darstellt (Buford et al. 2010).

Als wichtige Einflussgröße könnte auch die reduzierte Fähigkeit alternder Zellen zur Autophagie in Kombination mit einer reduzierten Funktion des Ubiquitin-Proteasom-Systems eine Rolle spielen. Reduziert sich altersbedingt bei einer Zelle auf diese Weise die Fähigkeit schadhafte Organellen zu eliminieren, so lagern sich diese, sowie denaturierte Proteine und Lipofuszin intrazellulär ab, wo sie zu oxidativem Stress und Zellschädigung führen (Buford et al. 2010; Ross et al. 2015).

Der apoptotische Untergang spinaler Motoneurone im alternden Menschen führt dadurch, dass einige denervierte Muskelfasern durch einwachsende benachbarte Neurone neu innerviert werden, zu einer Vergrößerung der motorischen Einheiten. Allerdings trifft dies nicht auf alle betroffenen Muskelfasern zu, sodass es zu Funktionsverlust und apoptotischem Untergang kommt, welcher bei denervierten Muskelfasern automatisch initiiert

wird. Resultat des Verlusts der spinalen Motoneurone kann daher ein Verlust von Muskelvolumen, eine Kraftreduktion sowie eine schlechtere motorische Funktion sein (Kaya et al. 2013; Zembroń-Łacny 2014).

1.3.2 Diagnosekriterien

Ein Ansatz zur Objektivierung der Diagnostik stammt aus New Mexico aus dem Jahr 1998. Danach lässt sich die Sarkopenie folgendermaßen bestimmen:

Muskelmasse der Extremitäten (kg)/Körpergröße² (m²). Liegt der errechnete Wert zwei Standardabweichungen unter dem Mittelwert einer gesunden Vergleichsgruppe (Männer und Frauen, 18-40 Jahre alt), liegt eine Sarkopenie vor (Baumgartner et al. 1998).

Die IWGS rückt zusätzlich die klinische Beurteilung der PatientInnen stärker in den Fokus. Als Kriterium zur Einleitung einer eingehenderen und nicht zuletzt finanziell aufwändigeren Diagnostik wird bei der initialen Patientenvorstellung zunächst eine gründliche Anamnese zum körperlichen Allgemeinzustand und der Krankheits- und Krankenhausanamnese erhoben. Anschließend erfolgt die klinische Untersuchung mit klarer Fokussierung auf die messbare körperliche Leistungsfähigkeit z. B. über die Messung der Ganggeschwindigkeit. Ergibt diese Untersuchung Auffälligkeiten, wie z. B. eine Ganggeschwindigkeit von weniger als 1,0 m/sec, wird eine apparative Diagnostik empfohlen.

Die Diagnose Sarkopenie wird dann gestellt, wenn zu der klinisch geprüften mangelnden körperlichen Funktionalität eine fettfreie Masse der Extremitäten besteht, welche weniger als 20 % des Durchschnitts des jungen gesunden Erwachsenen beträgt. Für Männer bedeutet das eine fettfreie Masse der Extremitäten von $\leq 7.23 \text{ kg/m}^2$ und für Frauen $\leq 5.67 \text{ kg/m}^2$ (Fielding 2011).

Die Bestimmung der fettfreien Masse erfolgt am zuverlässigsten, und auf einzelne Körperabschnitte spezifiziert, durch Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA), welche an Körpergröße und -fettanteil angepasst wird (Newman 2003; Dodds et al. 2015; Buckinx et al. 2018).

1.3.3 Screeningverfahren

Der Konsens einer gemeinsamen Definition oder zumindest eine weitgehende Einstimmigkeit über die entscheidenden Parameter führte dazu, dass es möglich wurde, auch einige Schnellverfahren zum Screening zu entwickeln, von denen der im Jahr 2012 entwickelte Test nach Ishii et al. den Vorteil besitzt, gesunde Individuen ohne invasive oder kostspielige Diagnostik schon von solchen unterscheiden zu können, die ein erhöhtes Risiko für Sarkopenie aufweisen (Locquet et al. 2017).

Um die Sensitivität des Tests zu objektivieren, wurde nach den Empfehlungen der EWGSOP bei allen Probanden die fettfreie Muskelmasse der Extremitäten über die Bioimpedanzanalyse (BIA), Muskelkraft durch die Messung der Griffkraft mittels eines Dynamometers und die körperliche Leistungsfähigkeit durch die Messung der Ganggeschwindigkeit bestimmt.

Die so ermittelte Wahrscheinlichkeit einer Sarkopenie wurde mit verschiedenen Parametern wie z. B. *Body-mass-Index* (BMI) und Wadenumfang verglichen und die Parameter, welche dem apparativ ermittelten Resultat am nächsten kamen, bestimmt.

Das Ergebnis ist ein Score, der die Wahrscheinlichkeit an Sarkopenie zu leiden anhand des Alters, der Griffkraft und des Wadenumfangs eines Patienten geschlechterabhängig bestimmt (Ishii et al. 2014).

1.3.4 Epidemiologie

Die epidemiologischen Angaben über die Sarkopenie variieren erheblich. Dies lässt sich dadurch erklären, dass bislang eine große Anzahl unterschiedlicher Definitionen sowie verschiedene Verfahren zur Bestimmung der fettfreien Muskelmasse existieren und auch die *Cut-off*-Werte, welche für die Diagnosestellung herangezogen werden, nicht einheitlich sind.

Die internationale Vergleichbarkeit würde durch einheitliche Kriterien verbessert. Sinnvoll wäre deren Verwendung allerdings nur, wenn im Vorfeld die gesunden Populationen verschiedener Länder oder Kontinente untereinander vergleichbare Werte aufwiesen.

Ein Schritt in die Richtung eines einheitlicheren Diagnoseprozesses war eine vergleichende Studie zu fünf verschiedenen Screeningverfahren unter der Prämisse fünf unterschiedlicher

Definitionen der Sarkopenie. Um die Wirksamkeit der Screenings zu objektivieren und die Definitionen auf die Relevanz ihrer Kriterien zu prüfen, wurden die fettfreie Muskelmasse mittels DXA, die Muskelkraft mittels Dynamometer und die körperliche Leistungsfähigkeit durch den *Short-physical-performance-battery*-Test (SPPB) bestimmt.

Es zeigte sich je nach angewendeter Definition eine Prävalenz von 5,7% bis 16,7%, wobei der Diagnosealgorithmus der EWGSOP mit 91,9% die höchste Spezifität aufwies und sich insgesamt eine moderate Konkordanz zwischen den Definitionen festhalten ließ (Locquet et al. 2017).

Seit dem Jahr 2010 sorgt die Tendenz, vor allem die Definition der EWGSOP in Studien zu verwenden für besser vergleichbare Daten (Ethgen et al. 2017). Die Studien, auf die sich die folgenden epidemiologischen Angaben beziehen, nutzen daher ausschließlich jene Definition.

Eine Metaanalyse aus Daten von PubMed- und Dialog-Datenbanken ergab abhängig von regionalen und altersabhängigen Unterschieden eine Prävalenz von 1-29 % in selbstständig lebenden Populationen älterer Menschen, 14-33 % bei von Langzeitpflege Abhängigen sowie 10 % bei den eines akuten Krankenhausaufenthaltes Bedürftigen (Cruz-Jentoft et al. 2014).

Eine altersabhängige Prävalenz lässt sich ebenfalls verschiedenen Studien entnehmen.

Eine multizentrische Studie aus zwölf Akutkliniken in Italien zeigte eine Prävalenz von 11,1 % für Frauen und 30,2 % für Männer zwischen 65 und 74 Jahren und 46,7 % für Frauen und 50,7 % für Männer älter als 85 Jahre (Bianchi et al. 2017).

Die Prävalenz, welche eine populationsbasierte Studie aus Italien ergab, betrug 2,6 % für Frauen und 1,2 % für Männer zwischen 70 und 74 Jahren. Bei den über Achtzigjährigen waren es 31,6 % der Frauen und 17,4 % der Männer (Volpato et al. 2014).

Eine Kohortenstudie aus Belgien ergab für über 85 jährige Männer eine Prävalenz von 36,1 % und für Frauen 63,9 % (Legrand et al. 2013).

Auch wenn die genannten Werte teils erheblich differieren, lässt sich doch festhalten, dass die Prävalenzen unabhängig von Geschlecht und Nationalität mit zunehmendem Alter steigen und besonders im Bereich derer, die ein Alter von 80 Jahren und mehr erreicht haben, fast die Hälfte der betrachteten Populationen betreffen.

Es ist allerdings noch kein Ende der beschriebenen Entwicklung erreicht. Eine Studie, welche die Prävalenz der Sarkopenie unterschiedlicher Altersgruppen aus dem Jahr 2016 mit Hochrechnungen der demographischen Entwicklung aller 28 Staaten der Europäischen Union verglich und bis zum Jahr 2045 hochrechnete, geht davon aus, dass bis zu diesem Zeitpunkt die Prävalenz von 11,1 % auf 12,9 % aller über 65-Jährigen steigen wird, sofern die Definition, welche die niedrigste Prävalenz ergibt, angewendet wird. Verwendet man jene Definition, welche die höchste Prävalenz ergibt, wird ein Anstieg von 20,2 % auf 22,3 % erwartet.

Bezieht man diese Werte auf die steigenden Bevölkerungszahlen, entspricht dies einem Anstieg von 72,4 % bzw. 63,8 % der über 65-jährigen Europäer und Europäerinnen, welche von Sarkopenie betroffen sind (Ethgen et al. 2017).

Betrachtet man exemplarisch die Kosten, welche mit der Sarkopenie assoziiert, bzw. durch diese bedingt sind, ergibt sich für ein medizinisch hoch entwickeltes, industrialisiertes Land wie die U.S.A. schon für das Jahr 2000 ein Betrag von 18,5 Mrd. US \$ (Janssen et al. 2004).

Das Resultat dieser Berechnungen ist eine bereits in der Vergangenheit immens hohe finanzielle Belastung des Gesundheitssystems, welche aktuell weiter steigt und bislang in Zukunft gravierend zuzunehmen droht, falls es nicht gelingt einen Weg zu finden, die Sarkopenie adäquat zu therapieren oder durch Prophylaxe zu verhindern.

1.3.5 Therapie und Prävention

So vielfältig die bestätigten und vermuteten Ursachen für Sarkopenie im Alter sind, so vielfältig sind auch die Ansätze für eine Therapie.

Naheliegend ist die Steigerung der Muskelmasse und -funktion durch körperliches Training, da es Hinweise darauf gibt, dass gerade im mittleren Alter ein bewegungsarmer Lebenswandel einen größeren Einfluss auf den muskulären Funktionsverlust hat als biologische Faktoren. Bewährt hat sich das progressive Muskeltraining oder *Progressive-resistance-Training* (PRT), welches den altersbedingten Muskelfunktionsverlust zwar nicht vollständig aufhalten, ihn aber erheblich verzögern kann (Keller 2018).

Dabei handelt es sich in der Regel um ein Trainingsprogramm, bei dem der/die Trainierende zunächst angeleitet wird, wie die Ausgangsgewichte zu wählen und wann die Widerstände

zu steigern oder zu reduzieren sind. Die Intensität des Trainings wird bei adäquater Trainingsadhärenz im zeitlichen Verlauf durch eine Steigerung der Anzahl der Trainingssätze und höhere Widerstände bei reduzierter Anzahl von Einzelwiederholungen gesteigert, da dies den optimalen anabolen Stimulus darstellt (Rasmussen et al. 2018).

Die Supplementierung von Proteinen oder essenziellen Aminosäuren kann bei einem reduzierten Hungergefühl und resultierend reduzierter Nahrungsaufnahme durch eine Aufnahme von zusätzlich etwa 1670 kJ täglich nützlich sein. Die Aufnahme größerer Mengen von Aminosäuren stimuliert kurzfristig direkt die Proteinbiosynthese, ein dauerhafter anaboler Effekt auf die Muskulatur, welcher in gesteigerter Muskelmasse und -kraft objektivierbar wäre, ließ sich bisher allerdings nur in Kombination mit funktionellem Training erzielen, während die Supplementierung essenzieller Fettsäuren auch dort keinen signifikanten Benefit erbrachte.

Des Weiteren scheint ein Zusammenhang zwischen Vitamin-D-Mangel und niedriger Muskelmasse und -funktion zu bestehen, weshalb die orale Supplementierung von Vitamin-D besonders bei Pflegeheimbewohnern empfehlenswert ist, sofern die Plasmakonzentration 30 ng/ml unterschreitet (Landi et al. 2012; Cruz-Jentoft et al. 2014).

1.3.6 Pharmakotherapie

Gerade in denjenigen Altersgruppen, welche die höchsten Prävalenzen für Sarkopenie aufweisen, steigt auch die Zahl derer, die zwar betroffen, aber auf Grund ihrer Konstitution nicht mehr in der Lage oder nicht willens sind, die für einen anabolen Stimulus erforderlichen Trainingsintensitäten aufzubringen (Dodds et al. 2014).

Bei den medikamentösen Therapieansätzen zur Behandlung der Sarkopenie spielt die Substitution anaboler Hormone eine entscheidende Rolle. Testosteron kann sowohl Muskelfunktion als auch -masse steigern, ohne dass ein Proband zusätzlich ein körperliches Training absolvieren müsste. Das Androgen hat sowohl anabole als auch antikatabole Effekte, wobei erstere besser verstanden sind als letztere. Es bewirkt u. a. eine gesteigerte Expression von IGF-1 und anderen Wachstumsfaktoren und über den AR direkt eine Hypertrophie von myogenen Vorläuferzellen. Als antikataboler Effekt lässt sich die Suppression chronisch inflammatorischer Prozesse bezeichnen, welche im alternden Menschen latent auftreten.

Es ließen sich Hinweise darauf finden, dass dies u. a. durch gesteigerte Basallevel von Nuklearfaktor- κ B-induzierender-Kinase (NIK) geschieht, welche sich durch Testosteron suffizient unterdrücken lässt (Urban et al. 2014).

In höheren Dosierungen führt Testosteron zu einer gesteigerten Rekrutierung von Satellitenzellen und einer Reduktion adipozytärer Stammzellen (Morley 2016).

Jedoch ist mit der Substitution von Testosteron insbesondere in hohen Dosierungen eine erhebliche Anzahl verschiedener unerwünschter Arzneimittelwirkungen assoziiert, welche von Einschränkungen der Lebensqualität wie z. B. Akne oder Libidoveränderungen bis zu lebensbedrohlichen akuten kardiovaskulären Ereignissen reichen (Brotto und Abreu 2012; Morimoto et al. 2017). Speziell bei weiblichen Patienten kann es zudem zu Hirsutismus und genereller Virilisierung unter einer Testosterontherapie kommen (MacLean und Handelsman 2009), wobei nicht unerwähnt bleiben sollte, dass diese Effekte stark dosisabhängig und bei Therapieende oder -reduktion oft reversibel sind (Glaser und Dimitrakakis 2013).

Auf Grund der mangelhaften oralen Bioverfügbarkeit stellt sich überdies die Applikation, welche lediglich transdermal oder intramuskulär möglich ist und zu lokalen Hautreaktionen und stark schwankenden Serumkonzentrationen führen kann, als problematisch dar (Dalton et al. 2011).

Das HGH oder Somatotropin, ein hypophysäres Proteohormon, welches seine Wirkung vor allem über IGF-1 entfaltet, stellt einen effektiven Wachstumsstimulus auf die Muskulatur dar. Bei Hypopituitarismus, aber auch beim Wastingsyndrom im Rahmen einer AIDS-Erkrankung ist es bereits in einigen Ländern als therapeutische Option zugelassen (Brotto und Abreu 2012).

Allerdings gilt eine HGH-Substitution als Risikofaktor für Morbus Hodgkin und Diabetes mellitus und kann zu Gelenkschmerzen, Gynäkomastie und Karpaltunnelsyndrom führen. Eine kontrollierte Doppelblindstudie, welche Benefit und Risiken aufwiegt, existiert bis dato nicht (Brotto und Abreu 2012; Morley 2016).

Sowohl für die HGH- als auch die Testosteronsubstitution konnten allerdings beispielhafte Studien eine Zunahme der Muskelmasse, jedoch nicht eindeutig eine damit einhergehende Steigerung der Muskelfunktion und -kraft nachweisen (Dodds et al. 2014; Morley 2016).

Auch für die bereits in der medikamentösen Therapie der Osteoporose bewährten Bisphosphonate wie z. B. Alendronat konnte eine Verbesserung der Kapillarisation (Rechholtz 2017; Komrakova et al. 2019; Komrakova et al. 2020) sowie ein die Muskelatrophie mildernder Effekt, sowohl auf Myozyten im Mausmodell als auch auf humane Muskelvorläuferzellen *in vitro* nachgewiesen werden (Chiu et al. 2018). Anlass zur näheren Untersuchung hatte die klinische Beobachtung gegeben, dass sich bei unter postmenopausaler Osteoporose leidenden Frauen, welche mit Alendronat über sechs Monate behandelt wurden, nicht nur die Knochendichte, sondern auch die Griffkraft steigerte. Es konnte gezeigt werden, dass vermutlich die durch Dexamethason, oder auch körpereigenes Kortisol hochregulierte Deazetylase Sirtuin-3 für die Atrophie mitverantwortlich ist. Diese lässt sich durch eine Alendronattherapie wirksam inhibieren. Bevor Alendronat allerdings zur klinischen Anwendung bei der isolierten Therapie der Sarkopenie kommt, werden noch weitere Studien notwendig sein (Chiu et al. 2018).

Aus der Tatsache, dass junge, gesunde Erwachsene mit genetisch bedingten niedrigen Plasmaspiegeln von *Angiotensin-converting-Enzym* (ACE) bei Vorliegen des Genotyps-II des ACE-Gens sowohl bessere Ausdauerleistungen erbringen als Vergleichsgruppen als auch ein besseres Ansprechen auf Trainingsreize aufweisen, wurde gefolgert, dass auch eine medikamentöse ACE-Hemmung einen ähnlichen Effekt haben könnte, die Gabe von ACE-Hemmern also auch im alten Menschen zu einem besseren Ansprechen auf körperliches Training oder sogar direkt zu einer verbesserten muskulären Funktion führt. Die derzeit vorliegenden Studien lassen noch keine endgültigen Schlüsse zu, da sich für die Hypothese, dass ACE-Hemmer die körperliche Funktion verbessern können, Ergebnisse finden ließen, allerdings kein Einfluss auf das Ansprechen auf Trainingsreize aufgezeigt werden konnte (Sumukadas et al. 2007; Sumukadas et al. 2014). Die Ergebnisse prospektiven LACE-Studie zur Frage, welchen Effekt der ACE-Hemmer Perindopril in Kombination mit der Aminosäure Leucin bewirkt, stehen noch aus (Band et al. 2018).

Ein neuer Ansatz im Sinne einer spezifischen, selektiven Therapie durch sogenannte Biologicals sind Antikörper gegen Myostatin oder dessen Vorstufen. Bei Myostatin handelt es sich um einen weitgehend skelettmuskelselektiven, hemmenden Wachstumsfaktor, welcher zur Familie der *transforming growth factor* β (TGF β) zählt und seine Wirkung über die Bindung an zelloberflächenständige Rezeptoren entfaltet. Die Ähnlichkeit der TGF β untereinander kann bei mangelnder Spezifität der Antikörper und verwandter Wirkstoffe ein

Grund für relevante Nebenwirkungen sein. Vieles spricht aber dafür, dass eine Myostatininhibition tatsächlich eine Hypertrophie der Muskulatur nach sich zieht und die Möglichkeit Prohormone des eigentlichen Myostatins zu inhibieren, scheint eine größere Selektivität und eventuell weniger unerwünschte Wirkungen zur Folge zu haben. Weitere Studien werden auch hier in naher Zukunft verlässlichere Aussagen zu Sicherheit und Selektivität zulassen (Pirruccello-Straub et al. 2018).

1.3.6.3 Selektive Androgenrezeptormodulatoren (SARMs)

Viele der unerwünschten Arzneimittelwirkungen, welche mit der Therapie mit Testosteron oder anderen anabolen Steroiden assoziiert sind, lassen sich dadurch erklären, dass es sich beim AR um einen fast ubiquitär vorkommenden Rezeptor handelt, welcher bei einer systemischen Therapie nicht selektiv genug angesprochen wird, um nur auf das gewünschte Gewebe, also z. B. die Skelettmuskulatur einzuwirken. Die Entwicklung der SARMs ist das Produkt der Absicht, ein gewebespezifisches Ansprechen des AR und somit eine zielgerichtete Therapie von gewebespezifischen Erkrankungen wie z. B. Sarkopenie oder Osteoporose zu ermöglichen und dabei für eine verbesserte Handhabbarkeit durch die Möglichkeit der oralen Applikation zu sorgen (Narayanan et al. 2018; Fonseca et al. 2020).

LG121071 (Ligand pharmaceuticals, San Diego, Kalifornien, USA), der erste oral verfügbare nichtsteroidale Androgenrezeptoragonist, ein trizyklisches Chinolinderivat, wurde 1999 vorgestellt und war in der Lage im kastrierten Rattenmodell eine Normalisierung der LH-Serumkonzentration zu induzieren, wodurch sowohl die androgeniforme Wirkung als auch die orale Bioverfügbarkeit bestätigt werden konnten (Gao et al. 2006).

Für das nachfolgend entwickelte LGD2226 (Ligand pharmaceuticals) konnte im Tiermodell bereits eine gesteigerte Gewebeselektivität nachgewiesen werden. Das untersuchte Muskelgewicht kastrierter Ratten konnte unter LGD2226-Therapie normalisiert werden, während nur eine geringe Wirkung auf die Prostata festgestellt wurde, woraus eine wesentlich geringere Wirkung als von DHT auf die Prostata gefolgert werden konnte (Gao et al. 2006).

Nachfolgend wurden chemisch unterschiedliche SARMs entwickelt. Chinolinone und deren Derivate wurden weiterentwickelt und deren Gewebeselektivität gesteigert. Modifizierte Tetrahydrochinoline wie S-40503 (KAKEN PHARMACEUTICAL CO. LTD., Tokyo, Japan) zeigten eine enorm gesteigerte Affinität zum AR und wiesen in tierexperimentellen Studien ein

dem DHT vergleichbares anaboles Potential auf, in klinisch wirksamen Dosierungen trat allerdings eine reduzierte Selektivität auf.

BMS-564929 (Bristol-Myers Squibb & Co., Inc., New York City, USA), dessen chemische Grundlage ein Hydantoinringsystem ist, zeigte eine stärkere anabole Wirkung auf die Skelettmuskulatur bei deutlich reduzierter Wirkung auf die Prostata im Tiermodell. Es erschien innerhalb kurzer Zeit eine große Bandbreite von SARMs, worunter sich diverse vielversprechende Kandidaten auch für klinische Studien befanden (Narayanan 2018).

Eine experimentelle Studie an Ratten- und Mausmodellen mit dem SARM GTx-024 oder Enobosarm (GTx Inc., Memphis, Tennessee, USA) konnte zeigen, dass es möglich ist, in männlichen Tieren neben der Steigerung der Muskelmasse auch eine Verbesserung der Muskelfunktion zu induzieren, ohne dass es parallel zu einer relevanten Prostatahyperplasie kam. Außerdem zeigten sich eine Normalisierung des Sexualverhaltens bei kastrierten Tieren unter Enobosarm-Therapie und eine Steigerung der freiwilligen Laufleistung (Mori-moto et al. 2017).

Die Myozyten selbst sind nicht die einzigen Zellen, die abhängig vom AR am androgenabhängigen Wachstum der Skelettmuskulatur beteiligt sind. Auch Satellitenzellen und im Muskel lokalisierte Fibroblasten sprechen, soweit bisher bekannt, auf Androgene und in einer Studie mit einem Knockout-Mausmodell mit gleicher Konsequenz auf Enobosarm wie auf Dihydrotestosteron an (Dubois et al. 2015).

Enobosarm war der erste SARM, welcher in klinischen Phase-I- und -II-Studien am Menschen eine hohe Effizienz bei reduziertem Nebenwirkungsspektrum aufwies. An älteren Männern und Frauen im postmenopausalen Alter konnte nachgewiesen werden, dass es unter einer Enobosarm-Therapie zu einem Anstieg des fettfreien Körpergewichts, der körperlichen Leistungsfähigkeit, einer Reduktion der peripheren Insulinresistenz und einer Senkung des Gesamtcholesterins und der Triglyceride kam. Entscheidend ist, dass abgesehen von transienten, klinisch nicht relevanten Leberenzym erhöhungen keine mit dem Profil anaboler Steroide vergleichbaren Nebenwirkungen beobachtet werden konnten (Dalton et al. 2011). Trotz der ersten klinischen Phase-III-Studie hat Enobosarm bislang keine Zulassung für die Therapie der Sarkopenie (Dalton et al. 2011; Clark et al. 2017).

GSK2881078 (GlaxoSmithKline, London, Vereinigtes Königreich), ein weiterer hoch selektiver SARM, durchlief ebenfalls klinische Phase-I- und -II-Studien, die vielversprechende Ergebnisse lieferten. Es ließ sich zeigen, dass zusätzlich zu den genannten Wirkungen von Enobosarm die Plasmakonzentrationen von *High-density*-Lipoprotein (HDL) und SHBG in beiden Geschlechtern durch eine GSK2881078-Therapie reduziert werden, was auf eine den Androgenen ähnliche Wirkweise schließen lässt, während auch in den klinischen Studien keine signifikanten oder klinisch relevanten Nebenwirkungen auftraten (Clark et al. 2017)

In welchem Ausmaß ein SARM gewebe selektiv ist, hat potenziell mehrere Ursachen. Diskutiert wird unter anderem, dass die 5 α -Reduktase, über die Testosteron zu Dihydrotestosteron konvertiert wird, welches eine deutlich gesteigerte Wirkung auf das Gewebe der Prostata aufweist, keine Wirkung auf die SARMS hat. Außerdem sprechen bestimmte Koaktivatoren des Androgenrezeptors zwar auf Androgene an, nicht aber auf andere Liganden wie die SARMS (Narayanan et al. 2018).

Die Tatsache, dass der AR in nahezu jedem Gewebe vorkommt und abhängig vom jeweiligen Ansprechen zu Ergebnissen von muskulärer Hypertrophie, gesteigerter Mineralien dichte im Knochen (*bone mineral density*, BMD) bis zu einer gesteigerten Insulinsensitivität führt, könnte für die SARMS Anwendungsmöglichkeiten sowohl im Bereich der Osteoporose, der Sarkopenie als auch endokrinologischer Erkrankungen wie Diabetes mellitus und postmenopausaler Hormonmangelzustände eröffnen (Narayanan et al. 2018).

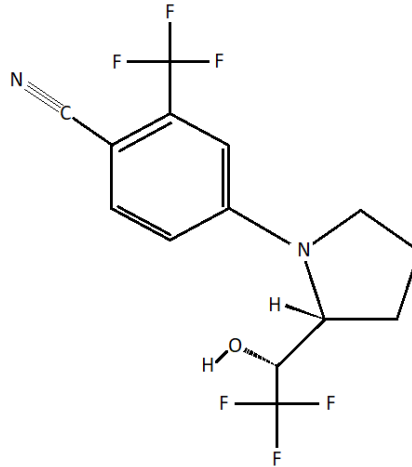


Abb. 2: Strukturformel Ligandrol (eigene Darstellung, basierend auf Fragkaki et al. 2018)

1.3.6.2 LGD 4033 (Hölzel Diagnostika Handels GmbH, Köln, Deutschland)

Bei LGD 4033 oder Ligandrol (Reinheit > 98 %), dem in dieser Studie verwendeten Medikament mit der Summenformel $C_{14}H_{12}F_6N_2O$ und IUPAC-Nummer 4-((R)-2-((R)-2,2,2-trifluoro-1-hydroxyethyl)pyrrolidin-1-yl)-2-trifluoromethyl)benzonitril (Abb. 2) handelt es sich um einen nichtsteroidalen, oralen SARM, welcher mit hoher Affinität und Selektivität an den AR bindet. Sowohl tierexperimentelle Studien als auch eine klinische Phase-I-Studie an gesunden Männern mit einem Durchschnittsalter von 37 Jahren und einem DurchschnittsbMI von $25,8 \text{ kg/m}^2$ wurden bereits durchgeführt. Dabei traten in keiner der gewählten Dosierungen (0,1 mg; 0,3 mg; 1,0 mg täglich) signifikante oder klinisch relevante Nebenwirkungen wie Blutbild- oder EKG-Veränderungen auf. Die Messung von Plasmatestosteron, luteinisierendem Hormon (LH), follikelstimulierendem Hormon (FSH) und SHBG wurden ebenso durchgeführt wie die Überprüfung der körperlichen Leistungsfähigkeit und der fettfreien Körpermasse (LBM). Ergebnis der Studie war, dass die applizierten Dosierungen von allen Probanden gut vertragen wurden und es zu einer deutlich androgenen Wirkung kam, was sich sowohl in einem Anstieg der LBM als auch in laborchemisch messbaren Veränderungen wie einer Unterdrückung des körpereigenen Testosterons und SHBG sowie des HDL-Cholesterins widerspiegelte (Clark et al. 2017). Studien an Frauen bezüglich der Auswirkungen auf das muskuloskeletale System, insbesondere klinische Phase-II- und -III-Studien im postmenopausalen Alter, wie für die anderen genannten SARMs gibt es für LGD-4033 bislang nicht.

1.4 Die Ratte als Tiermodell postmenopausaler Osteoporose und Sarkopenie

Die postmenopausale Osteoporose sowie die ihr vorausgehende Sarkopenie ist ein Krankheitsbild, dessen Kausalität in der Tierwelt kaum wirklich passende Äquivalente aufweist, da die physiologische Menopause mit ihrem konsekutiven Östrogen- und Androgenmangel in dieser Form fast nur beim Menschen auftritt. Bei einigen Primaten kommt ein ähnlicher Zustand vor, welcher mit dem Sistieren der Fertilität sowie den typischen Veränderungen des Knochenstoffwechsels einhergeht. Auf Grund ethischer Einwände, einer sehr begrenzten Verfügbarkeit und hoher Kosten für Anschaffung und Haltung der Tiere, eignen diese sich aber kaum als Modell für einen Versuch mit einem Kollektiv repräsentativer Größe (Bellino 2000).

Die ovariectomierte Ratte als Tiermodell fand bereits in zahlreichen Studien Verwendung als Modell für die Entstehung einer postmenopausalen Osteoporose (Wronski et al. 1989; Kalu 1991; Kadi et al. 2002; Ammon 2015; Kling 2016; Rechholtz 2017). Sie ist kostengünstig und die nach der Ovariectomie einsetzenden Veränderungen weisen entscheidende Gemeinsamkeiten mit den typischerweise nach der Menopause einsetzenden Vorgängen auf. So kommt es nach der Ovariectomie zu einer erhöhten Rate des Knochenumsatzes und einer reduzierten Kalziumresorption. Ein Effekt der sich äquivalent zum postmenopausalen Knochenstoffwechsel im Menschen durch eine Östrogensubstitution oder körperliches Training wirksam hemmen lässt (Kalu 1991; Bellino 2000).

Bereits zwei Wochen nach Ovariectomie konnten in Ratten Abfälle der BMD von bis zu 9,3 %, nach acht Wochen bis zu 18,8 % gemessen werden. Zeitgleich kam es zu einer deutlichen Abnahme der Knochenperfusion, während der Fettanteil im Knochenmark zu Ungunsten des an der Erythropoese beteiligten Marks zunahm (Griffith et al. 2010).

Die Auswirkungen auf die Muskulatur und das Gefäßsystem als Konsequenz eines postmenopausalen Östrogenmangels im Menschen sind bereits ausgiebiger untersucht worden. Nachgewiesen wurde, dass dieser auf dem Boden von Faktoren wie einem erhöhten Anteil des im Blut befindlichen *Low-density-Lipoproteins* (LDL) und der Triglyceride sowie einem konsekutiv verminderten Anteil des protektiven HDL mit der Entstehung einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) in Verbindung gebracht werden kann (Vavra und Kibbe 2009; Fowkes et al. 2013). Eine beeinträchtigte Kapillarisation führt zu einer ineffizienteren Versorgung der Muskulatur mit Nährstoffen und Sauerstoff sowie zu einem schlechteren Abtransport toxischer Stoffwechselendprodukte (Tanaka et al. 2015).

Ob dieselben Veränderungen allerdings auch als Folge einer Ovariectomie im Rattenmodell zu beobachten sind, ist weniger gut untersucht. Es konnte aber gezeigt werden, dass infolge einer Ovariectomie der Kapillardurchmesser sowie die Anzahl der Verknüpfungen der einzelnen Kapillaren im *M. soleus* abnehmen. Auch verschob sich das Verhältnis des *Vascular-endothelium-growth-Factors-A* (VEGF-A), welcher das Wachstum der Blutgefäße anregt, zu Thrombospondin-1 (TSP-1), welcher es hemmt, zugunsten des hemmenden Faktors (Tanaka et al. 2015).

Die Studien zeigten weiterhin eine nach Ovariectomie auftretende Veränderung der Muskelzusammensetzung im *M. soleus* und *M. extensor digitorum longus* von schnell zu langsam kontraktiven Isoformen der MHC (Kadi et al. 2002). Es konnte zudem eine verminderte Expression von Genen wie PGC-1 α und NRF-1, welche mit der mitochondrialen Funktion in Verbindung stehen, nachgewiesen werden (Barbosa et al. 2016).

Letztlich ist die ovariectomierte Ratte auf Grund ihrer Verfügbarkeit, der vergleichsweise einfachen Haltung, ihrer genannten Ähnlichkeiten der Reaktion von Stoffwechselwegen auf den induzierten Östrogenmangel zum postmenopausalen Metabolismus im Menschen sowie die dem menschlichen Stoffwechsel ähnlichen Reaktionen auf Östrogensubstitution und andere medikamentöse Therapieansätze (Kharode et al. 2008), ein gut geeignetes Tiermodell für die Fragestellung dieser Studie. Durch weitere Studien sollte künftig untersucht werden, auf welchem Wege die Veränderungen in der Ratte auf molekularer Ebene induziert werden und ob diese auch dahingehend den Veränderungen im menschlichen Organismus nach der Menopause ähneln.

1.5 Untersuchungsmethoden der Muskulatur

Zu den klinischen Funktionstests zum Erhärten des Verdachts auf Sarkopenie bzw. zur Objektivierung möglicher Auswirkungen einer Therapie auf diese existiert bislang noch kein adäquates Äquivalent zum Einsatz *in vivo* im Tiermodell. Auch sind die DXA und die BIA zur Bestimmung der LBM als Diagnostika für eine tierexperimentelle Studie sehr aufwändige und kostenintensive Verfahren. Ebenfalls aufwändig und in der tierexperimentellen Anwendung störanfällig sind Magnetresonanztomographie (MRT) und Computertomographie (CT), während Positronen-Emissions-Tomographie (PET) und Single-Photon-Emissions-Tomographie (SPECT) zudem auch nicht überall verfügbar sind (Mele et al. 2016).

Als alternatives Messverfahren für Nagetiere angewendet wird derzeit zur Funktionsprüfung der Muskulatur z. B. ein Grifftest der oberen Extremität, bei dem das Versuchstier vorsichtig am Schwanz angehoben wird, während es mit den Vorderläufen einen Draht umfasst. Die Kraft, welche nötig ist, damit das Tier den Draht loslässt, entspricht dann der Griffkraft, also einem möglichen Parameter zur Objektivierung der Muskelfunktion (Anderson et al. 2005; Molinari et al. 2017).

Ein noch junges, kostengünstiges apparatives Verfahren ist die Ultrasonographie *in vivo*. Diese bietet den Vorteil, dass eine Verlaufsbeurteilung des Muskelvolumens im Tiermodell unter einer bestimmten Therapie möglich wird. Das Muskelvolumen von z. B. *M. soleus* und *M. gastrocnemius* lässt sich am lebenden Tier per Ultraschall bestimmen und über einen zeitlichen Verlauf darstellen. Die Vorteile der Sonographie sind die Abwesenheit ionisierender Strahlung sowie die geringen Kosten und die relativ geringe Störanfälligkeit (Mele et al. 2016). Dies sind sicherlich Faktoren, die diese diagnostischen Verfahren gegenüber z. B. der bioptischen Entnahme zur anschließenden feingeweblichen Untersuchung als Standardverfahren bevorzugt werden lassen.

In der vorliegenden Studie erfolgte die Beurteilung der muskulären Struktur *ex-vivo*. Dies birgt den Vorteil, dass nicht nur eine makroskopische Analyse der Muskulatur erfolgen kann, sondern auch eine Beurteilung mikroskopischer Strukturen, welche eine Aussage über die Kapillarisation und Zellzusammensetzung erlaubt sowie z. B. Analysen von biochemischen Prozessen der Energiebereitstellung (Tiao et al. 1994). Um aufzuzeigen, dass die applizierte medikamentöse Therapie eine Veränderung der Muskelstruktur bewirkte, wurden histologische Verfahren zur Bestimmung der Muskelfaserdicke und -struktur und der Kapillarisation der einzelnen Zellen genutzt. Diese wurden dann auf das jeweilige Körpergewicht der Tiere bezogen.

2 Material und Methoden

Diese Studie untersucht den Einfluss des SARM Ligandrol auf die Muskulatur im ovarektomierten Rattenmodell.

Eine Genehmigung des Tierversuchs durch das niedersächsische Landesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (Oldenburg N 33.9-42502-04-14/1396) liegt vor.

2.1 Tierkollektiv

In diesem Versuch wurden 75 weibliche, drei Monate alte Ratten des Typs Sprague-Dawley (Firma Janvier Labs, Saint-Berthevin Cedex, Frankreich) randomisiert in fünf Gruppen zu je 15 Tieren unterteilt und durch subkutane Implantation eines Transponders (UNO PICO ID ISO Transponder, 1.25x7 mm, Firma UNO B.V., Gelderland, Niederlande) eindeutig identifizierbar gemacht.

In der Zentralen Tierexperimentellen Einrichtung (ZTE) der Universitätsmedizin Göttingen erfolgte die tiergerechte Unterbringung und Versorgung der Ratten während des Versuchszeitraums, wobei pro Käfig drei bis fünf Tiere gehalten wurden (Abb. 3). Auch die Operationen wurden in den Räumlichkeiten der ZTE durchgeführt.

Entmineralisiertes Wasser und sojafreies Futter (Typ ssniff SM R/M, Pellets, 10 mm, Firma ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland) standen für die Tiere allzeit erreichbar bereit. Die aufgenommene Futtermenge wurde protokolliert. Einmal wöchentlich erfolgte die Kontrolle des Körpergewichts.

Die Umgebungstemperatur wurde bei konstant 22° C gehalten, bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 55 % und unter Einhaltung eines 12-stündlichen Hell-Dunkel-Rhythmus.



Abb. 3: Käfige der Versuchstiere mit Futter- und Trinkwasserversorgung

2.2 Versuchsaufbau

An drei aufeinanderfolgenden Tagen wurden $n = 60$ Ratten in Sevofluran-Maskennarkose bilateral ovariectomiert (OVX). Eine gesunde Kontrollgruppe mit $n = 15$ Tieren wurde ebenfalls narkotisiert und mit dem Tansponder zur Identifikation versehen (Non OVX).

Neun Wochen nach der Ovariectomie wurde die medikamentöse Therapie der entsprechenden OVX-Gruppen (Tabelle 2) mit dem SARM Ligandrol begonnen.

Nach einer Behandlungsdauer von 35 Tagen erfolgte die Tötung der Tiere mittels Dekapitation unter tiefer CO_2 -Narkose und die Entnahme der Proben.

2.2.1 Ovariectomie

Die bilaterale Ovariectomie (Ammon 2015; Kling 2016; Reeholtz 2017) erfolgte unter einer Allgemeinanästhesie via Atemgasnarkose mit Sevofluran (SEVOrane, Firma Abbvie, North-Chicago, Illinois, USA) in einer Konzentration von durchschnittlich 1,5-2,0 % Vol. per Maske.

Der nachfolgende Operationsablauf wurde bei allen Ratten außer der Non-OVX-Gruppe, welche nicht operiert wurde, für beide Seiten nacheinander durchgeführt: Die Haare wurden kaudal des unteren Rippenbogens in einem Bereich von 2 x 2 cm entfernt und die Haut desinfiziert. Anschließend erfolgte der Hautschnitt in einer Länge von ca. 0,5-1 cm parallel zum unteren Rippenbogen, zwischen unterster Rippe und Hinterläufen, mittels einer scharfen Präparierschere.

Die Bauchmuskulatur und das Peritoneum wurden per scharfer und stumpfer Präparation eröffnet und das *Ovar* dargestellt. Die *Tuba uterina* wurde dargestellt und mittels einer Vicrylligatur (Stärke 4-0, Ethicon / Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Schleswig-Holstein, Deutschland) ligiert (Abb. 4), woraufhin das *Ovar* mit einem scharfen Skalpell abgetrennt und entfernt wurde. Die *Tuba uterina* wurde im *Situs* repositioniert und die Bauchmuskulatur ebenfalls mit einem Vicrylfaden (Stärke 4-0, Ethicon) vernäht. Der Verschluss der Haut erfolgte durch Klammern (Gebrüder Martin GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Baden-Württemberg, Deutschland).

Bis zum Ende der Narkose wurden die Ratten auf einer Wärmeplatte gelagert und überwacht.

Während der Ovariectomie verstarben insgesamt drei Tiere durch Komplikationen im Rahmen der Narkose, sodass sich die letztliche Anzahl der Versuchstiere auf $n = 72$ belief (Tabelle 2).



Abb. 4: Seitliche Darstellung einer Ratte mit ligiertem Ovar, rechts im Bild ist die Narkoseeinheit sichtbar

2.2.2 Medikamentöse Therapie

Neun Wochen nach der Ovariectomie wurden drei ovariectomisierte Versuchsgruppen für einen Zeitraum von 35 Tagen der medikamentösen Behandlung unterzogen. Die OVX-Gruppe wurde nach der Ovariectomie nicht behandelt. Die Non-OVX-Gruppe wurde weder ovariectomisiert noch medikamentös behandelt und diente als gesunde Kontrollgruppe (Tabelle 2).

In der Gruppe OVX niedrig erhielten die Tiere 0,04 mg Ligandrol/kg KG/Tag (Reinheit 98 %, Hölzel Diagnostika Handels GmbH, Köln, Deutschland). In der Gruppe OVX mittel war die Dosierung 0,4 mg Ligandrol/kg KG/Tag und in der Gruppe OVX hoch betrug die Dosis 4 mg Ligandrol/kg KG/Tag.

Ligandrol wurde entsprechend den Dosierungen dem sojafreien Futter (ssniff Spezialdiäten GmbH, Soest, Nordrhein-Westfalen, Deutschland) beigemischt.

Zur Kontrolle des Wachstums bzw. der Entwicklung des Metabolismus wurden alle Ratten einmal wöchentlich gewogen. Zudem wurde die durchschnittliche tägliche Futtermenge errechnet und dokumentiert. Am Anfang jeder Woche wurden 1500 g Futter in jeden Käfig gegeben. Die verbliebene Menge wurde gewogen, vom Ausgangswert abgezogen und die

Differenz durch die Anzahl der Tiere im Käfig geteilt sowie auf den Futterverbrauch eines Tages umgerechnet.

Tabelle 2: Bezeichnung der Versuchsgruppen, operative und medikamentöse Behandlung

Gruppen Bezeichnung	Anzahl der Tiere am Versuchsende	Beschreibung
Non OVX	15	Nicht ovariectomiert, keine Medikation
OVX	15	Ovariectomiert, keine Medikation
OVX niedrig	15	Ovariectomiert, 0,04 mg Ligandrol/kg KG/Tag
OVX mittel	13	Ovariectomiert, 0,4 mg Ligandrol/kg KG/Tag
OVX hoch	14	Ovariectomiert, 4,0 mg Ligandrol/kg KG/Tag

2.2.3 Tötung der Versuchstiere

Die Tötung aller Ratten erfolgte 35 Tage nach Beginn der medikamentösen Therapie. Zunächst wurden die Tiere in eine tiefe CO₂-Narkose versetzt und anschließend durch Dekapitation getötet.

2.2.4 Entnahme der Proben

Im direkten Anschluss an die Tötung der Tiere erfolgte die Entnahme der Muskeln *M. longissimus*, *M. gastrocnemius* und *M. soleus* sowie die Entnahme der *Uteri*.

Zur Gewinnung des *M. longissimus* wurde ein paramedianer Hautschnitt durchgeführt und nach scharfer Eröffnung der Faszie ein Muskelstück von 0,5 x 1,5 cm extrahiert. Über einen inguinalen, nach distal erweiterten Schnitt wurde die Haut des Beines eröffnet und die *Mm. soleus* und *gastrocnemius* entnommen. Beide Muskeln wurden anschließend gewogen.

Die Muskeln wurden nach der Entnahme in flüssigem Stickstoff kryokonserviert und bis zu ihrer weiteren Verarbeitung und Untersuchung bei -80 °C aufbewahrt.

Des Weiteren erfolgte die Eröffnung des kleinen Beckens von ventral nach medianem Bauchschnitt und stumpfer Präparation der Bauchmuskulatur zum Zweck der Extraktion der *Uteri*. Diese wurden anschließend gewogen.

Auch Blutproben wurden im Rahmen der Präparation entnommen und u. a. die Konzentration der Creatinkinase (CK) bestimmt. Diese erfolgte durch die Abteilung der klinischen Chemie der Universitätsmedizin Göttingen mittels eines optischen Nachweisverfahrens des reduzierten Nicotinamidadenindinukleotidphosphates (NADPH). Nach der durch die CK katalysierten Phosphorylierung von ADP zu ATP und anschließender durch Hexokinase katalysierte Übertragung der Phosphatgruppe auf Glukose, welche die Entstehung von Glukose-6-Phosphat (G6P) zur Folge hat, lässt sich diese mittels der G6P-Dehydrogenase oxidieren, was die Reduktion von NADP zu NADPH zur Folge hat. Das NADPH lässt sich spektroskopisch nachweisen. Seine Menge ist proportional zur anfänglichen Menge der CK (Kling 2016).

Nach der Gewinnung der Muskelproben wurden zudem Lendenwirbelkörper sowie *Tibiae* und *Femora* entnommen, gesäubert und ebenfalls kryokonserviert, um sie so für Untersuchungen im Rahmen anderer Studien vorzubereiten.

2.2.5 Histologische Analysen der Muskeln

Die Muskelproben wurden nach enzymhistochemischer Aufarbeitung histologisch untersucht, um die Auswirkungen der medikamentösen Therapie auf die Muskulatur beurteilen zu können. Am Mikrotom „Frigocut 2800E“ (Firma Leica Jung, Wetzlar, Hessen, Deutschland) wurden Muskelschnitte hergestellt und zwei Färbemethoden zur Beurteilung der Muskelfaserdicke und Kapillardichte angewendet. Zuletzt werden die statistischen Verfahren erläutert, mit denen die Auswertung der gewonnenen Daten durchgeführt wurde

2.2.5.1 Herstellung der Gewebeschnitte

Die Muskeln der linken oder rechten Körperhälfte wurden vor ihrer Verwendung randomisiert.

Da für die Beurteilung des therapeutischen Effekts v.a. zwei unterschiedliche histologische Kriterien, nämlich die Kapillarisation und die Muskelfaserdicke herangezogen wurden, waren pro Muskel je zwei verschiedene Färbeverfahren notwendig. Daher wurden jeweils

zwei Objektträger (Superfrost Ultra Plus, Firma Gerhard Menzel B.V. & Co. KG, Braunschweig, Niedersachsen, Deutschland) mit Schnittpräparaten bestückt, wobei zur besseren Beurteilbarkeit mehrere Schnitte auf jeden einzelnen Objektträger aufgebracht wurden. Die tiefgefrorenen Muskelproben wurden zunächst makroskopisch so ausgerichtet, dass die Faserrichtung orthogonal zur Schnittfläche verlief und dann dementsprechend im Mikrotom fixiert. Die erstellten Schnitte wiesen eine Dicke von 12 μm auf. Nach einer Mindestzeit von 60 min zur Trocknung der Präparate auf ihren Objektträgern, wurden die Schnitte bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur Färbung gelagert.

Die nicht anders gekennzeichneten chemischen Komponenten der Lösungen stammen von Firma. Merck aus Darmstadt, Hessen, Deutschland.

2.2.5.2 Färbung der Gewebeschnitte

Die Amylase-PAS-Färbung (Tabelle 3) ermöglicht eine Identifikation der Kapillaren, sodass diese manuell ausgezählt werden konnten (Abb. 5). Dadurch ließ sich das Verhältnis von Kapillaren und Muskelfasern bestimmen.

Das Färbeverfahren führt zu einer farblichen Markierung eines Mucopolysaccharids, welches in der Basalmembran der Muskulatur und der Kapillaren vorkommt. Im Vergleich ließen sich durch diese Methode keine Unterschiede zu einer elektronenmikroskopischen Untersuchung finden (Andersen 1975).

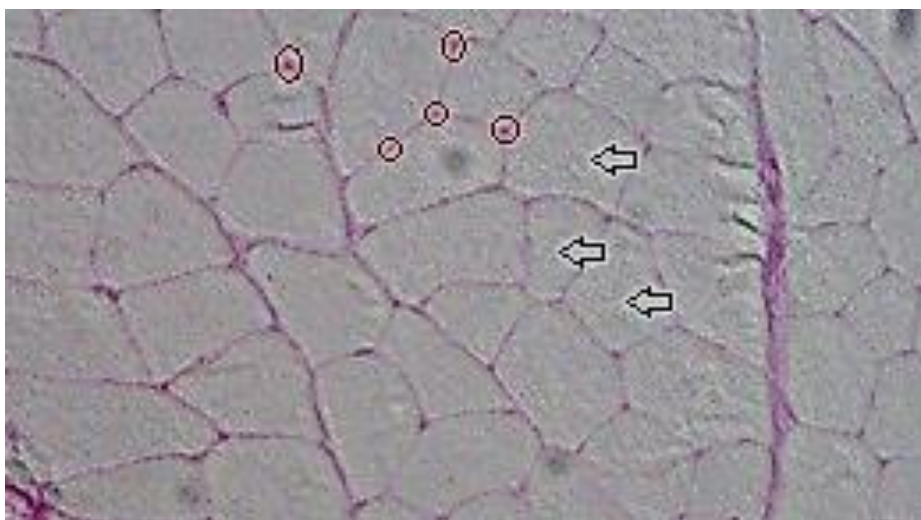


Abb. 5: *M. gastrocnemius* in Amylase-PAS-Färbung, Kapillaren durch rote Kreise markiert, Zellen durch schwarze Pfeile

Tabelle 3: Zusammensetzung und Hersteller der Komponenten der Amylase-PAS-Färbung

Lösung	Inhalt	Menge
Fixierlösung	Ethanol (95-100%)	128 ml
	Chloroform	24 ml
	Essigsäure (99%)	8 ml
Alpha-Amylase-Lösung	Alpha-Amylase (Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, Bayern, Deutschland)	500 mg
	Aqua dest.	150 ml
Perjodsäurelösung 1%	Perjodsäure (Fa. Carl Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Baden-Württemberg, Deutschland)	1,5 g
	Aqua dest.	150 ml
Schiffs Reagenz	Fertiglösung (Fa. Carl Roth GmbH und Co. KG Karlsruhe, Baden-Württemberg, Deutschland)	30 ml
SO₂-Wasser	K ₂ S ₂ O ₅ -(Kaliumdisulfit-)Lösung, zehnprozentig HCl (Salzsäure), 1 N	30 ml
	Aqua dest.	600 ml

Die Amylase-PAS-Färbung fand in der beschriebenen Durchführung (Tabelle 4) bereits Verwendung in den dieser Studie vorausgegangenen Arbeiten zur Auswirkung unterschiedlicher Therapien auf die Kapillarisierung in der quergestreiften Muskulatur im ovariectomierten Rattenmodell (Ammon 2015; Kling 2016; Rehholtz 2017).

Tabelle 4: Durchführung der Amylase-PAS-Färbung

1	Fixierung	Fixierlösung, 1 h bei 4 °C danach 10 min bei Raumtemperatur
2	Spülung	10 x mit demineralisiertem Wasser
3	Inkubation	Alpha-Amylase-Lösung, 25 min bei 37 °C
4	Spülung	10x mit demineralisiertem Wasser
5	Inkubation	Perjodsäure (einprozentig), 30 min bei Raumtemperatur
6	Spülung	Aqua dest., 10x
7	Inkubation	Schiffs Reagenz, 25-35 min bei Raumtemperatur
8	Inkubation	SO ₂ - (Schwefeldioxid-) Wasser, 30 min bei Raumtemperatur
9	Spülung	Fließendes Leitungswasser, 10min
10	Spülung	Demineralisiertes Wasser für 3 min

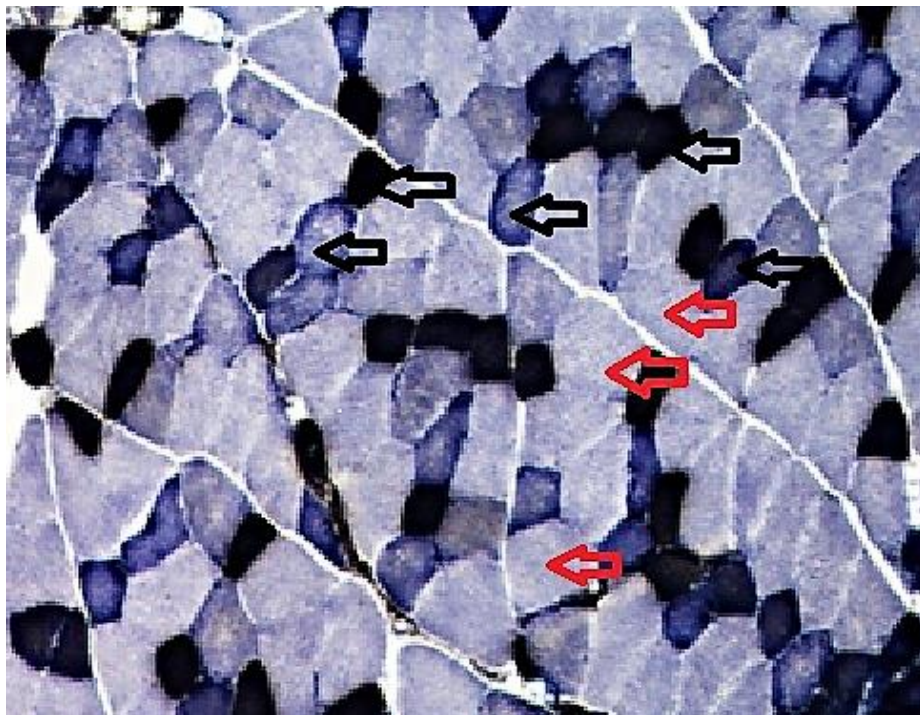


Abb. 6: *M. longissimus* in ATPase-/Diaphorase-Färbung, Rote Pfeile markieren die glykolytischen und schwarze Pfeile die intermediären und oxidativen Zellen

Die ATPase-/Diaphorase-Färbung (Tabelle 5) erfolgte, um die metabolischen Eigenschaften der einzelnen Muskelfasern optisch sichtbar und somit eine Quantifizierung der verschiedenen Fasertypen (Abb. 6) möglich zu machen.

Dies wird durch eine Anfärbung der Succinatdehydrogenase, einem Enzym des oxidativen Stoffwechsels, und der Actomyosin-ATPase erreicht. Die unterschiedlichen Kombinationen erlauben die Unterscheidung der gezeigten Fasertypen (Horák 1983).

Tabelle 5: Zusammensetzung der ATPase-/Diaphorase-Färbelösung

Lösung	Inhalt	Menge
Fixierlösung nach Meijer (Meijer 1970) (pH 6,3-6,6)	Paraformaldehyd (Fa. Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Baden-Württemberg, Deutschland)	1,5 g
	CaCl ₂ (-6-Hydrat) (Fa. Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, München, Bayern, Deutschland)	1,5 g
	Saccharose oder Dextran (Fa. AppliChem GmbH, Darmstadt, Hessen, Deutschland)	9,0 g
	Aqua dest.	150 ml
Diaphorase-Inkubationslösung	NADH-(Nikotinamidadeninucleotid-)Dinatriumsalz (Fa. AppliChem GmbH, Darmstadt, Hessen, Deutschland)	20 mg
	Phosphatpuffer (0,1 M; pH 7,4)	3,2 ml
	Nitro-BT (Fa. Carl Roth GmbH und Co. KG)	4,0 ml
	Aqua dest.	4,8 ml
Saure Vorinkubationslösung (pH 4,2)	CaCl ₂ -Stammlösung	15 ml
	Konzentrierte Essigsäure (Eisessig)	0,6 ml
	Aqua dest.	135 ml
Tris-CaCl₂-Lösung (pH 7,8)	Tris-(Tris-(hydroxymethyl-)aminomethan 99,9%, M = 121,14 g/mol) (Fa. Carl Roth GmbH und Co. KG, Karlsruhe, Baden-Württemberg, Deutschland)	1,82 g
	CaCl ₂ -Stammlösung	15 ml
	Aqua dest.	135 ml
ATPase-Inkubationslösung (pH 9,4)	KCl (Kaliumchlorid) (M = 75 g/mol)	555 mg
	ATP (M=551,2 g/mol) (Fa. Carl Roth GmbH und Co. KG)	228 mg
	Glycinpuffer	135 ml
	CaCl ₂ -Stammlösung	15 ml
Kobaltchlorid-Lösung	CoCl ₂ x 6 H ₂ O (AppliChem GmbH, Darmstadt, Hessen, Deutschland)	3,0 g
	Aqua dest.	150 ml
Ammoniumsulfid-Lösung	(NH ₄) ₂ SO ₂	0,2 ml
	Aqua dest.	150 ml

Die ATPase-/Diaphorase-Färbung (Tabelle 5, Tabelle 6) wurde in der beschriebenen Durchführung (Tabelle 7) in den dieser Studie vorausgegangenen Arbeiten zur Auswirkung unterschiedlicher Therapien auf die Zusammensetzung der quergestreiften Skelettmuskulatur aus unterschiedlichen metabolischen Fasertypen im ovariectomierten Rattenmodell genutzt (Ammon 2015; Kling 2016; Reeholtz 2017).

Tabelle 6: Zusammensetzung der Komponenten der ATPase-/Diaphorase-Färbung

Lösung	Komponente	Menge
Phosphatpuffer (0,1 M; pH 7,4), Einstellung mit Lösung 1 zum sauren, mit Lösung 2 zum alkalischen Bereich	Lösung 1	15,9 ml
	Lösung 2	84,1 ml
Lösung 1	Prim. Natriumphosphat	0,1 M
	NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O oder NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	18,8 g oder 15,6 g
	Mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen	
Lösung 2	Sek. Natriumphosphat NaHPO ₄ x 12 H ₂ O	0,1 M 35,82 g
	Mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen	
Nitro-BT-Stammlösung	Nitro-BT (Nitro blaues Tetrazoliumchlorid, 1 mg/ml, Fa. Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Baden-Württemberg, Deutschland)	40,0 mg
	Aqua dest.	40,0 ml
CaCl₂-Stammlösung	CaCl ₂ (M=111 g/mol, Fa. Sigma-Aldrich Laborchemikalien GmbH, München, Bayern, Deutschland)	4,99 g
	Mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen	
CaCl₂-Waschlösung	CaCl ₂ (M=111 g/mol, Fa. Sigma-Aldrich)	7,5 g
	Mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen	
Glycinpuffer (pH 9,4)	Glycin-Stammlösung	125 ml
	(Natriumhydroxid, 0,4 M, 8 g/500 ml)	42 ml
	mit Aqua dest. auf 500 ml auffüllen	
Glycin-Stammlösung (pH 9,4)	Glycin (98%, M = 75,07 g/mol, Fa. AppliChem GmbH, Darmstadt, Hessen, Deutschland)	7,51 g
	Mit Aqua dest. auf 250 ml auffüllen	

Tabelle 7: Durchführung der ATPase-/Diaphorase-Färbung

1	Fixierung	nach Meijer (pH 6,3-6,6), 1 min
2	Spülung	Aqua dest. 2x für je 5 min
3	Inkubation	Diaphorase, 60 min, 37 °C
4	Spülung	Aqua dest., 5 min
5	Saure Vorinkubation	15 min, (pH 4,2)
6	Inkubation	Tris-CaCl ₂ - (Kalziumchlorid-) Lösung (pH 7,8), 2 min
7	Inkubation	ATPase-Inkubationslösung (pH 9,4), 30 min, 37 °C
8	Spülung	CaCl ₂ -Waschlösung, 3x je 30 sec
9	Inkubation	CoCl ₂ - (Kobaltchlorid-) Lösung, 1-2 min, Raumtemperatur
10	Spülung	Aqua dest. 3 x je 45 sec
11	Inkubation	(NH ₄) ₂ SO ₂ - (Ammoniumsulfid-) Lösung, 1-2 min
12	Spülung	fließendes Leitungswasser, 10 min
13	Spülung	Aqua dest., 5 min

2.3 Auswertung

Die mikroskopische Auswertung erfolgte für alle Muskeln und beide Färbemethoden unter einem Eclipse 6000 Mikroskop (Nikon, Chiyoda, Tokyo, Japan). Über eine mit dem Mikroskop verbundene DVC-1301-Digitalkamera (DVC-Company, Woburn, Massachusetts, USA) wurden die digitalen Aufnahmen zur anschließenden Auswertung erstellt. Diese erfolgte mittels der Bildbearbeitungssoftware Lucia G 4.82 (Laboratory Imaging, Prag, Tschechien) (Kling 2016; Rehholtz 2017).

Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch den Untersucher auszuschließen, erfolgte die Auswertung im Blindversuch. Es war also nicht bekannt, zu welcher Versuchsgruppe das jeweils betrachtete Präparat gehörte.

2.3.1 Auswertung der Kapillarisierung

Für die quantitative Auswertung der Kapillaren sowie des Kapillar-Zell-Quotienten wurden die mit der Amylase-PAS-Färbung behandelten Zellen betrachtet. Ein Rahmen von 1 x 1 mm wurde erstellt und die innerhalb dieses Rahmens befindlichen Zellen und Kapillaren markiert und gezählt (Abb. 7) (Kling 2016; Rechholtz 2017).

Somit ließ sich der Quotient aus Kapillaren und Fasern, also die durchschnittliche Anzahl der Kapillaren pro Muskelfaser errechnen. Bei der Auszählung der Zellen wurden all jene Zellen, die die gestrichelten Linien des Rahmens berühren, mitgezählt und jene, die die durchgezogenen Linien des Rahmens berühren, nicht gezählt. Dieses Verfahren wurde auf alle Muskeln gleichermaßen angewandt.

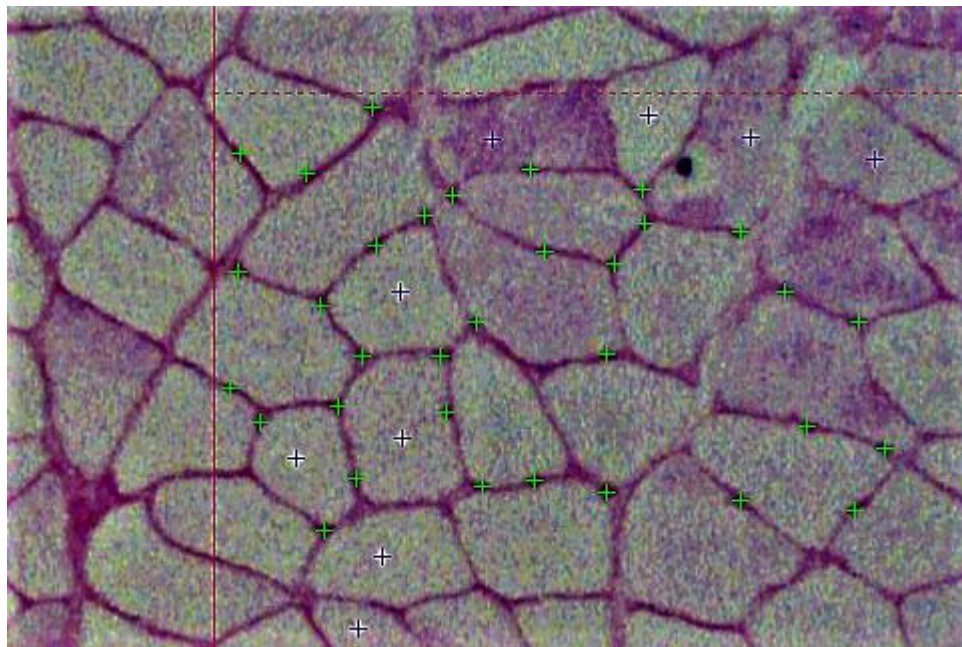


Abb. 7: Auszählung der Zellen und Kapillaren im *M. soleus*, Zellen blau, Kapillaren grün markiert, innerhalb des roten Rahmens

2.3.2 Auswertung des Muskelfaserquerschnitts

Zur Auswertung der Größe der unterschiedlichen Fasertypen ließen sich die Schnitte in der ATPase- / Diaphorase-Färbung untersuchen.

Von jedem Muskel wurden je drei Bildausschnitte des Präparates erstellt und in jedem dieser Ausschnitte 30 Zellen vermessen, sodass pro Muskel jeweils 90 glykolytische und 90 intermediäre und oxidative Zellen (Abb. 8) ausgewertet wurden.

Durch Umfahren des Faserumrisses ließ sich mit dem Programm Lucia G anschließend der jeweilige Flächeninhalt und Durchmesser errechnen. Das Summieren der Einzelwerte und Division durch die Anzahl der vermessenen Zellen ergab den jeweiligen Mittelwert für jeden Zelltypus und jedes Muskelpräparat. Die intermediären und oxidativen Fasern wurden zu einer Gruppe zusammengefasst, die glykolytischen Fasern gesondert betrachtet (Kling 2016; Reeholtz 2017).

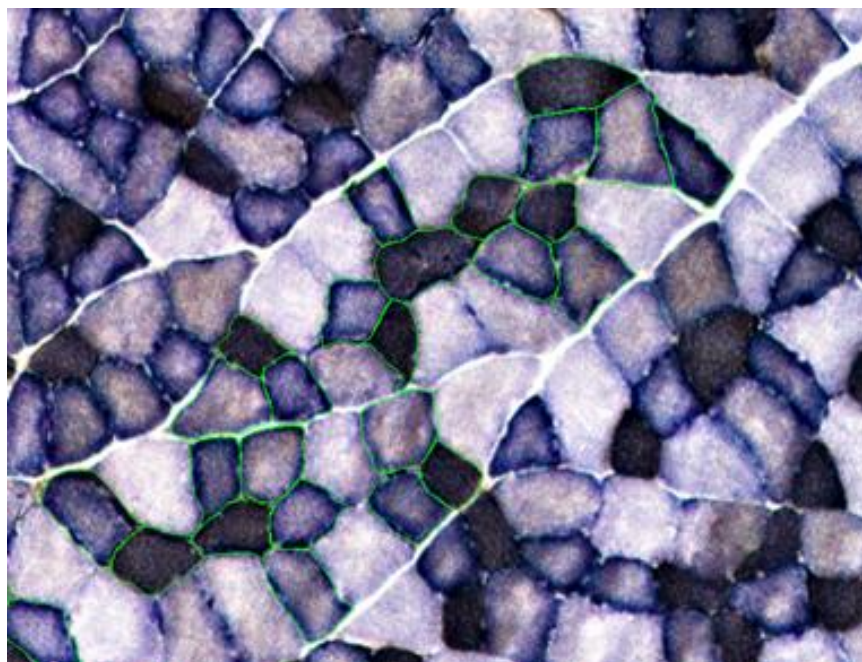


Abb. 8: Bestimmung von Faserquerschnitt und -fläche der intermediären/oxidativen Zellen im *M. gastrocnemius* (grüner Rahmen)

Im *M. soleus* traten durch die Färbung keine erkennbaren morphologischen Unterschiede der Zellen zutage (Abb. 9), sodass von einem fast ausschließlichen Vorkommen oxidativer Zellen auszugehen ist (Kling 2016; Reeholtz 2017). Es wurden 90 oxidative Fasern ausgewertet.

Für die statistische Auswertung wurden die errechneten Mittelwerte der Zellquerschnittsfläche und -durchmesser verwendet.



Abb. 9: *M. soleus* nach ATPase-/Diaphorase-Färbung

Im *M. longissimus* wurde zusätzlich das Verhältnis von glykolytischen zu intermediären und oxidativen Zellen ausgewertet, indem in einem Quadrat (1 x 1 mm) mit dem Programm Lucia G die verschiedenen Zelltypen ausgezählt wurden. So ließ sich das Verhältnis von glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen abbilden (Kling 2016; Reeholtz 2017).

2.3.3 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Messergebnisse erfolgte mit Hilfe des Programms Graph Pad Prism (Version 5, GraphPad Software Inc., San Diego, Kalifornien, USA).

Dafür wurde zunächst eine Varianzanalyse (One Way ANOVA) durchgeführt.

Um die Signifikanz weiter zu quantifizieren, wurde anschließend ein Tukey-Test ($p < 0,05$) durchgeführt, wobei jede der vorhandenen Versuchsgruppen mit jeder anderen verglichen wurde. Die Mittelwerte (MW), Standardfehler (SEM) und Standardabweichung (SD) der Gruppen wurden bestimmt.

3 Ergebnisse

3.1 Körpergewichte

Das Körpergewicht jedes Versuchstieres wurde einmal wöchentlich bestimmt. Die Abb. 10 zeigt den Verlauf des Mittelwertes für die einzelnen Versuchsgruppen für den Zeitraum des Versuchs.

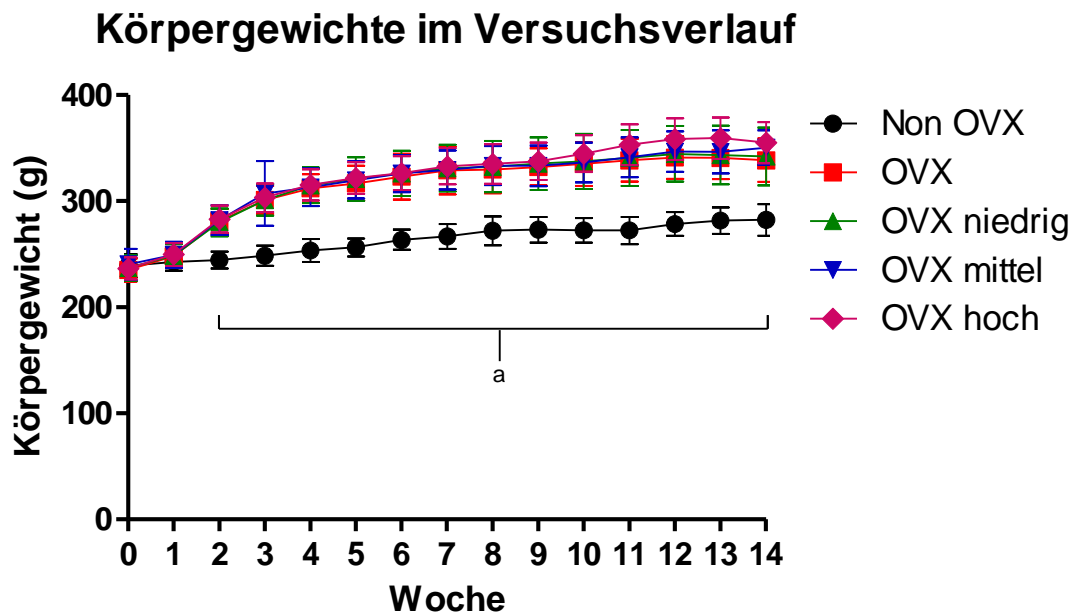


Abb. 10: Darstellung der MW des Körpergewichts der Tiere im vierzehnwöchigen Versuchsverlauf (MW+SD), signifikante Unterschiede ($p < 0,05$) zwischen Non OVX und den OVX-Gruppen = „a“

Der Ausgangswert zeigte keine signifikanten Abweichungen der Gruppen untereinander. Es kam ab Woche 2 zu einem signifikanten Unterschied ($p < 0,05$) des Körpergewichtes aller OVX-Gruppen im Vergleich zu Non OVX, wobei das durchschnittliche Körpergewicht der Non-OVX-Gruppe signifikant niedriger war als das Körpergewicht von OVX, OVX niedrig, OVX mittel und OVX hoch (Tabelle 8).

Tabelle 8: Das Körpergewicht in g über den 14-wöchigen Versuchsverlauf

Gruppe (Synonym)	Mittelwert (g)	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	263,0	14,40	3,718	Sign. Kleiner als W, X, Y, Z
OVX (W)	313,5	33,62	8,681	Sign. Größer als V
OVX niedrig (X)	315,8	34,51	8,911	Sign. Größer als V
OVX mittel (Y)	317,0	34,25	8,843	Sign. Größer als V
OVX hoch (Z)	320,9	38,05	9,825	Sign. Größer als V

3.2 Futteraufnahme

Die durchschnittliche täglich aufgenommene Futtermenge ist in Abb. 11 dargestellt.

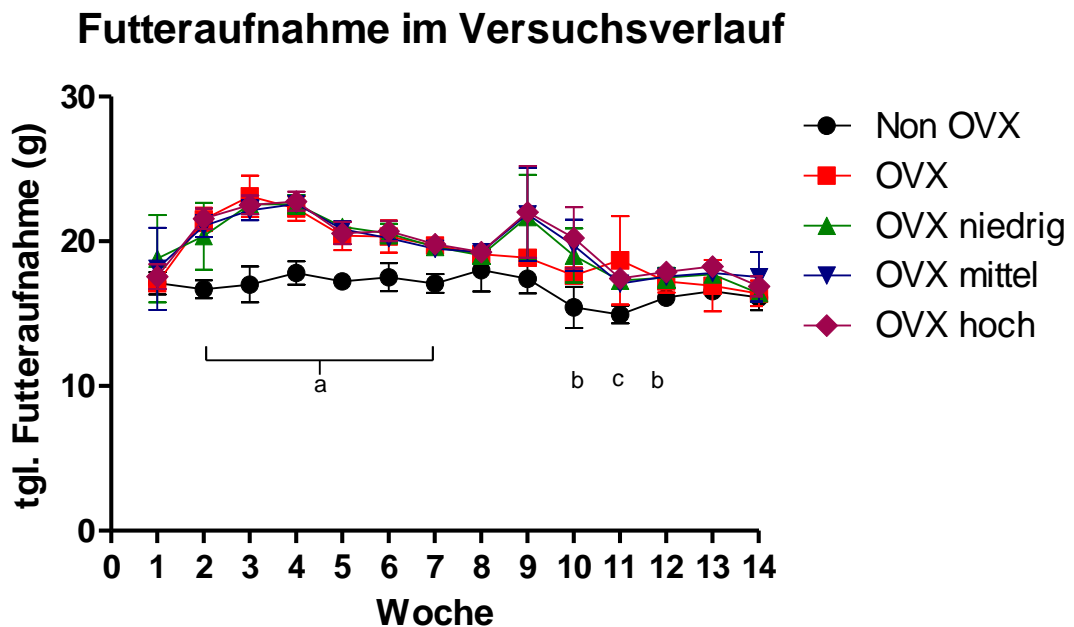


Abb. 11: Tägliche Futteraufnahme pro Tier in g im vierzehnwöchigen Versuchsverlauf, MW+SD, Non OVX sign. kleiner ($p < 0,05$) als alle OVX-Gruppen = „a“; Non OVX sign. kleiner als OVX niedrig, mittel und hoch = („b“); Non OVX sign. kleiner als OVX = „c“

Von Woche 2 bis Woche 7 zeigte Non OVX eine signifikant geringere aufgenommene Futtermenge als alle OVX-Gruppen. In Woche 10 (Beginn der Ligandrol-Medikation) und 12 zeigte Non OVX eine signifikant geringere aufgenommene Futtermenge als OVX niedrig, mittel und hoch und in Woche 11 eine signifikant geringere aufgenommene Futtermenge als OVX. In Woche 1, 8, 9, 13 und 14 ließen sich keine signifikanten Abweichungen nachweisen (Tabelle 9, Tabelle A 1).

Tabelle 9: Futteraufnahme über den 14-wöchigen Versuchsverlauf

Gruppe (Synonym)	Mittelwert (g)	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	16,79	0,8804	0,2353	Signifikant kleiner als W, X, Y, Z
OVX (W)	19,24	2,095	0,5600	Signifikant größer als V
OVX niedrig (X)	19,57	1,963	0,5247	Signifikant größer als V
OVX mittel (Y)	19,66	1,854	0,4956	Signifikant größer als V
OVX hoch (Z)	19,82	1,983	0,5300	Signifikant größer als V

3.3 Ligandrol-Dosis

Die Ligandrol-Dosis wurde für das jeweils angenommene durchschnittliche Körpergewicht der Versuchstiere berechnet und dem Futter entsprechend beigemischt. Über die verbliebenen Futtermengen ließ sich anschließend die tatsächlich aufgenommene tägliche Dosis errechnen. Die mittlere aufgenommene Dosis in der Gruppe OVX niedrig betrug 0,03 mg, für OVX mittel 0,29 mg und für OVX hoch betrug sie 2,87 mg (Tabelle 10).

Tabelle 10: Ligandrol Dosis (mg/kg KG) für die Gruppen OVX niedrig, mittel und hoch

Gruppe	Woche nach der Ovariectomie	Mittelwert (mg/kg KG)	SD	SEM
OVX niedrig	10	0,0316	0,0031	0,0015
	11	0,0284	0,0004	0,0002
	12	0,0284	0,0011	0,0006
	13	0,0288	0,0007	0,0004
	14	0,0269	0,0010	0,0005
	Gesamt	0,0288	0,0021	0,0004
OVX mittel	10	0,3286	0,0295	0,0147
	11	0,2806	0,0088	0,0044
	12	0,2835	0,0074	0,0037
	13	0,2883	0,0064	0,0032
	14	0,2809	0,0272	0,0136
	Gesamt	0,2924	0,0252	0,0056
OVX hoch	10	3,2850	0,3426	0,1713
	11	2,7658	0,0344	0,0172
	12	2,8003	0,0850	0,0425
	13	2,8487	0,0869	0,0435
	14	2,6634	0,1102	0,0551
	Gesamt	2,8726	0,2676	0,0598

3.4 Uterusgewicht

Das Gewicht der *Uteri* war zum Zeitpunkt des Versuchsendes in allen OVX-Gruppen signifikant kleiner als in der Non-OVX-Gruppe. Die OVX-hoch-Gruppe, welche mit der höchsten Dosis Ligandrol therapiert wurde, wies im Vergleich zu den Gruppen OVX, OVX niedrig und OVX mittel ein signifikant höheres Uterusgewicht auf (Abb. 12, Tabelle 11).

Tabelle 11: Uterusgewichte zum Zeitpunkt des Versuchsendes

Gruppe (Synonym)	MW (g)	SD	SEM	Signifikante Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	0,5780	0,1131	0,02922	Signifikant größer als W, X, Y, Z
OVX (W)	0,1053	0,02326	0,006005	Signifikant kleiner als V, Z
OVX niedrig (X)	0,1053	0,02100	0,005422	Signifikant kleiner als V, Z
OVX mittel (Y)	0,1269	0,01750	0,004855	Signifikant kleiner als V, Z
OVX hoch (Z)	0,4264	0,03671	0,009812	Signifikant kleiner als V, signifikant größer als W, X, Y

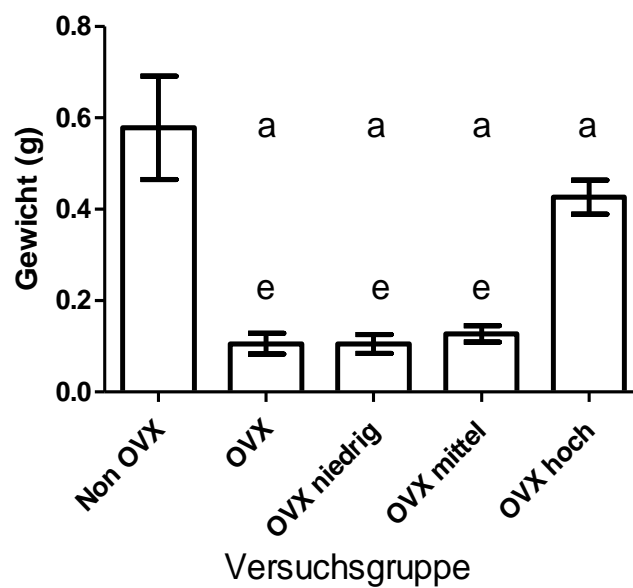


Abb. 12: Uterusgewichte zum Zeitpunkt des Versuchsendes, signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Vergleich zu Non OVX = „a“; signifikanter Unterschied (p < 0,05) im Vergleich zu OVX hoch = „e“

3.5 Muskelgewichte

Die Muskeln *M. gastrocnemius* und *M. soleus* wurden vollständig entnommen und anschließend gewogen. Es erfolgte keine Auswertung des Gewichtes des *M. longissimus*, da dieser lediglich partiell extrahiert wurde.

3.5.1 Gewicht *M. gastrocnemius*

Der Mittelwert des Gewichtes des *M. gastrocnemius* war in allen OVX-Gruppen signifikant größer als in der Non-OVX-Gruppe.

Das durchschnittliche Gewicht des *M. gastrocnemius* war in der Gruppe OVX hoch absolut am größten und signifikant größer als in den Gruppen Non OVX, OVX und OVX niedrig (Tabelle 12, Abb. 13)

Tabelle 12 Gewichte des *M. gastrocnemius* zum Zeitpunkt des Versuchsendes

Gruppe (Synonym)	MW (g)	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	2,028	0,1428	0,03687	Signifikant kleiner als W, X, Y, Z
OVX (W)	2,287	0,1410	0,03767	Signifikant größer als V und kleiner als Z
OVX niedrig (X)	2,299	0,2326	0,06005	Signifikant größer als V und kleiner als Z
OVX mittel (Y)	2,446	0,1988	0,05994	Signifikant größer als V
OVX hoch (Z)	2,493	0,1695	0,04702	Signifikant größer als V, W, X

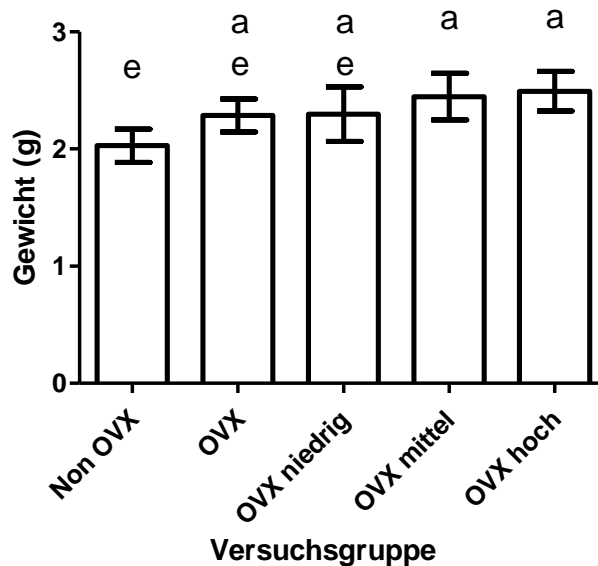


Abb. 13: Gewicht des *M. gastrocnemius* zum Zeitpunkt des Versuchsendes, MW + SD, signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Vergleich zu Non OVX = „a“; signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Vergleich zu OVX hoch = „e“

Für den *M. gastrocnemius* ergab sich bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres durchschnittlich ein signifikant geringeres Muskelgewicht der Gruppen OVX und OVX niedrig im Vergleich zu Non OVX (Abb. 14)

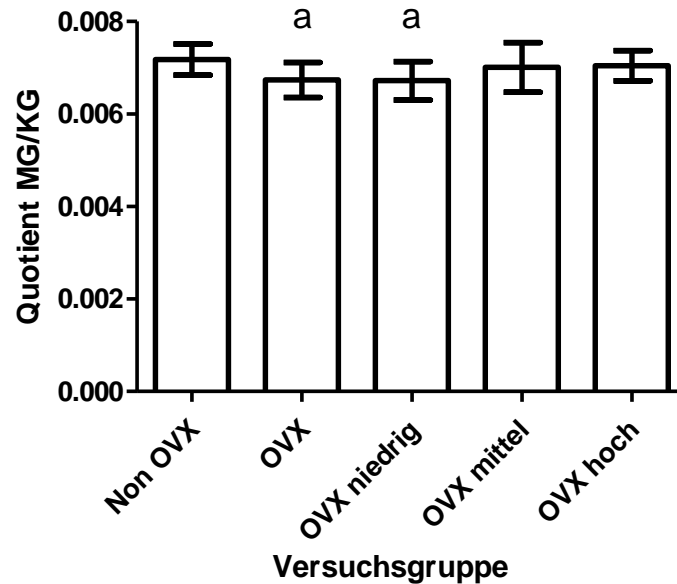


Abb. 14: Gewichte des *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG des jeweiligen Versuchstieres zum Zeitpunkt des Versuchsendes, signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Vergleich zu Non OVX = „a“

3.5.2 Gewicht *M. soleus*

Zwischen den Mittelwerten des Gewichtes des *M. soleus* der unterschiedlichen Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede (Abb. 15, Tabelle 13).

Tabelle 13: Gewichte des *M. soleus* zum Zeitpunkt des Versuchsendes

Gruppe (Synonym)	MW (g)	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	0,1143	0,01869	0,004996	Keine
OVX (W)	0,1157	0,02277	0,006087	Keine
OVX niedrig (X)	0,1167	0,02690	0,006947	Keine
OVX mittel (Y)	0,1250	0,02393	0,006908	Keine
OVX hoch (Z)	0,1100	0,02631	0,007032	Keine

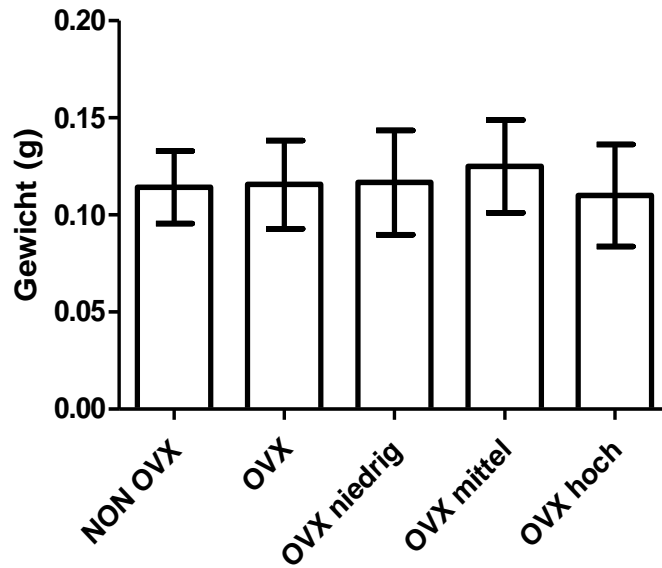


Abb. 15: Gewicht des *M. soleus* zum Zeitpunkt des Versuchsendes, (MW und SD)

Für den *M. soleus* ergab sich, bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres, durchschnittlich ein signifikant geringeres Muskelgewicht der Gruppe OVX hoch im Vergleich zu Non OVX (Abb. 16)

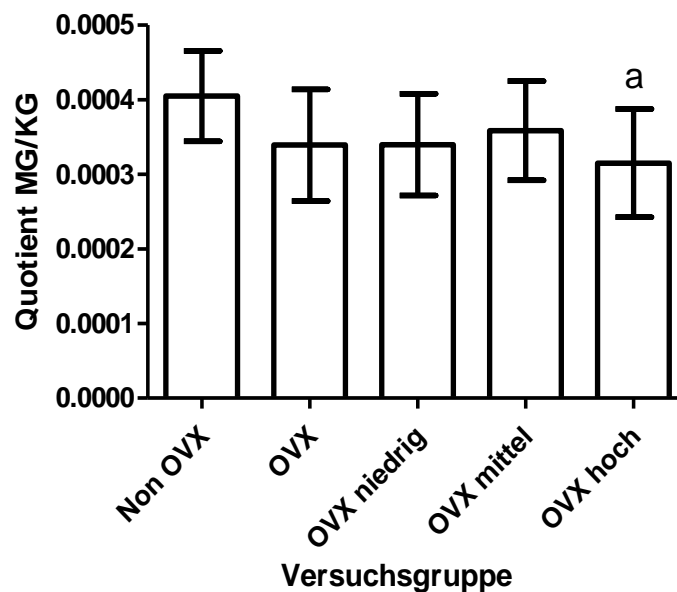


Abb. 16: Gewicht des *M. soleus* bezogen auf das KG zum Zeitpunkt des Versuchsendes, (MW + SD) signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Vergleich zu Non OVX = „a“

3.6 Konzentration der Creatinkinase (CK)

Es ergab sich kein signifikanter Unterschied der Konzentration der CK im Serum zwischen den unterschiedlichen Versuchsgruppen nach Ovariectomie oder als Folge der medikamentösen Behandlung (Abb. 17).

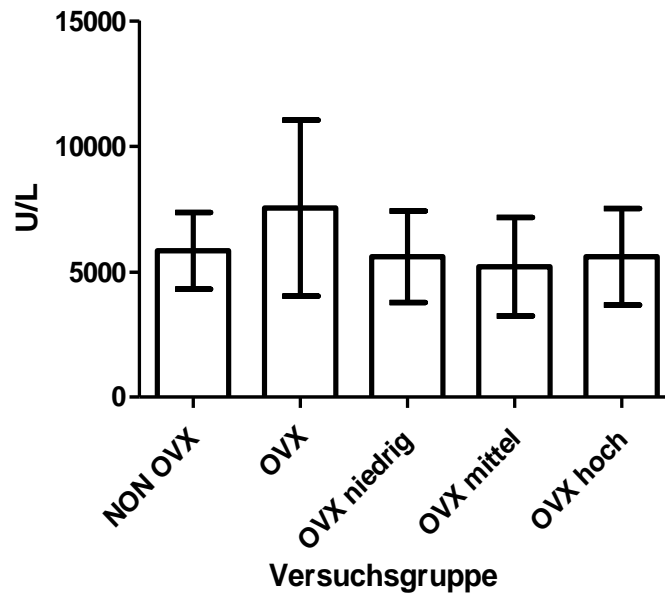


Abb. 17: Konzentration der CK im Serum zum Zeitpunkt des Versuchsendes

3.7 Kapillarisierung

Die Auswertung der Kapillarisierung erfolgte anhand der Amylase-PAS-Färbung für *M. gastrocnemius*, *M. longissimus* und *M. soleus*. Um die Unterschiede, welche auf Grund der unterschiedlichen Körpergewichte der Ratten bestanden, zu egalisieren, wurden alle Werte zusätzlich durch das Körpergewicht des jeweiligen Tieres geteilt.

3.7.1 *M. gastrocnemius*

Im *M. gastrocnemius* bestand in allen medikamentös behandelten Gruppen (OVX niedrig, mittel und hoch) eine signifikant höhere Anzahl von Kapillaren pro Zelle als in der Non-OVX-Gruppe. Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen OVX und den anderen Gruppen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Kapillar-Zell-Quotient im *M. gastrocnemius*, (MW, SD, SEM) und signifikante Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	1,69776	0,1160	0,03499	Signifikant niedriger als X, Y, Z
OVX (W)	1,892653	0,2336	0,06243	Keine
OVX niedrig (X)	1,936676	0,1566	0,04184	Signifikant höher als V
OVX mittel (Y)	1,969393	0,1804	0,06013	Signifikant höher als V
OVX hoch (Z)	1,980541	0,1582	0,04771	Signifikant höher als V

Es bestand kein signifikanter Unterschied des Verhältnisses der Kapillaren zur Zellzahl zwischen den Gruppen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres (Abb. 18, Tabelle 15).

Tabelle 15: Kapillar-Zell-Quotient im *M. gastrocnemius* bezogen auf das Körpergewicht, MW, SD, SEM und signifikante Unterschiede (p < 0,05)

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle/KG (g ⁻¹), MW	SD	SEM	Signifikante Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	0,005936	0,0004325	0,0001304	Keine
OVX (W)	0,005617	0,0009122	0,0002438	Keine
OVX niedrig (X)	0,005707	0,0006748	0,0001804	Keine
OVX mittel (Y)	0,005645	0,0006365	0,0002122	Keine
OVX hoch (Z)	0,005613	0,0005769	0,0001739	Keine

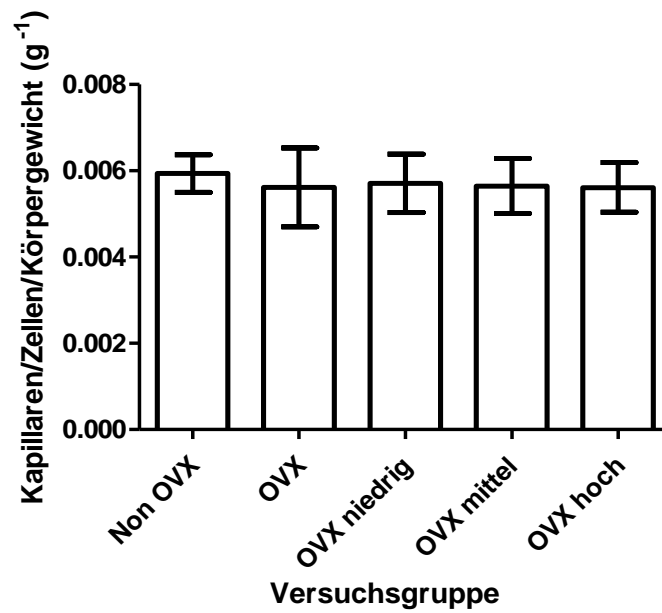


Abb. 18: Kapillar-Zell-Quotient im *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG, (MW und SD)

3.7.2 *M. longissimus*

Die Kapillarisation pro Zelle war im *M. longissimus* in allen medikamentös behandelten Gruppen (OVX niedrig, mittel und hoch) signifikant höher als in der Non-OVX-Gruppe. Es bestand kein signifikanter Unterschied zwischen OVX und Non OVX, OVX niedrig, mittel, oder hoch (Tabelle 16).

Tabelle 16: MW des Kapillar-Zell-Quotienten im *M. longissimus*, SD, SEM und signifikante Unterschiede zwischen den MW

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	1,428664	0,1183	0,03416	Niedriger als X, Y und Z
OVX (W)	1,601414	0,1956	0,05227	Keine
OVX niedrig (X)	1,630015	0,1727	0,04459	Signifikant höher als V
OVX mittel (Y)	1,679127	0,2003	0,05556	Signifikant höher als V
OVX hoch (Z)	1,78308	0,1488	0,04297	Signifikant höher als V

Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied des Verhältnisses der Kapillaren zur Zellzahl zwischen den Gruppen im *M. longissimus* bezogen auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres (Abb. 19, Tabelle 17).

Tabelle 17: Kapillar-Zell-Quotient im *M. longissimus* bezogen auf das KG, MW, SD, SEM und signifikante Unterschiede

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle/KG (g^{-1}) MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	0,005017	0,0003911	0,0001129	Keine
OVX (W)	0,004764	0,0005294	0,0001415	Keine
OVX niedrig (X)	0,004797	0,0006345	0,0001638	Keine
OVX mittel (Y)	0,004803	0,0006249	0,0001733	Keine
OVX hoch (Z)	0,005039	0,0005999	0,0001732	Keine

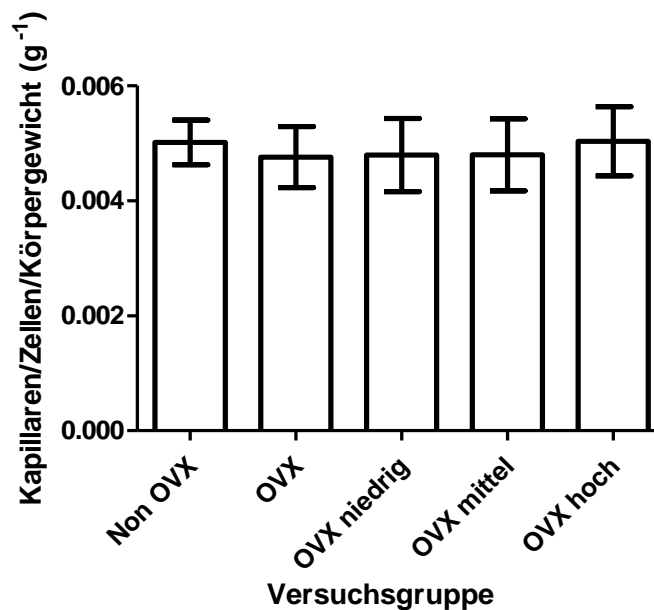


Abb. 19: Kapillar-Zell-Quotient im *M. longissimus* bezogen auf das KG, (MW und SD)

3.7.3 *M. soleus*

Die Kapillarisation pro Zelle war im *M. soleus* in den Gruppen OVX mittel und OVX hoch signifikant höher als in Non OVX. Zwischen OVX und OVX niedrig und den anderen Gruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 18: Kapillar-Zell-Quotient im *M. soleus*, (MW, SD, SEM und signifikante Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	1,876314	0,1585	0,04396	Signifikant niedriger als Y und Z
OVX (W)	2,065585	0,3071	0,07929	Keine
OVX niedrig (X)	1,995543	0,2125	0,05892	Keine
OVX mittel (Y)	2,179284	0,2483	0,06887	Signifikant höher als V
OVX hoch (Z)	2,295401	0,1040	0,02885	Signifikant höher als V

Bezogen auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres bestand kein signifikanter Unterschied des Verhältnisses der Kapillaren zur Zellzahl zwischen den Gruppen im *M. soleus* (Abb. 20, Tabelle 19).

Tabelle 19: Kapillar-Zell-Quotient im *M. soleus* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM und signifikante Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Kapillare/Zelle/KG (g ⁻¹) MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	0,006649	0,0006018	0,0001669	Keine
OVX (W)	0,006116	0,0009409	0,0002429	Keine
OVX niedrig (X)	0,005845	0,0007341	0,0002036	Keine
OVX mittel (Y)	0,006243	0,0008694	0,0002411	Keine
OVX hoch (Z)	0,006478	0,0005508	0,0001528	Keine

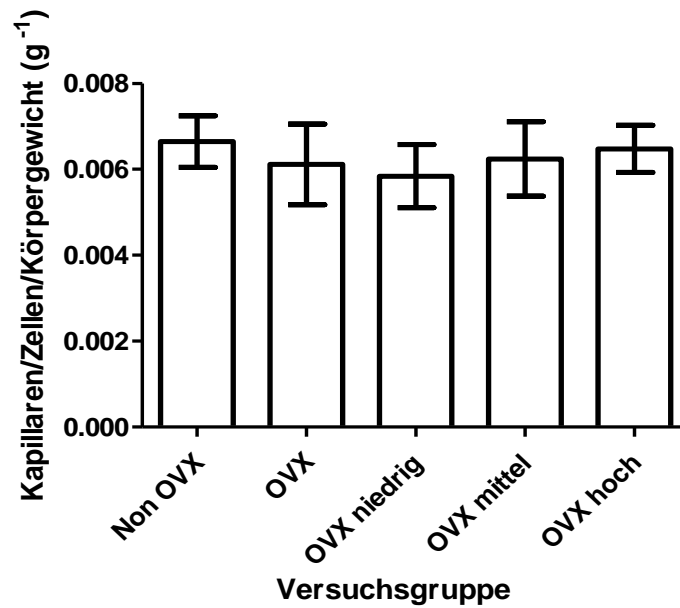


Abb. 20 Kapillar-Zell-Quotient im *M. soleus* bezogen auf das KG, (MW + SD)

3.8 Muskelfaserdurchmesser und -querschnitt

Die Auswertung der Muskelfaserquerschnittsfläche und des -durchmessers erfolgte mit Hilfe der ATPase-Diaphorase-Färbung für *M. gastrocnemius*, *M. longissimus* und *M. soleus*. Die ermittelten absoluten Werte wurden anschließend auch auf das Körpergewicht des jeweiligen Tieres bezogen.

3.8.1 *M. gastrocnemius*

Es zeigte sich weder in den glykolytischen noch in den intermediären/oxidativen Zellen im *M. gastrocnemius* ein signifikanter Unterschied des Muskelfaserquerschnitts unter Ligan-drol-Therapie oder nach der Ovariectomie, verglichen mit der Non-OVX-Gruppe. Zwischen den medikamentös behandelten Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf (Tabelle 20).

Tabelle 20: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen und der intermediären/oxidativen Zellen im *M. gastrocnemius*, (MW, SD, SEM, und signifikante Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Glyk. Fläche (μm^2)	SD	SEM	Int. / Oxy, Fläche (μm^2)	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	5149,236	1457	389,5	2810,5818	722,3	193,0	Keine
OVX (W)	5263,841	897,7	239,9	2781,1217	432,0	115,5	Keine
OVX niedrig (X)	5128,977	975,0	260,6	2631,8574	440,7	117,8	Keine
OVX mittel (Y)	5587,790	958,4	289,0	2888,26	517,7	156,1	Keine
OVX hoch (Z)	5950,493	951,9	287,0	2795,1364	496,5	149,7	Keine

Es bestand kein signifikanter Unterschied des Muskelfaserquerschnitts der glykolytischen Zellen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres im Vergleich mit der Non-OVX-Gruppe. Zwischen den medikamentös behandelten Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf (Abb. 21, Tabelle 21).

Tabelle 21: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM, und signifikante Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Fläche/KG Glyk ($\mu\text{m}^2/\text{g}$) MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	18,02	4,705	1,258	Keine
OVX (W)	15,59	3,122	0,8343	Keine
OVX niedrig (X)	15,05	2,995	0,8004	Keine
OVX mittel (Y)	16,05	3,225	0,9725	Keine
OVX hoch (Z)	16,81	2,895	0,8728	Keine

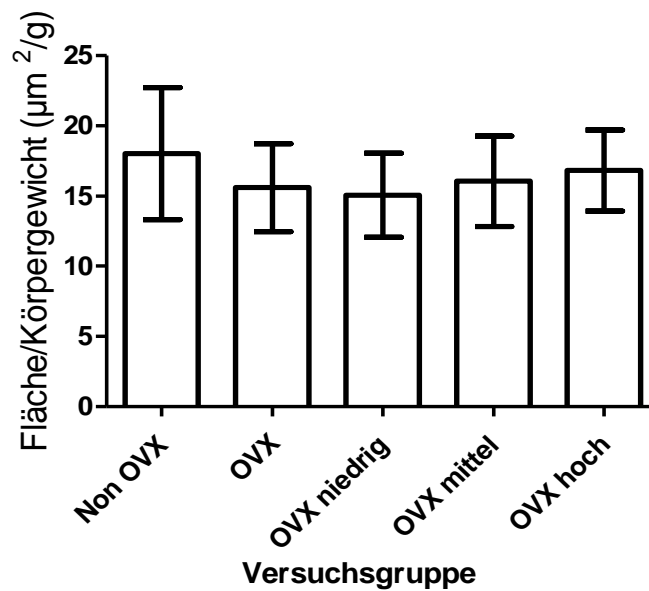


Abb. 21: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG, (MW + SD)

In den Gruppen OVX niedrig und OVX hoch bestand eine signifikant geringere Querschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres im Vergleich zur Non-OVX-Gruppe im *M. gastrocnemius* (Abb. 22, Tabelle 22).

Tabelle 22: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM und sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Fläche/KG inter/oxy (µm ² /g), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	9,862	2,416	0,6456	Sign. größer als X und Z
OVX (W)	8,220	1,463	0,3910	Keine
OVX niedrig (X)	7,718	1,336	0,3571	Sign. kleiner als V
OVX mittel (Y)	8,285	1,688	0,5091	Keine
OVX hoch (Z)	7,874	1,324	0,3992	Sign. kleiner als V

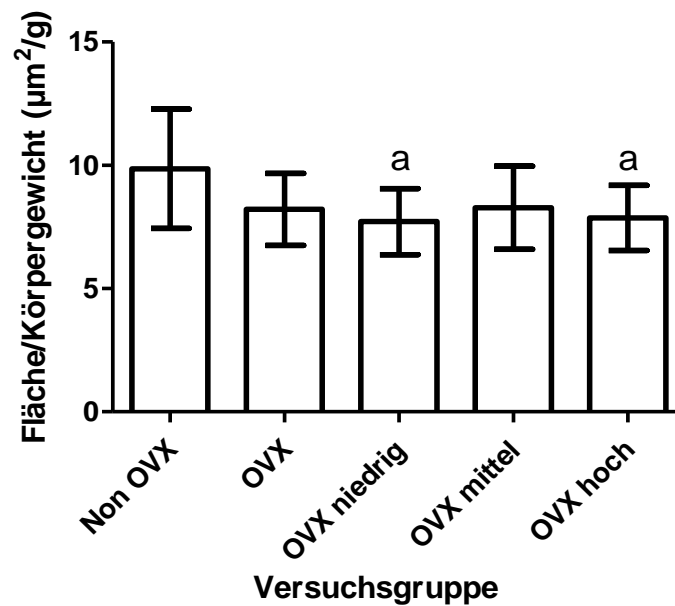


Abb. 22: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im *M. gastrocnemius* bezogen auf das KG, (MW, SD); sign. Unterschiede gegenüber der Non-OVX-Gruppe ($p < 0,05$) = „a“

3.8.2 *M. longissimus*

Im *M. longissimus* bestand in der OVX-hoch-Gruppe ein signifikant größerer Faserquerschnitt der glykolytischen sowie der intermediären/oxidativen Zellen im Vergleich zu Non OVX (Tabelle 23).

Tabelle 23: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen und der intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus*, (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Glyk. Fläche (µm²), MW	SD	SEM	Int. / Oxy, Fläche, (µm²), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	4021,8418	624,3	173,1	1921,238	381,3	105,7	Sign. niedriger als Z
OVX (W)	4574,6615	833,6	231,2	2154,235	507,7	140,8	Keine
OVX niedrig (X)	4872,1267	981,6	253,4	2240,708	428,3	110,6	Keine
OVX mittel (Y)	4647,1	617,8	186,3	2282,338	289,7	87,33	Keine
OVX hoch (Z)	5426,8092	1080	311,9	2561,798	589,9	170,3	Signifikant höher als V

Es war im Vergleich mit der Non-OVX-Gruppe, bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres, kein signifikanter Unterschied des Muskelfaserquerschnitts der glykolytischen Zellen im *M. longissimus* nachzuweisen. Weder unter Ligandrol-Therapie noch nach der Ovariectomie. Zwischen den medikamentös behandelten Gruppen traten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede auf (Abb. 23, Tabelle 24).

Tabelle 24: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Glyk. Fläche/KG ($\mu\text{m}^2/\text{g}$), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	14,30	2,324	0,6212	Keine
OVX (W)	13,58	2,344	0,6502	Keine
OVX niedrig (X)	14,29	2,926	0,7556	Keine
OVX mittel (Y)	13,40	1,915	0,5773	Keine
OVX hoch (Z)	15,33	3,375	0,9744	Keine

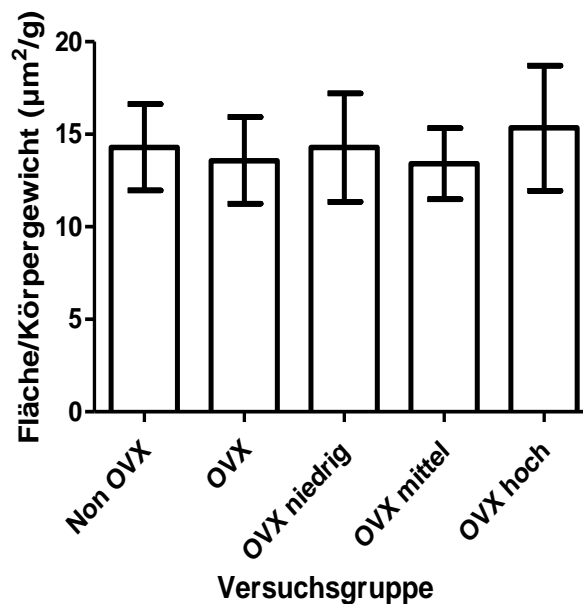


Abb. 23: Muskelfaserquerschnittsfläche der glykolytischen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das KG, (MW + SD)

Es zeigte sich weder nach der Ovariectomie noch unter Ligandrol-Therapie ein signifikanter Unterschied des Muskelfaserquerschnitts der intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres, verglichen mit der Non-OVX-Gruppe. Zwischen den medikamentös behandelten Versuchsgruppen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 24, Tabelle 25).

Tabelle 25: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Inter/Oxy Fläche/KG ($\mu\text{m}^2/\text{g}$), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	6,821	1,411	0,3771	Keine
OVX (W)	6,396	1,443	0,4003	Keine
OVX niedrig (X)	6,579	1,318	0,3402	Keine
OVX mittel (Y)	6,583	0,9038	0,2725	Keine
OVX hoch (Z)	7,223	1,737	0,5013	Keine

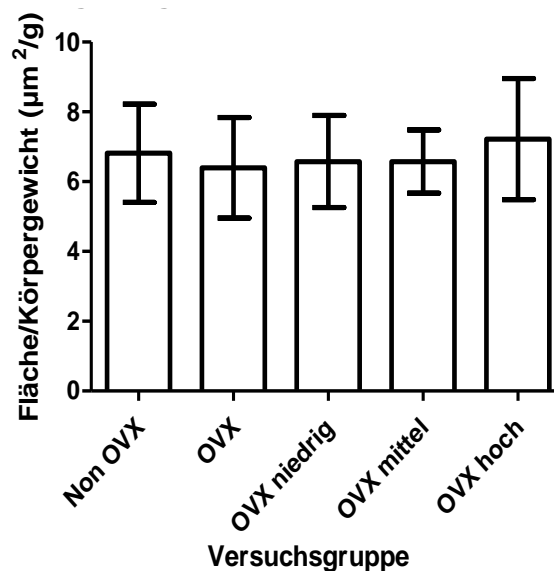


Abb. 24: Muskelfaserquerschnittsfläche der intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das KG, (MW + SD)

3.8.3 *M. soleus*

Im *M. soleus* zeigte sich in den Gruppen OVX und OVX mittel ein signifikant größerer Muskelfaserquerschnitt der oxidativen Zellen im Vergleich zur Non-OVX-Gruppe (Tabelle 26).

Tabelle 26: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im *M. soleus*, (MW, SD und SEM)

Gruppe (Synonym)	Fläche Oxy (μm^2), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	3637,875	396,8	106,1	Signifikant niedriger als W und Y
OVX (W)	4186,243	470,7	121,5	Signifikant höher als V
OVX niedrig (X)	3897,857	293,8	88,59	Keine
OVX mittel (Y)	4277,794	435,1	120,7	Signifikant höher als V
OVX hoch (Z)	4106,846	635,4	169,8	Keine

Es bestand, bezogen auf das Körpergewicht, kein signifikanter Unterschied des Flächeninhalts der oxidativen Zellen im *M. soleus*, verglichen mit Non OVX. Zwischen den medikamentös behandelten Versuchsgruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf (Abb. 25, Tabelle 27).

Tabelle 27: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im *M. soleus* bezogen auf das KG, (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Oxy. Fläche/KG ($\mu\text{m}^2/\text{g}$), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	12,85	1,421	0,3799	Keine
OVX (W)	12,39	1,448	0,3739	Keine
OVX niedrig (X)	11,45	1,362	0,4106	Keine
OVX mittel (Y)	12,24	1,413	0,3919	Keine
OVX hoch (Z)	11,58	1,795	0,4797	Keine

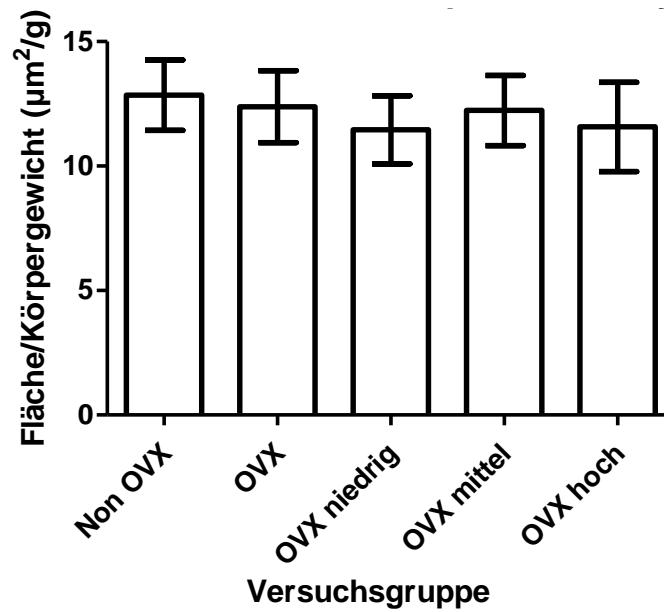


Abb. 25: Muskelfaserquerschnittsfläche der oxidativen Zellen im M. soleus bezogen auf das KG, (MW + SD)

3.9 Zellzahlen

Im *M. longissimus* wurde zusätzlich die Anzahl der unterschiedlichen metabolischen Zelltypen ermittelt und deren Verhältnis zueinander errechnet.

Es bestand kein signifikanter Unterschied der mittleren Anzahl der glykolytischen Zellen zwischen den verschiedenen Versuchsgruppen (Tabelle 28).

Tabelle 28: Zellzahl der glykolytischen Zellen im M. longissimus, (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Zellzahl glyk. MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX	39,71795	8,147	2,259	Keine
OVX	38,84615	7,769	2,155	Keine
OVX niedrig	37,33333	9,561	2,469	Keine
OVX mittel	36,93939	6,826	2,058	Keine
OVX hoch	32,08333	7,207	2,081	Keine

Im *M. longissimus* bestand in den Gruppen OVX niedrig und OVX hoch eine signifikant geringere Zellzahl der intermediären/oxidativen Zellen im Vergleich zur Non OVX Gruppe (Tabelle 29).

Tabelle 29: Zellzahl der intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Zellzahl IO MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	34,71795	5,128	1,422	Signifikant größer als X und Z
OVX (W)	30,4359	6,578	1,824	Keine
OVX niedrig (X)	28,06667	4,510	1,164	Signifikant kleiner als V
OVX mittel (Y)	28,84848	4,900	1,477	Keine
OVX hoch (Z)	27	7,052	2,036	Signifikant kleiner als V

Es ergab sich zwischen den Versuchsgruppen im *M. longissimus* kein signifikanter Unterschied des Quotienten aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen (Tabelle 30).

Tabelle 30: Quotient aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen, prozentuale Anteile der Zelltypen im *M. longissimus* (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Quotient GI/IO, MW	Anteil Glyk (%)	Anteil I/O (%)	SD	SEM	Sign. Unterschiede (p < 0,05)
Non OVX (V)	1,152565	53,5437954	46,4562	0,2329	0,06459	Keine
OVX (W)	1,302	56,5595135	43,4405	0,2270	0,06296	Keine
OVX niedrig (X)	1,331535	57,1098011	42,8902	0,2433	0,06283	Keine
OVX mittel (Y)	1,304518	56,6069781	43,393	0,2744	0,08275	Keine
OVX hoch (Z)	1,227048	55,0975102	44,9025	0,2512	0,07252	Keine

Im Vergleich zu Non OVX bestand eine signifikant geringere Anzahl von glykolytischen Zellen in OVX niedrig, mittel und hoch im *M. longissimus* bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres. Unter den medikamentös behandelten Versuchsgruppen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 26, Tabelle 31).

Tabelle 31: Zellzahl der glykolytischen Zellen bezogen auf das KG im *M. longissimus* (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Zellzahl glyk/KG (g^{-1}), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	0,1411	0,02868	0,007956	Sign. Größer als X, Y und Z
OVX (W)	0,1160	0,02583	0,007163	Keine
OVX niedrig (X)	0,1096	0,02818	0,007275	Sign. Kleiner als V
OVX mittel (Y)	0,1064	0,01958	0,005904	Sign. Kleiner als V
OVX hoch (Z)	0,0903	0,02059	0,005945	Sign. Kleiner als V

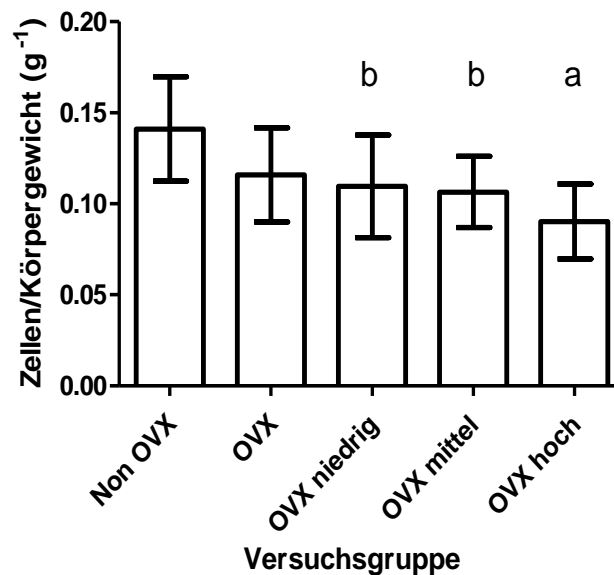


Abb. 26: Anzahl der glykolytischen Zellen bezogen auf das KG im *M. longissimus*, (MW + SD) signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) im Vergleich zu Non OVX = „b“, und signifikanter Unterschied ($p < 0,001$) im Vergleich zu Non OVX = „a“

Es bestand im *M. longissimus* eine signifikant geringere Anzahl intermediärer/oxidativer Zellen in OVX, OVX niedrig, mittel und hoch bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres als in der Non-OVX-Gruppe. Zwischen den ovariectomierten Gruppen traten keine signifikanten Unterschiede auf (Abb. 27, Tabelle 32).

Tabelle 32: Zellzahl der intermediären/oxidativen Zellen bezogen auf das KG im *M. longissimus* (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Zellzahl IO/KG MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	0,1237	0,02132	0,005913	Sign. größer als W, X, Y, Z
OVX (W)	0,09122	0,02354	0,006530	Sign. kleiner als V
OVX niedrig (X)	0,08270	0,01567	0,004046	Sign. kleiner als V
OVX mittel (Y)	0,08294	0,01315	0,003965	Sign. kleiner als V
OVX hoch (Z)	0,07615	0,02022	0,005836	Sign. kleiner als V

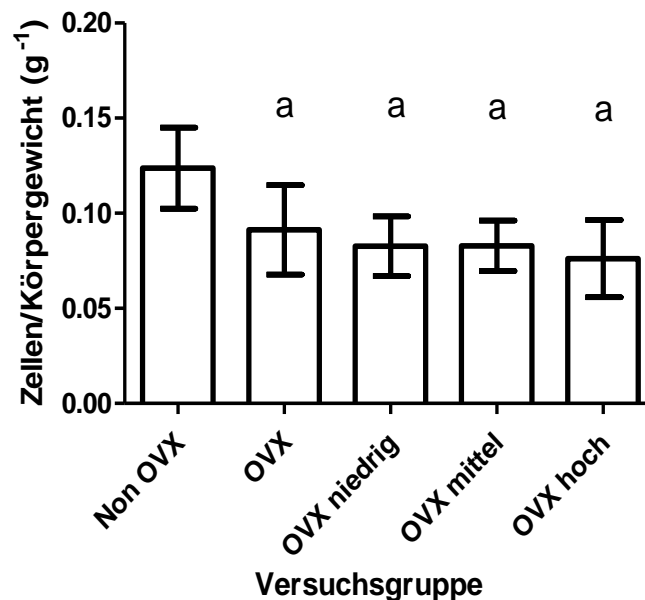


Abb. 27: Anzahl der intermediären und oxidativen Zellen bezogen auf das KG im *M. longissimus*, (MW + SD) signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) im Vergleich zu Non OVX = „a“

Es bestand kein signifikanter Unterschied des Quotienten aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* unter Ligandrol-Therapie oder nach der Ovariectomie verglichen mit der Non-OVX-Gruppe bezogen auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres. Zwischen den ovariectomierten Gruppen (OVX, OVX niedrig, mittel und hoch) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede (Abb. 28, Tabelle 33).

Tabelle 33: Quotient aus glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen bezogen auf das KG im *M. longissimus* (MW, SD, SEM + sign. Unterschiede)

Gruppe (Synonym)	Quotient Glyk/IO/KG (g^{-1}), MW	SD	SEM	Sign. Unterschiede ($p < 0,05$)
Non OVX (V)	0,004088	0,0007736	0,0002146	Keine
OVX (W)	0,003865	0,0006379	0,0001769	Keine
OVX niedrig (X)	0,003902	0,0007086	0,0001830	Keine
OVX mittel (Y)	0,003769	0,0008538	0,0002574	Keine
OVX hoch (Z)	0,003449	0,0006934	0,0002002	Keine

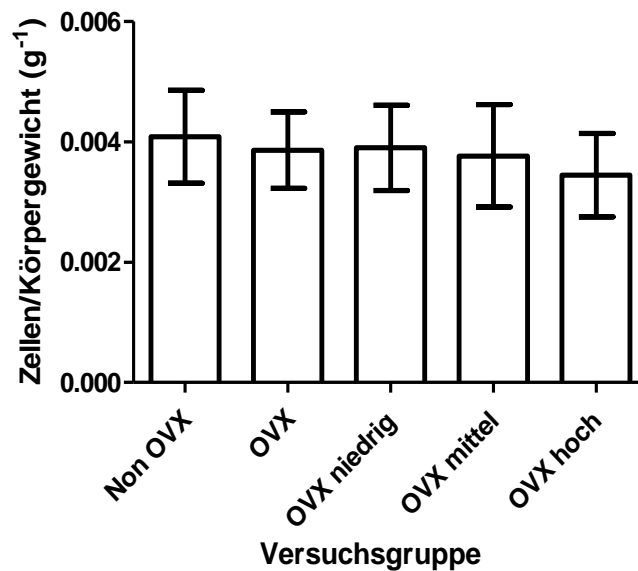


Abb. 28: Quotient aus der Anzahl der glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen im *M. longissimus* bezogen auf das KG (MW + SD)

4 Diskussion

Ziel der vorliegenden Studie war es, die Auswirkung einer Behandlung mit dem nichtsteroidalen selektiven Androgenrezeptormodulator Ligandrol auf die Muskulatur im ovariectomierten Rattenmodell zu untersuchen und diese zu objektivieren. Die ovariectomierte Ratte diente als Tiermodell eines postmenopausalen Organismus, um die Auswirkungen einer medikamentösen Therapie mit SARMs auf die Osteoporose sowie die damit verbundenen Strukturveränderungen der quergestreiften Skelettmuskulatur zu untersuchen. Die Verwendung der ovariectomierten Ratte als Modell für einen postmenopausalen Stoffwechsel kann als etabliert gelten (Beall et al. 1984; Bellino 2000; Kadi et al. 2002). Da Muskulatur und Knochen im weiblichen Rattenmodell positiv auf die Substitution von Testosteron reagieren können (Ustünel et al. 2003; Yarrow et al. 2008), wollten wir prüfen, inwiefern die Behandlung mit dem SARM Ligandrol die Muskulatur im ovariectomierten Rattenmodell beeinflusst.

4.1 Körpergewichte und Futteraufnahme

In dieser Studie kam es nach der Ovariectomie zu einem signifikanten Anstieg des Körpergewichts der OVX-Gruppen. Bis zum Versuchsende blieb dieser Unterschied bestehen. Die Behandlung mit Ligandrol zog im Vergleich zu OVX keine signifikanten Änderungen des Körpergewichts nach sich.

Auch bei der Futteraufnahme trat direkt nach der Ovariectomie ein signifikanter Anstieg der wöchentlich aufgenommenen Futtermenge in allen ovariectomierten Gruppen auf, welcher sich zum Versuchsende tendenziell abnehmend zeigte.

Die Unterschiede bei der Futteraufnahme sowie des Körpergewichts zwischen den OVX-Gruppen und der Non-OVX-Gruppe decken sich mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen am ovariectomierten Rattenmodell, nach welchen der Entzug des Östrogens die Nahrungsaufnahme beeinflusst (Richard 1986) sowie auch mit aktuellen Studien, welche einen ähnlichen Effekt der Ovariectomie auf das Körpergewicht aufzeigen (Komrakova et al. 2009; Komrakova et al. 2010; Hoffmann et al. 2019). Auch diese Studien zeigen einen Anstieg des Körpergewichts in direkter zeitlicher Folge der Ovariectomie, welcher in den nicht ovariectomierten Gruppen nicht auftritt.

Bei Frauen im postmenopausalen Stadium kommt es als mögliche Folge eines Östrogenmangels unter anderem zu einer veränderten Lipolyseaktivität (Oppelt und Beckmann 2001), welche zu einer Erhöhung des Serumcholesterins führen kann. Auch eine Steigerung des Körperfettanteils ließ sich nachweisen (Davis et al. 2012). Die physiologische Menopause im Menschen führt aber nicht zwangsläufig zu einem signifikanten Anstieg des Körpergewichts (Akahoshi Masazumi et al. 1996), wie sie im ovariectomierten Rattenmodell zu beobachten war.

In vorangegangenen Studien am ovariectomierten Rattenmodell konnte bereits nachgewiesen werden, dass die Nahrungsaufnahme sowie damit einhergehend das Körpergewicht über die Beeinflussung zerebraler Östrogenrezeptoren, welche u. a. eine Ausschüttung von Cholezystokinin und eine Hemmung des Effekts von Ghrelin nach sich zieht, funktioniert (Butera 2010). Entfällt die östrogenbedingte Hemmung der Ghrelinwirkung und kommt es zudem zu einer reduzierten Ausschüttung von Cholezystokinin auf Grund der Ovariectomie, bietet dies eine kausale Erklärung für die in diesem Versuch beobachtete Steigerung der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichts durch ein gesteigertes Hunger- und ein reduziertes Sättigungsgefühl.

Während also ein Effekt der Ovariectomie auf Futteraufnahme und Körpergewicht zu belegen ist, führt die medikamentöse Therapie mit Ligandrol in keiner der gewählten Dosierungen zu einer signifikanten Veränderung des Körpergewichts oder der Futteraufnahme. Dies deckt sich mit früheren Untersuchungen, welche den Effekt eines anderen SARM (Ostarine) auf das Körpergewicht ovariectomierter Ratten untersuchten (Hoffmann et al. 2019; Komrakova et al. 2020).

4.2 Uterusgewicht

Das Uterusgewicht wurde zum Versuchsende für jedes Tier bestimmt. Wir stellten fest, dass alle OVX-Gruppen ein signifikant geringeres Uterusgewicht aufwiesen als Non OVX. Zudem trat in der Gruppe OVX hoch im Vergleich zu den anderen OVX-Gruppen eine signifikante Steigerung des Uterusgewichts auf. Diese Resultate der Ovariectomie und anschließenden medikamentösen Therapie mit einem SARM sind reproduzierbar aus vorherigen Studien an ovariectomierten Ratten (Jones et al. 2010; Hoffmann et al. 2019; Komrakova et al. 2020). Diese Beobachtungen bestätigen, dass eine Ovariectomie über den konsekutiven Östrogenmangel zu einer Atrophie des östrogensensitiven Uterusgewebes führt (Unsal und Sönmez 2014). Die durch unseren Versuch gezeigte Hypertrophie der *Uteri* in der Gruppe OVX hoch lässt vermuten, dass es für die SARMS eine kritische Dosischwelle gibt, ab welcher die Gewebeselektivität der Substanz nachlässt. Es ist nicht wahrscheinlich, dass ausschließlich der *Uterus* von dieser mangelnden Selektivität betroffen ist. Naheliegender ist, dass, sobald die Selektivität der SARMS nicht mehr gegeben ist, mit dem vollständigen Nebenwirkungsspektrum anaboler Steroide gerechnet werden muss. Über diese herrscht insbesondere in Bezug auf postmenopausale Frauen allerdings noch kein Konsens, da Ergebnisse sowohl für einen protektiven als auch einen schädigenden Effekt hoher endogener Testosteronlevel vorliegen (Maclaran and Panay 2012). So ließ sich eine Korrelation zwischen niedrigen Serumtestosteronwerten und reduzierter Progression der Dicke der *Tunica intima* der *Arteria carotis interna* (ACI), welche als Prädilektionsfaktor für eine Atherosklerose der ACI gewertet wird, aufzeigen (Karim et al. 2008). Zugleich liegen aber Ergebnisse vor, die ein hohes Level endogenen Testosterons gar als protektiven Faktor gegen die Atherosklerose der ACI suggerieren (Debing et al. 2007).

Studien, welche die unerwünschten Arzneimittelwirkungen von SARMS unter Dosierungen, welche die Gewebeselektivität negativ beeinflussen untersuchen, gibt es bislang nicht. Ob Ligandrol in einer Dosierung von 4 mg/kg KG z. B. zu einer Veränderung der Intimadicke der ACI führt, könnte zeigen, ob auch im Gefäßsystem bei fehlender Gewebeselektivität unerwünschte Arzneimittelwirkungen zu erwarten sind.

Auf das Endometrium wie auch das Myometrium des Uterus bei Ratten wirken unterschiedliche SARMS zwar weniger stark als eine Testosteronsubstitution, dennoch kommt es auch durch eine Behandlung mit SARMS zu einer signifikanten Hypertrophie beider Gewebe

(Jones et al. 2010), was die Gewichtssteigerung in diesem Versuch erklärt. Dies erfolgt sowohl bei einer Substitution von Testosteron als auch bei einer Applikation von SARMs über einen durch den Androgenrezeptor vermittelten Wachstumsreiz (Schmidt und Katzenellenbogen 1979; Furuya et al. 2013).

Dass wir aber bei den medikamentös behandelten Gruppen OVX niedrig und OVX mittel keine Auswirkungen der Therapie auf das Uterusgewicht beobachten konnten zeigt, dass Ligandrol nicht grundsätzlich zu einer Hypertrophie des androgensensitiven Uterusgewebes führt, was als eindeutiger Vorteil von Ligandrol gegenüber anderen SARMs gewertet werden kann, denn in vorherigen Studien hatte mitunter auch eine geringe Dosierung anderer SARMs schon eine signifikante Steigerung des Uterusgewichts zur Folge (Jones et al. 2010).

4.3 Serum CK

Die Serum-CK kann als Kriterium für die Intaktheit der Skelettmuskulatur dienen (Apple and Rhodes 1988) und wird dementsprechend als Diagnostikum im klinischen Alltag genutzt.

Wir konnten keine signifikanten Unterschiede der Serum-CK zwischen den einzelnen Versuchsgruppen finden, was darauf schließen lässt, dass es weder durch die Ovariectomie noch die medikamentöse Behandlung mit Ligandrol zu einer relevanten Schädigung der Muskulatur kam. Dieses Ergebnis zeigte sich bereits in früheren Untersuchungen zur Entwicklung der CK als Reaktion auf eine SARMs-Therapie (Henkies 2020; Wolgast 2020).

4.4 Kapillarisation der Muskulatur

Die absoluten Zahlen unserer Messungen zeigen, dass die Kapillarisation pro Muskelfaser im *M. gastrocnemius* und im *M. longissimus* in allen medikamentös behandelten Gruppen durchschnittlich signifikant höher war als in Non OVX. Die einzige Ausnahme bildet die OVX-niedrig-Gruppe im *M. soleus*. Dort besteht kein signifikanter Unterschied zu den anderen Gruppen. Es besteht unseren Ergebnissen nach also in fast allen mit Ligandrol behandelten Gruppen eine höhere Kapillarisation als in der gesunden Vergleichsgruppe.

Vorherige Studien zeigten, dass es nach der Ovariectomie im weiblichen Rattenmodell auch zu einer Reduktion der Kapillarisation kommen kann (Tanaka et al. 2015). Dies wäre anhand unserer absoluten Daten nicht zu bestätigen. Die Mehrzahl der dieser Studie vorausgegangenen Untersuchungen zeigt keinen der Ovariectomie folgenden Anstieg der Kapillarisation (Stuermer et al. 2010; Komrakova et al. 2013), doch auch eine Zunahme der Kapillarisation nach einer Ovariectomie wurde für das Rattenmodell bereits beschrieben (Komrakova et al. 2016; Saul et al. 2018).

Nachdem die ermittelten absoluten Werte durch das individuelle Körpergewicht dividiert wurden, ließ sich keine signifikante Abweichung zwischen den Gruppen aufzeigen. Es kam weder durch die Ovariectomie noch durch die medikamentöse Behandlung zu einer signifikanten Änderung der Kapillarisation in den betrachteten Muskelproben aus *M. soleus*, *M. gastrocnemius* und *M. longissimus* bezogen auf das individuelle Körpergewicht.

Die Korrelation zwischen gesteigertem Körpergewicht und gesteigerter Kapillarisation, welche wir somit nachweisen konnten, ist in einer vorherigen Studie bereits hochsignifikant beschrieben worden (Komrakova et al. 2016).

Die Steigerung der Kapillarisation musste in früheren Studien als Folge der Ovariectomie gewertet werden (Komrakova et al. 2016), da sie in allen ovariectomierten Gruppen auftrat, nicht nur in den therapierten. Die absoluten Daten unserer Untersuchungen zum Kapillarzell-Quotienten zeigen eine Steigerung der Kapillarisation nach der medikamentösen Therapie mit Ligandrol in allen untersuchten Muskeln, während keine signifikanten Unterschiede zwischen OVX und Non OVX bestehen. Dies zeigt eine verbesserte Durchblutung der Muskulatur durch Ligandrol. Einen Nachweis einer gesteigerten Kapillarisation durch andere SARMs gibt es bislang nicht. Der Effekt von Testosteron auf die Kapillarisation der Skelettmuskulatur hingegen kann sogar eine Reduktion der Kapillaren sein, vermutlich auf Grund einer verminderten peripheren Insulinsensibilität (Holmang et al. 1990).

Die Steigerung der Kapillarisation kann auch körperliches Training im Rattenmodell nachweislich bewirken (Poole und Mathieu-costello 1996). Somit lässt sich durch Ligandrol bezüglich der Kapillarisation unseren Ergebnissen nach derselbe Effekt erzielen, den auch ein körperliches Training hätte, ohne dass tatsächlich trainiert werden müsste, was dem erwünschten Effekt für einen möglichen klinischen Einsatz des Medikaments entspricht und der Wirkung von Testosteron überlegen ist.

Die Kapillarisierung der Muskulatur steigt unter SARMs-Therapie proportional zum Körpergewicht der Tiere (Henkies 2020). Gegenstand künftiger Studien könnte der Nachweis sein, dass eine durch Ligandrol gesteigerte Kapillarisierung auch tatsächlich zu einer verbesserten Muskelfunktion führt und der Effekt somit auch bezüglich der Funktionalität ein körperliches Training zumindest partiell ersetzen kann.

4.5 Muskelgewicht und -faserquerschnitt

Wir konnten zeigen, dass das Gewicht der *Mm. gastrocnemius* in allen OVX-Gruppen signifikant größer war als in der Gruppe Non OVX.

Dies trifft auf das Gewicht des *M. soleus* nicht zu. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen ließen sich nicht nachweisen. Diese Ergebnisse sind in früheren Untersuchungen an ovariectomierten Ratten nicht konstant. Es gab sowohl Studien, welche ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen ovariectomierten und unversehrten Ratten feststellten (Komrakova et al. 2019) als auch Studien, die keine signifikanten Unterschiede des Muskelgewichtes nachwiesen (Kling 2016; Rechholtz 2017).

Setzt man das durchschnittliche Muskelgewicht in Beziehung zum individuellen Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres, ergibt sich in unserer Studie im *M. gastrocnemius* für die Gruppen OVX und OVX niedrig ein signifikant geringerer Quotient im Vergleich zu Non OVX sowie im *M. soleus* ein signifikant niedrigerer Quotient für OVX hoch im Vergleich zu Non OVX. Diese Resultate decken sich nicht vollständig mit früheren Versuchen an ovariectomierten Ratten (Rechholtz 2017) und deuten darauf hin, dass in unserem Versuch nach der Therapie mit Ligandrol muskuläre Veränderungen auftreten, die nicht allein durch die Veränderungen nach der Ovariectomie zu erklären sind und somit ein Resultat der medikamentösen Therapie darstellen. Dies steht im Einklang mit der nachgewiesenen Eigenschaft der SARMs zu einer Erhöhung der LBM zu führen (Srinath und Dobs 2014) sowie mit einer Studie, welche als Folge einer Therapie mit Enobosarm eine Steigerung des Gewichts des *M. gastrocnemius* bei konstantem Gewicht des *M. soleus* zeigte (Henkies 2020).

Wir fanden weder für die glykolytischen noch die intermediären und oxidativen Zellen signifikante Unterschiede des Muskelfaserquerschnittes im *M. gastrocnemius* nach der Ovariectomie oder der Behandlung mit Ligandrol. Eine Berechnung des Querschnittes bezogen auf das individuelle Körpergewicht brachte keine Änderung dieser Ergebnisse.

Im *M. longissimus* fanden wir in der OVX-hoch-Gruppe einen signifikant erhöhten Muskelfaserquerschnitt sowohl für die glykolytischen als auch für die intermediären/oxidativen Zellen. Bezogen auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres blieb der Unterschied der Tendenz nach bestehen, ohne allerdings Signifikanz zu erreichen. Diese Steigerung des Muskelfaserquerschnittes in der OVX-hoch-Gruppe ging über die Werte der gesunden Kontrollgruppe hinaus.

Im *M. soleus*, welcher lediglich oxidative Zellen aufweist, wiesen wir eine Steigerung des Faserquerschnittes in allen OVX-Gruppen nach, welcher in OVX und in OVX mittel Signifikanz erreichte. Bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres zeigte sich dieser Unterschied nicht.

Die Auswirkungen des Östrogenmangels wie auch die der Behandlung mit Ligandrol auf die Muskulatur weisen Unterschiede in ihrer Ausprägung je nach betrachteter Muskelgruppe auf, nicht aber in Bezug auf die unterschiedlichen Fasertypen. Dass der *M. soleus* durch die östrogenmangelbedingten muskulären Strukturveränderungen weniger betroffen ist, steht im Einklang mit der Erkenntnis, dass die Muskelfaseratrophie im Rahmen des natürlichen Alterungsprozesses im Menschen die Typ-II-Fasern stärker betrifft als die Typ-I-Fasern (Deschenes 2004). Das Gewicht des *M. gastrocnemius* nimmt nach der Ovariectomie zu, während das Gewicht des *M. soleus* sich nicht ändert. Die Tatsache, dass der *M. gastrocnemius* im Gegensatz zum *M. soleus* glykolytische Fasern enthält, legt die Annahme nahe, dass die Auswirkung sowohl der Ovariectomie als auch der Behandlung mit Ligandrol die glykolytischen Fasern stärker betrifft als die intermediären/oxidativen. Unsere Ergebnisse zu den Faserquerschnitten der verschiedenen Muskeln bestätigen diesen Schluss allerdings nicht, da die Größenentwicklung der unterschiedlichen Fasertypen in *M. gastrocnemius* und *M. longissimus* einander in etwa entspricht. Eine signifikante Steigerung des Muskelfaserquerschnitts trat lediglich in einzelnen Versuchsgruppen im *M. soleus* und *M. longissimus* auf, was nicht auf eine allgemeine Tendenz zu einer Hypertrophie der Muskelfasern hindeutet, welche durch eine Substitution von Testosteron induziert würde (Ustünel et al. 2003).

Eine alternative Erklärung des Zuwachses des Muskelgewichts nach Ovariectomie, welche vereinbar mit dem nicht nachzuweisenden Zuwachs der Muskelfaserdicke ist, wäre eine östrogenabhängige Veränderung der Muskelqualität. Im Alter steigt im Menschen die Menge an Fett, die in der Muskulatur eingelagert ist (Goodpaster et al. 2008). Auch in ovariectomierten Mäusen ließ sich dieser Effekt, der wie bereits beschrieben u. a. auf eine durch Östrogenmangel bedingte reduzierte Insulinsensitivität nach der Ovariectomie zurückzuführen ist, nachweisen und durch eine Östrogensubstitution rückgängig machen (Baltgalvis et al. 2010; Camporez et al. 2013). Es ist also möglich, dass es auch in unserem Versuch an der ovariectomierten Ratte zu einer vermehrten Einlagerung von Fetten in die Muskulatur kommt. Ob der *M. gastrocnemius* von dieser stärker betroffen ist als der *M. soleus*, wie unsere Ergebnisse suggerieren, ist bisher nicht untersucht.

In weiteren Studien ließe sich dieser Schlussfolgerung nachgehen und zeitgleich untersuchen, ob die Behandlung mit SARMs ebenso zu einer Hemmung der Einlagerung von Fetten führt und somit wie auch eine Androgensubstitution eine Möglichkeit des Erhalts der physiologischen Muskelfunktion darstellt (Krotkiewski et al. 1980; Herbst und Bhasin 2004).

In männlichen Ratten zeigte sich ein Unterschied der Androgenrezeptor-Konzentration in verschiedenen Muskeln sowie eine testosteronabhängige Änderung der Expression des AR, welche in verschiedenen Muskeln unterschiedlich stark ausfiel (Antonio et al. 1999). Die Konzentration des AR in den untersuchten Muskeln zu bestimmen, könnte also wichtige Hinweise darauf geben, in welchen Geweben Ligandrol am stärksten wirkt und ob die Auswirkung sowohl des Östrogenmangels als auch der Ligandrol-Therapie in Zusammenhang mit der AR-Konzentration steht.

4.6 Zellzahl im *M. longissimus*

Im *M. longissimus* werteten wir zusätzlich zum Muskelfaserquerschnitt die Anzahl der glykolytischen und intermediären/oxidativen Zellen und das Verhältnis der Zellzahlen zueinander aus. Dies bezogen wir auf das individuelle Körpergewicht des jeweiligen Versuchstieres. Dabei fiel auf, dass ein Rückgang der Zellzahl der medikamentös behandelten OVX-Gruppen zu verzeichnen war, welcher in OVX niedrig und OVX hoch Signifikanz erreichte und insbesondere die intermediären und oxidativen Zellen betraf. Auch eine Testosteron-Therapie älterer Ratten wirkt sich insbesondere auf die intermediären/oxidativen Typ-I-Muskelfasern aus (Ustünel et al. 2003). Das prozentuale Verhältnis der Zelltypen zueinander blieb dennoch weitgehend konstant. Auffällig war, dass die Zellzahlen sich in allen medikamentös behandelten Gruppen besonders stark reduzierten. Die Non OVX Gruppe wies die höchste Zahl der glykolytischen und auch der intermediären/oxidativen Zellen auf. Eine plausible Erklärung wäre, dass der Zelldurchmesser nach der Ovariectomie zunimmt und dieser Effekt durch die Behandlung mit Ligandrol verstärkt wird. Diesen Schluss lassen unsere Ergebnisse allerdings nicht zu.

Die Theorie, dass die Ovariectomie über den konsekutiven Östrogenmangel zu einer vermehrten Einlagerung von Fetten (Baltgalvis et al. 2010; Camporez et al. 2013) und somit zu geringeren Zellzahlen pro Fläche führt, passt sowohl zu den reduzierten Zellzahlen als auch zu der Steigerung des Muskelgewichts. Auch dass die Ligandrol-Therapie diesen Effekt weiter steigert, ist mit unseren Ergebnissen vereinbar. Die Tatsache, dass Testosteron zumindest zu einer Reduktion des Körperfettanteils führt (Herbst und Bhasin 2004) spricht nur scheinbar gegen diese Kausalität. Die Effekte der androgenen Hormone unterscheiden sich zwischen den Geschlechtern und auch zwischen systemischer und lokaler Wirkung bestehen Unterschiede. Eine Studie zur Wirkung von Androgenen auf die Muskulatur prä- und postmenopausaler Frauen zeigt im postmenopausalen Organismus signifikant höhere intramuskuläre Testosteronlevel als im prämenopausalen und bringt diese mit der im Vergleich gesteigerten Infiltration von Fetten in die Muskulatur in Verbindung (Pöllänen et al. 2011). Auch Ligandrol könnte im ovariectomierten Rattenmodell im Muskel lokal also eine völlig andere Wirkung entfalten als eine systemische Testosteronsubstitution (Ustünel et al. 2003). In folgenden Studien zur Wirkung von Ligandrol ließe sich dieser Fragestellung nachgehen, indem z. B. das Verhältnis von Fettgewebe und Muskelfasern in Muskeln wie dem *M. gastrocnemius*, welche sich in Gänze entnehmen lassen, in Abhängigkeit von der Dosierung untersucht wird.

4.7 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich aussagen, dass die Ovariectomie und die Behandlung mit Ligandrol nicht alle Muskeln gleichermaßen betreffen. Der *M. gastrocnemius* wird im Gegensatz zum *M. soleus*, dessen Gewicht in allen Gruppen konstant bleibt, nach der Ovariectomie schwerer. Diese Gewichtszunahme steigert sich durch die Therapie mit Ligandrol weiter. Im *M. soleus* und *M. longissimus* zeigt sich in einzelnen Versuchsgruppen eine Steigerung des Muskelfaserquerschnitts, ohne dass allerdings eine Dosisabhängigkeit bestünde. Die Verhältnisse der Fasertypen zueinander bleiben weitgehend konstant und in den Versuchsgruppen, in denen ein Größenzuwachs von Muskelfasern auftritt, trifft dieser beide Fasertypen annähernd gleichermaßen. Eine mögliche Erklärung bietet die unterschiedliche Konzentration von Östrogen- und Androgenrezeptoren sowie die verschiedene Muskelfunktion und daraus resultierend unterschiedliche Faserzusammensetzung in den verschiedenen Muskeln.

Die Kapillarisation ist in allen Muskelgruppen in nahezu allen medikamentös behandelten Gruppen signifikant größer als in Non OVX, ohne dass dies auch auf OVX zutrifft. Es besteht also eine Zunahme der Kapillarisation als Folge der medikamentösen Behandlung mit Ligandrol, welche sich nicht allein auf die Ovariectomie zurückführen lässt. Bezogen auf das Körpergewicht des jeweiligen Tieres ergeben sich keine Unterschiede der Kapillarisation. Dies zeigt, dass die Zunahme der Kapillarisation annähernd proportional zur Zunahme des Körpergewichts der Tiere ist. Als Folge der medikamentösen Therapie mit Ligandrol zeigt sich also eine verbesserte Durchblutung der betrachteten Muskulatur.

In diesem Tierversuch wurde auch die Auswirkung einer Therapie mit Ligandrol auf die osteoporotischen Knochen untersucht. Nach der Ovariectomie entwickelte sich eine signifikante Reduktion aller relevanten Parameter, was das Potential des ovariectomierten Rattenmodells als osteoporotischen Organismus bestätigt. Es zeigte sich, dass Ligandrol in der höchsten Dosierung von 4 mg/kg KG in den *Femora* und Lendenwirbelkörpern die Knochendichte von Kortikalis und Trabekeln im ovariectomierten Rattenmodell verbessert (Müller-Reiter 2017; Derouet 2018).

Ligandrol war in der vorliegenden Studie in der höchsten Dosis nicht mehr muskelselektiv und führte zu einer Hypertrophie der *Uteri*. Um die klinische Sicherheit des Medikaments zu gewährleisten, wird es notwendig sein, die kritische Dosis der Gewebeselektivität genau zu bestimmen.

Abschließend lässt sich sagen, dass Ligandrol eine dosisabhängige Gewebeselektivität aufweist, welche bei Überschreiten einer kritischen Dosis zu einer Hypertrophie des *Uterus* führt. Ligandrol kann sowohl zu einem Zuwachs der Muskelmasse und des Körpergewichts als auch zu einer verbesserten muskulären Kapillarisation führen. Ob zugleich eine Hypertrophie der Muskelfasern auftritt und inwieweit diese dann auch eine verbesserte Funktionalität der Muskulatur zur Folge hat, sollte weiter untersucht werden, da dies die entscheidende Eigenschaft der medikamentösen Therapie von PatientInnen darstellt, welche auf Grund schwerer Grund- oder Begleiterkrankungen selbst nicht aktiv an ihrer Behandlung mitwirken können.

5 Zusammenfassung

Sarkopenie ist die Bezeichnung für ein Syndrom, welches sich durch einen fortschreitenden Verlust von Skelettmuskelmasse und -kraft auszeichnet und mit einem ungünstigen *Outcome* bis hin zum Tod vergesellschaftet ist. Diese generalisierte Form der Skelettmuskelatrophie geht auch dem Krankheitsbild der Osteoporose voraus und lässt sich häufig auf ähnliche pathophysiologische Faktoren wie z. B. latente chronisch entzündliche Prozesse und einen Mangel an anabolen Hormonen wie Testosteron oder Östrogen zurückführen.

Auch als Konsequenz der steigenden Lebenserwartung der Populationen von Industrienationen weisen Sarkopenie und Osteoporose als Folge der physiologischen Menopause steigende Inzidenzen auf.

Die Substitution von Androgenen ist der wohl naheliegendste Therapieansatz, weist allerdings ein nicht unerhebliches Spektrum an Nebenwirkungen auf. Die Entwicklung der selektiven Androgenrezeptormodulatoren (SARMs) ist das Resultat einer Suche nach einem Androgenrezeptorstimulans, welches oral bioverfügbar und gewebe selektiver ist als Testosteron.

Der Androgenrezeptor ist ein ubiquitär im Körper exprimierter Rezeptor, welcher als Transkriptionsfaktor fungiert und durch androgene Hormone aber auch Substanzen wie die nicht-steroidalen selektiven Androgenrezeptormodulatoren (SARMs) angesteuert werden kann und resultierend in verschiedenen Geweben einen unterschiedlich stark ausgeprägten anabolen Stimulus induziert.

Ligandrol oder LGD 4033 ist ein oraler nichtsteroidaler SARM mit hoher Affinität zum AR und guter Verträglichkeit.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Auswirkungen einer Therapie mit Ligandrol auf die Skelettmuskulatur im ovariectomierten Rattenmodell für postmenopausale Bedingungen zu untersuchen.

Zu diesem Zweck wurde ein Versuchskollektiv von 75 weiblichen Sprague-Dawley Ratten im Alter von drei Monaten in fünf Versuchsgruppen zu je 15 Tieren eingeteilt. Eine Kontrollgruppe wurde unversehrt belassen (Non OVX), eine Gruppe wurde ovariectomiert und nicht behandelt (OVX) und drei Gruppen wurden ovariectomiert und neun Wochen nach der Ovariectomie mit Ligandrol in einer Dosierung von 0,04 mg/kg KG (OVX niedrig),

0,4 mg/kg KG (OVX mittel), und 4 mg/kg KG (OVX hoch) für 5 Wochen mittels Applikation über das Futter behandelt.

Nach einer Versuchsdauer von insgesamt 14 Wochen erfolgte die Tötung und Entnahme der Muskeln *M. gastrocnemius*, *M. soleus* und *M. longissimus*. Diese wurden auf Kapillarisation, Muskelfaserquerschnittsfläche und Zellzusammensetzung untersucht. Zudem entnommen wurden die Uteri und Blutproben zur Analyse der Serum-CK.

Die Behandlung mit Ligandrol bewirkte im gegebenen Versuchszeitraum eine zum Körpergewicht proportionale Steigerung der Kapillarisation in allen untersuchten Muskelgruppen. Es war eine Steigerung des Muskelfaserquerschnitts im *M. longissimus* in der OVX hoch-Gruppe sowie im *M. soleus* in den Gruppen OVX und OVX mittel zu verzeichnen. Gleichzeitig trat unter der Behandlung mit 4,0 mg/kg KG Ligandrol eine signifikante Hypertrophie der *Uteri* auf, weswegen davon auszugehen ist, dass die Gewebeselektivität des Medikaments eine Dosisabhängigkeit aufweist. Das durchschnittliche Gewicht des *M. gastrocnemius* steigerte sich nach der Ovariectomie sowie dosisabhängig im Laufe der Therapie. Ligandrol kann also eine Steigerung der Muskelfaserquerschnittsfläche bewirken und verbessert über eine Steigerung der Kapillarisation die muskuläre Durchblutung.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Ligandrol sich dosisabhängig positiv auf die Muskulatur im ovariectomierten Rattenmodell auswirken kann. Unter einer Behandlung mit 4 mg/kg KG Ligandrol täglich kann die Muskelfaserquerschnittsfläche vergrößert und bereits mit 0,04 mg/kg KG die muskuläre Durchblutung über eine Steigerung der Kapillarisation verbessert werden. Weitere Studien müssen allerdings diejenige Dosis ermitteln, ab der eine Gewebeselektivität nicht mehr besteht und aufzeigen, ob bei einer unkritischen Dosierung gegebenenfalls über einen längeren Versuchszeitraum eine Steigerung der Muskelfaserquerschnittsfläche, Knochenstruktur oder eine Verbesserung der Kapillarisation bewirkt werden kann. Insbesondere muss untersucht werden, ob die Zunahme des Muskelgewichtes tatsächlich durch eine Hypertrophie der Muskelfasern zustande kommt und ob diese und die nachweislich gesteigerte Kapillarisation auch mit einer verbesserten muskulären Funktion einhergehen.

6 Anhang

Tabelle A 1: Tägliche Futtermittelaufnahme (g/Ratte/Tag) über den Versuchsverlauf, Minimum, Maximum, MW, SD und SEM sowie signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen

Woche	Non OvX (V) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX (W) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX nied- rig (X) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX mittel (Y) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX hoch (Z) MW (SD; SEM) (Min-Max)	Sign. Unter- schiede ($p < 0,05$)
1	17,1 (0,8; 0,4) 16,5-18,1	17,2 (0,5;0,2) 16,6-17,8	18,8 (3,0;1,5) 16,4-23,1	18,1 (2,8;1,4) 15,3-21,6	17,6 (0,9;0,4) 16,7-18,6	keine
2	16,7 (0,6; 0,3) 16,0-17,3	21,5 (0,5; 0,2) 20,5-22,2	20,4 (2,3; 1,2) 16,9-21,9	21,1 (0,8; 0,4) 19,9-21,6	21,6 (0,7; 0,4) 20,5-22,0	V sign. kleiner als W, X, Y, Z
3	17,8 (1,2; 0,6) 16,0-18,7	23,1 (1,4; 0,7) 21,5-24,5	22,5 (0,6; 0,3) 22,1-23,3	22,2 (0,7; 0,4) 21,5-23,1	22,5 (0,7; 0,3) 22,0-23,4	V signifikant kleiner als W, X, Y, Z
4	17,8 (0,8; 0,4) 17,2-19,0	22,3 (0,9; 0,4) 21,7-23,5	22,6 (0,7; 0,3) 22,0-23,5	22,6 (0,4; 0,2) 22,2-23,1	22,8 (0,7; 0,3) 21,9-23,3	V signifikant kleiner als W, X, Y, Z
5	17,2 (0,4; 0,2) 16,9-17,8	20,4 (1,0; 0,5) 19,4-21,7	21,0 (0,5; 0,2) 20,6-21,6	20,8 (0,3- 0,2) 20,6-21,3	20,6 (0,8; 0,4) 20,0-21,7	V signifikant kleiner als W, X, Y, Z
6	17,5 (1,0; 0,5) 16,5-18,0	20,3 (1,1; 0,6) 19,0-21,7	20,5 (0,7; 0,3) 19,8-21,4	20,2 (0,2; 0,1) 20,0-20,4	20,7 (0,7; 0,4) 19,8-21,5	V signifikant kleiner als W, X, Y, Z
7	17,1 (0,7; 0,3) 16,5-18,0	19,7 (0,6; 0,3) 19,1-20,2	19,6 (0,6; 0,3) 19,1-20,3	19,5 (0,3; 0,2) 19,2-19,8	19,8 (0,2; 0,1) 19,6-20,0	V signifikant kleiner als W, X, Y, Z
8	18,0 (1,5; .07) 16,8-19,9	19,1 (0,4; 0,2) 18,6-19,5	19,0 (0,6; 0,3) 18,3-19,7	19,3 (0,3; 0,1) 18,9-19,5	19,3 (0,4; 0,2) 19,0-19,9	keine
9	17,4 (1,0; 0,5) 16,3-18,7	18,9 (0,3; 0,1) 18,5-19,1	21,7 (2,9; 1,4) 18,3-24,3	21,9 (3,2; 1,6) 18,6-26,0	22,0 (3,2; 1,6) 18,4-25,2	keine

Woche	Non OvX (V) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX (W) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX nied- rig (X) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX mittel (Y) MW (SD; SEM) (Min-Max)	OVX hoch (Z) MW (SD; SEM) (Min-Max)	Sign. Unter- schiede ($p < 0,05$)
10	15,4 (1,4; 0,7) 14,5-17,6	17,6 (0,1; 0,0) 17,5-17,7	19,0 (1,9; 0,9) 17,3-21,2	19,7 (1,8; 0,9) 17,9-22,1	20,2 (2,1; 1,1) 18,3-23,2	V signifikant kleiner als X, Y, Z
11	15,0 (0,6; 0,3) 14,3-15,7	18,7 (3,1; 1,5) 16,9-23,2	17,3 (0,2; 0,1) 17,0-17,6	17,1 (0,5; 0,3) 16,6-17,9	17,4 (0,2; 0,1) 17,1-17,7	V signifikant kleiner als W
12	16,1 (0,4; 0,2) 15,8-16,5	17,2 (0,8; 0,4) 16,5-18,3	17,5 (0,7; 0,3) 17,0-18,5	17,6 (0,5; 0,2) 17,0-18,0	17,9 (0,5; 0,3) 17,1-18,4	V signifikant kleiner als X, Y, Z
13	16,6 (0,4; 0,2) 16,2-17,1	16,9 (1,8; 0,9) 14,3-17,9	17,7 (0,5; 0,3) 17,1-18,1	17,8 (0,4; 0,2) 17,4-18,3	18,3 (0,6; 0,3) 17,6-18,9	keine
14	16,1 (0,9; 0,4) 15,3-17,1	16,4 (0,9; 0,5) 15,3-17,5	16,4 (0,6; 0,3) 15,6-17,1	17,6 (1,7; 0,9) 16,0-19,9	16,9 (0,6; 0,3) 16,2-17,6	keine

7 Literaturverzeichnis

Akahoshi M, Soda M, Nakashima E, Shimaoka K, Seto S, Yano K (1996): effects of menopause on trends of serum cholesterol, blood pressure, and body mass index. *Circulation* 94, 61–66

Ammon JC: Auswirkung der vertikalen Ganzkörpervibration unterschiedlicher Frequenzen auf die Muskulatur im osteoporotischen Rattenmodell. Med. Diss. Göttingen 2015

Andersen P (1975): capillary density in skeletal muscle of man. *Acta Physiol Scand* 95, 203–205

Anderson KD, Gunawan A, Steward O (2005): Quantitative assessment of forelimb motor function after cervical spinal cord injury in rats: Relationship to the corticospinal tract. *Exp Neurol* 194, 161–174

Antonio J, Wilson JD, George FW (1999): Effects of castration and androgen treatment on androgen-receptor levels in rat skeletal muscles. *J Appl Physiol* 87, 2016–2019

Apple FS, Rhodes M (1988): Enzymatic estimation of skeletal muscle damage by analysis of changes in serum creatine kinase. *J Appl Physiol* 65, 2598–2600

Baccaro LF, Conde DM, Costa-Paiva L, Pinto-Neto AM (2015): The epidemiology and management of postmenopausal osteoporosis: a viewpoint from Brazil. *Clin Interv Aging* 10, 583

Baltgalvis KA, Greising SM, Warren GL, Lowe DA (2010): Estrogen regulates estrogen receptors and antioxidant gene expression in mouse skeletal muscle. *PLoS ONE* 5, e10164

Band MM, Sumukadas D, Struthers AD, Avenell A, Donnan PT, Kemp PR, Smith KT, Hume CL, Hapca A, Witham MD (2018): Leucine and ACE inhibitors as therapies for sarcopenia (LACE trial): study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 19, 6

Barbosa MR, Shiguemoto GE, Tomaz LM, Ferreira FC, Rodrigues MFC, Domingues MM, Master MVCS, Canevazzi GHR, Silva-Magosso NS, Selistre-de-Araujo HS, Perez SE (2016): Resistance training and ovariectomy: Antagonistic effects in mitochondrial biogenesis markers in rat skeletal muscle. *Int J Sports Med* 37, 841–848

Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, Romero L, Heymsfield SB, Ross RR, Garry PJ, Lindeman RD (1998): Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico. *Am J Epidemiol* 147, 755–763

Beall PT, Misra LK, Young RL, Spjut HJ, Evans HJ, LeBlanc A (1984): Clomiphene protects against osteoporosis in the mature ovariectomized rat. *Calcif Tissue Int* 36, 123–125

Bellino FL (2000): Nonprimate animal models of menopause: workshop report. *Menopause* 7, 14–24

Bhasin S, Calof OM, Storer TW, Lee ML, Mazer NA, Jasuja R, Montori VM, Gao W, Dalton JT (2006): Drug insight: testosterone and selective androgen receptor modulators as anabolic therapies for chronic illness and aging. *Nat Rev Endocrinol* 2, 146

Bianchi L, Abete P, Bellelli G, Bo M, Cherubini A, Corica F, Di Bari M, Maggio M, Manca GM, Rizzo MR et al. (2017): Prevalence and clinical correlates of sarcopenia, identified according to the EWGSOP definition and diagnostic algorithm, in hospitalized older people: the GLISTEN study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 72, 1575–1581

Bleibler F, Rapp K, Jaensch A, Becker C, König HH (2014): Expected lifetime numbers and costs of fractures in postmenopausal women with and without osteoporosis in Germany: a discrete event simulation model. *BMC Health Serv Res* 14, 284

Brotto M, Abreu EL (2012): Sarcopenia: pharmacology of today and tomorrow. *J Pharmacol Exp Ther* 343, 540–546

Buckinx F, Landi F, Cesari M, Fielding RA, Visser M, Engelke K, Maggi S, Dennison E, Al-Daghri NM, Allepaerts S et al. (2018): Pitfalls in the measurement of muscle mass: a need for a reference standard. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 269–278

Buford TW, Anton SD, Judge AR, Marzetti E, Wohlgemuth SE, Carter CS, Leeuwenburgh C, Pahor M, Manini TM (2010): Models of accelerated sarcopenia: Critical pieces for solving the puzzle of age-related muscle atrophy. *Ageing Res Rev* 9, 369–383

Butera PC (2010): Estradiol and the control of food intake. *Physiol Behav* 99, 175–180

Brenner B: Muskulatur. In: Klinker R, Pape HC, Kurtz A, Silbernagl S (Hrsg.): Physiologie. 6. Auflage; Georg Thieme Verlag, München 2009, 98-127

Camporez JPG, Jornayvaz FR, Lee HY, Kanda S, Guigni BA, Kahn M, Samuel VT, Carvalho CRO, Petersen KF, Jurczak MJ, Shulman GI (2013): Cellular mechanism by which estradiol protects female ovariectomized mice from high-fat diet-induced hepatic and muscle insulin resistance. *Endocrinology* 154, 1021–1028

Chiu HC, Chiu CY, Yang RS, Chan DC, Liu SH, Chiang CK (2018): Preventing muscle wasting by osteoporosis drug alendronate in vitro and in myopathy models via sirtuin-3 down-regulation. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 9, 585–602

Clark RV, Walker AC, Andrews S, Turnbull P, Wald JA, Magee MH (2017): Safety, pharmacokinetics and pharmacological effects of the selective androgen receptor modulator, GSK2881078, in healthy men and postmenopausal women. *Br J Clin Pharmacol* 83, 2179–2194

Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, Boirie Y, Cederholm T, Landi F, Martin FC, Michel JP, Rolland Y, Schneider SM et al. (2010): Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 39, 412–423

Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Schneider SM, Zúñiga C, Arai H, Boirie Y, Chen LK, Fielding RA, Martin FC, Michel JP et al. (2014): Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing* 43, 748–759

Dalton JT, Barnette KG, Bohl CE, Hancock ML, Rodriguez D, Dodson ST, Morton RA, Steiner MS (2011): 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* 2, 153–161

Derouet C (2018): Auswirkungen einer Ligandrol-Therapie auf die Knochensubstanz im osteoporotischen Rattenmodell. Vortrag im Rahmen des Kongresses „Osteologie“, Dresden 08.03-10.03.2018

DIMDI (Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information; im Auftrag des Bundesministeriums für Gesundheit unter Beteiligung der Arbeitsgruppe ICD des Kuratoriums für Fragen der Klassifikation im Gesundheitswesen) (Hrsg.): ICD-10-GM Version 2018. <https://www.dimdi.de/static/de/klassifikationen/icd/icd-10-gm/kode-suche/htmlgm2018/block-m60-m63.htm>; URL abgerufen am 04.12.2018

Dodds R, Sayer AA (2014): Sarcopenia. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 58, 464–469

Dodds RM, Roberts HC, Cooper C, Sayer AA (2015): The epidemiology of sarcopenia. *J Clin Densitom* 18, 461–466

Dubois V, Simitsidellis I, Laurent MR, Jardi F, Saunders PTK, Vanderschueren D, Claessens F (2015): Enobosarm (GTx-024) modulates adult skeletal muscle mass independently of the androgen receptor in the satellite cell lineage. *Endocrinology* 156, 4522–4533

Edwards MH, Gregson CL, Patel HP, Jameson KA, Harvey NC, Sayer AA, Dennison EM, Cooper C (2013): Muscle size, strength and physical performance and their associations with bone structure in the Herfordshire cohort study. *J Bone Miner Res* 28, 2295

Edwards MH, Dennison EM, Aihie Sayer A, Fielding R, Cooper C (2015): Osteoporosis and sarcopenia in older age. *Bone* 80, 126–130

Ethgen O, Beaudart C, Buckinx F, Bruyère O, Reginster JY (2017): The future prevalence of sarcopenia in Europe: A claim for public health action. *Calcif Tissue Int* 100, 229–234

Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, Bhasin S, Morley JE, Newman AB, Abellan van Kan G, Andrieu S, Bauer J, Breuille D et al. (2011): Sarcopenia: An undiagnosed condition in older adults. Current consensus definition: Prevalence, etiology, and consequences. International Working Group on Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* 12, 249–256

Fonseca GWPD, Dworatzek E, Ebner N, Von Haehling S (2020): Selective androgen receptor modulators (SARMs) as pharmacological treatment for muscle wasting in ongoing clinical trials. *Expert Opin Investig Drugs* 29, 881–891

Fowkes FGR, Rudan D, Rudan I, Aboyans V, Denenberg JO, McDermott MM, Norman PE, Sampson UK, Williams LJ, Mensah GA, Criqui MH (2013): Comparison of global estimates of prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2000 and 2010: a systematic review and analysis. *Lancet* 382, 1329–1340

Fragkaki AG, Sakellariou P, Kiousi P, Kioukia-Fougia N, Tsivou M, Petrou M, Angelis Y (2018): Human in vivo metabolism study of LGD-4033. *Drug Test and Anal* 10, 1635–1645

Fujita S, Glynn EL, Timmerman KL, Rasmussen BB, Volpi E (2009): Supraphysiological hyperinsulinaemia is necessary to stimulate skeletal muscle protein anabolism in older adults: Evidence of a true age-related insulin resistance of muscle protein metabolism. *Diabetologia* 52, 1889–1898

Furuya K, Yamamoto N, Ohyabu Y, Morikyu T, Ishige H, Albers M, Endo Y (2013): Mechanism of the tissue-specific action of the selective androgen receptor modulator S-101479. *Biol Pharm Bull* 36, 442–451

Gao W, Kim J, Dalton JT (2006): Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nonsteroidal androgen receptor ligands. *Pharm Res* 23, 1641–1658

Glaser R, Dimitrakakis C (2013): Testosterone therapy in women: Myths and misconceptions. *Maturitas* 74, 230–234

Goodpaster BH, Chomentowski P, Ward BK, Rossi A, Glynn NW, Delmonico MJ, Kritchevsky SB, Pahor M, Newman AB (2008): Effects of physical activity on strength and skeletal muscle fat infiltration in older adults: A randomized controlled trial. *J Appl Physiol* 105, 1498–1503

Griffith JF, Wang YXJ, Zhou H, Kwong WH, Wong WT, Sun YL, Huang Y, Yeung DKW, Qin L, Ahuja AT (2010): Reduced bone perfusion in osteoporosis: Likely causes in an ovariectomy rat model. *Radiology* 254, 739–746

Griggs RC, Kingston W, Jozefowicz RF, Herr BE, Forbes G, Halliday D (1989): Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. *J Appl Physiol* 66, 498–503

Hawke TJ, Garry DJ (2001): Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* 91, 534–551

- Hoffmann DB, Komrakova M, Pflug S, von Oertzen M, Saul D, Weiser L, Walde TA, Wassmann M, Schilling AF, Lehmann W, Sehmisch S (2019): Evaluation of ostarine as a selective androgen receptor modulator in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 37, 243–255
- Holmang A, Svedberg J, Jennische E, Bjorntorp P (1990): Effects of testosterone on muscle insulin sensitivity and morphology in female rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 259, E555–E560
- Hoppeler H, Billeter R (2003): Struktur und Funktion der Skelettmuskulatur. *Ther Umsch* 60, 363–370
- Horák V (1983): A successive histochemical staining for succinate dehydrogenase and “reversed”-ATPase in a single section for the skeletal muscle fibre typing. *Histochemistry* 78, 545–553
- Ishii S, Tanaka T, Shibasaki K, Ouchi Y, Kikutani T, Higashiguchi T, Obuchi SP, Ishikawa-Takata K, Hirano H, Kawai H et al. (2014) Development of a simple screening test for sarcopenia in older adults. *Geriatr Gerontol Int* 14, 93–101
- Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R (2004): The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc* 52, 80–85
- Jones A, Hwang DJ, Duke CB, He Y, Siddam A, Miller DD, Dalton JT (2010): Nonsteroidal selective androgen receptor modulators enhance female sexual motivation. *J Pharmacol Exp Ther* 334, 439–448
- Kadi F, Karlsson C, Larsson B, Eriksson J, Larval M, Billig H, Jonsdottir IH (2002): The effects of physical activity and estrogen treatment on rat fast and slow skeletal muscles following ovariectomy. *J Muscle Res Cell Motil* 23, 335
- Kalu DN (1991): The ovariectomized rat model of postmenopausal bone loss. *Bone Miner* 15, 175–191
- Kaya RD, Nakazawa M, Hoffman RL, Clark BC (2013): Interrelationship between muscle strength, motor units, and aging. *Exp Gerontol* 48, 920–925

Keller K (2019): Sarcopenia. *Wien Med Wochenschr* 169, 157–172

Kharode YP, Sharp MC, Bodine PVN (2008): Utility of the ovariectomized rat as a model for human osteoporosis in drug discovery. In: v. Westendorf JJ (Hrsg): *Osteoporosis: Methods and Protocols*. Humana Press, Totowa, New Jersey 2008, 111–124

Kling JH: Einfluss des Lipoxygenaseinhibitors Baicalein in unterschiedlicher Dosierung auf den Skelettmuskel der ovariectomierten Ratte. *Med. Diss. Göttingen* 2016

Komrakova M, Sehmisch S, Tezval M, Ammon JC, Lieberwirth P, Sauerhoff C, Trautmann L, Wicke M, Dullin C, Stuermer KM, Stuermer EK (2013): Identification of a vibration regime favorable for bone healing and muscle in estrogen-deficient rats. *Calcif Tissue Int* 92, 509–520

Komrakova M, Hoffmann DB, Nuehnen V, Stueber H, Wassmann M, Wicke M, Tezval M, Stuermer KM, Sehmisch S (2016): The effect of vibration treatments combined with Teriparatide or Strontium Ranelate on bone healing and muscle in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 99, 408–422

Komrakova M, Anders C, Böker KO, Hoffmann DB, Lehmann W, Schilling AF, Sehmisch S (2019): The effect of selective androgen and/or estrogen receptor modulators on bone healing in a rat model of aged male osteoporosis. *Osteologie* 28, V 6.3

Komrakova M, Rechholtz C, Pohlmann N, Lehmann W, Schilling AF, Wigger R, Sehmisch S, Hoffmann DB (2019): Effect of alendronate or 8-prenylnaringenin applied as a single therapy or in combination with vibration on muscle structure and bone healing in ovariectomized rats. *Bone Rep* 11, 100224

Komrakova M, Furtwängler J, Hoffmann DB, Lehmann W, Schilling AF, Sehmisch S (2020): The selective androgen receptor modulator Ostarine improves bone healing in ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 106, 147–157

Kovacheva EL, Sinha Hikim AP, Shen R, Sinha I, Sinha-Hikim I (2010): Testosterone supplementation reverses sarcopenia in aging through regulation of Myostatin, c-Jun NH2-Terminal Kinase, Notch, and Akt signaling pathways. *Endocrinology* 151, 628–638

Lai KMV, Gonzalez M, Poueymirou WT, Kline WO, Na E, Zlotchenko E, Stitt TN, Economides AN, Yancopoulos GD, Glass DJ (2004): Conditional activation of Akt in adult skeletal muscle induces rapid hypertrophy. *Mol Cell Biol* 24, 9295–9304

Landi F, Liperoti R, Fusco D, Mastropaolo S, Quattrocioni D, Proia A, Russo A, Bernabei R, Onder G (2012): Prevalence and risk factors of sarcopenia among nursing home older residents. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67A, 48–55

Legrand D, Vaes B, Matheï C, Swine C, Degryse JM (2013): The prevalence of sarcopenia in very old individuals according to the European consensus definition: insights from the BELFRAIL study. *Age Ageing* 42, 727–734

Locquet M, Beaudart C, Reginster JY, Petermans J, Bruyère O (2017): Comparison of the performance of five screening methods for sarcopenia. *Clin Epidemiol* 10, 71–82

Maclaran K, Panay N (2012): The safety of postmenopausal testosterone therapy. *Women's Health (Lond)* 8, 263–275

MacLean HE, Handelsman DJ (2009): Unraveling androgen action in muscle: Genetic tools probing cellular mechanisms. *Endocrinology* 150, 3437–3439

Mathers CD, Stevens GA, Boerma T, White RA, Tobias MI (2015): Causes of international increases in older age life expectancy. *Lancet* 385, 540–548

Mele A, Fonzino A, Rana F, Camerino GM, De Bellis M, Conte E, Giustino A, Conte Camerino D, Desaphy JF (2016): *In vivo* longitudinal study of rodent skeletal muscle atrophy using ultrasonography. *Sci Rep* 6, 20061

Meijer AEFH (1970): Histochemical method for the demonstration of myosin adenosine triphosphatase in muscle tissues. *Histochemie* 22, 51–58

Molinari F, Pin F, Gorini S, Chiandotto S, Pontecorvo L, Penna F, Rizzuto E, Pisu S, Musarò A, Costelli P, et al. (2017): The mitochondrial metabolic reprogramming agent trimetazidine as an 'exercise mimetic' in cachectic C26-bearing mice. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 8, 954–973

Morimoto M, Amano Y, Oka M, Harada A, Fujita H, Hikichi Y, Tozawa R, Yamaoka M, Hara T (2017): Amelioration of sexual behavior and motor activity deficits in a castrated rodent model with a selective androgen receptor modulator SARM-2f. *PLoS ONE* 12, e0189480

Morley JE (2016): Pharmacologic options for the treatment of sarcopenia. *Calcif Tissue Int* 98, 319–333

Mueller TC, Burmeister MA, Bachmann J, Martignoni ME (2014): Cachexia and pancreatic cancer: Are there treatment options? *World J Gastroenterol* 20, 9361

Müller-Reiter M: Wirkung des selektiven Androgenrezeptor-Modulators (SARM) Ligandrol auf das Knochengewebe am osteoporotischen Rattenmodell. Vortrag im Rahmen des Deutschen Kongresses für Orthopädie und Unfallchirurgie (DKOU), Berlin (24.-27.10.2017)

Narayanan R, Coss CC, Dalton JT (2018): Development of selective androgen receptor modulators (SARMs). *Mol Cell Endocrinol* 465, 134–142

Newman AB, Kupelian V, Visser M, Simonsick E, Goodpaster B, Nevitt M, Kritchevsky SB, Tylavsky FA, Rubin SM, Harris TB (2003): Sarcopenia: alternative definitions and associations with lower extremity function. *J Am Geriatr Soc* 51, 1602–1609

O'Malley CD, Tran N, Zapalowski C, Daizadeh N, Oleginski TP, Cauley JA (2014): Multimorbidity in women with and without osteoporosis: results from a large US retrospective cohort study 2004–2009. *Osteoporos Int* 25, 2117–2130

Pasco JA, Holloway KL, Brennan-Olsen SL, Moloney DJ, Kotowicz MA (2015): Muscle strength and areal bone mineral density at the hip in women: a cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord* 16, 124

Pirruccello-Straub M, Jackson J, Wawersik S, Webster MT, Salta L, Long K, McConaughy W, Capili A, Boston C, Carven GJ et al. (2018): Blocking extracellular activation of myostatin as a strategy for treating muscle wasting. *Sci Rep* 8, 2292

Pöllänen E, Sipilä S, Alen M, Ronkainen PHA, Ankarberg-Lindgren C, Puolakka J, Suominen H, Hämäläinen E, Turpeinen U, Konttinen YT, Kovanen V (2011): Differential influence of peripheral and systemic sex steroids on skeletal muscle quality in pre- and postmenopausal women. *Aging Cell* 10, 650–660

Poole DB, Mathieu-Costello O (1996): Relationship between fiber capillarization and mitochondrial volume density in control and trained rat soleus and plantaris muscles. *Microcirculation* 3, 175–186

Rasmussen R, Midttun M, Kolenda T, Ragle AM, Sørensen TW, Vinther A, Zerahn B, Pedersen M, Overgaard K (2018): Therapist-assisted progressive resistance training, protein supplements, and testosterone injections in frail older men with testosterone deficiency: protocol for a randomized placebo-controlled trial. *JMIR Res Protoc* 7, e71

Rechholtz CHM: Der Einfluss von vertikaler Ganzkörpervibration, Alendronat und 8-Pre-nylnaringenin auf die Muskulatur der ovariektomierten Ratte. Med. Diss. Göttingen 2017

Richard D (1986): Effects of ovarian hormones on energy balance and brown adipose tissue thermogenesis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 250, R245–R249

Rosenberg IH (1997): Sarcopenia: Origins and clinical relevance. *J Nutr* 127, 990–991

Ross JM, Olson L, Coppotelli G (2015): Mitochondrial and ubiquitin proteasome system dysfunction in ageing and disease: two sides of the same coin? *Int J Mol Sci* 16, 19458–19476

Rossetti ML, Fukuda DH, Gordon BS (2018): Androgens induce growth of the limb skeletal muscles in a rapamycin-insensitive manner. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 315, R721–R729

Roubenoff R (2000): Sarcopenia and its implications for the elderly. *Eur J Clin Nutr* 54, S40–S47

Schiaffino S, Gorza L, Sartore S, Saggin L, Ausoni S, Vianello M, Gundersen K, Lømo T (1989): Three myosin heavy chain isoforms in type 2 skeletal muscle fibres. *J Muscle Res Cell Motil* 10, 197–205

Schmidt WN, Katzenellenbogen BS (1979): Androgen-uterine interactions: An assessment of androgen interaction with the testosterone- and estrogen-receptor systems and stimulation of uterine growth and progesterone-receptor synthesis. *Mol Cell Endocrinol* 15, 91–108

Smith GI, Yoshino J, Reeds DN, Bradley D, Burrows RE, Heisey HD, Moseley AC, Mitterdorfer B (2014): Testosterone and progesterone, but not estradiol, stimulate muscle protein synthesis in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 99, 256–265

Srinath R, Dobs A (2014): Enobosarm (GTx-024, S-22): a potential treatment for cachexia. *Future Oncol* 10, 187–194

Stuermer EK, Komrakova M, Werner C, Wicke M, Kolios L, Sehmisch S, Tezval M, Utesch C, Mangal O, Zimmer S, et al. (2010): Musculoskeletal response to whole-body vibration during fracture healing in intact and ovariectomized rats. *Calcif Tissue Int* 87, 168–180

Sumukadas D, Witham MD, Struthers AD, McMurdo MET (2007): Effect of perindopril on physical function in elderly people with functional impairment: a randomized controlled trial. *CMAJ* 177, 867–874

Sumukadas D, Band M, Miller S, Cvorov V, Witham M, Struthers A, McConnachie A, Lloyd SM, McMurdo M (2014): Do ACE inhibitors improve the response to exercise training in functionally impaired older adults? A randomized controlled trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 69, 736–743

Tanaka M, Kanazashi M, Maezawa T, Kondo H, Fujino H (2015): Abnormalities in three-dimensional capillary architecture and imbalance between vascular endothelial growth factor-A and thrombospondin-1 in soleus muscle of ovariectomized rat. *Acta Histochem* 117, 605–611

Tiidus PM, Lowe DA, Brown M (2013): Estrogen replacement and skeletal muscle: mechanisms and population health. *J Appl Physiol* 115, 569–578

Toth MJ, Poehlman ET, Matthews DE, Tchernof A, MacCoss MJ (2001): Effects of estradiol and progesterone on body composition, protein synthesis, and lipoprotein lipase in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280, E496–E501

Unsal F, Sönmez MF (2014): The effects of ovariectomy on ghrelin expression in the rat uterus. *Adv Clin Exp Med* 23, 363–370

- Urban RJ, Dillon EL, Choudhary S, Zhao Y, Horstman AM, Tilton RG, Sheffield-Moore M (2014): Translational studies in older men using testosterone to treat sarcopenia. *Trans Am Clin Climatol Assoc* 125, 27–44
- Ustünel I, Akkoyunlu G, Demir R (2003): The effect of testosterone on gastrocnemius muscle fibres in growing and adult male and female rats: a histochemical, morphometric and ultrastructural study. *Anat Histol Embryol* 32, 70–79
- Valdez G, Tapia JC, Kang H, Clemenson GD, Gage FH, Lichtman JW, Sanes JR (2010): Attenuation of age-related changes in mouse neuromuscular synapses by caloric restriction and exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, 14863–14868
- Vavra AK, Kibbe MR (2009): Women and peripheral arterial disease. *Womens Health (Lond)* 5, 669–683
- Volpato S, Bianchi L, Cherubini A, Landi F, Maggio M, Savino E, Bandinelli S, Ceda GP, Guralnik JM, Zuliani G, Ferrucci L (2014): Prevalence and clinical correlates of sarcopenia in community-dwelling older people: Application of the EWGSOP definition and diagnostic algorithm. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 69, 438–446
- Wang H, Listrat A, Meunier B, Gueugneau M, Coudy-Gandilhon C, Combaret L, Taillandier D, Polge C, Attaix D, Lethias C et al. (2014): Apoptosis in capillary endothelial cells in ageing skeletal muscle. *Aging Cell* 13, 254–262
- Wang X, Smith GI, Patterson BW, Reeds DN, Kampelman J, Magkos F, Mittendorfer B (2012): Testosterone increases the muscle protein synthesis rate but does not affect very-low-density lipoprotein metabolism in obese premenopausal women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 302, E740–E746
- Welsch U, Deller T (Hrsg): Muskelgewebe. In: *Lehrbuch Histologie*. 3. Auflage; Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München 2010, 124-139
- Wieacker P, Ledig S (2011): Androgeninsensitivität. *Med Genet* 23, 249–253
- Zembroń-Łacny A, Dziubek W, Rogowski Ł, Skorupka E, Dąbrowska G (2014): Sarcopenia: monitoring, molecular mechanisms, and physical intervention. *Physiol Res* 63, 683–691