



# MASTERARBEIT / MASTER'S THESIS

Titel der Masterarbeit / Title of the Master's Thesis

„Der Zusammenhang zwischen muskulären mRNA-Expressionen und den zirkulierenden Werten von Myostatin, Activin A, Follistatin, Insulin-like Growth Factor-1 und Growth Differentiation Factor-15“

verfasst von / submitted by

Jasmin Anderle, Bakk. rer. nat.

angestrebter akademischer Grad / in partial fulfilment of the requirements for the degree of  
Master of Science (Msc.)

Wien, 2016 / Vienna, 2016

Studienkennzahl lt. Studienblatt /  
degree programme code as it appears on  
the student record sheet:

A 066 826

Studienrichtung lt. Studienblatt /  
degree programme as it appears on  
the student record sheet:

Masterstudium Sportwissenschaft UG2002

Betreut von / Supervisor:

Assoz. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Barbara Wessner



## Danksagung

---

Auf akademischer Seite möchte ich mich bei Assoz. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Barbara Wessner bedanken, die mich auf das Thema dieser Masterarbeit aufmerksam gemacht hat und mich im Zuge dessen betreut hat. Eine große Unterstützung war auch Mag. Marlene Hofmann, Bakk., mit der ich einige Zeit im Labor verbringen durfte und die mir immer mit Rat zur Seite gestanden hat.

Ich möchte mich auch hiermit bei meinen Eltern bedanken, für die es selbstverständlich war, mir ein Studium zu ermöglichen, obwohl sie selber nicht die Möglichkeit gehabt hatten. Außerdem danke ich meiner Schwester, die immer an meinen Weg geglaubt hat.

Auch ein Dankeschön an jene, die ein offenes Ohr bezüglich meiner Masterarbeit hatten.



## Zusammenfassung

---

**Hintergrund:** Es gibt eine Vielzahl von Mechanismen, die zur Sarkopenie, dem altersbedingten Verlust an Muskelmasse und -funktion, beitragen. So beeinflussen verschiedene regulierende Proteine die Balance zwischen Proteinsynthese und Proteinabbau im Muskel. Als negative Regulatoren wurden die Mitglieder der Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Superfamilie Myostatin, Activin A und Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) und als positive Regulatoren Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) und Follistatin identifiziert. Neben der direkten Funktion im Muskel werden diese Proteine vom Muskelgewebe sezerniert und sind daher auch im Blutstrom zu finden; ob zirkulierende Proteine lokale Ereignisse widerspiegeln ist jedoch nicht bekannt. Diese Studie untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen den zirkulierenden Proteinen und den jeweiligen Expressionen im Muskel gibt.

**Methodik:** An der Studie nahmen 117 Bewohner/innen (65-97 Jahre) von Pensionistenhäusern in Wien teil. Es wurden Blutabnahmen ( $n=104$ ) und Muskelbiopsien ( $n=54$ ) durchgeführt. Die Konzentration der Parameter Myostatin, Activin A, Follistatin, IGF-1 und GDF-15 wurden im Serum mittels ELISA gemessen. Im Muskelgewebe wurden diese Parameter und zusätzlich der Parameter Activin Receptor Type-2B (ACVR2B) mittels quantitativer PCR gemessen.

**Ergebnis:** Männer hatten mehr zirkulierendes Myostatin ( $p=0,025$ ) und mehr absolute und relative Muskelmasse ( $p<0,001$ ) als Frauen. Die Genexpressionen von ACVR2B ( $p=0,406$ ,  $p<0,01$ ), Activin A ( $p=0,450$ ,  $p<0,01$ ), Follistatin ( $p=0,317$ ,  $p<0,05$ ) und GDF-15 ( $p=0,486$ ,  $p<0,01$ ) korrelierten positiv mit dem Alter. Des Weiteren konnte ein negativer Zusammenhang zwischen den GDF-15-mRNA-Expressionen und der absoluten Muskelmasse ( $p=-0,308$ ,  $p<0,05$ ) gemessen werden. Die Genexpression von GDF-15 im Muskel korrelierte negativ mit dem Blutparameter IGF-1 ( $p=-0,319$ ,  $p<0,05$ ), es konnten jedoch keine weiteren Korrelationen zwischen den Muskelexpressionen und den zirkulierenden Werten gefunden werden.

**Konklusion:** Da kein Zusammenhang zwischen der muskulären Genexpression und den zirkulierenden Werten gefunden werden konnte, scheinen die untersuchten muskelspezifischen Parameter hauptsächlich parakrin im Muskel zu wirken. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, welche Funktion die zirkulierenden Parameter ausüben und ob sie etwa von anderen Geweben beeinflusst werden.

Schlagwörter: Plasma-Muskel Crosstalk; Myokine; Sarkopenie

## Abstract

---

**Background:** Sarcopenia, an age-related decline in skeletal muscle mass and function, is the result of several mechanisms including proteins which influence the muscle homeostasis through protein degradation and synthesis. The members of the Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) superfamily Myostatin, Activin A and Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) were identified as negative regulators of muscle mass whereas Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) and Follistatin influence the muscle mass positively. Besides this direct effect on the muscle, these proteins are also secreted from muscle tissue into the bloodstream but it is still uncertain to which extent the circulating parameters reflect the local events of muscle tissue. This study evaluates the correlation of the mRNA expression in the muscle and the respective circulating levels.

**Method:** 117 residents (65-97 years) of retirement homes in Vienna participated in this study. Blood samples (n=104) and muscle biopsies (n=54) were taken. The circulating levels of Myostatin, Activin A, Follistatin, IGF-1 and GDF-15 were analyzed using ELISA and the mRNA expressions of these parameters and Activin Receptor Type-2B (ACVR2B) were analyzed using a quantitative PCR.

**Results:** The circulating Myostatin ( $p=0,025$ ) and the total and relative muscle mass ( $p<0,001$ ) were higher in men compared to women. The mRNA expressions of ACVR2B ( $\rho=0,406$ ,  $p<0,01$ ), Activin A ( $\rho=0,450$ ,  $p<0,01$ ), Follistatin ( $\rho=0,317$ ,  $p<0,05$ ) and GDF-15 ( $\rho=0,486$ ,  $p<0,01$ ) correlated positively with age. The GDF-15 expression correlated negatively with total muscle mass ( $\rho=-0,308$ ,  $p<0,05$ ). The GDF-15 expression correlated negatively with the circulating IGF-1 ( $\rho=-0,319$ ,  $p<0,05$ ). Otherwise no correlations between the muscle expressions and the circulating levels could be found.

**Conclusion:** The muscle-specific parameters seem to act mainly in paracrine manner since no correlation between the gene expressions and the circulating levels were found. Further investigations have to show what function the circulating parameters are fulfilling and whether the circulating levels are more influenced by other tissues.

Keywords: Plasma-Muscle Crosstalk; Myokine; Sarcopenia

# Inhalt

---

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1</b>	<b>Muskulatur.....</b>	<b>5</b>
1.1.1	Sarkopenie .....	8
<b>1.2</b>	<b>Der Muskel als sekretorisches Organ .....</b>	<b>10</b>
1.2.1	Die zwei Hauptsignalwege des Muskelwachstums.....	14
1.2.2	Myostatin.....	16
1.2.2.1	<i>Myostatin und Training.....</i>	<i>17</i>
1.2.2.2	<i>Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei Myostatin.....</i>	<i>18</i>
1.2.3	Activin A.....	20
1.2.3.1	<i>Activin A und Training.....</i>	<i>20</i>
1.2.3.2	<i>Altersbedingte und geschlechtsbedingte Unterschiede bei Activin A .....</i>	<i>20</i>
1.2.4	Follistatin.....	21
1.2.4.1	<i>Follistatin und Training .....</i>	<i>22</i>
1.2.4.2	<i>Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei Follistatin .....</i>	<i>23</i>
1.2.5	IGF-1.....	23
1.2.5.1	<i>IGF-1 und Training.....</i>	<i>25</i>
1.2.5.2	<i>Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei IGF-1.....</i>	<i>26</i>
1.2.6	GDF-15.....	27
1.2.6.1	<i>GDF-15 und Training.....</i>	<i>27</i>
1.2.6.2	<i>Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei GDF-15.....</i>	<i>28</i>
<b>1.3</b>	<b>Muskelbiopsien und Blutabnahmen im Vergleich .....</b>	<b>29</b>
<b>1.4</b>	<b>Zielsetzung .....</b>	<b>32</b>
<b>1.5</b>	<b>Fragestellung.....</b>	<b>33</b>
<b>1.6</b>	<b>Vorgangsweise .....</b>	<b>33</b>
<b>2</b>	<b>METHODIK .....</b>	<b>34</b>
<b>2.1</b>	<b>StudienteilnehmerInnen .....</b>	<b>34</b>
2.1.1	Einschlusskriterien .....	34
2.1.2	Ausschlusskriterien .....	35
2.1.3	Einverständniserklärung.....	35
2.1.4	Ethische Überlegungen.....	35
<b>2.2</b>	<b>Testmethoden.....</b>	<b>36</b>
2.2.1	Anthropometrische Datenerhebung.....	36

2.2.2	Analyse des Serums mittels ELISA.....	36
2.2.2.1	<i>Activin A und GDF 15</i> .....	37
2.2.2.2	<i>Follistatin</i> .....	38
2.2.2.3	<i>IGF-1</i> .....	40
2.2.2.4	<i>Myostatin</i> .....	40
2.2.3	Analyse der Muskelbiopsien .....	42
2.2.3.1	<i>Homogenisieren der Proben</i> .....	42
2.2.3.2	<i>Isolation der RNA</i> .....	43
2.2.3.3	<i>cDNA</i> .....	44
2.2.3.4	<i>Quantitative Real-Time-PCR</i> .....	44
<b>2.3</b>	<b>Statistik</b> .....	<b>47</b>
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>48</b>
<b>3.1</b>	<b>Deskriptive Statistik</b> .....	<b>48</b>
<b>3.2</b>	<b>Normalverteilung</b> .....	<b>50</b>
<b>3.3</b>	<b>Korrelationen</b> .....	<b>51</b>
3.3.1	Zusammenhang zwischen den Muskelparametern und den anthropometrischen Parametern.....	51
3.3.1.1	<i>Zusammenhang zwischen den Muskelparameter und den anthropometrische Parameter bei Frauen und Männern</i> .....	52
3.3.2	Zusammenhang zwischen den Muskel- und Blutparametern .....	53
3.3.2.1	<i>Zusammenhang zwischen den Muskel- und Blutparametern bei Frauen und Männern</i> 54	
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>56</b>
<b>4.1</b>	<b>Geschlechterspezifische Unterschiede</b> .....	<b>56</b>
<b>4.2</b>	<b>Korrelationen der Muskelparameter mit anthropometrischen Kenngrößen</b> .....	<b>59</b>
<b>4.3</b>	<b>Korrelationen zwischen Muskel- und Blutparametern</b> .....	<b>61</b>
	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>64</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>66</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b> .....	<b>67</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>68</b>
	<b>Lebenslauf</b> .....	<b>80</b>
	<b>Eidesstattliche Erklärung</b> .....	<b>81</b>

# 1 EINLEITUNG

---

Die Skelettmuskulatur ist ein Gewebe, das sich ständig an Stimuli anpasst und mit ihrem internen Stoffwechsel den des ganzen Körpers beeinflusst. Die Muskulatur reagiert darauf, ob sie in Anspruch genommen wird oder nicht, indem sie bei Belastung hypertrophiert und bei Inaktivität atrophiert. Vor allem im Alterungsprozess ist eine Abnahme der Muskulatur zu beobachten (Rodriguez et al., 2014).

Im Zusammenhang mit der Abnahme der Muskelmasse im Alter wird auch oft der Begriff Sarkopenie genannt. Sarkopenie ist der Verlust der Muskelmasse und Muskelkraft mit fortschreitendem Alter, was sich auf eine Verschlechterung der Lebensqualität auswirkt (Cruz-Jentoft et al., 2010), da Muskelschwäche mit einer vermehrten Abhängigkeit von anderen im Alltag (Ratanen et al. 2002), Stürze (Ding & Yang, 2015) und einer höheren Sterblichkeit (Ling et al. 2010) in Verbindung steht. Es gibt eine Vielzahl von Faktoren, die zum Fortschreiten der Sarkopenie beitragen, unter anderem beeinflussen verschiedene molekulare Mechanismen die Muskelmasse durch die Balance zwischen Proteinsynthese und Proteinabbau (Léger et al., 2008). Auf molekularer Ebene ist Sarkopenie ein Resultat einer überproportionalen Abnahme der Proteinsynthese und/oder einer Erhöhung des Proteinabbaus in der Skelettmuskulatur (Léger et al., 2008).

Es gibt Wachstums- und Abbaufaktoren (Growth and Degradation Factors), die im Muskel produziert werden und die am Muskelabbau oder beim Muskelwachstum beteiligt sind: Hierzu zählen Myostatin, Activin A, Follistatin, Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) und der Growth Differentiation Factor 15 (GDF-15). Diese gehören mit Ausnahme von Follistatin zu der Proteingruppe der Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) Superfamilie (Rodriguez et al., 2014; Iizuka, Machida & Hirafuji, 2014). Bei den zwei Hauptsignalwegen, die zum Muskelwachstum bzw. Muskelabbau führen, sind Myostatin, Activin A, Follistatin und IGF-1 involviert. Myostatin und Activin A aktivieren über den Activin Typ II-Rezeptor (ACVR2) den Proteinabbau (Rodriguez et al., 2014). Follistatin bindet an Myostatin and Activin A, wodurch diese zwei Proteine nicht mehr an ACVR2 andocken können (Iizuka, Machida & Hirafuji, 2014). IGF-1 leitet über den Signalweg von Phosphoinositide-3-Kinase (PI3K)/Akt/mTOR eine Proteinsynthese ein (Schiaffino et al., 2013).

Der Einfluss von GDF-15 auf den Muskel ist noch nicht sehr genau erforscht. GDF-15 konnte jedoch mit Verletzungen des Muskels (Sanchis-Gomar et al., 2013) und Muskelatrophie (Bloch et al. 2013) in Verbindung gebracht werden.

Das Forschungsfeld um die oben genannten Wachstums- und Abbaufaktoren bei älteren Menschen hat in den letzten Jahren an Interesse gewonnen, weil es wichtig ist, die Wirkungsweise dieser Proteine und die Interaktion untereinander zu verstehen, um damit in

den Prozess des Verlustes an Muskelmasse und -kraft einzugreifen, ihn zu verhindern oder zu verlangsamen. Da sich die Prävalenz der Sarkopenie mit dem Alter erhöht (Tay et al. 2015), ist auch die Veränderung der molekularen Mediatoren mit dem Alterungsprozess von Bedeutung. Es konnten in diesem Zusammenhang auch schon Unterschiede zwischen jüngeren und älteren Personen festgestellt werden: Hofmann et al. (2015) stellten eine niedrigere Konzentration an zirkulierendem IGF-1 und eine höhere Konzentration an zirkulierendem GDF-15 bei älteren Frauen fest. Auch Ratkevicius et al. (2011) konnten niedrigeres zirkulierendes IGF-1 bei sarkopenischen Männern messen.

Ein weiterer Faktor, der das Auftreten an Sarkopenie beeinflussen könnte, ist das Geschlecht (Tay et al. 2015), da auch verschiedene Ausprägungen bei Männern und Frauen in Bezug auf die Konzentrationen der Proteine im Blut gefunden werden konnten (Loria et., 1998, Bergen et al., 2015, Tay et al., 2015).

Neben dem lokalen Effekt auf die Muskelhomöostase wirken diese Proteine auch peripher und initialisieren einen Crosstalk zwischen dem Muskel und anderen Geweben, wie z.B. Knochen, Fett und Leber (Demontis et al. 2013; Iizuka et al. 2014, Silva et al. 2014). Aus diesem Grund sind diese Mediatoren (Myokine) auch im Blut zirkulierend nachweisbar, wodurch sich einzelne dieser Proteine oder eine Kombination davon als Biomarker für die einfache Diagnose von Sarkopenie eignen könnten (Kalinkovich & Livshits, 2015).

Blutbasierende Biomarker wären gegenüber muskelbasierenden Biomarkern auf Grund der einfacheren, nicht so invasiven Messung vorzuziehen. Bei Muskelbiopsien liegt auch das Risiko höher, da es zu einer Verletzung des Muskels kommt, wodurch Blutungen und Infektion nicht ausgeschlossen werden können (Bergmann, Weis & Probst-Cousin, 2009). Um eine Muskelbiopsie zu umgehen und die Vorgänge im Muskel trotzdem erforschen zu können, wird daher häufig auf die Untersuchung von Parametern im Blut herangezogen. Dennoch sind Muskelbiopsien nach wie vor von Bedeutung (Bloch, 2007), da auch nicht klar ist, ob die Werte der zirkulierenden Biomarker jene in der Muskulatur widerspiegeln. Studien, die sich mit den trainingsinduzierten Veränderungen der Biomarker beschäftigten, kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen bei den muskulären Genexpressionen und zirkulierenden Werten (Kim et al., 2007; Hambrecht et al., 2005; Bamman et al., 2001). Hansen et al. (2011) zeigten in einem Experiment mit Mäusen, dass nach einer Stunde Schwimmen die Follistatin-Werte sowohl im Blut als auch in der Muskulatur erhöht waren und stellten die Annahme auf, dass aufgrund einer signifikant erhöhten Follistatin-mRNA-Expression in der Leber, die Biomarker im Blut ursprünglich von dort ausgesendet wurde. Es ist daher wahrscheinlich, dass blutbasierte Marker auch von anderen Organen beeinflusst werden. Das genaue Ausmaß ist allerdings noch nicht bekannt.

Aufgrund der widersprüchlichen Ergebnisse bezüglich der zirkulierenden Proteinen und mRNA-Expressionen im Muskel, ist daher das Ziel dieser Arbeit die mRNA-Expression von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin, GDF-15 und ACVR2B im Muskel mit den zirkulierenden Konzentrationen von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin und GDF-15 zu vergleichen. Daraus sollen Schlussfolgerungen gezogen werden, ob aus den Blutwerten Rückschlüsse auf die Genexpression im Muskel gezogen werden kann. Weiters werden der Einfluss von Alter und Geschlecht auf die einzelnen Parameter näher betrachtet.

## **1.1 Muskulatur**

Die Skelettmuskulatur ist eines der dynamischsten und formbarsten Gewebe im menschlichen Körper. Im Menschen macht die Skelettmuskulatur etwa 40% des Körpergewichtes aus und sie beinhaltet 50-75% aller Körperproteine und trägt zu 30-50% des Proteinumsatzes bei. Die Muskelmasse ist von der Balance zwischen Proteinsynthese und -abbau abhängig, was unter anderem durch den Ernährungszustand, die Hormonbalance, körperliche Aktivität und Verletzungen oder Krankheit beeinflusst wird. Die Skelettmuskulatur hat verschiedene Körperfunktionen. Aus mechanischer Sicht ist die Hauptfunktion der Skelettmuskulatur die Umwandlung von chemischer Energie in mechanische Energie, um Kraft und Bewegung zu produzieren sowie die Körperhaltung zu erhalten. Aus Sicht des Stoffwechsels sind die Aufgaben der Skelettmuskulatur, einen Beitrag zum Energiestoffwechsel zu leisten, als Depot für bestimmte Substrate wie Aminosäuren und Kohlenhydrate zu dienen, Hitze zu produzieren und den Sauerstoff als Treibstoff für Bewegung zu absorbieren (Frontera & Ochala, 2015). Die Muskulatur hat auch eine wichtige Rolle als endokrines Organ, was im Kapitel 1.2 genauer beschrieben wird (Pedersen, 2011).

Es gibt verschiedene Arten von Muskelgewebe: die quergestreifte Muskulatur, Herzmuskulatur und glatte Muskulatur. Die quergestreifte Muskulatur, auch Skelettmuskulatur genannt, ist willkürlich innerviert und kann daher von Menschen angesteuert werden. Die glatte Muskulatur hingegen wird vegetativ innerviert und steuert unwillkürlich die Bewegung der Organe im Gastrointestinal- und Urogenitaltrakt, der Lunge und Blutgefäße. Die Herzmuskulatur nimmt eine Mittelstellung ein, da sie quergestreift ist, aber nicht willkürlich innerviert wird (Löffler et al. 2008).

Ein einzelner Skelettmuskel ist mit einer Schicht von Bindegewebe namens Epimysium umgeben und besteht aus Muskelfasern (wird auch als Myofaser oder Muskelzelle bezeichnet). Diese Muskelfasern arrangieren sich zu Bündeln und sind von einer weiteren Bindegewebsschicht (Perimysium) umgeben. Eine einzige Muskelfaser hat einen Durchmesser von 100 µm, ist je nach Art des Muskels ca. 1 - 15 cm lang und von einer

Zellmembran (Sarcolemma) umgeben. Die Größe eines Muskels ist abhängig von der Anzahl und der Querschnittsfläche der einzelnen Muskelfasern. Jede Muskelfaser unterteilt sich wiederum in Tausende von Myofibrillen und beinhaltet Millionen von Myofilamenten. Myofilamente werden aus Sarkomeren geformt, der Basis der kontraktile Einheit im Skelettmuskel. Die zwei häufigsten Myofilamente sind die Proteine Aktin und Myosin (Frontera & Ochala, 2015).

An einer Muskelkontraktion sind hauptsächlich diese dünnen Aktinfilamente und dicken Myosinfilamente beteiligt. Aktinfilamente setzen an der Z-Scheibe an, Myosinfilamente befinden sich dazwischen. Bei einer Muskelkontraktion werden die Aktinfilamente in die Myosinzwischenräume hineingezogen (Friedrich, 2007).

Neben diesen Proteinen sind auch andere Proteine wie Troponin, Tropomyosin, Titin und Nebulin vorhanden, wodurch sich ein Proteingehalt von 70-80% in einer Muskelfaser ergibt. Troponin und Tropomyosin werden mit den Aktinfilamenten in Verbindung gebracht und haben eine wichtige Rolle im Aktivierungsprozess, der zum Gleiten und zur Kraftentwicklung der Myosinfilamente führt. Titin ist ein langes elastisches Protein, das auch an der Z-Scheibe ansetzt und Myosin stabilisiert. Nebulin ist mit anderen Proteinfasern in den Aktinfilamenten integriert (Frontera & Ochala, 2015).

Es gibt zwei Typen von Muskelfasern: Typ-I-Fasern (Slow Twitch-Fasern) sind hoch oxidativ, kontrahieren nur langsam und werden während langdauernder körperlicher Aktivität und bei hohen Widerständen aktiviert. Typ-IIA-Fasern (Fast Twitch-Fasern) sind schnell kontrahierend mit oxidativer und glykolytischer Aktivität. Im Vergleich dazu haben Typ-IIB-Fasern (Fast Twitch-Faser) eine höhere glykolytische und anaerobe Kapazität (de Rezende Pinto, de Souza & Oliveira, 2015).

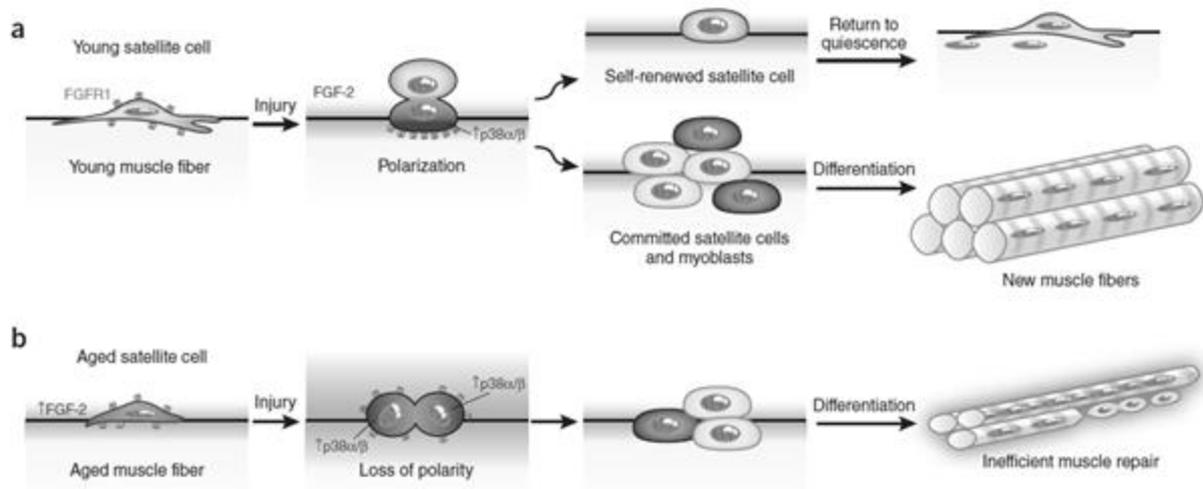
Muskelfasern sind multinukleär und postmitotisch<sup>1</sup>. Jeder dieser Nuklei kontrolliert eine kleine Region der Muskelfaser (Zellkerndomäne), die in der Größe variiert und in diesem Bereich für die Proteinsynthese zuständig ist. Benachbarte Domänen einer Muskelfaser koordinieren sich bei einer Proteinexpression und produzieren den gleichen Proteintyp (z.B. Myosin) über die Länge der Muskelfaser (Frontera & Ochala, 2015). Nicht jede Muskelfaser, hat gleich viele Myonuklei, Typ-I-Muskelfasern haben im Gegensatz zu Typ-II-Fasern mehr Myonuklei und daher kleinere Domänen. Außerdem haben sie auch ein höheres Level an Proteinsynthese (Brooks & Myburgh, 2014).

Es gibt aber auch Ausnahmen, wo nur einzelne Zellen in der Muskelfaser agieren: Satellitenzellen sind adulte Stammzellen der Skelettmuskulatur und sind im Sarcolemma (in der äußeren Zellmembran) und in der Basalmembran lokalisiert, wo sie für Muskelwachstum,

---

<sup>1</sup> Postmitotisch = eine Zelle differenziert und teilt sich nicht mehr

-reparatur und -regeneration verantwortlich sind. Wenn diese Satellitenzellen durch myogene (vom Muskel ausgehende) Faktoren aktiviert werden, vermehren sie sich und differenzieren sich in eine neue Muskelfaser (de Rezende Pinto, de Souza & Oliveira, 2015).



**Abbildung 1** Regeneration eines Muskels durch die Aktivierung von jungen (a) und gealterten (b) Satellitenzellen (Bentzinger & Rudnicki 2014, S. 235)

Satellitenzellen bleiben in einem Erwachsenen untätig, können aber zum Beispiel bei einer Verletzung in den Zellzyklus wieder einsteigen und zu Myoblasten differenzieren. Eine aktivierte Satellitenzelle verlässt ihre typische Lokalisation, vermehrt sich und beginnt mit der Expression der myogenen regulierenden Faktoren<sup>2</sup> (MRFs) MyoD, Pax3/7 und Myf5. Während einige Satellitenzellen nun in den Ruhezustand zurückkehren, differenzieren die anderen zu Myoblasten, die mit einer Muskelfaser fusionieren können. Zu diesem Zeitpunkt wird nun Myogenin und MRF4 exprimiert (siehe Abbildung 1 a) (de Rezende Pinto, de Souza & Oliveira, 2015). Im Alterungsprozess ist das Potential der Satellitenzellen zur Vermehrung und der Differenzierung viel geringer und eine gealterte Satellitenzelle kann daran scheitern, eine Muskelverletzung erfolgreich zu regenerieren (siehe Abbildung 1 b) (Bentzinger & Rudnicki, 2014).

Als Ursache werden mehrere Faktoren genannt, diese sind aber noch nicht genau erforscht. Schäden in der DNA, die durch oxidativen Stress im Alter entstanden sind, führen dazu, dass die Antwort der Zelle auf eine Stressreaktion reduziert ist (Jang et al., 2011; Garcia-Prat, Sousa-Victor & Muñoz-Cánoves, 2013). Außerdem scheint die Homöostase zwischen Vermehrung und Abbau von Zellen in Ungleichgewicht zu geraten, da tendenziell die Zahl

<sup>2</sup> Zu den MRFs zählen unter anderem MyoD, Pax3/7, Myf5, MRF4 und Myogenin. Es handelt sich hierbei um Transkriptionsfaktoren, die die Expression mehrerer Muskelgene kontrollieren und die vor allem für die Aktivierung der Skelettmuskeldifferenzierung zuständig sind (Philippou et al., 2007).

der Satellitenzellen auf Grund vermehrter Apoptose<sup>3</sup> bei älteren Personen reduziert ist (Pallafacchina, Blaauw & Schiaffino, 2013). Auch der Signalweg über Forkhead-Box-Protein O (FOXO), der mit Atrophie zusammenhängt (näheres dazu siehe Kapitel 1.2.1) ist bei älteren Satellitenzellen erhöht, wodurch die Autophagie<sup>4</sup> eingeleitet wird (Jang et al., 2011; Garcia-Prat, Sousa-Victor & Muñoz-Cánoves, 2013).

Da die Proteine IGF-1 und Myostatin auf den FOXO-Signalweg wirken, haben diese auch einen Einfluss auf Satellitenzellen. Durch einen Abfall der Konzentration von IGF-1 und der Erhöhung der Konzentration von Myostatin mit dem Alter besteht ein Zusammenhang zur altersbedingten Muskelatrophie. Die altersbedingte Atrophie wird mit einer geringeren Gesamtzahl von Myofasern und einem geringeren Querschnitt von Myofasern in Verbindung gebracht. Die Anzahl der Myonuklei sinkt und die Domänen der Myonuklei werden größer (Jang et al., 2011).

Satellitenzellen sind neben der Regeneration auch bei der Muskelhypertrophie beteiligt, aber Experimente zeigten auch, dass eine Hypertrophie ohne das Vorhandensein von Satellitenzellen stattfinden kann (McCarthy et al., 2011; Pallafacchina, Blaauw & Schiaffino, 2013; Brooks & Myburgh, 2014).

### 1.1.1 Sarkopenie

Sarkopenie ist der Verlust von Muskelmasse und Muskelfunktion mit dem Alter und von großer Bedeutung, da körperliche Beeinträchtigung und eine kürzere Lebenserwartung direkt mit Sarkopenie verknüpft sind (Cruz-Jentoft et al., 2010; Dodds & Sayer, 2014).

Der Begriff Sarkopenie wurde zunächst von Irwin Rosenberg im Jahr 1989 genannt und setzt sich aus den griechischen Wörtern Sarx (Fleisch) und Penia (Verlust) zusammen. Die European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) charakterisiert das Syndrom Sarkopenie als „einen progressiven und generellen Verlust von Masse und Kraft der Skelettmuskulatur bei älteren Menschen, der mit den Risiken von körperlicher Beeinträchtigung, einer geringeren Lebensqualität und Tod verbunden ist“ (Cruz-Jentoft et al., 2010, S.413). Es wurden drei Stadien von Sarkopenie definiert: Presarkopenie (Verlust von Muskelmasse), Sarkopenie (Verlust von Muskelmasse in Verbindung mit entweder dem Verlust an Muskelkraft oder körperlicher Leistungsfähigkeit) und schwere Sarkopenie (alle drei Komponenten sind präsent) (Cruz-Jentoft et al., 2010).

---

<sup>3</sup> Apoptose ist der Prozess des „programmierten Tod der Zelle“, der notwendig ist, um neuen Zellen Platz zu verschaffen und die Homöostase zu bewahren (Brooks & Myburgh, 2014).

<sup>4</sup> Abbau von zelleigenen Fragmenten oder fehlerhaften Zellbestandteilen.

Die Ursachen von Sarkopenie sind vielfältig: Neben neurodegenerativen Erkrankungen, Inaktivität und inadäquater Ernährung (Cruz-Jentoft et al., 2010), sind auch endokrine Dysfunktionen, Entzündungsprozesse und der Stoffwechsel des Muskels beteiligt (Lang et al., 2012). Auf molekularer Ebene ist Sarkopenie ein Resultat einer überproportionalen Abnahme der Proteinsynthese und/oder eine Erhöhung des Proteinabbaus in der Skelettmuskulatur. Für die Proteinsynthese wurde hier der Signalweg PI3K/Akt/mTOR/S6k1 identifiziert, der durch die Hemmung des Signalwegs von FOXO gegen eine Atrophie wirkt. Der Signalweg Myostatin/Activin II Rezeptor/Smad hingegen hemmt eine Hypertrophie (näheres dazu in Kapitel 1.2.1) (Léger et al., 2008).

Ab dem Alter von 50 Jahren kommt es zu einer Reduktion von ca. 1% pro Jahr in der Muskelquerschnittsfläche, die sowohl mit einer Verringerung der Muskelfasergröße und -zahl in Zusammenhang steht (Frontera et al., 2000). Für Aktivitäten des täglichen Lebens (ADLs) und Bewegung mit niedriger Intensität (z.B. Gehen) werden hauptsächlich Typ-I-Muskelfasern rekrutiert, während Typ-II-Muskelfasern eher für hochintensive Aktivitäten wichtig sind (Lexell et al., 1983). Bei Biopsien des Musculus Vastus lateralis konnten eine Atrophie der Typ-II-Muskelfasern mit dem Alter festgestellt werden, was auf weniger hochintensive Aktivitäten bei älteren Menschen vermuten lässt. Im Muskel wurden sowohl weniger nicht-kontraktile Elemente als auch weniger Myosin-Aktin-Brücken gefunden. Außerdem war die intrinsische Kraft einer einzelnen Muskelfaser, die Kontraktionszeit und Verkürzungsgeschwindigkeit geringer (Lexell, Taylor & Sjöström, 1988; Iolascon et al., 2014).

Um einer Sarkopenie entgegen zu wirken, bedarf es zunächst einer Diagnose. Hierzu werden vor allem die drei Komponenten Muskelmasse, Muskelkraft und körperliche Leistungsfähigkeit analysiert. Um die Muskelmasse zu analysieren, kommen verschiedene Methoden zum Einsatz: Computertomographie (CT), Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DEXA) und Bioelektrische Impedanzanalyse (BIA). Mit diesen Analyseverfahren kann die Körperzusammensetzung gemessen werden. Hierbei ist vor allem die Magermasse, die die Muskulatur widerspiegelt, von Bedeutung. Für die Quantifizierung der körperlichen Leistungsfähigkeit wird häufig die Short Physical Performance Battery verwendet, die einen Gleichgewichtstest (Balance Test), Gehgeschwindigkeitstest (Gait Speed Test) und Aufstehtest (Chair Stand Test) beinhaltet. Bei der Messung der Muskelkraft werden z.B. die Ergebnisse der Handgriffkraft und der Knieextensionskraft verwendet (Iolascon et al., 2014; Dodds & Sayer, 2014; Cruz-Jentoft et al., 2010).

Zur weiteren Diagnosemöglichkeit, wurden auch einige Biomarker definiert, die im Zusammenhang mit Sarkopenie stehen und bei der Proteinsynthese bzw. beim Proteinabbau beteiligt sind. Mit ihnen könnte eine einfache und schnelle Methode entwickelt werden, um

Sarkopenie zu diagnostizieren. Jedoch bedarf es hier noch genauerer Forschungen, um eine präzise Diagnose mittels Biomarker stellen zu können (Kalinkovich & Livshits, 2015).

Um die Entwicklung der Sarkopenie zu verhindern und den Prozess der Degeneration der Skelettmuskulatur zu verlangsamen, ist vor allem körperliche Aktivität wichtig, die einen positiven Einfluss auf die Muskelmasse und Muskelkraft aufweist. Dabei ist die körperliche Aktivität bei Personen im mittleren Alter für die Kraft im höherem Alter von Vorteil (Dodds et al., 2013). Aber auch bei einer bereits bestehenden Sarkopenie zeigt Training seine Wirkung und verbessert die Muskelkraft und -funktion. Neben Ausdauertraining und herkömmlichem Krafttraining wird auch ein Krafttraining mit hoher Bewegungsgeschwindigkeit empfohlen, um den Verlust an Typ-II-Muskelfasern entgegenzuwirken. Während bei einem Ausdauertraining die Zahl der Mitochondrien in der Skelettmuskulatur, die im Alter an Qualität und Quantität verlieren, erhöht wird, bewirkt Krafttraining eine Vergrößerung des Typ-I- und Typ-II-Muskelfaserquerschnitts und der Magermasse in älteren Personen, wodurch auch die Muskelkraft verbessert werden kann. Des Weiteren wurden durch Krafttraining eine Verbesserung der Proteinsynthese, Satellitenzellenaktivität, anabolen Hormonproduktion und eine Verringerung der katabolen Zytokineaktivität gemessen (Iolascon et al., 2014).

## **1.2 Der Muskel als sekretorisches Organ**

Zytokine sind lösliche Proteine und Peptide, die die Zellfunktionen als hormon-ähnliche Regulatoren sowohl unter physiologischen als auch unter pathologischen Bedingungen beeinflussen (Ahrens, Schiltenswolf & Whan, 2012). Zytokine sind Teil einer Immunreaktion und werden von Immunzellen innerhalb und außerhalb des Zentralnervensystems ausgeschüttet und wirken parakrin und autokrin<sup>5</sup>, jedoch hauptsächlich lokal auf spezifische Zielzellen mit einem kurzen Wirkungsradius. Angeregt durch einen adäquaten Stimulus binden Zytokine an membrangebundene Rezeptoren und lösen eine Signalkettenreaktion aus, wodurch ein Prozess in der Zelle aktiviert wird. Aufgrund ihrer Wirkung im Immunsystem, werden Zytokine in zwei Kategorien eingeteilt in proinflammatorische Zytokine und antiinflammatorische Zytokine. Während proinflammatorische Zytokine einen Entzündungsprozess verstärken, versuchen antiinflammatorische Zytokine eine Balance der Immunantwort wieder herzustellen (Ahrens, Schiltenswolf & Whan, 2012).

In Zusammenhang mit körperlicher Aktivität und Sport konnte gezeigt werden, dass die Muskelfasern selbst Ursprung von Zytokinen und anderen Peptiden sein können, diese werden in Anlehnung an die Zytokine Myokine genannt und können ebenfalls autokrin,

---

<sup>5</sup> Die Begriffe parakrin, autokrin und endokrin definieren den Wirkungsradius eines Signalstoffes. Parakrine Signalstoffe wirken nur auf die unmittelbare Umgebung, autokrine nur auf die eigene Zelle. Bei einer endokrinen Wirkung, wird der Signalstoff auch in den Blutkreislauf abgegeben.

parakrin und endokrin wirken. Die Produktion von Myokinen wird durch Bewegung beeinflusst. Dadurch kann die Funktion mehrerer Organe reguliert und eine Stoffwechselverbesserung hervorgerufen werden. Weiters können Myokine entzündungshemmend und muskelaufbauend wirken (Aoi & Sakuma, 2013; Pederson et al. 2007).

Muskelkontraktionen sind notwendig, um die Bildung von Myokinen im Muskel anzuregen. Umgekehrt hat körperliche Inaktivität negative Auswirkungen im Körper. Diese Auswirkungen werden „Disease of physical inactivity“<sup>6</sup> genannt, und umfassen Krankheiten wie Typ-2-Diabetes, kardiovaskuläre Erkrankungen, Brustkrebs, Darmkrebs, Depressionen und Demenz. Der Grund für diese vermehrten Erkrankungen ist eine Anhäufung von Fettgewebe vor allem im viszeralen Bereich, wodurch Entzündungsprozesse hervorgerufen werden, was in weiterer Folge zu Insulinresistenz, Atherosklerose, neuronaler Degeneration und Tumorwachstum führt (Pederson, 2009; Pratesi, Tarantini & Bari, 2013). Die Entzündungsprozesse sind an erhöhten Plasmawerten von Tumornekrosefaktor(TNF)- $\alpha$ , Interleukin (IL)-6, IL-1ra, löslichen TNF-Rezeptoren (sTNF-R) und C-reaktivem Protein (CRP) zu erkennen und werden mit Altern, Demenz, Adipositas, Rauchen und Diabetes mellitus Typ 2 in Verbindung gebracht (Peterson & Pederson, 2005). Die vermehrt sitzende Lebensweise der Menschen führt zu Entzündungen, die wiederum Sarkopenie und Anhäufung von Fett verstärken; ein Teufelskreis der Muskelkraft und körperliche Aktivität minimiert (Pratesi, Tarantini & Bari, 2013).

Als erstes Myokin wurde IL-6 identifiziert (Pederson et al., 2003), dessen Konzentration im Plasma nach körperlicher Aktivität steigt. Die wichtige Rolle im Stoffwechsel wurde erst durch weitere Nachforschungen erkannt. Die Produktion von IL-6 scheint besonders hoch zu sein, wenn die Glykogenwerte im Muskel niedrig sind (Keller et al., 2001). Es wird in Typ-I und -II-Fasern als Antwort auf eine Muskelkontraktion produziert und hat einen lokalen und auch peripheren Einfluss (Keller et al., 2001). Im Muskel aktiviert IL-6 sowohl die Glukoseaufnahme als auch die Fettoxidation. Durch eine Freisetzung in den Blutstrom erreicht es die Leber, wo es zu einer erhöhten Glukoseproduktion während körperlicher Aktivität kommt, und über das Blut gelangt IL-6 auch zum Fettgewebe, wo es die Lipolyse anregt (siehe Abbildung 2). IL-6, das durch Muskelkontraktion produziert wird, hat daher eine wichtige Rolle im Glukosestoffwechsel (Febbraio & Pederson, 2002). Während IL-6 lange Zeit als proinflammatorisches Zytokin gesehen wurde, das von Makrophagen aufgrund einer Entzündung produziert wird, wird durch eine Muskelkontraktion die IL-6-Produktion in der Abwesenheit von anderen inflammatorischen Zytokinen, wie z.B. TNF- $\alpha$ , induziert. Zusätzlich steigt bei körperlicher Aktivität auch die Konzentration an antiinflammatorischen Zytokinen

---

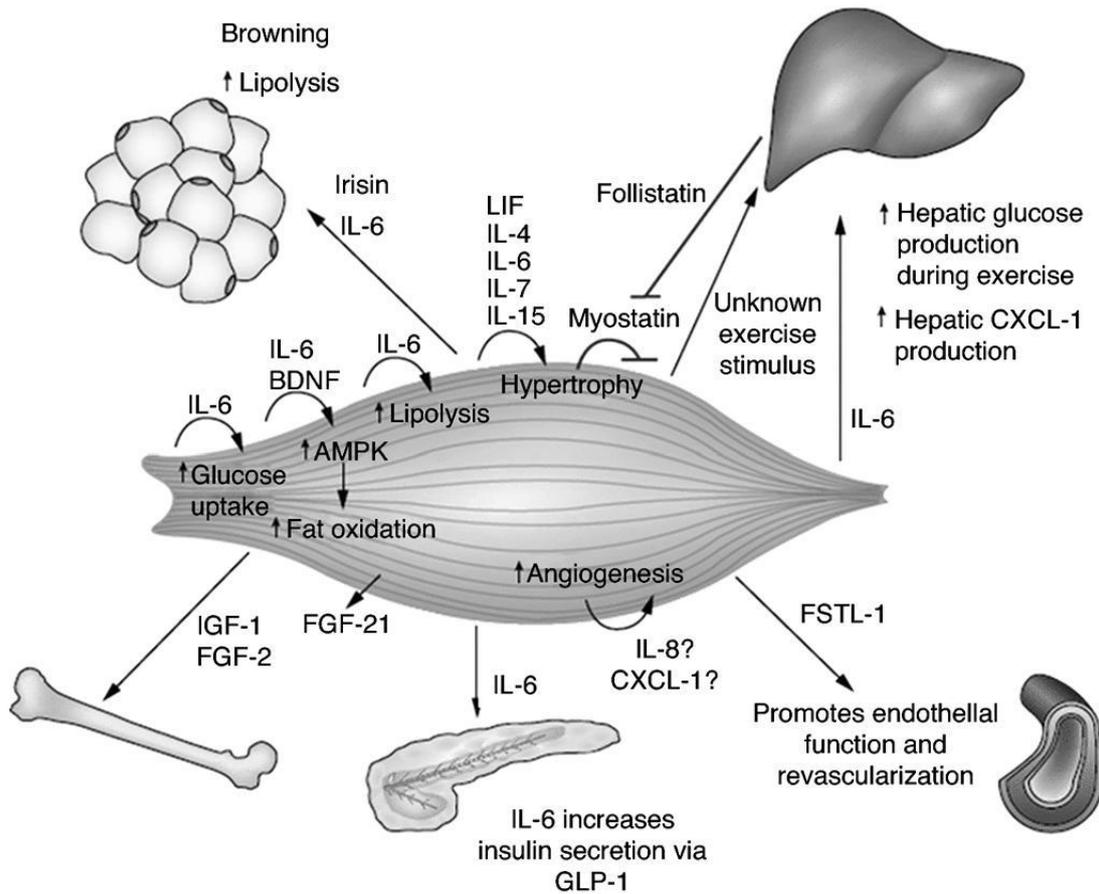
<sup>6</sup> Jene Krankheiten in Bezug auf den ganzen Organismus, die durch körperliche Inaktivität ausgelöst werden.

wie IL-10 und TNF-R im Blut (Pederson & Febbraio, 2008; Pratesi, Tarantini & Bari, 2013, Aoi & Sakuma, 2013).

Aufgrund dieser Benefits, die IL-6 in Zusammenhang mit Bewegung zeigt, wurde das große Potential der Muskulatur als endokrines Organ entdeckt, vor allem unter dem Aspekt, dass es das größte Organ im Körper ist. Es wurden danach noch weitere Myokine, wie IL-15, IL-8 und Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), gefunden, die die mitverantwortlich für die positiven Aspekte der körperlichen Aktivität sind.

Neben immunologisch wirksamen Proteinen sind auch Proteine vorhanden, deren Aufgabe es ist, das Muskelwachstum zu regulieren und daher Wachstums- und Abbaufaktoren (Growth and Degradation Factors) genannt werden. Zu diesen werden IGF-1, Myostatin, Follistatin, Activin A und GDF-15 gezählt. Hierbei wurde IGF-1 als muskelaufbauend identifiziert (Latres et al., 2005). Im Gegensatz dazu wird Myostatin mit Muskelabbau in Verbindung gebracht, wobei Follistatin als Antagonist von Myostatin einer Atrophie entgegen wirkt (Diel et al 2010). Die mRNA-Expressionen im Muskel dieser drei Myokine werden durch Bewegung reguliert (Bamman et al., 2001; Diel et al. 2010). Neben Myostatin wirken auch Activin A und GDF-15 eher muskelabbauend (Chen et al., 2014; Bloch et al., 2013).

Auch diese Faktoren gelangen in den Blutstrom und können so nicht nur lokal sondern auch systemisch wirken (siehe Abbildung 2).



**Abbildung 2** Der Skelettmuskel als sekretorisches Organ ( Pedersen & Febbraio, 2012, S. 459).

Myostatin ist auch in der Regulierung von Fettgewebefunktion und -masse involviert. So weisen Myostatin Knockout<sup>-/-</sup>-Mäuse eine verminderte Fettmasse auf (Guo et al., 2009). Auf der anderen Seite beeinflusst Myostatin die Adipogenese, in dem es unreife Adipozyten mit erhöhter Insulinsensitivität und Glukseoxidation generiert (Demontis et al., 2013).

Follistatin steigt nach körperlicher Aktivität in der Leber an, wird in das Blut ausgeschüttet und ist so an einem möglichen Muskel-Leber-Crosstalk beteiligt (Hansen et al., 2011).

Füttert man Ratten mit einer fettreichen Nahrung steigt nach körperlicher Aktivität ebenfalls der Activin A-Gehalt in der Leber (Silva et al. 2014).

IGF-1 wirkt nicht nur im Muskel sondern auch auf den Knochen. So konnte eine Osteogenese durch eine Stimulierung der Differenzierung und Mineralisierung im Knochen bewiesen werden (Yu et al. 2012).

### 1.2.1 Die zwei Hauptsignalwege des Muskelwachstums

Muskelmasse ist das Resultat einer dynamischen Balance zwischen Proteinsynthese und Proteinabbau (Rodriguez et al. 2014). Hierbei wurden zwei Hauptsignalwege in der Zelle identifiziert, die beim Muskelwachstum bzw. bei der Muskeldegeneration beteiligt sind. IGF-1 initiiert einen dieser Signalwege und führt zu Proteinsynthese, während Myostatin, und Activin A an einem anderen Signalweg beteiligt sind und die Proteinsynthese verhindern, wobei Follistatin inhibierend auf diesen Signalweg wirkt, wie in Abbildung 3 zu sehen ist (Rodriguez et al., 2014, Schiaffino et al., 2013).

IGF-1 setzt am IGF-1-Rezeptor (IGF1R) der Zelle an und aktiviert damit den PI3K/Akt Signalweg (Schiaffino & Mammucari, 2011). Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) ist ein Enzym, das sich an der Zellmembran befindet und eine Andockstelle für das Protein Akt bildet. Die PI3K phosphoryliert<sup>7</sup> Akt und aktiviert dadurch das Protein mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) (Brooks & Myburgh, 2014).

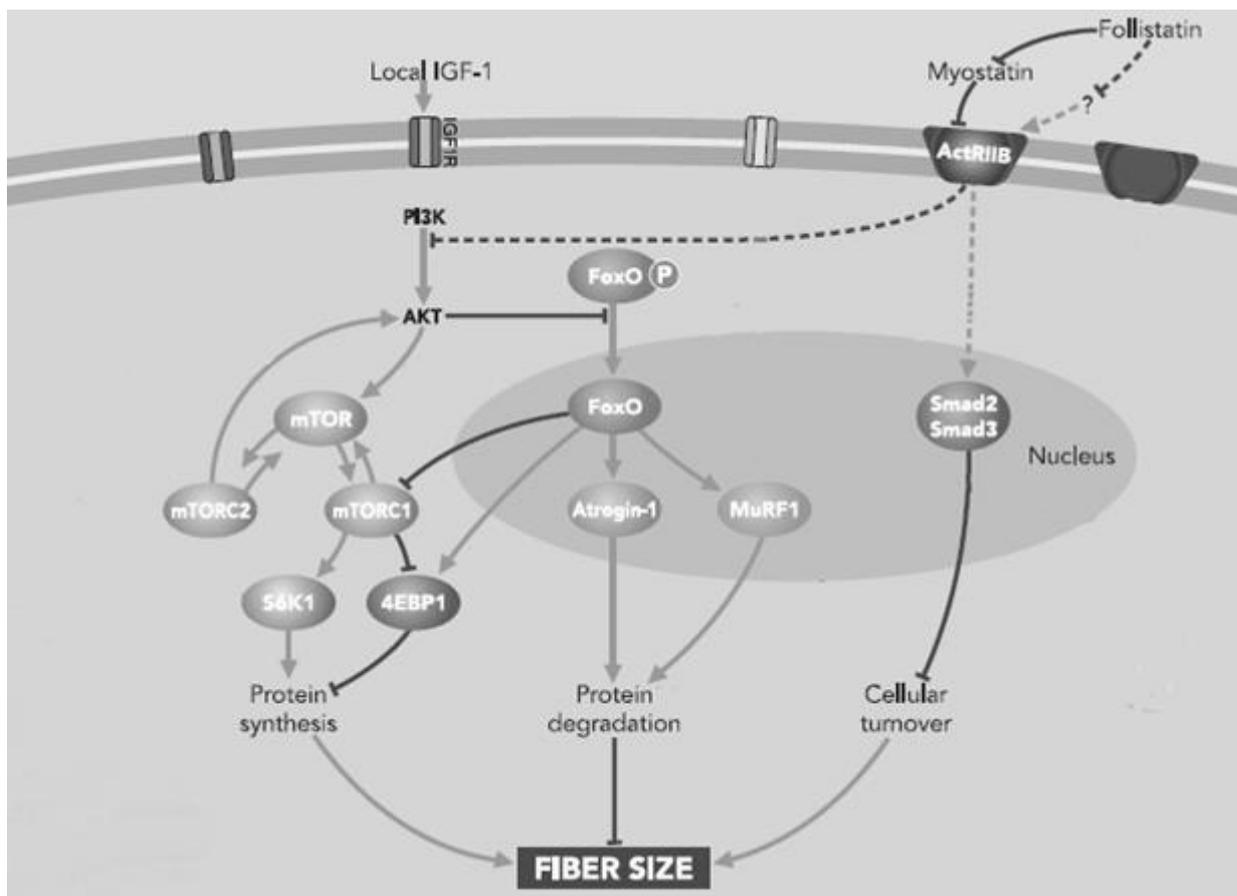


Abbildung 3 Graphische Darstellung der Hauptsignalwege für Hypertrophie und Atrophie (bearbeitet nach Sandri 2008, S. 126)

<sup>7</sup> Phosphorylierung ist allgemein die Einführung eines oder mehrerer Phosphorsäurereste (Phosphorylgruppe) in organische Moleküle oder Makromoleküle (z.B. Nucleinsäuren und Proteine) unter der Wirkung von Enzymen (meist Kinasen; Proteinkinasen). (<http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/phosphorylierung/51290>)

Durch die Aktivierung der Proteinkomplexe mTORC1 (mTOR complex 1) und mTORC2 (mTOR complex 2) wird die S6K1 (S6 kinase) aktiviert, was die Proteinsynthese einleitet. mTORC1 phosphoryliert dabei 4E-BP1 (eIF4E Binding Proteins), wodurch die Proteinsynthese durch den eukaryotischen Initiationsfaktor 4E (eIF4E) aktiviert wird (Schiaffino et al., 2013; Schiaffino & Mammucari, 2011).

Neben dieser direkten Beteiligung am Muskelwachstum, verhindert IGF-1 auch einen Abbau von Muskelmasse. Durch die Aktivierung von Akt wird nämlich ein anderer Signalweg blockiert, bei dem Proteine abgebaut werden. Akt hemmt den Transkriptionsfaktor FoxO (Forkhead Box O), ein Protein, das durch die Aktivierung von MURF1 (Muscle Ring Finger 1) und Atrogin-1/MAFbx (Muscle Atrophy F-box) den Proteinabbau von etwa Myosin und andere Muskelproteine einleitet. FoxO wirkt auch auf das Protein LC3 (Light Chain 3), welches am Prozess der Autophagie beteiligt ist (Schiaffino & Mammucari, 2011).

Beim zweiten Hauptsignalweg agieren die Proteine Myostatin, Activin A und Follistatin. Myostatin ist hier in der Rolle des negativen Regulators des Muskelwachstums (Schiaffino & Mammucari, 2011). Myostatin bindet an einen der Activin Typ II Rezeptoren (ACVR2, ActRII). Durch Phosphorylierung werden nun Activin Typ I Rezeptoren (ALK (Activin Receptor-like Kinase) 4 und ALK 5) aktiviert. Durch eine erneute Phosphorylierung werden die Transkriptionsfaktoren Smad2 und Smad3 aktiviert und es wird ein Komplex mit Smad4 gebildet. Dieser Smad-Protein-Komplex interagiert als Vermittler für Myostatin und wandert in den Nukleus (Rodriguez et al., 2014). Hier wird die MyoD- und Myf5- Aktivität gehemmt (Brooks & Myburgh 2014). Beide sind Transkriptionsfaktoren, die für die Myoblastendifferenzierung zuständig sind (Langley et al., 2002).

Außerdem hemmt Myostatin den Akt/mTOR-Signalweg über Smad2 und Smad3, was wiederum zur Hemmung der Proteinsynthese führt. Dadurch wird auch die Aktivität des FoxO Signalwegs erhöht (Bonaldo & Sandri, 2013; Brooks & Myburgh, 2014).

Activin A bindet ebenfalls an Activin Typ II Rezeptoren (ACVR2), leitet einen ähnlichen Prozess des Proteinabbaus wie Myostatin ein und unterbindet daher auch den Proteinaufbau (Schiaffino et al., 2013). Nach der Bindung von Activin A an den Activin Typ II Rezeptor wird der Signalweg über ALK 4 und den Smad- Komplex aktiviert (Chen et al. 2014).

Follistatin initiiert indirekt das Muskelwachstum durch die Hemmung von Myostatin und Activin A (Schiaffino et al., 2013), da es an Myostatin bindet und so verhindert, dass Myostatin am Rezeptor binden kann. Allerdings scheint Follistatin auch einen direkten Einfluss auf die Proteinsynthese zu haben, da Follistatin auch unabhängig von Myostatin agiert, denn in Experimenten mit genmanipulierten Mäusen, die kein Myostatin produzieren (Mstn<sup>-/-</sup>-Mäuse), kam es trotzdem zu vermehrtem Muskelwachstum. Follistatin scheint deswegen auch andere TGF- $\beta$  Familienmitglieder zu beeinflussen (Lee et al., 2010).

Es wird ein Einfluss auf den Smad-Signalweg und IGF-1/Akt/mTOR- Signalweg vermutet. Winbanks et al. (2012) fanden sowohl bei zusätzlich hinzugefügtem Follistatin bei *Mstn*<sup>-/-</sup>-Mäusen als auch bei unveränderten Mäusen eine vermehrte Muskelmasse und Proteinsynthese und bewiesen dadurch, dass Follistatin unabhängig von Myostatin agieren kann. Außerdem wurde ein erhöhter Wert von mTOR gemessen. Durch die Hemmung von mTOR und S6K1/2 war dieser Effekt reduziert. Ein aktivierter Smad3-Transkriptionsfaktor reduzierte jedoch diesen Effekt (Winbanks et al., 2012).

Auch Kalista et al. (2012) zeigten durch Genexperimente an Mäusen, dass Follistatin induziertes Muskelwachstum durch ein Ausschalten des IGF-1-Rezeptors, von Akt oder von mTOR vermindert wird, woraus auch zu schließen ist, dass Follistatin auch auf den IGF-1/Akt/mTOR- Signalweg wirkt.

Eine wichtige Schnittstelle bei der Hemmung des Muskelwachstums sind die ACVR2, da an diesen Myostatin und Activin A binden und die Signalkette damit starten. Man unterscheidet zwischen einem Activin Typ II Rezeptor A und einem Activin Typ II Rezeptor B. Myostatin und Activin A binden an beide (Lee & McPherron, 2001). Blockiert man den Signalweg an dieser Stelle kommt es zu einem vermehrten Muskelwachstum. Dies kann durch die Bindung von Follistatin an Myostatin bzw. Activin A erfolgen, weil dadurch Myostatin und Activin A nicht mehr an den Rezeptor andocken können (Lee & McPherron, 2001). Auch ein löslicher (soluble) ACVR2 kann den Myostatin-Signalweg blockieren (Lee et al., 2005). Des Weiteren wurde durch die Anbindung des Antikörpers BYM338 an den ACVR2 die Aktivität von Activin A und Myostatin gehemmt, was ebenfalls zum Muskelaufbau führte (Lach-Trifilieff et al., 2014).

## 1.2.2 Myostatin

Myostatin oder auch Growth Differentiation Factor 8 (GDF-8) ist ein Mitglied der Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )-Superfamilie und wurde als einer der Hauptregulatoren von Muskelmasse identifiziert (Brandt et al., 2013). Myostatin wird hauptsächlich von Muskelfasern produziert (McPherron, Lawler & Lee, 1997) und wird mit der Hemmung des Muskelaufbaus in Verbindung gebracht. So konnten einige Studien zeigen, dass ein Ausschalten des Myostatin-Genes zu einem exzessiven Muskelwachstum führt (McPherron, Lawler & Lee, 1997; Szabo et al. 1998; Rodriguez et al., 2014). Dabei war die Anzahl von Muskelfasern und der Muskelumfang erhöht (Joulia-Ekaza & Cabello, 2006). Im Gegenzug resultierte eine Myostatin-Überexpression oder die Verabreichung von Myostatin zu einer dramatischen Muskelatrophie (Lee & McPherron, 2001). Dabei beeinflusst Myostatin die Anzahl und Größe der Muskelfasern über die Vermehrung und Differenzierung von Myoblasten und Satellitenzellen (Walsh & Celeste, 2005). Durch die Hemmung von

MyoD und Myf5 wirkt Myostatin auf die Satellitenzellen im Muskel, indem es zu einer Stilllegung der Satellitenzellen und etwa im alternden Menschen zu einer Dysfunktion der Satellitenzellen führt. Ein erhöhter Myostatin-Wert bei älteren Menschen mit Muskelatrophie wird daher in Verbindung mit einer reduzierten Vermehrung der Satellitenzellen und einer Reduzierung in der Anzahl der Satellitenzellen in Verbindung gebracht (McKay et al. 2012).

### *1.2.2.1 Myostatin und Training*

Mehrere Studien zeigten, dass Krafttraining mit einer Herabregulierung der Myostatin-Expression im Muskel in Verbindung gebracht wird (Rodriguez et al., 2014). So stellten Roth et al. (2003) nach einem neunwöchigen Krafttraining eine verringerte Myostatin-Expression sowohl bei jüngeren (20-30 Jahre) als auch älteren (65-75 Jahre) Frauen und Männern fest. Kim, Cross und Bamman (2005) wiesen eine Verringerung der Myostatin-mRNA nach einem Krafttraining bei jüngeren (20-35 Jahre) Frauen, jüngeren (20-35 Jahre) und älteren (60–75 Jahre) Männern, aber nicht bei älteren (60-75 Jahre) Frauen nach. Dalbo et al. (2011) konnten nach einem Krafttraining über 12 Tage eine Senkung der Myostatin-Expressionen bei älteren Männern (60–75 Jahre) erkennen. McKay et al. (2012) zeigte sowohl bei jüngeren (18-24 Jahre) als auch bei älteren Männern (66-74 Jahre) eine Reduktion der Myostatin-mRNA nach einer einmaligen Kraftübung. Nach einem 21-wöchigen Krafttraining bei älteren Männern (56-69 Jahre) stellten Hulmi et al. (2007) auch eine Reduktion der Myostatin-Expressionen im Muskel fest. Diese Reduzierung scheint erst nach einem längerfristigen Krafttraining gegeben zu sein, da ein akutes Training zu Beginn der Studie keine Veränderung bei den Myostatin-Werten ergab.

Eine einbeinigen maximale exzentrischen isokinetischen Kraftübung veränderte weder bei jüngeren (23-35 Jahre) noch bei älteren (60-75 Jahre) Männern die Myostatin mRNA Expression (Jensky et al., 2007). Bei jüngeren Frauen (21-35 Jahre) konnten auch nach sieben exzentrischen oder konzentrischen einbeinigen Krafttrainings keine Unterschiede in der Myostatin-Expression festgestellt werden (Jensky et al. 2010).

In einer weiteren Studie untersuchten Kim et al. (2007) die Myostatin-Werte sowohl im Blut als auch im Muskel für ein Krafttraining über 16 Wochen bei jüngeren (20-35 Jahre) und älteren (60–75 Jahre) Frauen und Männern. Während dieser Zeit senkte sich die Myostatin-mRNA im Muskel. Diese Verminderung konnte jedoch nicht im zirkulierenden Myostatin festgestellt werden.

Willoughby (2004) hingegen konnte nach einem 12-wöchigen Krafttraining sogar eine Erhöhung der Myostatin-Werte im Blut und im Muskel feststellen.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 1 zu sehen.

**Tabelle 1** Überblick der Trainingsstudien von Myostatin

Studie	Messort	Veränderung	Trainingsmethode	Zeitraum
Willoughby (2004)	Blut, Muskel	Erhöhung	Krafttraining	12 Wochen
Kim et al. (2007)	Blut, Muskel	keine Veränderung Blut, Reduktion Muskel	Krafttraining	16 Wochen
Roth et al. (2003)	Muskel	Reduktion	Krafttraining	9 Wochen
Kim, Cross & Bamman (2005)	Muskel	Reduktion	Krafttraining	26 Wochen
Hulmi et al. (2007)	Muskel	Reduktion	Krafttraining	21 Wochen
Jensky et al. (2007)	Muskel	keine Veränderung	Krafttraining	einmalig
Jensky et al. (2010)	Muskel	keine Veränderung	Krafttraining	einmalig
Dalbo et al. (2011)	Muskel	Reduktion	Krafttraining	12 Tage
McKay et al. (2012)	Muskel	Reduktion	Krafttraining	einmalig

### 1.2.2.2 Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei Myostatin

Auf Grund der Wirkung von Myostatin, das Muskelwachstum zu hemmen, wird es auch mit dem altersbedingten Abfall der Muskelmasse assoziiert (Kalinkovich & Livshits, 2015). Hier gibt es aber kontroverse Ergebnisse bezüglich der Myostatin-Werte im Vergleich zwischen jungen und älteren Menschen. Bei Yarasheski et al. (2002) waren die Myostatin-Blutwerte bei älteren Frauen und Männern (60-75 Jahre) höher als bei jüngeren Männer und Frauen (19-35 Jahre) während es bei einigen Studien jedoch keine Unterschiede bei den Myostatin-Blutwerten zwischen jüngeren und älteren Männern (20-24 und 66-72 Jahre) (Ratkevicius et al., 2011) oder Frauen (18-22 und 65-92 Jahre) gab (Hofmann et al., 2015). Interessanterweise waren bei Lakshman et al. (2009) die Myostatin-Blutwerte bei jüngeren Männern (18–35 Jahre) sogar höher als bei älteren Männern (60-75 Jahre). Im Muskel zeigten Léger et al. (2008) erhöhte mRNA-Expression in älteren Männern ( $70 \pm 0,3$  Jahre) im Vergleich zu jüngeren Männern ( $20 \pm 0,2$  Jahre). Auch bei McKay et al. (2012) hatten ältere Männer (66-74 Jahre) eine höhere Myostatin-mRNA als jüngere Männer (18-24 Jahre). Jensky et al. (2007) zeigten keinen Unterschied bei der mRNA-Expression von Myostatin zwischen jüngeren und älteren Männer (23-33 und 60-75 Jahre). Auch Dalbo et al. (2011) kamen zu dem gleichen Ergebnis bei Männern im Alterungsprozess (18-25 und 60-75 Jahre).

Nur Suetta et al. (2013) konnten bei jüngeren (21–30 Jahre) eine höhere Myostatin mRNA Expression als bei älteren (61–74 Jahre) Männern messen.

Wegen dieser unterschiedlichen Resultate scheint Myostatin nicht der hauptsächliche Auslösefaktor für Sarkopenie zu sein. Dies bekräftigt auch eine Studie von McMahon et al. (2003), wo *Mstn*<sup>-/-</sup>-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen einen größeren Verlust an

Muskelmasse nach Immobilisierung (Hind-Limb Suspension<sup>8</sup>) hatten. Daraus kann man schließen, dass Myostatin eher Hypertrophie hemmt als Atrophie zu induzieren (Rodriguez et al., 2014).

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 2 zu sehen.

**Tabelle 2** Überblick der Studien von Myostatin im Altersverlauf

Studie	Messort	Resultat
Yarasheski et al. (2002)	Blut	mehr
Lakshman et al. (2009)	Blut	weniger
Ratkevicius et al. (2011)	Blut	gleich
Hofmann et al. (2015)	Blut	gleich
Léger et al. (2008)	Muskel	mehr
Jensky et al. (2007)	Muskel	gleich
Dalbo et al. (2011)	Muskel	gleich
McKay et al. (2012)	Muskel	mehr
Suetta et al. (2013)	Muskel	weniger

Obwohl sich mehrere Studien mit den Werte von Myostatin-mRNA-Expressionen bzw. mit dem im Blut zirkulierenden Myostatin sowohl bei Männern und Frauen beschäftigt, lag bei diesen der Fokus auf die Unterschiede in den verschiedenen Altersklassen und nicht auf die Unterschiede zwischen den Geschlechtern (Kim, Cross und Bamman,2005; Kim et al., 2007; Yarasheski et al., 2002). Bergen et al. (2015) hingegen beschäftigte sich hingegen genauer mit den zirkulierenden Werte bei jüngeren (<40 Jahre), älteren (<65 Jahre) und sarkopenischen Männern und Frauen. Die Myostatin-Werte waren bei älteren und sarkopenischen Frauen höher als bei jüngeren Frauen, bei den Männern hingegen hatten jüngere Männer mehr Myostatin als ältere und sarkopenische Männer. Jüngere Männer hatten jedoch eine zweimal höhere Konzentration als junge Frauen. Ältere und sarkopenische Frauen hatten signifikant höhere relative Myostatin-Werte als die korrespondierende Gruppe von Männern.

Tay et al. (2015) konnte hingegen einen Trend für höheren zirkulierenden Myostatin bei sarkopenischen gegenüber nicht-sarkopenischen Männern (60-75 Jahre) finden, der sich nicht bei den Frauen widerspiegelte. Bei Männern konnte das Alter, Myostatin und Triglyceride mit Sarkopenie in Zusammenhang gebracht werden.

---

<sup>8</sup> Eine Hind-Limb Suspension ist eine Aufhängung für Tiere, damit diese die hinteren Extremitäten nicht gebrauchen.

### 1.2.3 Activin A

Activin A ist auch ein Mitglied der TGF- $\beta$ -Superfamilie und wird wie Myostatin als negativer Regulator der Muskelmasse definiert. Es aktiviert wie Myostatin über Bindung an Activin II Rezeptoren den ALK4/Smad2/3-Signalweg (Lee et al. 2005). Ein von Activin A aktivierter Activin II Rezeptor-Signalweg verringert die Akt/mTOR Proteinsynthese, was mit Muskelfibrose und reduzierter Muskelmasse und -funktion in Verbindung gebracht wird (Chen et al. 2014). Sind jedoch keine Activin II Rezeptoren vorhanden, führt dies zu einer signifikanten Erhöhung der Skelettmuskulatur in Mäusen (Lee et al., 2005; Lee & McPherron, 2001). Eine höhere Expression von Activin A fördert den Muskelverlust und Kachexie in Mäusen. Dabei zeigte Activin A eine um das 100-fache größere Wirkung auf den Muskelabbau als Myostatin (Chen et al. 2014). Damit scheint Activin A der stärkste natürliche Muskelwachstumshemmer, der bis jetzt entdeckt wurde, zu sein (Kalinkovich & Livshits, 2015).

Es wurde auch eine direkte Verbindung von Activin A/Activin-Rezeptor und Entzündungsprozessen bei Sarkopenie entdeckt. Die pro-inflammatorischen Zytokine IL-1 $\alpha$  und TNF- $\alpha$  blockieren die Differenzierung von Myoblasten zu Myotubes, wozu die Aktivierung von TGF- $\beta$  Activated Kinase (TAK)-1 von Nöten ist. Um diese Zytokine zu steuern, wird eine Hochregulierung von Activin A gebraucht, das dann über den bekannten Signalweg ACVR/ALK/SMAD wirkt. Wird dieser Signalweg gehemmt, erfolgt eine normale Differenzierung in Myotubes (Trendelenburg et al., 2012).

#### 1.2.3.1 *Activin A und Training*

Es konnten keine Studien gefunden werden, die die Wirkung von Training auf die Regulation von Activin A im Muskel oder im Blut untersuchten. Obwohl Activin A wie Myostatin auch einen negativen Einfluss auf die Muskelmasse hat, scheint der Fokus in Studien hauptsächlich auf Myostatin zu liegen und Studienergebnisse bei Menschen sind daher rar.

#### 1.2.3.2 *Altersbedingte und geschlechtsbedingte Unterschiede bei Activin A*

Es konnte eine Studie gefunden werden, die sich mit dem Blutwerten von Activin A im Alterungsprozess beschäftigt. Hofmann et al. (2015) untersuchten die Serumkonzentrationen im Vergleich zu jüngeren und älteren Frauen (18-22 und 65-92 Jahre). Es wurden jedoch keine Unterschiede festgestellt.

Loria et. (1998) untersuchten die Serumkonzentration von Activin A bei Frauen und Männern im Alter zwischen 20 und 90 Jahren. Es konnte ein Anstieg der Konzentration im Alter von 20 bis 50 Jahren beobachtet werden, danach war die Veränderung abhängig vom Geschlecht. Bei den Frauen blieben die Activin A-Werte unverändert, bei den Männern jedoch stieg die

Konzentration weiter an und war in der Altersklasse 70-90 Jahre am höchsten. Activin A korrelierte mit dem Alter bei den Männern, bei den Frauen jedoch nicht (Loria et., 1998).

Auch Baccarelli et al. (2001) konnten einen Anstieg der Serum Activin A-Werte bei Männern (30-101 Jahre) und Frauen (50-104 Jahre) messen. Sowohl bei Frauen als auch bei Männern stiegen die Werte mit dem Alter an, auf einen Unterschied zwischen den Konzentrationen bei Männern und Frauen im Vergleich wurde jedoch nicht genauer eingegangen.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 3 zu sehen.

**Tabelle 3** Überblick der Studien von Activin A im Altersverlauf

Studie	Messort	Resultat
Loria et al. (1998)	Blut	Bis 50 Jahre mehr
Bacarelli et al. (2001)	Blut	mehr
Hofmann et al. (2015)	Blut	gleich

#### 1.2.4 Follistatin

Follistatin ist ein einkettiges Glykoprotein, das ursprünglich mit der Hemmung der Synthese und Sekretion von Follikel-stimulierenden Hormonen der Hirnanhangsdrüse in Verbindung gebracht wurde. Später entdeckte man aber auch einen Zusammenhang von Follistatin mit Muskelwachstum und Hypertrophie, da Follistatin Myostatin und Activin A hemmen kann, wodurch die beiden Proteine nicht mehr an den Activin Typ II Rezeptor binden können. Follistatin ist jedoch kein Mitglied der TGF- $\beta$ -Superfamilie (Iizuka, Machida & Hirafuji, 2014).

Durch die Hemmung von Myostatin bzw. Activin A wird eine Hypertrophie induziert, da eine Überexpression von Follistatin bei transgenen Mäusen zu einem signifikanten Anstieg der Muskelmasse führte (Lee & McPherron, 2001). Dieser Effekt geschieht auch unabhängig von Myostatin, wie das Experiment mit *Mstn*<sup>-/-</sup>-Mäusen zeigte, da bei diesen auch ohne Myostatin eine Hypertrophie stattfinden kann. Der Effekt war sogar bei den Mäusen ohne Myostatin noch größer als bei den Wildtyp-Mäusen (Lee et al., 2010; Lee, 2007). Das zeigt, dass Follistatin neben der Hemmung von Myostatin und Activin A noch über andere Wege das Muskelwachstum beeinflussen kann (Lee et al., 2010; Lee, 2007). Diese Vermutungen bestätigen Studien, denn wie in Kapitel 1.2.1 schon genauer beschrieben, zeigten Winbanks et al. (2012) und Kalista et al. (2012), dass Follistatin unabhängig von Myostatin auf den IGF-1/Akt/mTOR- Signalweg wirkt.

Eine Überexpression von Follistatin scheint sowohl die Satellitenzellen zu aktivieren als auch die Proteinsynthese zu erhöhen. Neben einem erhöhten Muskelfaserquerschnitt wurde auch eine höhere Zahl von Zellkernen festgestellt (Gilson et al. 2009).

Außerdem führte eine Überexpression von Follistatin nach einer Muskelverletzung zu einer schnelleren Muskelfaserregeneration, was auf ein erhöhtes myogenes Potential der Myoblasten zurückzuführen ist, da diese durch Follistatin stimuliert vermehrt MyoD, Myf5 und Myogenin exprimieren. Durch die Blockade von Myostatin und Activin A wird auch indirekt die Muskeldifferenzierung angeregt (Zhu et al. 2011).

#### *1.2.4.1 Follistatin und Training*

In einigen Studien wurde der Zusammenhang zwischen Training und der Regulierung der Follistatin-Werte untersucht, jedoch zeigte die Mehrheit der Studien keinen Einfluss auf Follistatin, mit Ausnahme der Studie von Hansen et al. (2011).

Hansen et al. (2011) stellten bei Männern nach drei Stunden Fahrradfahren eine Erhöhung des Follistatin-Spiegels im Plasma um das Siebenfache fest. Diese Erhöhung war drei Stunden nach dem Training am höchsten. Am nächsten Morgen war der Follistatin-Wert aber niedriger als vor dem Training. Um festzustellen, ob die Erhöhung nach dem Training von der arbeitenden Muskulatur ausging, wurde noch eine weitere Testung durchgeführt, bei der für zwei Stunden eine einbeinige Knieextensionsübung durchgeführt wurde. Es konnte wieder eine Follistatin-Erhöhung im Blut festgestellt werden, es gab aber bei den mRNA-Expressionen keinen Unterschied zwischen dem trainierten und pausierenden Bein. Daher wird angenommen, dass das Follistatin nicht in der Muskulatur, sondern in einem anderen Organ im Körper produziert wurde.

Diel et al. (2010) hingegen zeigten in einer Trainingsstudie bei jungen Männern (20-24 Jahre), dass sich nach einem Kraft- oder Ausdauertraining über 3 Monate die Follistatin-Konzentration im Blut oder im Muskel nicht verändert. Auch nach einer einbeinigen maximalen exzentrischen isokinetischen Kraftübung waren weder bei jüngeren (23-35 Jahre) noch bei älteren (60-75 Jahre) Männern die Follistatin-mRNA-Expressionen verändert (Jensky et al., 2007). Auch bei jüngeren Frauen (21-35 Jahre) konnten nach sieben exzentrischen oder konzentrischen einbeinigen Kraftübungen keine Unterschiede in der Follistatin-Expression festgestellt werden (Jensky et al. 2010). Auch Dalbo et al. (2011) konnten keinen Unterschied in der Follistatin-Expression nach einem Krafttraining über 12 Tage feststellen.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 4 zu sehen.

**Tabelle 4** Überblick der Trainingsstudien von Follistatin

Studie	Messort	Veränderung	Trainingsmethode	Zeitraum
Diel et al. (2010)	Blut, Muskel	keine Veränderung	Ausdauertraining, Krafttraining	3 Monate
Hansen et al. (2011)	Blut, Muskel	Erhöhung Blut, keine Veränderung Muskel	Ausdauertraining, Krafttraining	Einmalig
Jensky et al. (2007)	Muskel	keine Veränderung	Krafttraining	einmalig
Jensky et al. (2010)	Muskel	keine Veränderung	Krafttraining	einmalig
Dalbo et al. (2011)	Muskel	keine Veränderung	Krafttraining	einmalig

#### 1.2.4.2 Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei Follistatin

Vergleicht man die Follistatin-Mengen zwischen jüngeren und älteren Personen, gelangt man zu unterschiedlichen Ergebnissen. Im Muskel wurden bei Jensky et al. (2007) und Dalbo et al. (2011) eine höhere mRNA-Expression von Follistatin bei älteren Männern (60-75 Jahre) im Vergleich zu jüngeren Männern (23-35/18-25 Jahre) festgestellt. Die Plasma-Spiegel scheinen jedoch nicht vom Alter beeinflusst zu sein, da Hofmann et al. (2015) keinen Unterschied bei der Follistatin-Konzentration zwischen jüngeren und älteren Frauen (18-22 und 65-92 Jahre) feststellen konnten. Dies wird auch bei Ratkevicius et al. (2011) gezeigt, wo die Follistatin-Werte ebenfalls zwischen jüngeren und älteren Männern (20-24 und 66-72 Jahre) gleich waren.

Es konnten keine Studien bezüglich Geschlechter-spezifischer Unterschiede gefunden werden.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 5 zu sehen.

**Tabelle 5** Überblick der Studien von Follistatin im Altersverlauf

Studie	Messort	Resultat
Ratkevicius et al. (2011)	Blut	gleich
Hofmann et al. (2015)	Blut	gleich
Jensky et al. (2007)	Muskel	mehr
Dalbo et al. (2011)	Muskel	mehr

#### 1.2.5 IGF-1

Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) wurde zuerst als zirkulierender Wachstumsfaktor gesehen, der nur von der Leber produziert wird und der den Effekt von Wachstumshormonen beeinflusst. Heute weiß man, dass IGF-1 auch von anderen Geweben wie Röhrenknochen,

dem Gehirn und der Skelettmuskulatur produziert wird. Dadurch wird die Hypothese unterstützt, dass IGF-1 auch eine lokale Wirkung hat, um das Wachstum dieser Gewebe zu kontrollieren (Schiaffino & Mammucari, 2011; Philippou & Barton, 2014). Obwohl die Hauptquelle von IGF-1 im Blut von der Leber ausgeht, konnte bei Experimenten mit Mäusen, bei denen IGF-1 von der Leber nicht zu Verfügung stand, kein dramatischer Effekt auf die Muskelgröße und auf das generelle postnatale Körperwachstum festgestellt werden, was eine autokrine bzw. parakrine Wirkung bestätigt (Yakar et al., 1999; Sjögren et al., 1999).

In der Skelettmuskulatur koordiniert IGF-1 die Vermehrung und Differenzierung von Myoblasten und die Muskelfaserbildung, sowohl während des normalen Wachstums als auch während der Regeneration nach einer Verletzung. Diese Aktionen können auch in einer Hypertrophie resultieren und dadurch die funktionale Kapazität in der Skelettmuskulatur erhöhen (Philippou & Barton, 2014).

Die Wirkung von IGF-1 wurde auch hier durch Experimente mit transgenen Mäusen erforscht. So zeigten Mäuse mit einer Überexpression von IGF-1 in der Muskulatur eine Muskelhypertrophie im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen (Fiorotto, Schwartz & Delaughter, 2002). Auch durch eine Injektion von IGF-1 konnte das Körpergewicht und Muskelgewicht erhöht werden (Philippou & Barton, 2014). Eine lokale Überexpression förderte die Muskelerregeneration und Hypertrophie, außerdem konnten erhöhte Mengen von myogenen regulierenden Faktoren (MRFs) und mRNAs von kontraktilen Proteinen gemessen werden (Coleman et al., 1995).

Die erhöhten Werte von MRFs können durch die direkte Wirkung von IGF-1 auf Satellitenzellen erklärt werden, da IGF-1 die Vermehrung und Differenzierung von Satellitenzellen und Myoblasten induziert (Hill & Goldspink, 2003; Han et al., 2008; Philippou & Barton, 2014; Brooks & Myburgh, 2014). In diesem Signalprozess scheint mTOR eine Schlüsselfunktion zu haben (Han et al., 2008). Erhöhte IGF-1-Expressionen werden daher auch mit einem höheren Pool an Satellitenzellen assoziiert, wodurch das Potential für Regeneration und Wachstum erhöht ist (Barton-Davis, Shoturma & Sweeney, 1999). Außerdem wird die Hypertrophie durch die Fusion von Satellitenzellen in bestehende Fasern erreicht, da die Zellkerndomänen trotz größeren Fasern gleich bleiben (Qaisar et al. 2012). Die Studie von Barton-Davis, Shoturma und Sweeney (1999) zeigt, dass Satellitenzellen für ca. die Hälfte der erhöhten Muskelmasse verantwortlich sind, die durch eine Überexpression von IGF-1 induziert wurde. Dies würde auch mit der verminderten Fähigkeit eines alternden Muskels mit Muskelwachstum zu reagieren übereinstimmen, da im Vergleich zu jüngeren die Anzahl an Satellitenzellen verringert ist (Barton, 2006).

### 1.2.5.1 IGF-1 und Training

IGF-1 wurde sowohl in Verbindung mit Krafttraining und Ausdauertraining untersucht und es konnte entweder eine Erhöhung oder keine Veränderung festgestellt werden. Bei einer Studie kam es zu einer Senkung der IGF-1- Werte.

Bamman et al. (2001) konnten nach konzentrischen und exzentrischen Kraftübungen mit jungen Frauen und Männern (23-25 Jahre) eine Veränderung in der IGF-1-Mengen im Blut und im Muskel feststellen. Nach den exzentrischen Kraftübungen konnte eine signifikant erhöhte IGF-1-Expression gemessen werden. Dies war tendenziell auch nach konzentrischen Kraftübungen festzustellen. Im Blut stiegen die IGF-1 Spiegel nur nach den konzentrischen Kraftübungen, nicht jedoch nach den exzentrischen Übungen (Bamman et al., 2001). Eine Krafttrainingsintervention bei älteren Personen (65-79 Jahre) über 12 Monate führte zur Erhöhung der IGF-1 Konzentration im Blut (Tsai et al. 2015). Nindl et al. (2012) untersuchten die Wirkung einer explosiven Kraftübung an 20 Männern und Frauen im Alter zwischen 21 und 23 Jahren. Es konnte eine signifikante Erhöhung des zirkulierenden IGF-1 festgestellt werden, die Erhöhung der muskulären IGF-1-Expression von 40% war jedoch nicht signifikant.

Hambrecht et al. (2005) erforschten den Effekt von Ausdauertraining bei Patienten (47-55 Jahre) mit chronischem Herzversagen über 6 Wochen. Hier wurden im Muskel eine Erhöhung der IGF-1 mRNA um 81% festgestellt, die Blutserumwerte von IGF-1 blieben jedoch gleich. Jeon und Ha (2015) konnten jedoch nach achtwöchigem Ausdauertraining bei jungen Erwachsenen (15 Jahre) eine Erhöhung von IGF-1 im Blut messen.

Nishida et al. (2010) konnten nach einem Ausdauertraining über 6 Wochen sogar eine Senkung der IGF-1-Blutkonzentration bei jüngeren Männern (22-23 Jahre) feststellen. Die Forschungsgruppe um Nishida untersuchte IGF-1 unter dem Aspekt, dass erhöhte IGF-1-Werte auch im Zusammenhang mit einem erhöhten Risiko an Krebs zu erkranken stehen. Nach den 6 Wochen Krafttraining konnte bei den gesunden Studienteilnehmern eine Senkung der IGF-1-Werte von 9% gemessen werden.

Training scheint einen Effekt auf die Produktion von IGF-1 zu haben, da in den Studien häufig eine Veränderung der Mengen nach dem Training festgestellt wurden, jedoch konnten die Effekte nicht immer im Blut oder Muskel gleichermaßen entdeckt werden.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 6 zu sehen.

**Tabelle 6** Überblick der Trainingsstudien von IGF-1

Studie	Messort	Veränderung	Trainingsmethode	Zeitraum
Bamman et al. (2001)	Blut, Muskel	Erhöhung Blut, keine Veränderung Muskel	Krafttraining	einmalig konzentrisch
Bamman et al. (2001)	Blut, Muskel	keine Veränderung Blut, Erhöhung Muskel	Krafttraining	einmalig exzentrisch
Hambrecht et al. (2005)	Blut, Muskel	keine Veränderung Blut, Erhöhung Muskel	Ausdauertraining	6 Wochen
Nindl et al. (2011)	Blut, Muskel	Erhöhung Blut, keine Veränderung Muskel	Krafttraining	einmalig
Nishida et al. (2010)	Blut	Reduktion	Ausdauertraining	6 Wochen
Tsai et al. (2015)	Blut	Erhöhung	Krafttraining	12 Monate
Jeon & Ha (2015)	Blut	Erhöhung	Ausdauertraining	8 Wochen

### 1.2.5.2 Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei IGF-1

IGF-1 scheint mit dem Alter assoziiert zu sein, da mehrere Studien niedrigere IGF-1 Konzentrationen bei älteren Personen feststellen konnten.

Ältere sarkopenische Männer (66-72 Jahre) hatten Vergleich zu jüngeren Männern (20-24 Jahre) eine niedrigere Konzentration von IGF-1 im Blut (Ratkevicius et al. 2011). Auch bei Hofmann et al. (2015) war die Menge des im Blut zirkulierenden IGF-1 bei älteren Frauen (65-92 Jahre) niedriger als bei jüngeren (18-22 Jahre). Hier korrelierte IGF-1 negativ mit dem Alter und positiv mit der Muskelmasse. Taekema et al. (2011) konnten auch eine Abnahme von zirkulierenden IGF-1 mit dem Alter im Vergleich von Frauen und Männern mittleren Alters (57-70 Jahren) und sehr alten Frauen und Männern (89 Jahren) feststellen.

Léger et al. (2008) konnten in ihrer Studie diese Ergebnisse auch in der Muskulatur bestätigen, es wurde eine Senkung der mRNA-Expressionen von IGF-1 um 45% bei älteren Männern (69-70 Jahre) im Vergleich zu jüngeren Männern (19-20 Jahre) erkannt.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 7 zu sehen.

**Tabelle 7** Überblick der Studien von IGF-1 im Altersverlauf

Studie	Messort	Resultat
Ratkevicius et al. (2011)	Blut	weniger
Taekema et al. (2011)	Blut	weniger
Hofmann et al. (2015)	Blut	weniger
Léger et al. (2008)	Muskel	weniger

Nindl et al. (2012) beschäftigte sich mit dem Unterschied von IGF-1 zwischen den Geschlechtern. So sind die zirkulierenden IGF-1 Werte bei jüngeren Männern höher als bei

jüngeren Frauen (21-23 Jahre). Tay et al. (2015) fanden bei sarkopenische Frauen (60- 75 Jahre) einen signifikant niedrigeren Serumspiegel von IGF-1 gegenüber nicht-sarkopenischen Frauen. Bei den Männern war dieser Unterschied zwischen sarkopenischen und nicht-sarkopenischen Teilnehmern nicht gegeben.

### 1.2.6 GDF-15

Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15), auch Macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1) genannt, ist ein Mitglied der TGF- $\beta$ -Superfamilie. Er wird in den meisten Gewebearten nur schwach exprimiert, mit Ausnahme der Plazenta. GDF-15 steht in Verbindung mit Krebs und kardiovaskulären Erkrankungen. Erhöhte Blutwerte von GDF-15 wurden in Zusammenhang mit einem höheren Risiko eines tödlichen Herzversagens und mit einer höheren Gesamtmortalität ohne Krebs- und Herzkreislaufkrankungen erkannt (Wiklund et al., 2010). In Bezug auf den Muskel zeigen transgene Mäuse mit einer Überexpression von GDF-15 eine Resistenz auf eine durch Überdruck induzierte kardiale Hypertrophie. Vermehrt zirkulierendes GDF-15 limitiert die kardiale Muskelfaserhypertrophie zusammen mit einer vermehrten Smad2/3-Aktivierung. Bei Unterdrückung des GDF-15 in Mäusen wurde eine kardiale Hypertrophie mit dem Verlust der kardialen Funktion im Vergleich mit Wildtyp-Mäusen festgestellt (Xu et al., 2006). Bei Patienten, bei denen es nach einer Herzoperation zur Atrophie des Quadrizeps kam, waren die Serum-Werte von GDF-15 erhöht (Bloch et al., 2013). Auch konnten bei intensiv betreuten, schwachen Patienten erhöhte GDF-15-Werte im Blut und im Muskel gemessen werden (Bloch et al., 2015). In Zusammenhang mit Krebs scheint GDF-15 eher negativ zu wirken (Corre, Hébraud & Bourin, 2013). GDF-15 steht somit in direktem Zusammenhang mit Muskelabbau, wenngleich die genauen Mechanismen noch unklar sind. In C2C12 Skelettmuskelzellen konnten durch GDF-15 die MuRF-1- und Atrogin-mRNA-Expression induziert werden (Bloch et al., 2015). Xu et al. (2006) beschreiben eine Aktivierung von Smad2/3 in Kardiomyozyten gemeinsam mit einer geringen Aktivierung von Akt. Eine Aktivierung von Akt konnte auch in Brust und Krebszellen entdeckt werden (Kim et al. 2008).

#### 1.2.6.1 GDF-15 und Training

Bezüglich des Einflusses von körperlicher Aktivität und Sport auf GDF-15 sind bisher wenige Studien vorhanden, deren Ergebnisse zum Teil kontrovers sind.

Sanchis-Gomar et al. (2013) werteten die Blutkonzentrationen von GDF-15 bei Fußballspielern nach einem Match aus und fanden im Vergleich zu den Werten vor dem

Spiel erhöhte GDF-15-Spiegel. Galliera et al. (2014) untersuchten Eliterugbyspieler und konnte nach einer intensiven Trainingseinheit vermehrt GDF-15 im Blut messen.

Eine Ausdauertrainingsintervention von sechs Wochen bei Patienten nach einer Stentimplantation führte zu keinen Veränderungen im Plasma GDF-15 (Munk et al. 2011).

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 8 zu sehen.

**Tabelle 8** Überblick der Trainingsstudien von GDF-15

Studie	Messort	Veränderung	Trainingsmethode	Zeitraum
Munk et al. (2011)	Blut	keine Veränderung	Ausdauertraining	6 Wochen
Sanchis-Gomar et al. (2013)	Blut	Erhöhung	Footballmatch	einmalig
Galliera et al. (2014)	Blut	Erhöhung	Rugbyspieler	einmalig

### 1.2.6.2 Altersbedingte und geschlechtsspezifische Unterschiede bei GDF-15

Wie die nachfolgenden Studien zeigen, scheinen die GDF-15 im Blut mit dem Alter zu steigen.

Hofmann et al. (2015) konnten einen höheren GDF-15 Blutwert bei älteren Frauen (65-92 Jahre) in Vergleich zu jüngeren Frauen (18-22 Jahre) messen und stellte fest, dass GDF-15 mit dem Alter positiv und mit der Muskelmasse negativ korreliert.

Eggers et al. (2013) untersuchten die GDF-1-Blutkonzentration von älteren Menschen im Alter von 70 und 75 Jahren. Die Konzentration stieg um 11% über die Jahre und konnte die Gesamtmortalität vorhersagen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Daniels et al. (2011), der 30- bis 79-Jährige auf die Konzentration von GDF-15 im Blut untersuchte und eine Erhöhung der Konzentration mit dem Alter feststellte. Außerdem wurde eine höhere GDF-15-Konzentration eher mit Männern, Aspirineinnahme, Hypertonie und Diabetes in Zusammenhang gebracht. Des Weiteren war GDF-15 ein Indikator für eine höhere Gesamt-, kardiovaskuläre und nicht-kardiovaskuläre Mortalität.

Bei Daniels et al. (2011) wiesen ältere Männer (59-81 Jahre) höhere Blutwerte von GDF-15 auf als Frauen. Ho et al. (2012) belegten den positiven Zusammenhang zwischen dem Alter und GDF-15. Einen geschlechter-spezifischen Unterschied konnten die Autoren nicht feststellen.

Ein Überblick der Studien ist in Tabelle 9 zu sehen.

**Tabelle 9** Überblick der Studien von GDF-15 im Altersverlauf

Studie	Messort	Resultat
Daniels et al. (2011)	Blut	mehr
Eggers et al. (2013)	Blut	mehr
Ho et al. (2015)	Blut	mehr
Hofmann et al. (2015)	Blut	mehr

### 1.3 Muskelbiopsien und Blutabnahmen im Vergleich

Aufgrund der Funktion der vorgestellten Proteine in der Muskulatur, könnten diese auch als Biomarker für Sarkopenie dienen. Die Health Biomarkers Definitions Working Group (2001) definiert einen Biomarker als „*a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses*“ (in Lippi, Sanchis-Gomar & Montagnana, 2014, S.2). Biomarker haben mehrere Aufgaben: neben diagnostischen Untersuchungen und Identifikation von PatientInnen mit gewissen pathologischen oder abnormalen Zuständen, werden Biomarker auch verwendet, um das Krankheitsstadium zu ermitteln, eine Prognose zu stellen und die Wirkung einer Therapie zu verfolgen (Lippi, Sanchis-Gomar & Montagnana, 2014). Ein Biomarker kann zum Beispiel der Puls, Blutdruck oder Testungen an Blut und anderen Geweben sein (Strimbu & Tavel, 2010). Meistens wird die Blutkonzentration der Biomarker zur Feststellung verschiedener körperlicher Zustände verwendet (Lippi, Sanchis-Gomar & Montagnana, 2014).

Einige Zytokine stehen in Zusammenhang mit bestimmten Erkrankungen. So kennzeichnet zum Beispiel ein erhöhter Serumspiegel des Tumor-Nekrose-Faktors (TNF)- $\alpha$  sowie von IL-1 und IL-6 chronisch-inflammatorische Erkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Morbus Crohn oder Psoriasis (Ahrens, Schiltenwolf & Whan, 2012).

Auch für Sarkopenie könnten einige Proteine als Biomarker dienen, um eine schnelle und einfache Diagnose von Sarkopenie sicherstellen zu können. Kalinkovich und Livshits (2015) schlagen dazu Proteine vor, die einen signifikanten Effekt auf die verschiedenen Aspekte von Muskelwachstum und -funktion haben. Neben IL-6 als inflammatorisches Zytokin wurden hier hauptsächlich Proteine gewählt, die negative oder positive Regulatoren des Muskelwachstums darstellen. Zu den negativen Regulatoren zählen Myostatin, TGF- $\beta$ , Activin A und B und GDF-15. Zu den positiven Regulatoren zählen Follistatin, Bone Morphogenetic Proteins (BMPs), Irisin und Brain-derived Neurotrophic Factor (BDNF) (Kalinkovich & Livshits, 2015). Aber auch IGF-1 steht in Zusammenhang mit Muskelauf- und -abbau (Léger et al., 2008, Taekema et al., 2011; Cruz-Jentoft et al. 2010) und sollte daher

auch als möglicher Biomarker für Sarkopenie in Erwägung gezogen werde. Aufgrund der Funktion dieser Faktoren das Muskelwachstum zu beeinflussen, spielen diese Proteine eine wichtige Rolle bei der Erforschung von Sarkopenie. Einerseits könnten die Proteine zur Diagnose von Sarkopenie beitragen, andererseits könnten durch das Verstehen der Wirkungsweise Gegenmaßnahmen gesetzt werden (Kalinkovich & Livshits, 2015).

Die vorliegende Studie konzentriert sich daher hauptsächlich auf die Wachstums- und Abbaufaktoren Myostatin, Follistatin, Activin A, GDF-15 und IGF-1, da diese maßgeblich bei der Regulierung der Muskelmasse beteiligt sind und in Verbindung mit Sarkopenie stehen. Die genaue Rolle dieser Proteine in Zusammenhang mit Sarkopenie ist jedoch aufgrund der Studienlage noch nicht endgültig geklärt.

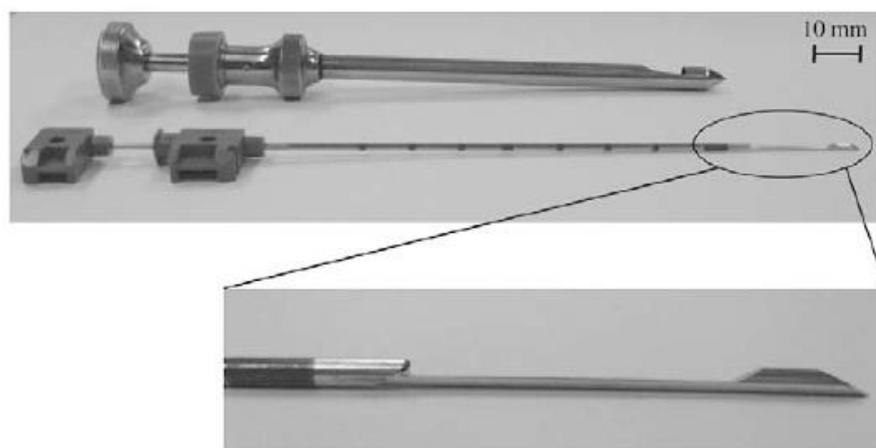
Auffällig bei den vorgestellten Studien, die die Auswirkungen eines Training auf die untersuchten Parameter betrachteten oder die Parameterkonzentration im Verlauf des Alterungsprozesses analysierten, ist, dass in der Methodik einerseits die Konzentration im Blut gemessen wurde, andererseits bei manchen Studien Muskelbiopsien angewendet wurden, um die Mengen der mRNA-Expressionen im Muskel zu analysieren.

Da es sich bei den untersuchten Parametern um Proteine handeln, die auch den Muskel beeinflussen bzw. von diesem ausgehen und sie auch in diesen Zusammenhang erforscht wurden, ist es von Bedeutung, ob eine Veränderung der Genexpression im Muskel stattfindet. Dies lässt sich mit einer Muskelbiopsie untersuchen. Da dies eine relativ invasive Methode darstellt, werden für eine breite Anwendung am Menschen Untersuchungen aus dem Blut vorgezogen (Bloch, 2007).

Doch spiegelt das Blut wirklich die Stoffwechselsituation im Muskel wieder? Bei den wenigen Studien, die die Veränderungen sowohl im Muskel als auch im Blut dokumentieren, kamen die Autoren teilweise zu unterschiedlichen Ergebnissen. Bei Kim et al. (2007) und Hambrecht et al. (2005) kam es nach einem Training im Muskel bei Myostatin bzw. IGF-1 zu einer Veränderung, im Blut konnte jedoch keine Veränderung festgestellt werden. Hansen et al. (2011) wiederum konnten eine Veränderung der Follistatin-Konzentration im Blut nicht mit einer Veränderung im Muskel bestätigen. Auch Bamman et al. (2001) kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen: nach exzentrischen Kraftübungen konnte eine signifikant erhöhte IGF-1-Expression gemessen werden, im Blut konnte keine Unterschied festgestellt werden. Allerdings konnte nach konzentrischen Kraftübungen ein Trend zu vermehrter IGF-1-Expression erkannt werden, der sich auch im Blut zeigte. Willoughby (2004) und Diel et al. (2010) kamen andererseits zu übereinstimmenden Ergebnissen im Blut und in der Muskulatur.

Obwohl Muskelbiopsien von großer Bedeutung sind, um die Vorgänge im Muskelgewebe zu beschreiben, kommen Muskelbiopsien trotzdem nicht immer zum Einsatz. Grundsätzlich gibt

es verschiedene Arten von Muskelbiopsien: am häufigsten kommt die Technik nach Bergström zum Einsatz, als Alternative werden noch andere perkutane Biopsien verwendet. Es handelt sich bei beiden um halboffene Biopsien, bei denen es einen 5-10 mm langen Hauteinschnitt mit lokaler Anästhesie benötigt. Dennoch wird dies oft als schmerzhaft empfunden und es besteht das Risiko einer Entzündung. Muskelbiopsien werden daher auch von StudienteilnehmerInnen nicht immer akzeptiert (Hayot et al., 2005; Isner-Horobeti et al. 2014). Um den Eingriff weniger invasiv zu gestalten, wurden dünnere Biopsienadeln entwickelt, bei denen es keinen vorangegangenen Hautschnitt benötigt. Diese Biopsieart wird „Microbiopsie“ genannt, jedoch wird durch die dünnere Nadel auch weniger Probenmaterial entnommen. Da diese Methode noch nicht so oft zum Einsatz gekommen ist, muss erst überprüft werden, ob auch mit dieser geringen Probenmenge die Analyse der genauen Komponenten der Skelettmuskulatur, wie Fasertyp, -länge, -zahl, -volumen, Enzymaktivität und Produkte der mitochondrialen Atmungsrate ausreichend ist (Isner-Horobeti et al. 2014). Für den Vergleich einer Bergströmnadel und einer Microbiopsienadel siehe Abbildung 4.



**Abbildung 4** Bergströmnadel (Durchmesser 6,0 mm) (oben) im Vergleich mit einer Microbiopsienadel (Durchmesser 1,4 mm) (unten)(Tobina et al. 2008, S.253)

Ein Problem bei Muskelbiopsien ist auch, dass kurz hintereinander wiederholte Muskelbiopsien den Stoffwechsel und somit die Resultate beeinflussen. Guerra et al. (2011) führten Muskelbiopsien beim gleichem Hautschnitt durch und konnten eine erhöhte IL-6-mRNA messen, wenn auch die gleiche Einstichstelle im Muskel verwendet wurde. Van Thienen et al. (2014) führten zwei Muskelbiopsien auch über denselben Hautschnitt durch, konnten bei diesen unmittelbar hintereinander durchgeführten Biopsien jedoch keine Veränderung bei den 40 getesteten Markern feststellen. Zwei Tage später wurden weitere zwei Muskelbiopsien jeweils 3 cm unterhalb und oberhalb des ersten Hautschnittes durchgeführt und es konnte nun bei 29 der 40 Marker eine Hoch- bzw. Herabregulierung um 50-500% gemessen werden. Diese Veränderungen sind durch die Verletzung des Muskels

zu erklären, was eine Entzündungsreaktion hervorruft, um den Muskel zu regenerieren. Dabei werden Satellitenzellen und die involvierten Signalwege aktiv. Diese Erkenntnis hat vor allem Auswirkungen auf Studien, die durch Muskelbiopsien, den Effekt eines Trainings analysieren wollen und Veränderungen in bestimmten Markern feststellen, denn diese könnten auch Artefakte durch eine wiederholte Muskelbiopsie sein.

Wegen dieser Problematiken von Muskelbiopsien, wird häufig auf die Entnahme von Blut und dessen Analyse zurückgegriffen. Es kann auch bei niedermolekularen Stoffwechselmetaboliten eine Anreicherung in Abhängigkeit der Stoffwechselsituation im Blut erwartet werden und diese sind auch gut nachzuweisen (Bloch, 2007). Da jedoch viele der Proteine auch in anderen Geweben vorkommen, kann man nicht per se sagen, dass eine Veränderung der Konzentration im Blut ausschließlich vom Muskel ausgehend ist. Da sich Biopsiemöglichkeiten von anderen Geweben beim Menschen begrenzt halten, werden solche Experimente meist an Tieren durchgeführt. Hansen et al. (2011) zeigten in einem Experiment mit Mäusen, dass sich nach einer Stunde Schwimmen die Follistatin-Werte sowohl im Blut als auch im Muskel erhöhten. Es wurde die Annahme aufgestellt, dass aufgrund einer signifikant erhöhten Follistatin-mRNA-Expression in der Leber, die Biomarker im Blut ursprünglich von dort ausgesendet wurden. Trotzdem könnte ein Zusammenhang zwischen der Menge im Blut und im Muskel bestehen.

Ein Problem könnte auch die Nachweisbarkeit von manchen Biomarkern im Blut sein. Der Biomarker b Myosin Heavy Chain slow (b-MHC slow), der zwar im Muskelgewebe gemessen werden konnte, ist etwa im Blut nicht auffindbar (Tobina et al., 2005).

#### **1.4 Zielsetzung**

Als eine der Ursachen von Sarkopenie wurde eine überproportionalen Abnahme der Proteinsynthese bzw. eine Erhöhung des Proteinabbaus in der Skelettmuskulatur (Léger et al., 2008) identifiziert. In diesem Zusammenhang stehen die Wachstums- und Abbaufaktoren Myostatin, Activin A, Follistatin, IGF-1 und GDF-15 gemeinsam mit dem Activin Typ II-Rezeptor. Diese wurden als Biomarker für die Diagnose von Sarkopenie vorgeschlagen. (Kalinkovich & Livshits, 2015). Verschiedene Studien ergaben unterschiedliche Ergebnisse bezüglich zirkulierender Werte und der muskulären mRNA-Expressionen der Parameter im Altersverlauf. Weiters wurden geschlechterspezifische Unterschiede bei den Parametern bis jetzt nur dürftig abgehandelt, weshalb sich diese Arbeit auch damit beschäftigen wird.

Blutabnahmen sind weniger invasiv und unkomplizierter durchzuführen als Muskelbiopsien und Blutwerte werden daher häufiger für die Analyse von Biomarkern in Studien verwendet, um auf Veränderungen im Muskel schließen zu können. Jedoch wurden Diskrepanzen bei

den mRNA-Expressionen mit den zirkulierenden Werten nach körperlicher Aktivität festgestellt, wodurch Zweifel an einer bedeutenden Sekretion der Parameter in den Blutstrom auftreten. Blutbasierende Parameter spiegeln daher möglicherweise nicht die Situation der Proteine in der Muskulatur wider, sondern werden von anderen Geweben sekretiert, was deren Bedeutsamkeit für die Diagnose von Sarkopenie beeinträchtigen könnten.

Das Hauptziel dieser Arbeit ist daher die muskuläre mRNA-Expression von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin, GDF-15 und ACVR2B mit den zirkulierenden Werten von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin und GDF-15 zu vergleichen.

## **1.5 Fragestellung**

Aus der Zielsetzung ergeben sich folgende Fragestellungen:

- Gibt es Unterschiede bei den Parametern zwischen Männern und Frauen?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Alter und Muskelparametern?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der muskulären mRNA-Expression von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin, GDF-15 und ACVR2B und den zirkulierenden Werten von IGF-1, Myostatin, Activin A, Follistatin und GDF-15?

## **1.6 Vorgangsweise**

Diese Studie wurde im Rahmen der Forschungsplattform „Active Ageing“ der Universität Wien durchgeführt. Die Forschungsplattform beschäftigte sich mit den Auswirkungen von Krafttraining und Nahrungsergänzung auf die körperliche Leistungsfähigkeit und das Wohlbefinden älterer Menschen in Pensionisten-Wohnhäusern. In diesem Zusammenhang wurden auch Blutabnahmen und Muskelbiopsien bei den Teilnehmern/Teilnehmerinnen durchgeführt. Die Baseline-Daten wurden für diese Masterarbeit verwendet.

## 2 METHODIK

---

Die Forschungsplattform „Vienna Active Ageing Study“ (VAAS; Studienregistrierungsnummer: NCT01775111) wurde vom Institut für Sportwissenschaft und dem Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Wien initiiert und in Kooperation mit dem Kuratorium Wiener Pensionisten-Wohnhäuser durchgeführt.

### 2.1 StudienteilnehmerInnen

Diese Studie wurde mit BewohnerInnen aus 5 von 31 Wohnhäusern des KWP durchgeführt. Die Auswahl der Häuser wurde von örtlichen Begebenheiten (Turnsaal, Ärztezimmer, Größe, ...) und dem Entgegenkommen der Leitung beeinflusst. An der Studie nahmen 117 Frauen und Männer mit einem durchschnittlichen Alter 83,9 Jahren aus folgenden Wohnhäusern teil:

- Haus Am Mühlengrund, Breitenfurter Straße 269-279, 1230 Wien
- Haus Atzgersdorf, Gatteredererstraße 12, 1230 Wien
- Haus Tratzerberg Schrutkagasse 63, 1130 Wien
- Haus Hohe Warte, Hohe Warte 8, 1190 Wien
- Haus Leopoldau, Kürschnergasse 10, 1210 Wien

Vor Studienbeginn wurde die Studie den BewohnerInnen der Wohnhäuser bei einer der wöchentlich stattfindenden Morgenbesprechungen vorgestellt und so mit potentiellen TeilnehmerInnen Kontakt aufgenommen. Unmittelbar nach der Morgenbesprechung und auch in der darauffolgenden Woche konnten sich interessierte Personen in eine Liste an der Rezeption eintragen. Nach einer Woche fand eine weitere Informationsveranstaltung für diese engere Personenauswahl statt, wo das Studiendesign detaillierter erklärt, offene Fragen geklärt und Ein- und Ausschlusskriterien aufgezählt wurden. Im Anschluss dieser Veranstaltung folgten terminlich fixierte Einzelgespräche, um die Probanden auf die Ein- und Ausschlusskriterien zu überprüfen (Magdics, 2013).

#### 2.1.1 Einschlusskriterien

Für diese Studie durfte ein vorgegebenes Mindestalter von 65 Jahren nicht unterschritten werden. Da in der Studie „Active Ageing“ neben den Blutabnahmen und Muskelbiopsien auch die Auswirkung eines angeleiteten Krafttrainings untersucht wurde, musste ein ausreichendes Maß an geistiger und körperlicher Fitness vorherrschen. Für ausreichende

kognitive Fähigkeiten, mussten die TeilnehmerInnen den *Mini Mental State Test* (Folstein, Folstein, & McHugh, 1975) mit mehr als 23 Punkten und einen *Uhrentest* bestehen.

Außerdem mussten sie bei der Short Physical Performance Battery (SPPB) (Vasunilashorn et al., 2009) mindestens sechs Punkte erreichen. Der Test besteht aus drei Teilbereichen: dem *Balance Test*, dem *Gait Speed Test* und dem *Chair Stand Test* (Magdics, 2013).

### 2.1.2 Ausschlusskriterien

Auch die Ausschlusskriterien wurden durch die erweiterte Active Ageing Studie beeinflusst: Die TeilnehmerInnen, die zu einem späteren Zeitpunkt auch eine Trainingstherapie durchführten, durften nach Empfehlung der American Heart Association (AHA) keine chronische Erkrankungen, die eine Trainingstherapie kontraindizierten, und keine schwerwiegende kardiovaskuläre Krankheiten, wie hochgradige oder symptomatische Aortenstenosen, dekompensierte, chronische Herzinsuffizienz, instabile Angina Pectoris, nicht behandelte arterielle Hypertonie und Herzrhythmusstörungen, aufweisen (Williams et al., 2007).

Eine manifeste Osteoporose und diabetische Retinopathie zählten ebenso wie die regelmäßige Einnahme von cortisonhaltigen Medikamenten oder Antikoagulantia über einen längeren Zeitraum zu den Ausschlusskriterien. Die Teilnehmer und Teilnehmerinnen waren untrainiert, d.h. sie sollten in einem Zeitraum von sechs Monaten vor Beginn der Studie kein regelmäßiges Krafttraining (>1x / Woche) durchgeführt haben (Magdics, 2013).

### 2.1.3 Einverständniserklärung

Um das Aufnahmeverfahren abzuschließen, wurde von den TeilnehmerInnen eine Einverständniserklärung unterzeichnet, die ein Einverständnis für die Voruntersuchung und die Teilnahme an der gesamten Studie mit Folgetraining und -untersuchung beinhaltet. Alle Untersuchungen (z.B. Tests der geistigen und körperlichen Leistungsfähigkeit, Blutabnahme und Muskelbiopsie) wurden extra aufgelistet und mussten explizit angekreuzt werden. Danach erfolgte eine vorläufige Aufnahme in die Studie (Magdics, 2013).

### 2.1.4 Ethische Überlegungen

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Stadt Wien positiv evaluiert. Die TeilnehmerInnen wurden ausreichend über das Ziel der Studie und etwaige Risiken informiert und ihr Einverständnis eingeholt. Die Daten wurden außerdem streng vertraulich

und anonymisiert behandelt, weshalb nur ausgewählte Personen der Universität Wien Zugang zu den Daten hatten (Magdics, 2013).

## **2.2 Testmethoden**

### **2.2.1 Anthropometrische Datenerhebung**

Das Gewicht der Probanden wurde barfuß und leicht gekleidet bis zu 0,1 kg genau mit einer digitalen Waage (BWB 700, Tanita, Amsterdam, Niederlande) gemessen. Die Größe wurde im Stehen ohne Schuhe mit einem Stadiometer (Seca, Hamburg, Deutschland) bis zu 0,5 cm genau gemessen. Der Body Mass Index (BMI) wurde berechnet, indem das Körpergewicht (kg) durch die Körpergröße (m) zum Quadrat dividiert wurde.

Um die Muskelmasse und Fettmasse zu ermitteln, kam eine Bioelektrische Impedanz Analyse (BIA) zur Anwendung. Die Messung wurde morgens nüchtern mit einem BIA Analyser 2000-S (Data-Input GmbH, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt.

### **2.2.2 Analyse des Serums mittels ELISA**

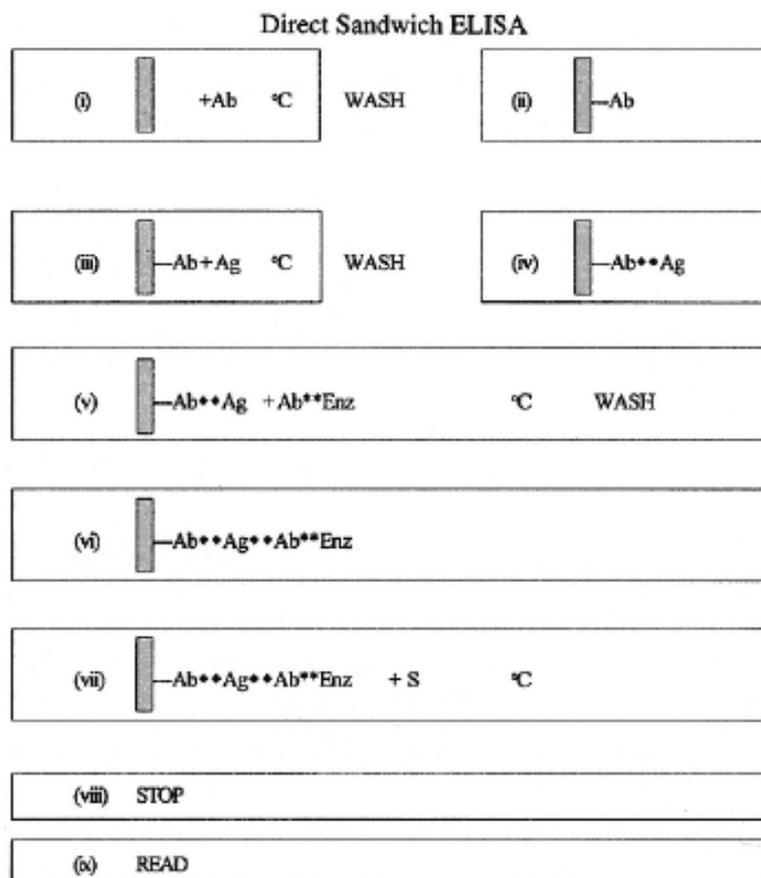
Die Blutproben wurden zwischen 06:30 und 08:00 nüchtern abgenommen. Um 8 ml venöses Blut zu entnehmen, wurde ein Z Serum Sep Clot Activator Entnahmeröhrchen (Vacuette, Kremsmünster, Österreich) verwendet. Die Proben wurden 30-90 Minuten nach der Entnahme für 10 Minuten bei 3000 x g zentrifugiert und das Blutserum für weitere Analysen bei -80°C eingefroren.

Es wurde mit den Blutproben ein ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assays) für die Blutparameter Myostatin (Immundiagnostik, Bensheim, Deutschland, K1012), Follistatin (R&D Systems, Abingdon, UK, DFN00), Activin A (R&D Systems, Abingdon, UK, DY338), GDF-15 (R&D Systems, Abingdon, UK, DY957) und IGF-1 (Mediagnost, Reutlingen, Deutschland, E20) nach dem Herstellerprotokoll durchgeführt. Die spektralphotometrischen Messungen wurden mit dem 1420 Multilabel Counter (Victor3, Perkin-Elmer, MA, US) durchgeführt.

Da für jeden Blutparameter geeignete Antikörper verwendet wurden, musste für jeden Blutparameter ein eigener Kit verwendet werden, die sich je nach Hersteller und Blutparameter im Prozedere ein wenig unterschieden. Die Proben wurden vor der Messung ELISA aufgetaut und mit 1000 x g für 10 Minuten zentrifugiert, um Cryoproteine zu entfernen.

### 2.2.2.1 Activin A und GDF 15

Hier wurde ein Sandwich-ELISA verwendet. Bei einem Sandwich-ELISA wird eine Mikrotiterplatte mit einem Antikörper, der nur mit einem spezifischen Blutparameter bindet, gecoatet (siehe Abbildung 5 i-ii). Es werden Standardreihen zu Kontrolle und die Proben in die Vertiefungen pipettiert und nur der entsprechende Blutparameter bindet an den Antikörper (iii). Danach folgt ein Waschvorgang, um ungebundene Substanzen zu entfernen und es werden mit einem Enzym markierte Antikörper hinzugefügt, die an den bereits fixierten Blutparameter binden (iv-vi). Hiervon kommt auch der Name Sandwich. Freie, ungebundene Antikörperenzyme werden bei einer weiteren Spülung herausgewaschen und ein Substrat wird in die Vertiefungen pipettiert (vii). Durch die Enzym-Substratreaktion, kommt es zur eine Farbreaktion, die eine Färbung der Lösung bewirkt (viii). Diese ist umso stärker, je höher die Blutparameterkonzentration ist. Nachdem die Verfärbung gestoppt wird, kann die Intensität der Verfärbung gemessen werden (zum Vergleich siehe Abbildung 5) (R&D Systems, 2014).



**Abbildung 5** Prinzip einer Sandwich-ELISA (Crowther 2001, S. 18)

Activin A und GDF-15 wurden mit Kits des gleichen Herstellers und daher nach diesem Herstellerprotokoll bearbeitet. Zuerst wurden die Microtiterplatte vorbereitet. Bevor mit dem Assay begonnen wurde, wurden 100  $\mu\text{l}$  von den in PBS verdünnten Capture-Antikörpern in

die Vertiefungen pipettiert und über Nacht bei Raumtemperatur 150 rpm (revolutions per minute) inkubiert. Die Antikörper hafteten nun am Boden der Mikrotiterplatte, lose Antikörper wurden weg gewaschen, indem dreimal 400 µl Waschpuffer in jeder Vertiefung hinzugefügt wurde. Der Waschpuffer wurde danach verworfen. Danach wurden 300 µl Blocking-Puffer in jede Vertiefung pipettiert und für eine Stunde bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend wurden wieder drei Waschgänge durchgeführt. Dadurch wurden Stellen am Boden der Platte, die nicht von Antikörper bedeckt waren, blockiert, um zu verhindern, dass sich im weiteren Prozedere andere Moleküle anlagern und so das Ergebnis verfälschen.

Dann begann die Assay-Prozedur, die für Activin A und GDF-15 gleich war und sich nur in der Antikörperlösung, die speziell für die Blutparameter abgestimmt war, und in einem einzigen Schritt unterschied. 100 µl verdünnten Standardreihen (Activin A 500-7,81 pg/ml; GDF-15 500-7,81 pg/ml) bzw. verdünnten Proben (1:8) wurden in die Vertiefungen pipettiert. Für die Bearbeitung von Activin A wurde noch 100 µl verdünnter Harnstoff pro Vertiefung hinzugefügt und vermischt, was eine Flüssigkeitsmenge von 200 µl ergab. Die Platte wurde dann für zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Danach wurde die Platte, wie bei den Vorbereitungen, dreimal mit 400 µl Waschpuffer in jeder Vertiefung gewaschen und zum Schluss wurde die Flüssigkeit wieder verworfen. Die Blutparameter hatten sich nun an die Antikörper gebunden, Ungebundenes wurde rausgespült. 100 µl von den mit Reagenzlösung verdünnten Detektions-Antikörpern wurde in jede Vertiefung pipettiert und mit Streifen abgedeckt und für 2 Stunden stehen gelassen. Die Detektions-Antikörper hatten sich nun an die Blutparameter gebunden, lose Detektions-Antikörper wurden anschließend wie zuvor durch drei Waschgänge entfernt. Es wurden 100 µl von dem Konjugat Streptavidin-HRP in jede Vertiefung hinzugefügt und die abgedeckte Platte für 20 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und wieder dreimal gewaschen. Das Konjugat hatte sich nun an die obersten Antikörper gebunden, damit es in weiterer Folge mit dem Substrat zu einer Farbreaktion kommt. Es folgten 100 µl der Substratlösung für jede Probe, die Platte wurde anschließend wieder 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert, die Verfärbung der Flüssigkeit wurde hiermit gestartet. In jede Vertiefung wurden 50 µl von der Stopplösung hinzugefügt und vermischt.

Diese Mischung wurde nun im Mikrotiterplattenphotometer bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.

#### *2.2.2.2 Follistatin*

Auch hier wurde das Prinzip der Sandwich-ELISA angewendet, die Mikrotiterplatte wurde hier schon vom Hersteller vorbereitet. Nachdem die Verdünnung der Proben (1:10) und Standardreihe (16 000-250 pg/ml) vorbereitet wurde, wurde 100 µl Assay-Lösungsmittel RD1-8 und 100 µl der verdünnten Proben und Standards in jede Vertiefung pipettiert. Die

Blutparameter banden sich nun an die Antikörper. Nachdem die Platte abgedeckt wurde, wurden die Proben bei 2-8°C für drei Stunden inkubiert. Der Flüssigkeit wurde anschließend verworfen und die Vertiefungen mit 400 µl Waschpuffer viermal gewaschen, nach dem letzten Waschvorgang wurde der Waschpuffer verworfen. Dann wurden 200 µl der kalten Follistatin-Antikörper in jede Vertiefung hinzugefügt und die Platte abgedeckt, um die Platte bei 2-8 °C für zwei Stunden ruhen zu lassen, wodurch sich nun die Antikörper wiederum an die Follistatin-Moleküle banden. Danach wurde die Platte wie zuvor viermal gewaschen und nach diesem Schritt wurde 200 µl Substratlösung zu jeder Probe hinzugefügt. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten, wurde 50 µl der Stopplösung hinzugefügt, die Farbe der Flüssigkeit wechselte nun von blau zu gelb.

#### ASSAY PROCEDURE SUMMARY

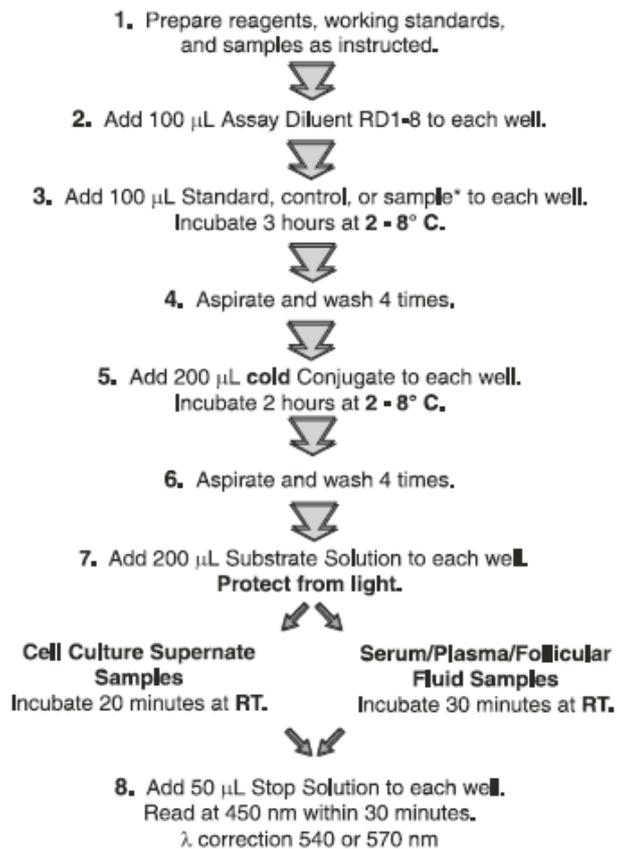


Abbildung 6 Shortprotocol für Follistatin (R&D Systems, 2014)

Diese Mischung wurde nun im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gemessen.

Eine Zusammenfassung des Prozederes ist in

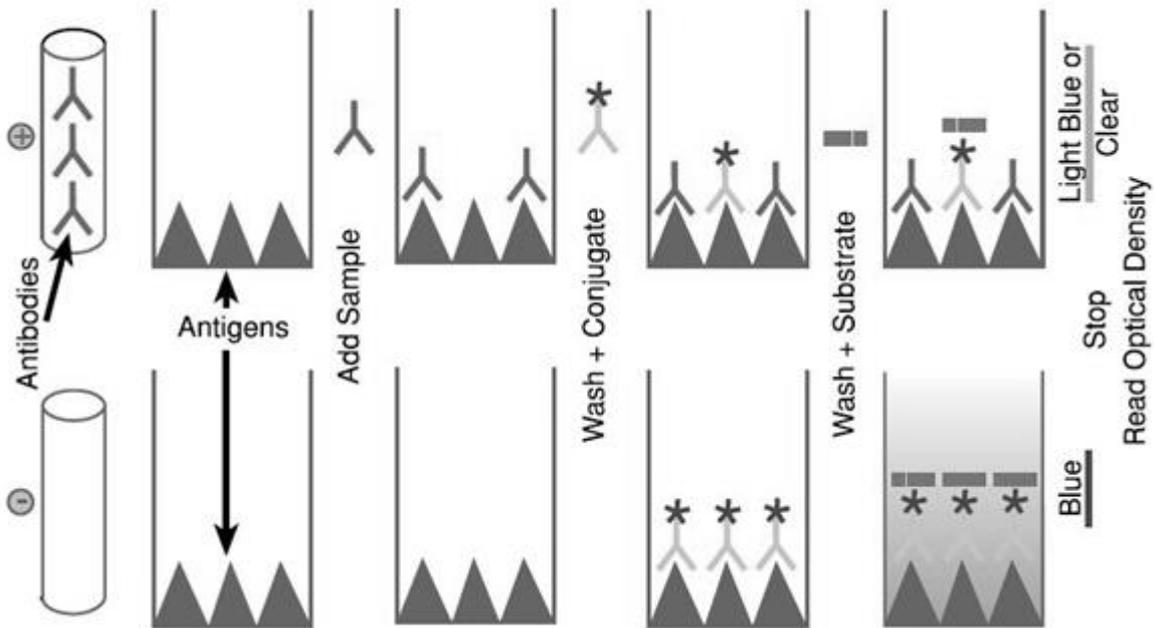
Abbildung 6 zu sehen.

### 2.2.2.3 IGF-1

Auch dieser Kit geht nach dem Prinzip der Sandwich-ELISA vor und auch hier hat der Hersteller die Mikrotiterplatte schon mit dem Antikörper bedeckt geliefert. Zuerst wurden 80 µl der IGF-Antikörper in alle Vertiefungen pipettiert. Anschließend wurden 20 µl der verdünnten Standardreihe (50-2 ng/ml) und verdünnten Proben (1:10) in die Vertiefungen hinzugefügt, abgedeckt und für eine Stunde bei Raumtemperatur (20-25°C) mit 350 rpm inkubiert. Die Blutparameter binden nun an die an die Platte gehefteten Antikörper und die hinzugefügten Antikörper an den Blutparameter. Lose Komponenten wurden fünf Mal mittels 300 µl Waschpuffer pro Vertiefung rausgewaschen. Danach wurden 100 µl des Enzymkonjugats hinzugefügt und dann für 30 Minuten bei Raumtemperatur mit 350 rpm geschüttelt. Dann wurde wieder fünf Mal mit dem Waschpuffer gespült, anschließend wurden 100 µl Substratlösung in jede Vertiefung pipettiert und für 15 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Farbreaktion wurde mit 100 µl Stopplösung unterbunden. Nun wurde die Konzentration im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm gemessen (Mediagnost, 2014).

### 2.2.2.4 Myostatin

Der Kit, mit dem der Blutparameter Myostatin nachgewiesen wurde, basierte auf dem Prinzip des kompetitiven ELISAs. Hierbei bedecken Antikörper die Mikrotiterplatte, an die der Blutparameter binden kann. In die Vertiefungen werden danach die Proben und Standards pipettiert und in jede Vertiefung auch ein Tracer hinzugefügt. Der Blutparameter bindet an den Antikörper und auch der Tracer bindet sich an die freien Stellen der Antikörper. Ein Konjugat wird hinzugefügt, der an den Tracer bindet, und anschließend werden ungebundene Komponenten durch einen Waschvorgang entfernt. Ein Substrat wird hinzugefügt und eine Enzymreaktion findet statt. Anschließend wird durch eine Stopplösung die Enzymreaktion gestoppt und ein Farbumschlag findet statt. Mittels eines Mikrotiterplattenphotometer wird nun die Konzentration der Tracer gemessen, was bedeutet, dass je niedriger das Signal und damit die Konzentration der gebundenen Tracer, desto höher ist die Konzentration des Blutparameters, der untersucht wird (Immundiagnostik, 2014).



**Abbildung 7** Graphische Darstellung einer kompetitiven ELISA; oben: Darstellung des Verfahrens bei vorhandenen Parametern; unten: Darstellung des Verfahrens ohne die zu untersuchten Parameter (<http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-types/competitive-elisa>)

Die Mikrotiterplatte wurde hier schon vom Hersteller mit Myostatin spezifischem Antikörper bedeckt. Von der Serumprobe wurde 20 µl in ein 1,5 ml Reaktionsgefäß pipettiert und 180 µl Waschpuffer, hinzugefügt und gut durchmischt. Dazu wurde noch 200 µl verdünnter Myostatin-Tracer hinzugefügt. Das gleiche Prozedere wurde für die Standardproben wiederholt.

Als nächstes wurden 100 µl von der insgesamt 400 µl Serumproben- und Standardprobenmischung in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettiert. Die Vertiefungen wurden mit Streifen abgedeckt und für zwei Stunden unter Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert. Die Blutparameter und der Myostatin-Tracer hatten sich nun an den Antikörper gebunden. Der Inhalt der Platte wird verworfen und fünf Mal mit je 250 µl Waschpuffer gewaschen und die Platte nach der letzten Waschung auf ein saugfähiges Papier ausgeschlagen. Anschließend wurde 100 µl verdünntes Konjugat (Streptavidin-markierte Peroxidase) in jede Vertiefung pipettiert. Die Platte wurde wieder abgedeckt und bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubiert. Danach kam wieder der gleiche Waschvorgang: die Platte wurde fünf Mal mit je 250 µl Waschpuffer gewaschen und nach dem letzten Waschen auf ein saugfähiges Papier ausgeschlagen. 100 µl vom Substrat Tetramethylbenzidin wurden dann in jede Vertiefung pipettiert und für 10-20 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, um danach 100 µl von der Stopplösung in jede Vertiefung hinzuzufügen und die Flüssigkeiten gut durchzumischen. Es erfolgte ein Farbumschlag von blau nach gelb. Diese Mischung wurde nun im Mikrotiterplattenphotometer bei 450 nm.

Eine Zusammenfassung des Prozederes ist in Abbildung 8 zu sehen.

1.	<b>100 µl</b> der vorbehandelten <b>STD (Standards), CTRL (Kontrollen) oder Proben</b> (entsprechendes Vorinkubat) in die Vertiefungen pipettieren.
2.	Streifen abdecken und <b>2 Stunden</b> bei Raumtemperatur (15-30°C) unter Schütteln inkubieren.
3.	Inhalt der Platte verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen.
4.	<b>100 µl verdünntes CONJ</b> (Konjugat) pro Vertiefung pipettieren.
5.	Streifen abdecken und <b>1 Stunde</b> bei Raumtemperatur (15-30°C) unter Schütteln inkubieren.
6.	Inhalt der Platte verwerfen und <b>5 x mit je 250 µl Waschpuffer</b> waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf saugfähigem Papier ausschlagen.
7.	<b>100 µl SUB</b> (Substrat) pro Vertiefung pipettieren.
8.	<b>10 - 20 Minuten*</b> bei Raumtemperatur (15-30°C) inkubieren.
9.	<b>100 µl STOP</b> (Stopplösung) pro Vertiefung pipettieren, kurz mischen.
10.	<b>Extinktion sofort</b> im Mikrotiterplattenphotometer bei <b>450 nm</b> gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Ist keine Referenzwellenlänge vorhanden, wird nur bei 450 nm gemessen. Falls die Extinktion des niedrigsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigt, sollte sofort bei <b>405 nm</b> gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

\* Die Intensität der Farbentwicklung ist temperaturabhängig. Es wird empfohlen den Farbumschlag während der Inkubationszeit zu beobachten und entsprechend der Farbentwicklung die Reaktion zu stoppen.

**Abbildung 8** Shortprotocol für Myostatin (Immundiagnostik, 2014)

### 2.2.3 Analyse der Muskelbiopsien

Die Biopsien wurden mit einer perkutanen Nadelbiopsie nach Bergström (1962) von der mittleren Portion des M. Vastus lateralis beim Mittelpunkt zwischen Patella und dem Trochanter major entnommen. Unter lokaler Anästhesie wurde ein 5 mm großer Einschnitt in die Haut gemacht und anschließend wurde Muskelgewebe mit einer Bergströmnadel von 5 mm Durchmesser bei einer Tiefe von 1-2 cm entnommen.

Nach der Biopsie wurde das Gewebe von Fett, Blut und Bindegewebe befreit und direkt in flüssigem Stickstoff gefroren und bei -80°C bis zur weiteren Analyse gelagert. Es standen im Durchschnitt 44 mg (±24 mg) Muskelgewebe zur Verfügung, die kleinste Menge lag bei 7 mg und die höchste Menge bei 120 mg.

#### 2.2.3.1 Homogenisieren der Proben

Anschließend folgte die Homogenisierung des Muskelgewebes. Bei der Homogenisierung wird das Gewebe mit einer Stahlkugel in einem verschlossenen Röhrchen durch hochfrequentiertes Schütteln zerkleinert.

Dazu wurde von den mit Stickstoff gefrorenen Muskelbiopsien 10-20 mg auf einer XP26 DeltaRange (Mettler Toledo, Columbus, Ohio) abgewogen und in ein 1,2 ml Kryoröhrchen gegeben. Eine rostfreie Stahlkugel wurde in ein 2 ml Mikrozentrifugenröhrchen gegeben und für 29 Minuten bei 125°C autoklaviert. In dem Mikrozentrifugenröhrchen wurden anschließend 700 µl von dem QIAzol Lysis Reagent des miRNeasy Mini Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland, 217004) und dann das gefrorene Muskelgewebe hinzugefügt. Die Proben wurden in den TissueLyser II (Qiagen, Hilden, Deutschland) bei 25 Hz zwei Mal für zwei Minuten mit einer zweiminütigen Pause dazwischen zerkleinert. Die homogenisierten Proben wurden anschließend bei -80 °C eingefroren.

### 2.2.3.2 *Isolation der RNA*

Hierbei wurde der miRNeasy Mini Kit verwendet und es wurde nach dem Protokoll des Herstellers vorgegangen. Im Prinzip wird die RNA von den Muskelbiopsien durch ein QIAzol Lysis Reagent und Zugabe von Chloroform nach Phasentrennung extrahiert. Die RNA wird danach in der Silikonmembran der RNeasy Spin Column gebunden und nach einigen Spülungen in RNase freiem Wasser isoliert.

Nach der Homogenisierung wurden die Proben gelagert und für den Vorgang der Isolierung von RNA für 5 Minuten bei 37°C im Heizblock aufgetaut und danach kräftig geschüttelt, bevor sie anschließend für 5 Minuten bei Raumtemperatur (20°C) ruhten. Nach kurzem abspinnen, wurden die aufgetauten Proben in ein neues 2 ml Bearbeitungsgefäß transferiert und 140 µl Chloroform hinzugefügt. Anschließend wurden die Proben für 20 Sekunden mit 20 Hz TissueLyser II durchmischt und danach für 3 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Proben wurden bei 4°C mit 12 000 x g für 15 Minuten zentrifugiert, wodurch sich drei Phasen bildeten: eine rote Phase, eine mittlere Phase und eine farblose, wässrige Phasen, die nun unter anderem die RNA enthielt. Die wässrige Phase wurde in ein neues 2 ml Mikrozentrifugenröhrchen abgehoben, 525 µl 100% Ethanol hinzugefügt und vermischt. Von dieser Mischung wurden 500 µl in eine RNeasy Spin Column gegeben. Diese wurde dann abzentrifugiert (15 Sekunden, 8000 x g, 25 °C). Nun war die RNA in der Membran der RNeasy Spin Column gebunden und Flow-through wurde verworfen. Dieser Schritt wurde mit der restlichen Ethanol-Mischung wiederholt. Als nächstes wurde die Probe mit 700µl RWT-Puffer in der Zentrifuge gewaschen (15 Sekunden, 8000 x g, 25 °C) und der Flow-through wurde wieder verworfen. Derselbe Vorgang wurde zwei Mal mit 500 µl RPE-Puffer wiederholt. Nach Zentrifugation (2 Minuten, 8000 x g, 25 °C) wurde die RNeasy Spin Column in einem frischen 2 ml Bearbeitungsröhrchen bei maximaler Geschwindigkeit für eine Minuten trocken zentrifugiert. Die RNeasy Spin Column wurde dann wieder in ein neues 1,5 ml Mikrozentrifugenröhrchen gegeben und mit 30 µl RNase-freiem Wasser benetzt. Die Probe wurde bei 8000 x g für 1 Minute zentrifugiert, wodurch die RNA im Wasser gelöst

wurde. Dieser Vorgang wurde ein zweites Mal mit dem abzentrifugierten RNase-freiem Wasser wiederholt.

Die Konzentration der RNA wurde spektralphotometrisch gemessen. Die Quantifizierung der RNA erfolgte durch Spektrophotometrie an einem Nano Drop 1000 bei einer Wellenlänge von 260nm. Die Reinheit der Proben wurde durch die A260/A280 nm Ratio ermittelt, die zwischen 1.8 und 2.1 sein sollte.

### 2.2.3.3 *cDNA*

In diesem Prozess wird mit Hilfe des Enzyms Reverse Transkriptase die isolierte RNA komplementär in einen DNA-Strang umgeschrieben, die cDNA genannt wird. Hierfür wurde das miScript II RT Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland, 218161) verwendet und nach dem Protokoll des Herstellers vorgegangen.

Die gefrorenen RNA-Proben wurden auf Eis aufgetaut und davon anschließend 1000 ng von den RNA-Proben auf ein Gesamtvolumen von 12 µl aufgefüllt. Der 10x Nucleics Mix und der 5x miScript HiFlex Puffer wurden bei Raumtemperatur aufgetaut und 2 µl 10x Nucleics, 4 µl 5x miScript HiFlex Puffer und 2 µl miScript Reverse Transcriptase Mix je Probe in eine 2ml Eppi transferiert und zu einem RT Mastermix vermischt. Von dem RT Mastermix wurden 8µl zu jeder Proben- und Wassermischung hinzugefügt und durch pipettieren durchmischt.

Die Proben wurden im Cyclyer (Techne TC-512) platziert und bei 37°C für 1 Stunde und bei 95°C für 5 Minute inkubiert. Zum Schluss wurden die Proben auf 4°C herabgekühlt. Die Proben wurden danach wieder bei -80°C gelagert.

### 2.2.3.4 *Quantitative Real-Time-PCR*

Nun kam eine quantitative Real-Time-PCR (Polymerase Chain Reaction) zum Einsatz. Bei einer PCR wird ein DNA-Stück repliziert und so vervielfältigt. Dazu werden Nukleotide, das Enzym Polymerase und Primer, die auf das Zielgen binden, gebraucht. Die PCR beginnt mit der Denaturierung des DNA-Doppelstranges, indem bei 90-95°C die Wasserstoffbrücken zwischen Basen aufbrechen und so zwei Einzelstränge entstehen. Als nächster Schritt folgt die Primeranlagerung (Annealing) bei 55-60°C. Primer lagern an die komplementäre Sequenz an und setzen somit den Startpunkt für das Enzym Polymerase. Dieses Enzym vervollständigt im dritten Schritt bei der Elongation (ca. 72°C) die Einzelstränge mit den komplementären Nukleotiden zu Doppelsträngen. Damit ist ein Zyklus beendet und der Vorgang beginnt von vorne und mit jedem Zyklus verdoppelt sich die vorhandene Zielfrequenz. Bei einer quantitativen Real-Time-PCR findet zusätzlich eine Quantifizierung mittels einer Fluoreszenz-Messung während des Prozesses, also in Echtzeit (Real-Time), statt. Diese Fluoreszenz nimmt proportional mit der Menge der PCR-Produkte zu, was eine

Quantifizierung möglich macht. Die Messung findet am Ende der Elongation oder während jedes Zyklus statt (Holzapfel & Wickert, 2007).

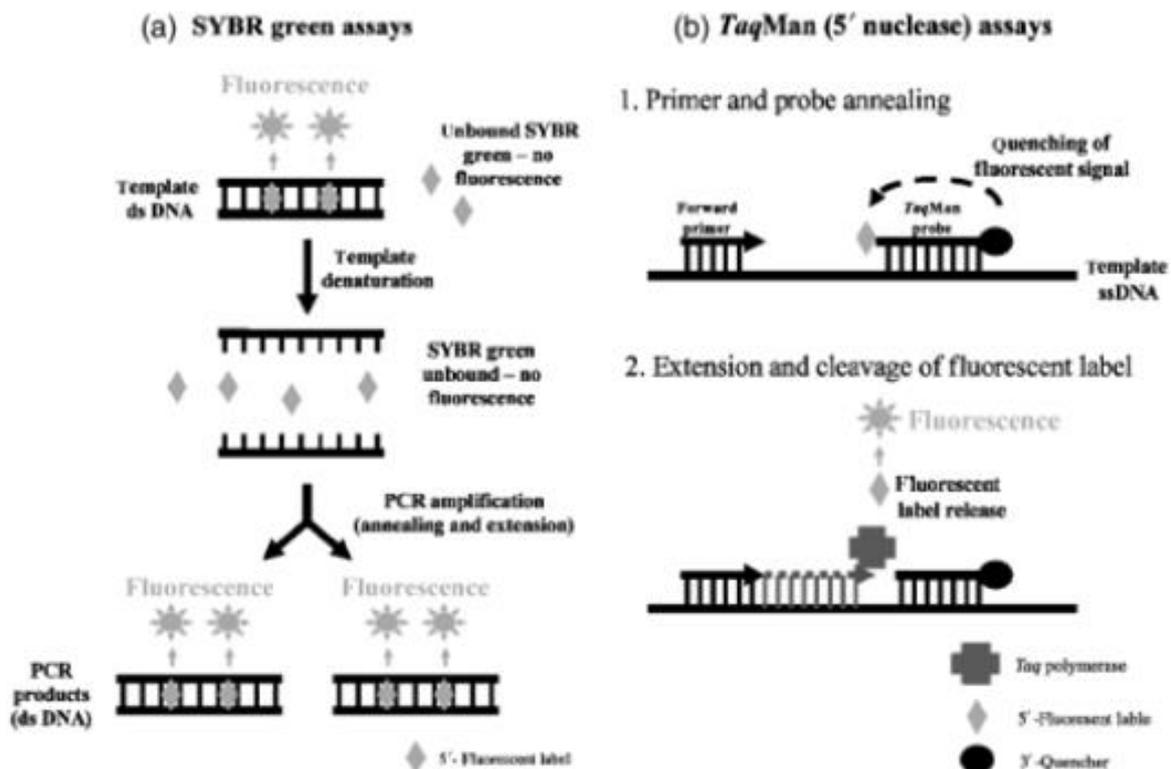


Abbildung 9 Graphische Darstellung einer quantitativen PCR mit SYBR Green (a) und Taqman (b) (Smith & Osborn 2009, S.8)

Bei der TaqMan-Methode lagern sich der Primer und eine Sonde mit einem Reporter und einem Quencher nur an den spezifischen komplementären Basen an. Die Fluoreszenz des Reporters (R) wird bei intakter Sonde durch einen Quencher (Q) unterdrückt, bis sie bei der Elongation durch die Polymerase abgebaut wird und so der abgespaltene Reporter fluoreszieren kann. Je mehr DNA synthetisiert wird, desto mehr Emissions-Signale des Reporters entstehen (siehe Abbildung 9 a) (Holzapfel & Wickert, 2007).

Mit einem anderen Prinzip arbeitet SYBR Green I. Dieser fluoreszierende Farbstoff lagert sich in kleine Furchen beliebiger doppelsträngiger DNA an. Es werden daher unmarkierte genspezifische Primer und zusätzlich der Farbstoff SYBR Green benötigt (siehe Abbildung 9 b) (Holzapfel & Wickert, 2007).

Für die Muskelparameter Myostatin, IGF-1, GDF-15 kamen TaqMan Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA) zum Einsatz und es wurden entsprechende Primer für die Muskelparameter verwendet. Für die Muskelparameter Activin A und Follistatin kam der SYBR Green PCR Master Mix (Qiagen, Hilden, Deutschland) zum Einsatz und es

wurden entsprechende Primer für die Muskelparameter verwendet. Als endogene Kontrolle und zur Normalisierung der Daten wurde GAPDH sowohl mit TaqMan Gene Expression Assays als auch mit SYBR Green PCR Master Mix durchgeführt. Außerdem wurde eine genomische DNA als zusätzliche Kontrolle verwendet. Für die Standardreihe wurde ein FirstChoice Human Skeletal Muscle Total RNA gewählt. Die Quantifizierung wurde auf einem Applied Biosystems R 7500 Real-Time PCR System (Foster City, CA) durchgeführt. Für nähere Informationen bezüglich der verwendeten Reagenzien siehe Tabelle 10.

**Tabelle 10** Überblick über die verwendeten Reagenzien bei der PCR

Bezeichnung	Vertrieb	Kat-Nr.	Lot Nr.	Lagerung
<b>TaqMan® Gene Expression Assays</b>				
<b>20x Mix IGF-1 Hs00153126_m1</b>	Applied Biosystems, Foster City, CA	4331182 <i>Rack ID:</i> 1437923	1334182	-20°C
<b>20x Mix Myostatin Hs00193363_m1</b>	Applied Biosystems, Foster City, CA	4331182 <i>Rack ID:</i> 1437923	1181494	-20°C
<b>20x Mix GDF-15 Hs00171132_m1</b>	Applied Biosystems, Foster City, CA	4331182 <i>Rack ID:</i> 1451465	1390158	-20°C
<b>20x TaqMan® Endogenous Control Human GAPDH</b>	Applied Biosystems, Foster City, CA	1501195	1403039	-20°C
<b>TaqMan® Gene Expression Master Mix</b>	Applied Biosystem, Foster City, CA s	4369016	1504229	+4°C
<b>QuantiTect Primer Assays</b>				
<b>GAPDH</b>	Qiagen, Hilden, Deutschland	QT00079247	185984304	-20°C
<b>Activin A</b>	Qiagen, Hilden, Deutschland	QT01158199	185984065	-20°C
<b>Follistatin</b>	Qiagen, Hilden, Deutschland	QT00003752	185971928	-20°C
<b>SYBR® Green PCR Master Mix</b>	Qiagen, Hilden, Deutschland	1020722	142325814	+4°C
<b>Kontrollen</b>				
<b>FirstChoice® Human Skeletal Muscle Total RNA</b>	Ambion by Life Technologies, Carlsbad, CA	AM7982	1403019	-80°C
<b>Human Skeletal Muscle Cell Genomic DNA</b>	Provitro, ScienCell Research Laboratories, Berlin, Deutschland	3509	4965	-80°C

Für Myostatin, IGF-1, GDF-15 und GAPDH wurde folgendes Protokoll verwendet. Die Proben und Reagenzien wurden auf Eis aufgetaut. In die Vertiefungen der 96-Well-Plate wurden 10 µl TaqMan Gene Expression Master Mix und 1 µl von dem entsprechenden Primer hinzugefügt. Anschließend wurden 9 µl von den verdünnten Proben (13,5 ng) und der Standardreihe (250-0,4 ng) in die Vertiefungen pipettiert. Dies ergab eine Mischung von 20 µl für eine einzelne Vertiefung. Die Platte wurde anschließend mit einer Folie

verschlossen, bei 2000 rpm für 1 Minute abzentrifugiert und dann in dem R 7500 Real-Time PCR System platziert, wo folgendes Programm durchgeführt wurde:

1. Inkubation bei 50°C für 2 Minuten
2. Erhitzung auf 95°C für 10 Minuten
3. Denaturierung bei 95°C für 15 Sekunden
4. Hybridisierung und Elongation bei 60°C für eine Minute

Die Muskelparameter Follistatin, Activin A, GDF-15 und die endogene Kontrolle GAPDH wurde folgendermaßen analysiert. Die Proben und Reagenzien wurden auf Eis aufgetaut. In die Vertiefungen der 96-Well-Plate wurden 12,5 µl 2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Mix und 2,5 µl von dem entsprechenden Primern (10x QuantiTect Primer Assay) hinzugefügt. Anschließend wurden 10 µl von den verdünnten Proben (15 ng) und der Standardreihe (Activin A 250-3,1 ng; Follistatin und GAPDH 100-0,16 ng) in die Vertiefungen pipettiert. Dies ergab eine Mischung von 25 µl für eine einzelne Vertiefung. Die Platte wurde anschließend mit einer Folie verschlossen, bei 2000 rpm für 1 Minute abzentrifugiert und dann in dem R 7500 Real-Time PCR System platziert, wo folgendes Programm durchgeführt wurde:

1. Inkubation bei 50°C für 2 Minuten
2. Erhitzung auf 95°C für 15 Minuten
3. Denaturierung bei 94°C für 15 Sekunden, bei 55°C für 30 Sekunden und bei 72°C für eine Minute
4. Hybridisierung und Elongation bei 95°C für 15 Sekunden, bei 60°C für eine Minute, bei 95°C für 15 Sekunden und bei 60°C für 15 Sekunden

Da Activin A eine andere Standardreihe als die Kontrolle GAPDH hatte, wurde dies bei der Berechnung der Konzentration mit einem Algorithmus angepasst.

## **2.3 Statistik**

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe der Software SPSS (IBM SPSS 22 für Windows, SPSS Inc. Chicago, IL, USA) durchgeführt. Mit dem Shapiro-Wilko-Test wurde die Normalverteilung geprüft. Da die Daten nicht normalverteilt waren, wurde für die Unterschiede zwischen den Geschlechtern mit den Mann-Whitney-U-Test und für die Berechnung der Zusammenhänge zwischen Variablen wurde der Spearman-Korrelation angewendet. Die Werte wurden als Median (Minimum - Maximum) angegeben, die statistische Signifikanz wurde bei  $p < 0.05$  gesetzt.

### 3 ERGEBNISSE

---

#### 3.1 Deskriptive Statistik

Wie Abbildung 10 zeigt, gab es zuerst 230 Interessenten, die an der Studie teilnehmen wollten. Von diesen wurden 43 Personen ausgeschlossen, da die Einschlusskriterien nicht erfüllt wurden und 70 Personen haben eine weitere Teilnahme nach der Informationsveranstaltung abgelehnt. Somit wurden 117 TeilnehmerInnen in die Studie aufgenommen. Bevor die Datenerhebung startete sind weitere 13 Kandidaten ausgeschieden und es verblieben 104 StudienteilnehmerInnen.

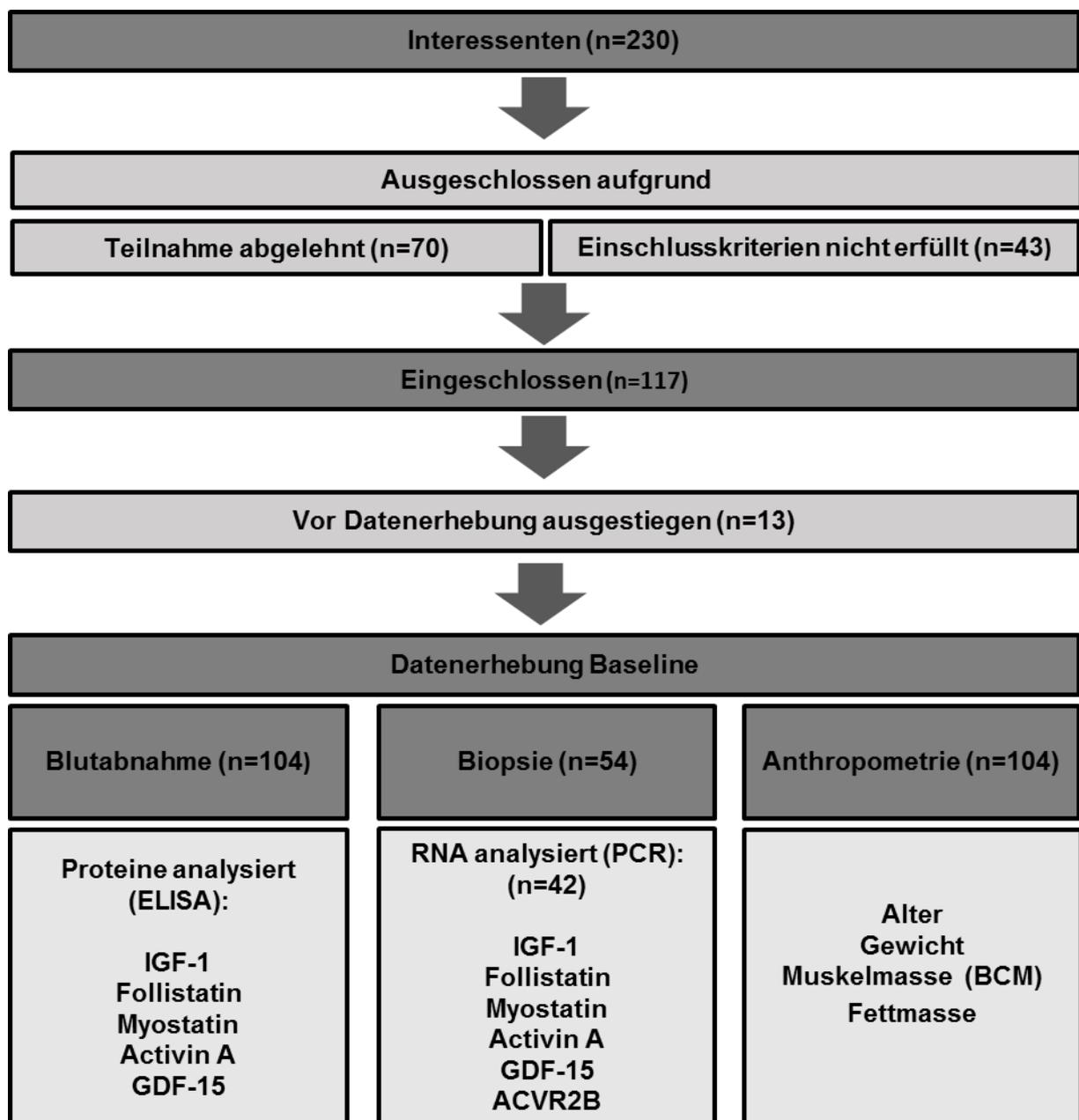


Abbildung 10 Übersicht über Studienablauf und Anzahl der TeilnehmerInnen

Bei 104 TeilnehmerInnen wurden Blutabnahmen durchgeführt und die anthropometrischen Daten erhoben. Bei 54 ProbandInnen wurden Muskelbiopsien durchgeführt, die restlichen Probanden waren dafür aufgrund blutverdünnender Medikamente nicht geeignet oder entschieden sich gegen eine Muskelbiopsie. Zur Analyse mittels PCR wurden jedoch nur 42 Biopsien verwendet, da die Qualität der anderen nicht ausreichend war.

An der Studie haben 91 Frauen und 13 Männer teilgenommen. Der Median des Alters betrug 83,8 Jahre, der/die jüngste Proband/in war 65 Jahre und der/die älteste 97,4 Jahre alt. In Tabelle 11 sind die gemessenen Werte von Gewicht, BMI, Muskelmasse, Fettmasse und relativer Fettmasse zu entnehmen.

Des Weiteren ist in Tabelle 11 zusehen, dass es beim Alter ( $p=0,262$ ) und dem BMI ( $p=0,399$ ) keinen signifikanten Unterschied zwischen Frauen und Männern gab. Das Gewicht ( $p=0,017$ ), die Muskelmasse ( $p=0,000$ ), die relative Muskelmasse ( $p=0,000$ ), die Fettmasse ( $p=0,004$ ) und die relative Fettmasse ( $p=0,000$ ) unterschied sich jedoch zwischen den beiden Gruppen (siehe Tabelle 11). Die Männer hatten mehr Gewicht, wiesen sowohl absolut als auch relativ zum Körpergewicht mehr Muskelmasse auf und hatten eine geringere Fettmasse im Vergleich zu Frauen.

**Tabelle 11** Deskriptive Beschreibung der StudienteilnehmerInnen

Parameter	Gesamt	Frauen	Männer	p-Wert
Teilnehmer [Anzahl]	104	91	13	-
Alter [Jahre]	83,8 (65,0-97,4)	83,3 (65,0-92,2)	84,9 (72,8-97,4)	0,262
Gewicht [kg]	72,6 (46,2-114,7)	72,2 (46,2-112,4)	83,8 (59,8-114,7)	0,017
BMI [kg/m <sup>2</sup> ]	29,4 (18,1-50,0)	29,6 (18,1-50,0)	27,6 (21,2-37,3)	0,399
Muskelmasse [kg]	20,5 (12,9-36,9)	19,5 (12,9-26,4)	28,5 (17,6-36,9)	0,000
relative Muskelmasse [-]	0,28 (0,19-0,48)	0,28 (0,19-0,37)	0,35 (0,29-0,48)	0,000
Fettmasse [kg]	24,8 (5,4-54,3)	25,7 (6,3-54,3)	18,8 (5,4-31,8)	0,004
relative Fettmasse [-]	0,34 (0,09-0,50)	0,36 (0,14-0,50)	0,20 (0,09-0,31)	0,000

Werte stellen Median (Minimum-Maximum) dar; P-Werte beziehen sich auf Unterschiede zw. Frauen und Männern (Mann-Whitney -U-Test); BMI (body mass index)

In Tabelle 12 sind die Konzentrationen der Proteine im Blut zu sehen. IGF-1 war hier mit 124,9 ng/ml am höchsten im Vergleich zu den Konzentrationen von Myostatin (2,38 ng/ml).

Vergleicht man die Werte der Männer und Frauen, so konnte bei Follistatin ( $p=0,825$ ), IGF-1 ( $p=0,122$ ), Activin A ( $p=0,183$ ) und GDF-15 ( $p=0,757$ ) kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Bei Myostatin konnte ein signifikanter Unterschied gemessen werden ( $p=0,025$ ). Männer hatten mehr Myostatin im Blutserum (4,0 ng/ml) als Frauen (2,2 ng/ml).

**Tabelle 12** Blutparameter

Parameter	Gesamt	Frauen	Männer	p-Wert
Teilnehmer [Anzahl]	104	91	13	-
Myostatin [ng/ml]	2,38 (0,10-12,03)	2,20 (0,10-12,03)	4,00 (1,23-11,21)	0,025
Activin A [ng/ml]	0,29 (0,10-5,42)	0,30 (0,10-5,42)	0,19 (0,13-1,61)	0,183
Follistatin [ng/ml]	2,06 (1,33-3,52)	2,06 (1,34-3,52)	2,132 (1,38-2,92)	0,825
IGF-1 [ng/ml]	124,90 (41,40-248,75)	123,37 (45,91-248,75)	172,97 (41,40-247,22)	0,122
GDF-15 [ng/ml]	1,40 (0,54-3,54)	1,42 (0,54-3,02)	1,28 (0,60-3,55)	0,757

Werte stellen Median (Minimum-Maximum) dar; P-Werte beziehen sich auf Unterschiede zw. Frauen und Männern (Mann-Whitney-U-Test); IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15)

In Tabelle 13 sind die mRNA Expressionen (bezogen auf die endogene Kontrolle GAPDH) der Parameter aus dem Muskel zu sehen. Myostatin war hier mit 13,58 am meisten im Vergleich zu den Konzentrationen von ACVR2B (2,16), Follistatin (1,28), Activin A (0,95) und GDF-15 (0,70) im Muskel zu finden. IGF-1 wies die niedrigste Genexpression auf (0,29).

Vergleicht man die Werte der Männer und Frauen, so konnte bei keinem der Muskelparameter ein signifikanter Unterschied festgestellt werden (Follistatin ( $p=0,161$ ), IGF-1 ( $p=0,319$ ), Myostatin ( $p=0,097$ ), Activin A ( $p=0,259$ ), GDF-15 ( $p=0,573$ ) und ACVR2B ( $p=0,397$ )).

**Tabelle 13** Muskelparameter

Parameter	Gesamt	Frauen	Männer	p-Wert
Teilnehmer [Anzahl]	42	35	7	-
Myostatin/GAPDH [-]	13,58 (4,37-37,88)	12,89 (4,37-37,88)	16,59 (10,72-30,08)	0,097
Activin A/GAPDH [-]	0,95 (0,10-7,20)	0,93 (0,10-7,20)	2,37 (0,35- 5,23)	0,259
Follistatin/GAPDH [-]	1,28 (0,12-24,24)	1,18 (0,12-9,02)	1,42 (1,02-14,24)	0,161
IGF-1/GAPDH [-]	0,44 (0,16-1,22)	0,43 (0,16-1,22)	0,47 (0,41-0,76)	0,319
GDF-15/GAPDH [-]	0,70 (0,01-0,29)	0,08 (0,01-0,25)	0,06 (0,01-0,29)	0,573
ACVR2B/GAPDH [-]	2,16 (0,89-7,53)	1,88 (0,89-5,26)	2,19 (1,26-7,53)	0,397

Werte stellen Median (Minimum-Maximum) dar; P-Werte beziehen sich auf Unterschiede zw. Frauen und Männern (Mann-Whitney-U-Test); ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15)

### 3.2 Normalverteilung

Die Überprüfung auf Normalverteilung wurde mit dem Shapiro-Wilk-Test ermittelt. Wie in Tabelle 14 zu sehen, konnte bei den meisten Daten keine Normalverteilung festgestellt werden ( $p<0,050$ ). Auch nach einer Korrektur durch Logarithmieren der Daten war keine Normalverteilung gegeben, daher wurde mit den Originalwerten weitergearbeitet und auf alternative Testmethoden, wie die Spearman-Korrelation, zurückgegriffen.

**Tabelle 14** Normalverteilung Anthropometrie, Blutparameter und Muskelparameter

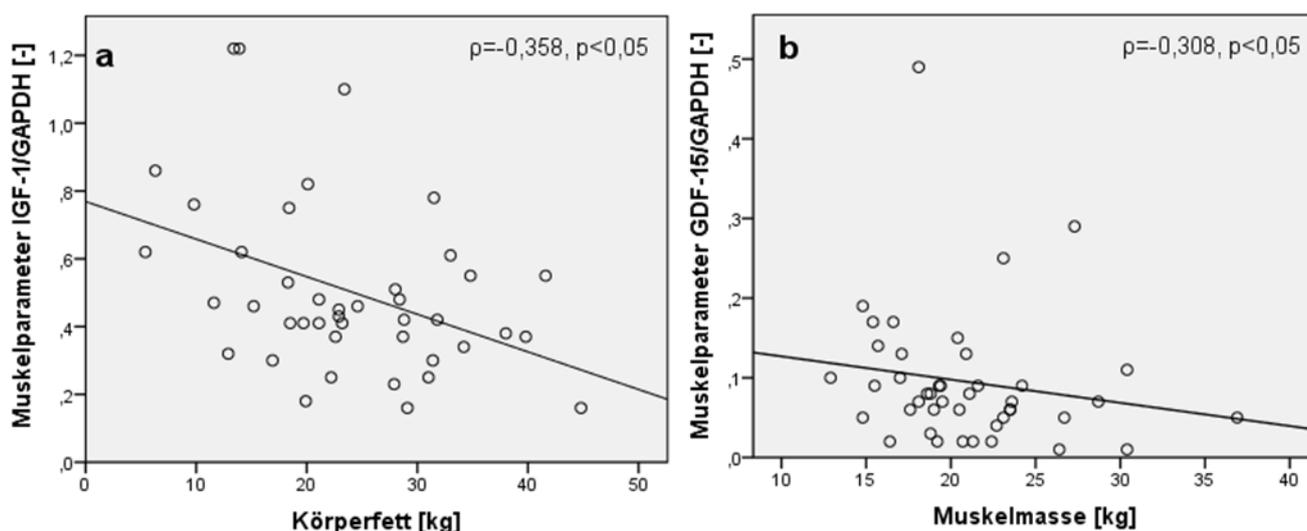
Anthropometrie	Shapiro-Wilk Signifikanz	Blutparameter	Shapiro-Wilk Signifikanz	Muskelparameter	Shapiro-Wilk Signifikanz
Alter	0,025	Myostatin	0,000	Myostatin	0,004
Gewicht	0,048	Activin A	0,000	Activin A	0,000
BMI	0,006	Follistatin	0,001	Follistatin	0,000
Muskelmasse	0,000	IGF-1	0,010	IGF-1	0,000
relative Muskelmasse	0,003	GDF-15	0,000	GDF-15	0,000
Fettmasse	0,166			ACVR2B	0,000
relative Fettmasse	0,025				

P-Werte beziehen sich auf die Normalverteilung (Shapiro-Wilk-Test); ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), BMI (body mass index), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15)

### 3.3 Korrelationen

#### 3.3.1 Zusammenhang zwischen den Muskelparametern und den anthropometrischen Parametern

Wie in Tabelle 15 ersichtlich, korreliert der Muskelparameter ACVR2B positiv mit dem Alter ( $\rho=0,486$ ,  $p<0,01$ ) und negativ mit dem Gewicht ( $\rho=-0,398$ ,  $p<0,01$ ), dem Körperfett ( $\rho=-0,389$ ,  $p<0,01$ ) und der relativen Fettmasse ( $\rho=-0,321$ ,  $p<0,05$ ). GDF-15 korreliert positiv mit dem Alter ( $\rho=0,406$ ,  $p<0,01$ ) und negativ mit der Muskelmasse ( $\rho=-0,308$ ,  $p<0,05$ ). IGF-1 korreliert negativ mit dem Körperfett ( $\rho=-0,358$ ,  $p<0,05$ ) und der relativen Fettmasse ( $\rho=-0,367$ ,  $p<0,05$ ) (siehe Abbildung 11).



**Abbildung 11** Veranschaulichung der Korrelation der Muskelparameters Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) mit dem Körperfett (a) und der Korrelation des Muskelparameters Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) mit der Muskelmasse (b)

Bei Follistatin besteht eine positive Korrelation mit dem Alter ( $\rho=0,450$ ,  $p<0,01$ ). Zwischen Activin A und dem Alter ( $\rho=0,317$ ,  $p<0,05$ ) besteht ein positiver Zusammenhang, während zwischen Activin A und dem Körperfett ( $\rho= -0,313$ ,  $p<0,05$ ) und der relativen Fettmasse ( $\rho=-0,347$ ,  $p<0,05$ ) ein negativer Zusammenhang besteht. Myostatin korreliert weder mit dem Alter noch mit dem Gewicht, dem BMI, der Muskelmasse und Körperfett. Ein Überblick über die Daten ist in Tabelle 15 zu sehen.

**Tabelle 15** Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern

Muskelparameter	Myostatin	Activin A	Follistatin	IGF-1	GDF-15	ACVR2B	
Alter	,139	,317*	,450**	,133	,406**	,486**	
Anthropometrie	Gewicht	,221	-,223	-,122	-,272	-,139	-,398**
	BMI	,249	-,267	-,025	-,260	-,052	-,246
	Muskelmasse	,111	-,183	-,100	-,097	-,308*	-,259
	relative Muskelmasse	-,063	,142	,047	,230	-,247	,161
	Körperfett	,111	-,313*	-,193	-,358*	-,081	-,389**
	relative Fettmasse	,038	-,347*	-,163	-,367*	-,023	-,321*

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar;\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ,\*\*\*  $p < 0.001$ ; BMI (body mass index), ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15) ;n=42

### 3.3.1.1 Zusammenhang zwischen den Muskelparameter und den anthropometrische Parameter bei Frauen und Männern

Getrennt nach Geschlecht konnten folgende Korrelationen gefunden werden:

Bei den Frauen korreliert ACVR2B positiv mit dem Alter ( $\rho=0,535$ ,  $p<0,01$ ) und negativ mit dem Gewicht ( $\rho=-0,389$ ,  $p<0,05$ ), der Muskelmasse ( $\rho=-0,375$ ,  $p<0,05$ ) und dem Körperfett ( $\rho=-0,379$ ,  $p<0,05$ ). GDF-15 korreliert positiv mit dem Alter ( $\rho=0,386$ ,  $p<0,05$ ) und negativ mit der Muskelmasse ( $\rho=-0,385$ ,  $p<0,05$ ). Follistatin korreliert positiv mit dem Alter ( $\rho=0,419$ ,  $p<0,01$ ). Activin A korreliert negativ mit dem Körperfett ( $\rho= -0,389$ ,  $p<0,05$ ) und der relativen Fettmasse ( $\rho=-0,383$ ,  $p<0,05$ ).

IGF-1 und Myostatin korrelieren weder mit dem Alter noch mit dem Gewicht, dem BMI, der Muskelmasse und Körperfett (siehe Tabelle 16).

**Tabelle 16** Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen

	<b>Muskelparameter</b>	<b>Myostatin</b>	<b>Activin A</b>	<b>Follistatin</b>	<b>IGF-1</b>	<b>GDF-15</b>	<b>ACVR2B</b>
Anthropometrie	Alter	,135	,288	,419**	,084	,386*	,535**
	Gewicht	,180	-,315	-,175	-,225	-,196	-,389*
	BMI	,220	-,350*	-,008	-,191	-,065	-,237
	Muskelmasse	-,037	-,286	-,274	-,165	-,385*	-,375*
	relative Muskelmasse	-,285	,121	-,091	,209	-,281	,145
	Körperfett	,208	-,389*	-,115	-,263	-,144	-,379*
	relative Fettmasse	,211	-,383*	-,054	-,302	-,088	-,304

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar;\* p < 0.05, \*\* p < 0.01,\*\*\* p < 0.001; BMI (body mass index), ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15) , n=35

Bei den Männern korreliert IGF-1 negativ mit dem Körperfett ( $\rho=-0,764$ ,  $p<0,05$ ) und der relativen Fettmasse ( $\rho=-0,764$ ,  $p<0,05$ ). Follistatin korreliert positiv mit dem Alter ( $\rho=0,786$ ,  $p<0,05$ ).

ACVR2B, GDF-15, Activin A und Myostatin korrelieren weder mit dem Alter noch mit dem Gewicht, dem BMI, der Muskelmasse und Körperfett (siehe Tabelle 17).

**Tabelle 17** Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern bei den männlichen Studienteilnehmern

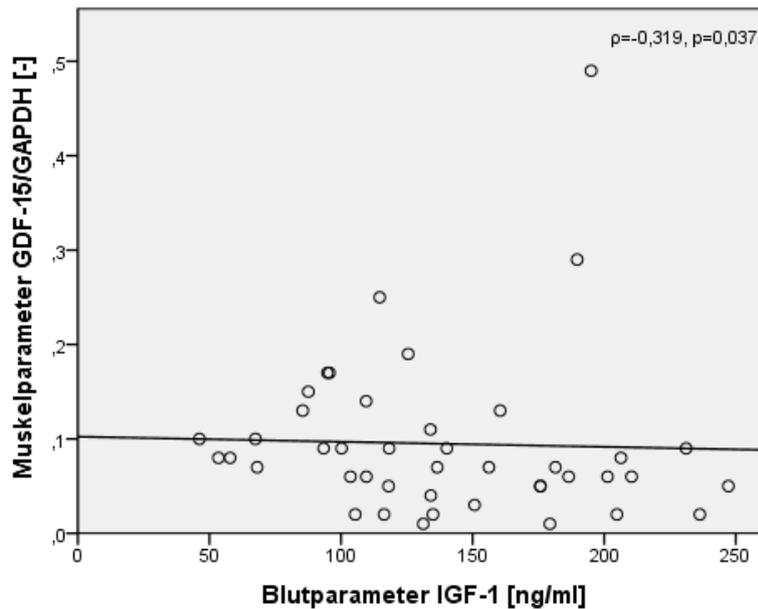
	<b>Muskelparameter</b>	<b>Myostatin</b>	<b>Activin A</b>	<b>Follistatin</b>	<b>IGF-1</b>	<b>GDF-15</b>	<b>ACVR2B</b>
Anthropometrie	Alter	,071	,429	,786*	,382	,523	,429
	Gewicht	,393	-,107	-,179	-,818*	,126	-,500
	BMI	,714	-,250	,000	-,673	-,036	-,393
	Muskelmasse	,018	-,180	-,631	-,606	-,218	-,306
	relative Muskelmasse	-,179	-,214	-,321	-,218	-,090	,179
	Körperfett	,429	,071	-,036	-,764*	,234	-,429
	relative Fettmasse	,429	,071	-,036	-,764*	,234	-,429

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar;\* p < 0.05, \*\* p < 0.01,\*\*\* p < 0.001; BMI (body mass index), ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15) ; n=7

### 3.3.2 Zusammenhang zwischen den Muskel- und Blutparametern

Hier konnte ein Zusammenhang festgestellt werden: Der Muskelparameter GDF-15 korreliert negativ mit dem Blutparameter IGF-1 ( $\rho=-0,319$ ,  $p<0,05$ ) (siehe Abbildung 12).

Ansonsten konnte kein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen der mRNA-Expression im Muskel und den Konzentrationen der Proteine im Blut festgestellt werden.



**Abbildung 12** Zusammenhang zwischen dem Muskelparameter Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) und dem Blutparameter Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1)

Ein Überblick über die Daten ist in Tabelle 18 zu sehen.

**Tabelle 18** Korrelationen zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern

Muskelparameter	Myostatin	Activin A	Follistatin	IGF-1	GDF-15	ACVR2B	
Myostatin	,150	-,097	,032	-,104	,113	-,041	
Blutparameter	Activin A	-,095	-,061	,067	-,128	,131	
	Follistatin	-,206	-,201	,015	,004	-,152	
	IGF1	,184	-,094	-,085	-,076	-,319*	,033
	GDF15	-,014	,099	,083	-,010	,061	,077

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar; \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ; ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15) ;n=42

### 3.3.2.1 Zusammenhang zwischen den Muskel- und Blutparametern bei Frauen und Männern

Bei der einzelnen Betrachtung der zwei Gruppen, kam es bei den Frauen zum gleichen Ergebnis. Der Muskelparameter GDF-15 korreliert negativ mit dem Blutparameter IGF-1 ( $\rho = -0,350$ ,  $p < 0,05$ ). Die anderen Muskelparameter stehen bei den Frauen in keinem Zusammenhang (siehe Tabelle 19).

**Tabelle 19** Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen

Muskelparameter	Myostatin	Activin A	Follistatin	IGF-1	GDF-15	ACVR2B	
Blutparameter	Myostatin	,087	-,149	,009	-,211	,312	,021
	Activin A	-,033	1,000	,142	-,058	-,013	,082
	Follistatin	-,217	,062	,033	,236	-,067	-,159
	IGF-1	,102	-,091	-,142	-,134	-,350*	-,096
	GDF15	,009	,058	,161	-,053	,124	,206

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar;\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ,\*\*\*  $p < 0.001$ ; BMI (body mass index), ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15);n=35

Bei den Männern korrelierte der Muskelparameter ACVR2B negativ mit dem Blutparameter Myostatin ( $\rho=-0,821$ ,  $p<0,05$ ).

Hier korreliert kein weiterer Muskelparameter mit Blutparametern (siehe Tabelle 20).

**Tabelle 20** Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern bei den männlichen Studienteilnehmern.

Muskelparameter	Myostatin	Activin A	Follistatin	IGF-1	GDF-15	ACVR2B	
Blutparameter	Myostatin	,000	-,679	-,286	-,145	-,234	-,821*
	Activin A	-,107	,357	-,286	,673	-,739	,179
	Follistatin	-,143	,107	,071	-,291	,649	,107
	IGF1	,214	,679	,143	,218	-,072	,750
	GDF15	-,143	-,357	-,071	,055	,108	-,429

Werte stellen Spearman-Rho-Koeffizienten dar;\*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ ,\*\*\*  $p < 0.001$ ; BMI (body mass index), ACVR2B (Activin Typ II Rezeptor B), IGF-1 (Insulin-like Growth Factor-1), GDF-15 (Growth and Differentiation Factor-15) ; n=7

## 4 DISKUSSION

---

Für die Untersuchung der Fragestellung wurden Daten der „Vienna Active Ageing Study“ herangezogen. Die vorliegende Studie beschäftigte sich mit der muskulären mRNA-Expression von Myostatin, Activin A, Follistatin, IGF-1 und GDF-15 in Bezug auf die Unterschiede zwischen den Geschlechtern, die Zusammenhänge der mRNA-Expression mit anthropometrischen Kenngrößen und die Zusammenhänge der mRNA-Expression mit den Blutparametern. Die Ergebnisse werden nach diesen Aspekten in weiterer Folge besprochen.

### 4.1 Geschlechterspezifische Unterschiede

Von den 104 StudienteilnehmerInnen waren 87,5% Frauen und 12,5% Männer. Im Vergleich dazu zeigt die Bevölkerungsverteilung in Österreich bei der Altersgruppe ab 60 Jahre auch einen höheren Frauenanteil, jedoch ist dieser Anteil mit 56,3% bei den Frauen niedriger und bei den Männern mit 43,7% höher als in der vorliegenden Studie. In der Altersklasse ab 75 Jahre verschiebt sich dies ein wenig mit einem Frauenanteil von 62,8% und einem Männeranteil von 37,7% (Statistik Austria, 2015). Dies bedeutet, dass die Studie nicht repräsentativ für die generelle österreichische Bevölkerung ist. Betrachtet man jedoch die Bewohnerstatistik der betrachteten Pensionistenwohnhäusern, so stimmt diese Verteilung einigermaßen überein: Im Jahr 2014 bewohnten 80,4% Frauen und 19,53% Männer die Wohnheime (KWP, 2014). Somit kann die Geschlechterverteilung als repräsentativ für Menschen in Pensionistenwohnheimen gesehen werden, der Anteil der männlichen Teilnehmer liegt jedoch insgesamt mit 13 Personen sehr niedrig.

Bei der Untersuchung der anthropometrischen Parameter konnte kein Unterschied im BMI zwischen den Studienteilnehmerinnen und Studienteilnehmern festgestellt werden. Diese Gleichheit des BMI ist im Vergleich zu anderen Studien ungewöhnlich, da der BMI der Männer häufig als höher berichtet wird (Fragala et al., 2012; Gavriilidou, Pihlsgård & Elmståhl, 2015; López-Ortega & Arroyo, 2015). Andererseits stellten Canaan Rezende et al. (2015) einen höheren BMI bei Frauen fest. Fragala et al. (2012) konnten jedoch bei der Betrachtung bei der verschiedenen Altersklassen bei den Gruppen 71-77 Jahre und 78+ Jahre auch keinen Unterschied feststellen. Auch Barbosa et al. 2015 konnten keinen Unterschied bei Männern und Frauen mit 60-105 Jahren feststellen.

Zu ähnlichen Ergebnissen wie in der vorliegenden Studie kamen auch Fragala et al. (2012) bezüglich der Muskelmasse und Fettmasse. Auch hier hatten die Männer mehr Magermasse und eine niedrigere relative Fettmasse. Allerdings war die Fettmasse nur in der Altersklasse

71-77 Jahre bei den Männern niedriger als bei den Frauen, in den Altersgruppen 57-70 Jahre gab es keinen Unterschied. Barbosa et al. (2015) konnte auch eine höhere Magermasse bei Männern messen. Auch He et al. (2015) kamen zu dem gleichen Ergebnis: bei Männern konnte eine niedrigere absolute und relative Fettmasse und eine höhere Magermasse gemessen werden.

Während bei IGF-1, Activin A, Follistatin, GDF-15 keine Unterschiede sowohl im Blut als auch im Muskel zwischen den Geschlechtern feststellbar war, waren die Myostatin-Konzentration im Serum bei den Männern höher als bei den Frauen. Dies können Bergen et al. (2015) und Tay et al. (2015) in ihren Studien bestätigen: Die Autoren fanden bei älteren Männern mehr Myostatin im Blut als bei älteren Frauen. Yarasheski et al. (2002) konnte jedoch keinen signifikanten Unterschied innerhalb der Altersklasse 60-75 Jahre zwischen Männern und Frauen finden.

Paradoxerweise hatten die männlichen Studienteilnehmer sowohl mehr Myostatin als auch mehr absolute und relative Muskelmasse, obwohl Myostatin aufgrund seiner hemmenden Wirkung auf den Muskelwachstum mit weniger Muskelmasse in Verbindung gebracht wird (Lee & McPherron, 2001) und man daher einen negativen Zusammenhang vermutet würde. Die Ergebnisse von Yarasheski et al. (2002) würden diese herkömmliche Theorie bei Frauen und Männern bestätigen. Hier konnte ein negativer Zusammenhang zwischen dem zirkulierenden Myostatin und der fettfreien Masse/Größe<sup>2</sup> und zwischen dem zirkulierenden Myostatin und der Muskelmasse/Größe<sup>2</sup> festgestellt werden. Bergen et al. (2015) beschäftigten sich genauer mit dem zirkulierenden Myostatin und den Geschlechterunterschieden. Das zirkulierende Myostatin und die Magermasse wurden bei jüngeren und älteren Männern und Frauen und sarkopenischen Frauen und Männern vergleichend betrachtet. Hier hatten sarkopenische Männer und Frauen weniger Magermasse innerhalb ihres Geschlechtes, jedoch hatten jüngere, ältere und sarkopenische Männer mehr Magermasse als in den entsprechenden Gruppen bei Frauen. Sarkopenische Männer hatten nicht nur mehr Magermasse gegenüber den sarkopenischen Frauen, sondern auch gegenüber den älteren und jüngeren Frauen. Um einen besseren Vergleich gestalten zu können, wurden in weiterer Folge die zirkulierenden Myostatin-Werte relativ zur totalen Magermasse gesetzt. Die Myostatin-Werte waren bei älteren und sarkopenischen Frauen höher als bei jüngeren Frauen, bei den Männern hingegen hatten jüngere Männer mehr Myostatin als ältere und sarkopenische Männer. Myostatin scheint daher bei Frauen eher ein Indikator für Sarkopenie zu sein als bei Männern, wo Myostatin eher als ein Regulator der Homöostase für die Muskelmasse dient (Bergen et al., 2015).

Die höheren zirkulierenden Myostatin-Werte gingen jedoch nicht mit der mRNA-Expression in der Muskulatur einher, denn in der vorliegenden Studie konnte kein Unterschied zwischen

den Geschlechtern bezüglich der Myostatin-Expressionen festgestellt werden. Auch konnte bei Myostatin mit keinem der anthropometrischen Parameter ein Zusammenhang festgestellt werden, das heißt die Myostatin-Expression scheint in keiner Verbindung mit der Fettmasse und der Muskelmasse zu stehen, auch nicht bei der getrennten Betrachtung von Männern und Frauen. Kim, Cross und Bamman (2005) fanden jedoch einen positiven Zusammenhang zwischen Myostatin-mRNA und Magermasse bei Männern. Die Autoren erklären sich dies, dass durch die vermehrte Muskelmasse auch höhere Werte für wachstumshemmende Faktoren gebildet werden, um ein Gleichgewicht in der Muskulatur zu halten. Dafür war auch das Potential, die Myostatin-mRNA nach einem Krafttraining zu verringern, in jenen Personen größer, die im Vorhinein mehr Muskelmasse hatten.

Die Rolle von Myostatin in Bezug auf die Muskelmasse ist nicht eindeutig geklärt. Myostatin scheint bei Männern anders zu wirken als bei Frauen. Dies konnten Bergen et al. (2015) bei den Werten im Blut und Kim, Cross und Bamman (2005) bei den Werten in der Muskulatur bestätigen. Bei Männern scheinen die Resultate von McMahon et al. (2003) die Hypothese zu unterstützen, dass Myostatin eher die Hypertrophie hemmt als die Atrophie einzuleiten und in der Muskulatur dazu dient, die Muskelmasse im Gleichgewicht zu halten (Kim, Cross und Bamman, 2005). Dafür sind die zirkulierenden Myostatin-Werte bei Frauen mehr in Zusammenhang mit Sarkopenie zu sehen (Bergen et al. 2015).

Während die vorliegende Studie keinen weiteren signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern bei den Blutparametern und Muskelparametern nachweisen konnte, werden in der Literatur verschiedenste Ergebnisse beschrieben, die sich hauptsächlich auf zirkulierende Werte beziehen. Loria et al. (1998) konnten eine höhere Serumkonzentration von Activin A ab 50 Jahren bei Männern im Vergleich zu Frauen messen. Während eine Studie keinen Unterschied im zirkulierenden IGF-1 finden konnte (Taekema et al. 2011), stellten andere einen Geschlechtsunterschied fest (Nindl et al. 2012; Tay et al. 2015), die Werte des in der Interstitialflüssigkeit gemessenen IGF-1 unterschieden sich jedoch nicht zwischen den Geschlechtern. Bei GDF-15 wurde auch einerseits höhere Blutwerte bei Männern gefunden (Daniels et al., 2011), andererseits wurde kein Unterschied zwischen den Geschlechtern gemessen (Ho et al. 2012). Aufgrund der wenigen vergleichenden Studien ist auch hier noch Forschungsbedarf gegeben.

Bei der Betrachtung der Korrelationen der Muskelparameter und den anthropometrischen Parametern getrennt nach dem Geschlecht, konnten keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden. Bei den Korrelationen zwischen Muskel- und Blutparametern waren die Ergebnisse bei Männern und Frauen unterschiedlich. Bei den männlichen Studienteilnehmern konnte ein negativer Zusammenhang zwischen dem ACVR2B im Muskel und dem zirkulierenden Myostatin berechnet werden. Dies scheint mit dem Hintergrund,

dass Myostatin an den Rezeptor bindet (Lee et al., 2001), mit einer logischen Schlussfolgerung erklärt zu sein. Je mehr ACVR2B im Muskel vorhanden sind, desto mehr Myostatin kann daran im Muskel binden und desto weniger Myostatin wäre daher im Blut zu finden. Es konnten keine anderen Studien gefunden werden, die diese Theorie bestätigen oder widerlegen.

#### **4.2 Korrelationen der Muskelparameter mit anthropometrischen Kenngrößen**

Es konnte bei der mRNA-Expression von ACVR2B, GDF-15, Follistatin und Activin A ein positiver Zusammenhang mit dem Alter gemessen werden. Bei GDF-15 konnten keine Studien zur Untersuchungen der mRNA-Expressionen bezüglich des Alters gefunden werden. Die Konzentration im Blut im Zusammenhang mit dem Alter scheinen jedoch mit dem Alter zu steigen (Eggers et al., 2013; Hofmann et al., 2015; Daniels et al., 2011; Ho et al., 2012). Bei Follistatin konnten auch Jency et al. (2007) und Dalbo et al. (2011) eine höhere mRNA-Expression messen. Bei im Blut zirkulierenden Follistatin wurde eine Erhöhung mit dem Alter jedoch nicht beobachtet (Hoffmann et al., 2015; Ratkevicius et al., 2011). Activin A zeigte bei der Studie von Hoffmann et al. (2015) im Blut auch keine Veränderung mit dem Alter, Baccarelli et al. (2001) konnte jedoch schon einen Anstieg im Blut mit dem Alter feststellen.

Die IGF-1-mRNA-Expression war nicht mit dem Alter assoziiert, was im Widerspruch zu einer Studie von Léger et al. (2008) steht, die eine geringere IGF-1-mRNA-Expression mit dem Alter zeigen konnte. Andere Studien bestätigen dieses Ergebnis im Blut und haben eine niedrigere IGF-1 Konzentration im Blut bei Älteren gefunden (Ratkevicius et al., 2011; Hofmann et al., 2015; Taekema et al., 2011).

Die Myostatin-mRNA korrelierte ebenfalls nicht mit dem Alter. Nach der Theorie von Kim, Cross und Bamman (2005), dass bei einer vermehrten Muskelmasse auch höhere Werte für wachstumshemmende Faktoren gegeben sind, müssten aber jüngere Menschen mehr Myostatin im Körper als ältere Menschen haben, da ältere Menschen im Vergleich mit Jüngeren weniger Muskelmasse aufweisen (Frontera et al. 2000). Kim, Cross und Bamman (2005) konnten in ihrer Studie auch neben der höheren Magermasse und Oberschenkelmagermasse auch eine tendenziell höhere Myostatin-mRNA Expression bei jüngeren Männern messen. Diese höheren Myostatin-Werte bei Jüngeren konnten auch Suetta et al. (2013) bei den mRNA-Expressionen und Lakshman et al. (2009) bei den zirkulierenden Werten feststellen. Dieser Überlegung stehen jedoch jene Studien gegenüber, die höhere oder gleichbleibende Myostatin Werte bei älteren Personen detektierten. Léger et al. (2008) konnten eine höhere mRNA-Expression bei älteren gegenüber jüngeren Männern messen, während Jency et al. (2007) und Dalbo et al. (2007) keine Unterschiede der

mRNA-Expression bei Älteren messen konnten. Im Blut wurden bei älteren Personen einerseits höhere (Yarasheski et al., 2002) oder unveränderte (Ratkevicius et al., 2011; Hofmann et al., 2015) Werte gemessen.

Wie sich die Verhältnisse der mRNA-Expressionen bei den Proteinen mit dem Alter verändern, bleibt daher weiter fraglich, da es sowohl unterschiedliche Ergebnisse zwischen Studien mit der gleichen Methode als auch unterschiedliche Ergebnisse zwischen den Werten im Blut und im Muskel gibt. Auch die Studienlage zu ACVR2 ist diesbezüglich sehr rar.

Weiters konnte ein negativer Zusammenhang zwischen dem Körperfett bzw. der relativen Fettmasse und den Muskelparametern ACVR2B, IGF-1 und Activin A festgestellt werden. Bei IGF-1 würde dieses Ergebnis mit seiner Funktion im Muskel übereinstimmen, da IGF-1 mit Muskelwachstum in Zusammenhang steht (Fiorotto, Schwartz & Delaughter, 2002) und eine höhere Muskelmasse zumeist mit einer niedrigen Fettmasse assoziiert wird (Fragala et al., 2012; He et al., 2015). Dies wäre auch in Einklang mit der bestehenden negativen Korrelation der IGF-1-Expression und dem Körperfett und der IGF-1-Expression und der relativen Fettmasse.

Bei der Activin A und ACVR2B mRNA-Expression sind die Zusammenhänge mit dem Körperfett und der relativen Fettmasse nicht in Einklang mit dem Wissen über die Eigenschaften der Parameter. Da Activin A und ACVR2B beide dem Signalweg, der das Muskelwachstum hemmt (Chen et al. 2014), zugeordnet sind, würde man eher eine positive Korrelation mit dem Körperfett und der relativen Fettmasse vermuten. Hulmi et al. (2007) untersuchten den Effekt eines Krafttrainings bei älteren Männern und konnten eine Reduzierung der ACVR2B und des prozentualen Fetts beobachten. Dies würde auch einen positiven Zusammenhang vermuten lassen.

Auch gab es einen negativen Zusammenhang zwischen der GDF-15 mRNA und der Muskelmasse, der auch in anderen Studien bestätigt werden konnte (Bloch et al., 2013; Bloch et al., 2015; Corre, Hébraud & Bourin, 2013). Dies kann dadurch erklärt werden, dass GDF-15 auch einen Signalweg in der Muskulatur auslöst, der in Zusammenhang mit dem Proteinabbau steht (Xu et al., 2006). Hervorzuheben ist hier die Studie von Bloch et al. (2015), die intensivbetreuten Patienten mit einer Kontrollgruppe aus Patienten nach einer Kardiothorax-Operation untersuchten. Die intensivbetreuten Patienten hatten eine signifikant niedrigere Muskeldicke, gemessen in der Mitte des Oberschenkels, und sowohl höhere GDF-15-Werte im Blut als auch im Muskel. Obwohl GDF-15 meist im Zusammenhang mit der Herzmuskulatur erforscht wurde, zeigt auch diese Studie, dass es eine negative Wirkung auf die Skelettmuskulatur hat.

### 4.3 Korrelationen zwischen Muskel- und Blutparametern

Bei den Korrelationen der Muskel- und Blutparameter gab es nur wenige signifikante Resultate. So konnte ein negativer Zusammenhang zwischen der GDF-15-mRNA-Expression und dem zirkulierenden IGF-1 im Blut festgestellt werden. Dies könnte im Zusammengang mit dem Signalweg von GDF-15 stehen. GDF-15 leitet eine Aktivierung von Akt ein (Xu et al., 2006; Kim et al. 2008), welches in Verbindung mit dem Signalweg von IGF-1 steht. Bei einer Studie mit Mäusen, die vermehrt GDF-15 exprimierten, konnte auch eine verminderte IGF-1-Serumzirkulation und ein reduzierter IGF-1/mTOR Signalweg festgestellt werden (Wang et al., 2014). Andererseits konnte in einer Studie mit Patienten auf einer Intensivstation, die signifikant höhere Werte von GDF-15 hatten, im Vergleich mit der Kontrollgruppe kein Unterschied in der IGF-1-Expression festgestellt werden (Bloch et al. 2015).

Die Hauptaussage der Korrelationen der Muskelparameter mit den Blutparametern bezieht sich jedoch auf folgende Erkenntnis: Keine der muskulären mRNA Expressionen korrelierte mit den jeweiligen zirkulierenden Proteinen im Blut. Daher kann angenommen werden, dass die gemessenen Werte im Blut keine Aussage über Vorgänge im Muskel widerspiegeln. Es muss jedoch erwähnt werden, dass die Menge an mRNA nicht unbedingt die Menge des Proteins widerspiegelt, da unterschiedliche Stabilitäten der mRNA zu unterschiedlichen Mengen an letztlich funktionsfähigen Proteinen führt. Man müsste daher noch zusätzlich die Proteinmengen im Muskel messen, um hier eine endgültige Aussage treffen zu können. Nichtsdestotrotz kamen bereits andere Autoren zum Schluss, dass die Konzentrationen im Muskel nicht mit denen im Blut übereinstimmen. Nindl et al. (2012) untersuchten die Wirkung von intensiven Kraftübungen und konnten danach zwar eine Erhöhung der IGF-1-Expression und des zirkulierenden IGF-1 feststellen, die Veränderungen im Blut und im Muskel korrelierten aber nicht miteinander. Nindl et al. (2012) kommen daher zu dem Schluss, dass das IGF-1 im Blut nicht ursprünglich aus Muskel stammt. Auch Hansen et al. (2011) schlussfolgerte, dass der Anstieg an zirkulierenden Follistatin nach körperlicher Aktivität nicht von der Muskulatur, sondern von der Leber ausging. Da es auch bei anderen Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen bei den Muskelexpressionen im Vergleich zu den zirkulierenden Proteinen gekommen ist (Kim et al., 2007; Hambrecht et al., 2005; Bamman et al., 2001) kann wohl davon ausgegangen werden, dass die Proteine Activin A, GDF-15, Follistatin, IGF-1 und Myostatin im Muskel hauptsächlich auto- oder parakrin wirken und die endokrine Wirkungsweise marginal ist.

Diese Erkenntnis zieht weitere Konsequenzen mit sich. Eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen den Studien, die Proteine im Blut messen, und jenen Studien, die Proteine im Muskel messen, ist nicht gegeben. Daher sollte man nur Studien vergleichend betrachten,

die die Proteine auf die gleiche Art gemessen haben. So ist z.B. bei Follistatin ein Trend zu einer Erhöhung im Muskel mit dem Alter zu erkennen (Jensky et al., 2007; Dalbo et al., 2011), während das zirkulierende Follistatin im Blut gleich zu bleiben scheint (Hoffman et al., 2015; Ratkevicius et al., 2011). Die Unterschiede könnten daher kommen, dass Proteine verschiedene Funktionen im Körper haben und auch von anderen Organen produziert werden. Neben den positiven oder negativen Einflüssen auf die Muskulatur, weisen manche Proteine anscheinend andere Funktionen in anderen Organen auf.

So steht IGF-1 neben seiner Funktion als positiver Muskelregulator auch im Zusammenhang mit der Krebsentstehung. Es konnte z.B. ein positiver Zusammenhang zwischen zirkulierenden IGF-1 und Brustkrebs (The Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group, 2010) bzw. Prostatakrebs (Rowlands et al., 2009) festgestellt werden. Da IGF-1 eine Schlüsselrolle in der Zellproliferation, Zelldifferenzierung und Apoptose spielt, verhindert es die Apoptose und unterstützt die Zellteilung, wodurch es zur Krebsentstehung und -progression beitragen kann (Pollak, 2001).

Auch GDF-15 zeigt kontroverse Rollen im Organismus. Einerseits stehen erhöhte GDF15-Werte im Blut im Zusammenhang mit einer erhöhten Gesamtmortalität (Daniels et al., 2011; Eggers et al., 2013; Wiklund et al., 2010), Krebs (Brown et al. 2003; Mimeault & Batra, 2010) und der Skelettmuskelatrophie (Bloch et al., 2013; Bloch et al., 2015), andererseits konnten auch positive Wirkungen in der Herzmuskulatur gezeigt werden. Hier wirkt GDF-15 schützend gegen eine kardiale Hypertrophie (Xu et al., 2006). Auch bei einer Studie an genmanipulierten Mäusen, die vermehrt GDF-15 exprimierten, wurde ein positiver Zusammenhang mit einer höheren Lebenserwartung festgestellt und die Mäuse zeigten sich resistent gegenüber einer High-Fat-Diet induzierten Fettleibigkeit und Entzündungsprozessen (Wang et al., 2014).

Des Weiteren zeigt Activin A neben seiner Funktion im Muskel als negativer Regulator der Muskelmasse auch noch Zusammenhänge mit Typ-2-Diabetes (Ueland et al., 2012; Wu et al., 2012) und Brustkrebs (Reis et al., 2002). Hier sind die erhöhten Serum-Werte die Antwort auf Entzündungen und oxidativen Stress (Ueland et al., 2012; Wu et al., 2012).

Während Follistatin im Muskel Myostatin und Activin A hemmt, wurde Follistatin zuerst als eine Substanz, die das Follikel stimulierende Hormon hemmt, identifiziert und es wurden die Serumwerte von Follistatin auch in diesem Zusammenhang untersucht. Florio et al. (2009) und Ant et al. (2015) fanden z.B. erhöhte Werte bei Patienten, die an Endometriose der Eierstöcke erkrankt waren und Näf et al. (2015) konnten bei Frauen mit Schwangerschaftsdiabetes eine Senkung der Follistatin-Werte im Serum messen.

Myostatin scheint auch eine Rolle bei verschiedenen Krankheiten zu spielen: So ist Myostatin im Blut bei Diabetes-Typ-2-Patienten (Brandt et al., 2013) und auch im Blut und

Muskel bei HIV-positiven Patienten erhöht (Gonzalez-Cadavid et al., 1998). Außerdem wurde Myostatin auch in Fettgewebe gefunden und könnte auch von dort endokrin wirken (Argilés et al., 2012).

Die verschiedenen Funktionen der Proteine im Körper zeigen, dass die Konzentrationen der Proteine im Blut nicht nur von der Muskulatur ausgehen können. Der nicht gegebene Zusammenhang der Blut- und Muskelkonzentrationen lässt vermuten, dass die Vorgänge im Muskel nicht im Blut widerspiegelt werden. Um Effekte eines Trainings oder Proteine im Zusammenhang mit Sarkopenie zu erforschen, ist es daher ratsam die mRNA-Expression des Muskels zu untersuchen und daher Muskelbiopsien statt Blutabnahmen durchzuführen. Um eine bessere Bereitschaft, der Studienteilnehmern sich einer Muskelbiopsie zu unterziehen, zu erreichen, sollten Microbiopsien in Erwägung gezogen werden. Tobina et al. (2009) konnten mit dieser Methode durchschnittlich  $5,2 \pm 3,2$  mg Muskelgewebe entnehmen, bei älteren Männern und Frauen jedoch weniger als bei jüngeren Männern. Die Erfolgsrate lag bei 89.6% bei jungen Männern, bei 53.3% bei älteren Männern und bei 63.2% bei älteren Frauen. Der Schmerz der Microbiopsie war mit einer Blutabnahme zu vergleichen. Hayot et al. (2005) untersuchten die Microbiopsie und die Bergström-Biopsie miteinander und konnten bei der Microbiopsie mit  $55 \pm 17$  mg zwar weniger Muskelgewebe gegenüber der Bergström-Technik entnehmen ( $217 \pm 89$  mg), die Ergebnisse in Bezug auf die Proteine Citrate Synthase (CS) und Myosin Heavy Chain (MyoHC) waren jedoch vergleichbar. Da sich die Methoden immer weiterentwickeln und anzunehmen ist, dass die benötigten Probenmengen immer geringer werden, ist anzunehmen, dass Microbiopsien in Zukunft die Methode der Wahl darstellen, um die Vorgänge in der Muskulatur, die letztlich zum altersbedingten Verlust an Muskelmasse und -funktion führen genau zu beschreiben. Die Werte im Blut zu messen, stellt momentan (zumindest für die untersuchten Parameter) keine zufriedenstellende Wahl dar.

## Abkürzungsverzeichnis

---

4E-BP	Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E-binding Protein
ACVR2	Activin Typ II Rezeptor
Akt	Proteinkinase B
ALK 4/ALK 5	Activin Receptor-like Kinase
BDNF	Brain-derived Neurotrophic Factor
BIA	Bioelektrische Impedanzanalyse
BMPs	Bone Morphogenetic Proteins
CRP	C-reaktive Protein
CT	Computertomographie
DEXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
eIF4E	Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FoxO	Forkhead Box O
GDF-15	Growth Differentiation Factor 15
IGF	Insulin-like Growth Factor
IGF1R	Insulin-like Growth Factor-1-Rezeptor
IL	Interleukin
IL-1ra	Interleukin-1 receptor antagonist
IRS	Insulin-Rezeptor-Substrat
LC3	Light Chain 3
KWP	Kuratorium Wiener Pensionistenhäuser
MAFbx	Muscle Atrophy F-box
MIC-1	Macrophage Inhibitory Cytokine-1
MRF4	Myogenic Regulatory Factor 4
MRFs	Myogen Regulierende Faktoren
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
mTORC	mTOR complex

MyoD	Myogenic Differentiation
Myf5	Myogenic Factor 5
MURF1	Muscle Ring Finger 1
Pax	Paired-box
PCR	Polymerase Chain Reaction
PI3K	Phosphoinositid-3-Kinase
Rpm	Revolutions per minute
S6K	S6 Kinase
Smad	Small body size mothers against decapentaplegic
sTNF-R	löslicher TNF-Receptor
TAK	TGF- $\beta$ Activated Kinase
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumornekrosefaktor
TNF-R	Tumor Nekrose Factor Receptor

## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 1 Regeneration eines Muskels durch die Aktivierung von jungen (a) und gealterten (b) Satellitenzellen (Bentzinger & Rudnicki 2014, S. 235) .....	7
Abbildung 2 Der Skelettmuskel als sekretorisches Organ ( Pedersen & Febbraio, 2012, S. 459). .....	13
Abbildung 3 Graphische Darstellung der Hauptsignalwege für Hypertrophie und Atrophie (bearbeitet nach Sandri 2008, S. 126).....	14
Abbildung 4 Bergströmnadel (Durchmesser 6,0 mm) (oben) im Vergleich mit einer Mircobiospienadel (Durchmesser 1,4 mm) (unten)(Tobina et al. 2008, S.253) .....	31
Abbildung 5 Prinzip einer Sandwich-ELISA (Crowther 2001, S. 18) .....	37
Abbildung 6 Shortprotocol für Follistatin (R&D Systems, 2014) .....	39
Abbildung 7 Graphische Darstellung einer kompetitiven ELISA; oben: Darstellung des Verfahrens bei vorhandenen Parametern; unten: Darstellung des Verfahrens ohne die zu untersuchten Parameter ( <a href="http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-types/competitive-elisa">http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-types/competitive-elisa</a> ).....	41
Abbildung 8 Shortprotocol für Myostatin (Immundiagnostik, 2014) .....	42
Abbildung 9 Graphische Darstellung einer quantitativen PCR mit SYBR Green (a) und Taqman (b) (Smith & Osborn 2009, S.8) .....	45
Abbildung 10 Übersicht über Studienablauf und Anzahl der TeilnehmerInnen .....	48
Abbildung 11 Veranschaulichung der Korrelation der Muskelparameters Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) mit dem Körperfett (a) und der Korrelation des Muskelparameters Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) mit der Muskelmasse (b).....	51
Abbildung 12 Zusammenhang zwischen dem Muskelparameter Growth Differentiation Factor-15 (GDF-15) und dem Blutparameter Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1).....	54

## Tabellenverzeichnis

---

Tabelle 1 Überblick der Trainingsstudien von Myostatin.....	18
Tabelle 2 Überblick der Studien von Myostatin im Altersverlauf.....	19
Tabelle 3 Überblick der Studien von Activin A im Altersverlauf.....	21
Tabelle 4 Überblick der Trainingsstudien von Follistatin.....	23
Tabelle 5 Überblick der Studien von Follistatin im Altersverlauf .....	23
Tabelle 6 Überblick der Trainingsstudien von IGF-1 .....	26
Tabelle 7 Überblick der Studien von IGF-1 im Altersverlauf.....	26
Tabelle 8 Überblick der Trainingsstudien von GDF-15.....	28
Tabelle 9 Überblick der Studien von GDF-15 im Altersverlauf.....	29
Tabelle 10 Überblick über die verwendeten Reagenzien bei der PCR.....	46
Tabelle 11 Deskriptive Beschreibung der StudienteilnehmerInnen .....	49
Tabelle 12 Blutparameter .....	50
Tabelle 13 Muskelparameter .....	50
Tabelle 14 Normalverteilung Anthropometrie, Blutparameter und Muskelparameter .....	51
Tabelle 15 Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern .....	52
Tabelle 16 Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen.....	53
Tabelle 17 Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Anthropometrieparametern bei den männlichen Studienteilnehmern.....	53
Tabelle 18 Korrelationen zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern .....	54
Tabelle 19 Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern bei den weiblichen Studienteilnehmerinnen.....	55
Tabelle 20 Korrelation zwischen den Muskelparametern und den Blutparametern bei den männlichen Studienteilnehmern.....	55

## Literaturverzeichnis

---

- Ahrens, C., Schiltenswolf, M., & Wang, H. (2012). Zytokine im psychoneuroendokrin-immunologischen Kontext unspezifischer muskuloskeletaler Schmerzen. *Der Schmerz*, 26(4), S. 383-388.
- Ant, Ö., Özakşit, G., Güzel, A., Cavkaytar, S., Kaba, M., & Topçu, H. O. (2015). Clinical significance of serum follistatin levels in the diagnosis of ovarian endometrioma and benign ovarian cysts. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 54(3), S. 236-239.
- Ao, W., & Sakuma, K. (2013). Skeletal muscle: novel and intriguing characteristics as a secretory organ. *BioDiscovery*, 2(7), S. 1-9.
- Argilés, J. M., Orpí, M., Busquets, S., & López-Soriano, F. J. (2012). Myostatin: more than just a regulator of muscle mass. *Drug Discov Today*, 17(13-14), S. 702–709.
- Baccarelli, A., Morpurgo, P. S., Corsi, A., Vaghi, I., Fanelli, M., Cremonesi, G., et al. (2001). Activin A serum levels and aging of the pituitary-gonadal axis: a cross-sectional study in middle-aged and elderly healthy subjects. *Exp Gerontol*, 36(8), S. 1403–1412.
- Bamman, M. M., Shipp, J. R., Jiang, J., Gower, B. A., Hunter, G. R., Goodman, A., et al. (2001). Mechanical load increases muscle IGF-I and androgen receptor mRNA concentrations in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 280(3), S. E383–E390.
- Barbosa, M. H., Bolina, A. F., Luiz, R. B., de Oliveira, K. F., Virtuoso, J. S., Rodrigues, R. A., et al. (2015). Body mass index as discriminator of the lean mass deficit and excess body fat in institutionalized elderly people. *Geriatr Nurs. 2015 May-Jun;36(3):202-6.*, 36(3), S. 202-206.
- Barton, E. R. (2006). Viral expression of insulin-like growth factor-I isoforms promotes different responses in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 100(6), S. 1778–1784.
- Barton-Davis, E. R., Shoturma, D. I., & Sweeney, H. L. (1999). Contribution of satellite cells to IGF-I induced hypertrophy of skeletal muscle. *Acta Physiol Scand*, 167(4), S. 301–305.
- Bentzinge, C. F., & Rudnicki, M. A. (2014). Rejuvenating aged muscle stem cells. *Nat Med.*, 20(3), S. 234-235.
- Bergen, H. R., Farr, J. N., Vanderboom, P. M., Atkinson, E. J., White, T. A., Singh, R. J., et al. (2015). Myostatin as a mediator of sarcopenia versus homeostatic regulator of muscle mass: insights using a new mass spectrometry-based assay. *Skeletal Muscle*, 5(21), S. 1-16.
- Bergmann, M., Weis, J., & Probst-Cousin, S. (2009). Muskelbiopsie. Indikationen und Technik. *Der Pathologe*, 30(5), S. 345–351.
- Bloch, S. A., Lee, J. Y., Syburra, T., Rosendahl, U., Griffiths, M. J., & Kemp, P. R. (2015). Increased expression of GDF-15 may mediate ICU-acquired weakness by down-regulating muscle microRNAs. *Thorax*, 70, S. 219–228.

- Bloch, S. A., Lee, J. Y., Wort, S. J., Polkey, M. I., Kemp, P. R., & Griffiths, M. J. (2013). Sustained elevation of circulating GDF-15 and a dynamic imbalance in mediators of muscle. *Critical Care Medicine*, *41*(4), S. 982-989.
- Bloch, W. (2007). Neue molekular- und zellbiologische Ansätze. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*, *58*(9), S. 338-343.
- Bonaldo, P., & Sandri, M. (2013). Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Disease Models & Mechanisms*, *6*, S. 25-39.
- Brandt, C., Nielsen, A. R., Fischer, C. P., Hansen, J., Pedersen, B. K., & Plomgaard, P. (2012). Plasma and Muscle Myostatin in Relation to Type 2 Diabetes. *PLoS ONE*, *7*(5), S. e37236.
- Brooks, E. N., & Myburgh, K. H. (2014). Skeletal muscle wasting with disuse atrophy is multi-dimensional: the response and interaction of myonuclei, satellite cells and signaling pathways. *Front. Physiol.*, *5*(99), S. 1-14.
- Brown, D. A., Ward, R. L., Buckhaults, P., Liu, T., Romans, K. E., Hawkins, N. J., et al. (2003). MIC-1 serum level and genotype: associations with progress and prognosis of colorectal carcinoma. *Clin Cancer Res*, *9*(7), S. 2642–2650.
- Canaan Rezende, F. A., Queiroz Ribeiro, A., Priore, S. E., & Castro Franceschini, S. (2015). Anthropometric differences related to genders and age in the elderly. *Nutr Hosp*, *32*(2), S. 757-64.
- Chen, J. L., Walton, K. L., Winbanks, C. E., Murphy, K. T., Thomson, R. E., Mankanji, Y., et al. (2014). Elevated expression of activins promotes muscle wasting and cachexia. *FASEB J.*, *28*(4), S. 1711-1723.
- Coleman, M. E., DeMayo, F., Yin, K. C., Lee, H. M., Geske, R., Montgomery, C., et al. (1995). Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J Biol Chem*, *270*(20), S. 12109–12116.
- Corre, J., Hébraud, B., & Bourin, P. (2013). Concise Review: Growth Differentiation Factor 15 in Pathology: A Clinical Role? *Stem Cells Transl Med*, *2*(12), S. 946-952.
- Crowther, J. R. (2001). *The ELISA Guidebook*. Totowa, New Jersey: Humana Press.
- Cruz-Jentoft, A. J., Baeyens, J. P., Bauer, J. M., Boirie, Y., Cederholm, T., Landi, F., et al. (2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age and Ageing*(39), S. 412–423.
- Dalbo, V. J., Roberts, M. D., Sunderland, K. L., Poole, C. N., Stout, J. R., Beck, W. T., et al. (2011). Acute loading and aging effects on myostatin pathway biomarkers in human skeletal muscle after three sequential bouts of resistance exercise. *J Gerontol/A Biol Sci Med Sci.*, *66*(8), S. 855-865.
- Daniels, L. B., Clopton, P., Laughlin, G. A., Maisel, A. S., & Barrett-Connor, E. (2011). Growth-differentiation factor-15 is a robust, independent predictor of 11-year mortality risk in community-dwelling older adults: the Rancho Bernardo Study. *Circulation*, *123*(19), S. 2101-2110.

- de Rezende Pinto, W. B., de Souza, P. V., & Oliveira, A. S. (2015). Normal muscle structure, growth, development, and regeneration. *Curr Rev Musculoskelet Med*, 8(2), S. 176-181.
- Demontis, F., Piccirillo, R., Goldberg, A. L., & Perrimon, N. (2013). The influence of skeletal muscle on systemic aging and lifespan. *Aging Cell*, 12(6), S. 943-949.
- Diel, P., Schiffer, T., Geisler, S., Hertrampf, T., Moslera, S., Schulz, S., et al. (2010). Analysis of the effects of androgens and training on myostatin propeptide and follistatin concentrations in blood and skeletal muscle using highly sensitive immuno PCR. *Mol Cell Endocrinol*, 330(1-2), S. 1-9.
- Dinarello, C. A. (2007). Historical Review of Cytokines. *Eur J Immunol*(37), S. 34–45.
- Ding, L., & Yang, F. (2015). Muscle weakness is related to slip-initiated falls among community-dwelling older adults. *J Biomech.* (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2015.12.009>), S. 1-6.
- Dodds, R., & Sayer, A. A. (2014). Sarcopenia. *Arq Bras Endocrinol Metab*, 58(5), S. 464-469.
- Eggers, K. M., Kempf, T., Wallentin, L., Wollert, K. C., & Lind, L. (2013). Change in growth differentiation factor 15 concentrations over time independently predicts mortality in community-dwelling elderly individuals. *Clin Chem*, 59(7), S. 1091–1098.
- Febbraio, M. A., & Pedersen, B. K. (2002). Muscle-derived interleukin-6: mechanisms for activation and possible biological roles. *FASEBJ*, 16(11), S. 1335–1347.
- Fiorotto, M. L., Schwartz, R. J., & Delaughter, M. C. (2003). Persistent IGF-I overexpression in skeletal muscle transiently enhances DNA accretion and growth. *FASEBJ*, 17(1), S. 59-60.
- Florio, P., Reis, F. M., Torres, P. B., Calonaci, F., Abrao, M. S., Nascimento, L. L., et al. (2009). High serum follistatin levels in women with ovarian endometriosis. *Hum Reprod*, 24(10), S. 2600–2606.
- Folstein, M. F., Folstein, S. E., & McHugh, P. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for clinician. *J Psychiatr Res*, 123, S. 189-198.
- Fragala, M. S., Clark, M., Walsh, S. J., Kleppinger, A., Judge, J. O., Kuchel, G. A., et al. (2012). Gender Differences in Anthropometric Predictors of Physical Performance in Older Adults. *Genet Med*, 9(6), S. 445–456.
- Friedrich, W. (2007). *Optimales Sportwissen: Grundlagen der Sporttheorie und Sportpraxis*. Balingen: Spitta Verlag.
- Frontera, W. R., & Ochala, J. (2015). Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. *Calcif Tissue Int*, 96, S. 183–195.
- Frontera, W. R., Hughes, V. A., Fielding, R. A., Fiatarone, M. A., Evans, W. J., & Roubenoff, R. (2000). Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol*, 88(4), S. 1321-1326.
- Frontera, W. R., Hughes, V. A., Fielding, R. A., Fiatarone, M. A., Evans, W. J., & Roubenoff, R. (2000). Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol*, 88(4), S. 1321–1326.

- Galliera, E., Lombardi, G., Marazzi, M. G., Grasso, D., Vianello, E., Pozzoni, R., et al. (2014). Acute exercise in elite rugby players increases the circulating level of the cardiovascular biomarker GDF-15. *Scand J Clin Lab Invest*, 74(6), S. 492-499.
- García-Prat, L., Sousa-Victor, P., & Muñoz-Cánoves, P. (2013). Functional dysregulation of stem cells during aging: a focus on skeletal muscle stem cells. *FEBS J.*, 280(17), S. 4051-4062.
- Gavriilidou, N. N., Pihlgård, M., & Elmståhl, S. (2015). Anthropometric reference data for elderly Swedes and its disease-related pattern. *Eur J Clin Nutr*, 69(9), S. 1066–1075.
- Gilson, H., Schakman, O., Kalista, S., Lause, P., Tsuchida, K., & Thissen, J. -P. (2009). Follistatin induces muscle hypertrophy through satellite cell proliferation and inhibition of both myostatin and activin. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 279(1), S. E157-164.
- Gonzalez-Cadavid, N. F., Taylor, W. E., Yarasheski, K., Sinha-Hikim, I., Ma, K., Ezzat, S., et al. (1998). Organization of the human myostatin gene and expression in healthy men and HIV -infected men with muscle wasting. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(25), S. 14938-14943.
- Group, T. E. (2010). Insulin-like growth factor 1 (IGF1), IGF binding protein 3 (IGFBP3), and breast cancer risk: pooled individual data analysis of 17 prospective studies. *Lancet Oncol*, 11(6), S. 530–542.
- Guerra, B. G.-C.-G., Martinez-Bello, V. E., Guadalupe-Grau, A., Santana, A., Sebastia, V., Viña, J., et al. (2011). Repeated muscle biopsies through a single skin incision do not elicit muscle signaling, but IL-6 mRNA and STAT3 phosphorylation increase in injured muscle. *J Appl Physiol*, 110(6), S. 1708-1715.
- Guo, T., Jou, W., Chanturiya, T., Portas, J., Gavrilova, O., & McPherron, A. C. (2009). Myostatin inhibition in muscle, but not adipose tissue, decreases fat mass and improves insulin sensitivity. *PLoS One.*, 4(3), S. e4937.
- Hambrecht, R., Schulze, P. C., Gielen, S., Linke, A., Möbius-Winkler, S., Erbs, S., et al. (2005). Effects of exercise training on insulin-like growth factor-I expression in the skeletal muscle of non-cachectic patients with chronic heart failure. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 12, S. 401–406.
- Han, B., Tong, J., Zhu, M. J., Ma, C., & Du, M. (2008). Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and leucine activate pig myogenic satellite cells through mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *Mol Reprod Dev*, 75(5), S. 810–817.
- Hansen, J., Brandt, C., Nielsen, A. R., Hojman, P., Whitham, M., Febbraio, M. A., et al. (2011). Exercise Induces a Marked Increase in Plasma Follistatin: Evidence That Follistatin Is a Contraction-Induced Hepatokine. *Endocrinology*, 152(1), S. 164-171.
- Hayot, M., Michaud, A., Koechlin, C., Caron, M.-A., LeBlanc, P., Préfaut, C., et al. (2005). Skeletal muscle microbiopsy: a validation study of a minimally invasive technique. *Eur Respir J*, 25, S. 431-440.
- He, H., Liu, Y., Tian, Q., Papasian, C. J., Hu, T., & Deng, H. W. (2015). Relationship of sarcopenia and body composition with osteoporosis. *Osteoporos Int*.

- Hill, M., & Goldspink, G. (2003). Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. *J Physiol*, 549(Pt 2), S. 409–418.
- Ho, J. E., Mahajan, A., Chen, M.-H., Larson, M. G., McCabe, E. L., Ghorbani, A., et al. (2012). Clinical and Genetic Correlates of Growth Differentiation Factor-15 in the Community. *Clin Chem*, 58(11), S. 1582–1591.
- Hofmann, M., Halper, B., Oesen, S., Franzke, B., Stuparits, P., Tschan, H., et al. (2015). Serum concentrations of insulin-like growth factor-1, members of the TGF-beta superfamily and follistatin do not reflect different stages of dynapenia and sarcopenia in elderly women. *Experimental Gerontology*, 64, S. 35-45.
- Holzapfel, B. &. (2007). Die quantitative Real-Time-PCR (qRT-PCR). Methoden und Anwendungsgebiete. *Biol. Unserer Zeit*, 2(37), S. 120-126.
- <http://www.elisa-antibody.com/ELISA-Introduction/ELISA-types/competitive-elisa>. (2016). Abgerufen am 8. Jänner 2016
- <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/phosphorylierung/51290>. (2015). Abgerufen am 2015
- Hulmi, J. J., Ahtiainen, J. P., Kaasalainen, T., Pöllänen, E., Häkkinen, K., Alen, M., et al. (2007). Postexercise Myostatin and Activin IIb mRNA Levels: Effects of Strength Training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, S. 289-297.
- Iizuka, K., Machida, T., & Hirafuji, M. (2014). Skeletal Muscle Is an Endocrine Organ. *J Pharmacol Sci*, 125, S. 125-131.
- Immundiagnostik. (2014). *Myostatin ELISAA Kit Manual, K1202*.
- Iolascon, G., Pietro, G. D., Gimigliano, F., Mauro, G. L., Moretti, A., Giamattei, M. T., et al. (2014). Physical exercise and sarcopenia in older people: position paper of the Italian Society of Orthopaedics and Medicine (OrtoMed). *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*, 11(3), S. 215-221.
- Isner-Horobeti, M. E., Charton, A., Daussin, F., Geny, B., Dufour, S. P., & Richard, R. (2014). Microbiopsies versus Bergström needle for skeletal muscle sampling: impact on maximal mitochondrial respiration rate. *Eur J Appl Physiol*, 114, S. 885–889.
- Jang, Y., Sinha, M., Cerletti, M., Dall'osso, C., & Wagers, A. (2011). Skeletal Muscle Stem Cells: Effects of Aging and Metabolism on Muscle Regenerative Function. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 76, S. 101-111.
- Jensky, N. E., Sims, J. K., Dieli-Conwright, C. M., Rittler, F. R., Rice, J. C., & Schroeder, E. T. (2010). Exercise does not influence myostatin and follistatin messenger RNA expression in young women. *J Strength Cond Res*, 24(2), S. 522-530.
- Jensky, N. E., Sims, J. K., Rice, J. C., Dreyer, H. C., & Schroeder, E. T. (2007). The influence of eccentric exercise on mRNA expression of skeletal muscle regulators. *Eur J Appl Physiol*, 101, S. 473–480.

- Jeon, Y. K., & Ha, C. H. (2015). Expression of brain-derived neurotrophic factor, IGF-1 and cortisol elicited by regular aerobic exercise in adolescents. *J Phys Ther Sci*, 27(3), S. 737-741.
- Jones, M. F., Ling, L. X., Subramanian, M., Shabalina, S. A., Hara, T., Zhu, Y., et al. (2015). Growth differentiation factor-15 encodes a novel microRNA 3189 that functions as a potent regulator of cell death. *Cell Death Differ*, S. 1-13.
- Joulia-Ekaza, D., & Cabello, G. (2006). Myostatin regulation of muscle development: Molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Exp Cell Res.*, 312(13), S. 2401-2414.
- Kalinkovich, A., & Livshits, G. (2015). Sarcopenia - The search for emerging biomarkers. *Ageing Res Rev*, 22, S. 58-71.
- Kalista, S., Schakman, O., Gilson, H., Lause, P., Demeulder, B., Bertrand, L., et al. (2012). The type 1 insulin-like growth factor receptor (IGF-IR) pathway is mandatory for the follistatin-induced skeletal muscle hypertrophy. *Endocrinology*, 153(1), S. 241-253.
- Keller, C., Steensberg, A., Pilegaard, H., Osada, T., Saltin, B., Pedersen, B., et al. (2001). Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEBJ.*, 15(14), S. 2748–2750.
- Kim, J.-s., Cross, J. M., & Bamman, M. M. (2005). Impact of resistance loading on myostatin expression and cell cycle regulation in young and older men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 288(6), S. E1110–E1119.
- Kim, J.-s., Petrella, J. K., Cross, J. M., & Bamman, M. M. (2007). Load-mediated downregulation of myostatin mRNA is not sufficient to promote myofiber hypertrophy in humans: a cluster analysis. *Appl Physiol*, 103(5), S. 1488-1495.
- Kim, K.-K., Lee, J. J., Yang, Y., You, K.-H., & Lee, J.-H. (2008). Macrophage inhibitory cytokine-1 activates AKT and ERK-1/2 via the transactivation of ErbB2 in human breast and gastric cancer cells. *Carcinogenesis*, 29(4), S. 704-712.
- KWP. (2014). Abgerufen am 11. 30 2015 von [http://www.kwp.at/pics/web/Dokumente/KWP\\_Geschaeftsbericht\\_2014\\_web.pdf](http://www.kwp.at/pics/web/Dokumente/KWP_Geschaeftsbericht_2014_web.pdf)
- KWP. (2014). *Geschäftsbericht 2014 Kuratorium Wiener Pensionisten-Wohnhäuser*. Abgerufen am 15. Dezember 2015 von [http://www.kwp.at/pics/web/Dokumente/KWP\\_Geschaeftsbericht\\_2014\\_web.pdf](http://www.kwp.at/pics/web/Dokumente/KWP_Geschaeftsbericht_2014_web.pdf)
- Lach-Trifilieff, E., Minetti, G. C., Sheppard, K. A., Ibebunjo, C., Feige, J. N., & Hartmann, S. (2014). An Antibody Blocking Activin Type II Receptors Induces Strong Skeletal Muscle Hypertrophy and Protects from Atrophy. *Molecular and Cellular Biology*, 34(4), S. 606–618.
- Lakshman, K. M., Bhasin, S., Corcoran, C., Collins-Racie, L. A., Tchistiakova, L., Forlow, S. B., et al. (2009). Measurement of myostatin concentrations in human serum: Circulating concentrations in young and older men and effects of testosterone administration. *Mol Cell Endocrinol*, 302(1), S. 26-32.

- Lang, T., Streeper, T., Cawthon, P., Baldwin, K., Taaffe, D. R., & Harris, T. B. (2010). Sarcopenia: etiology, clinical consequences, intervention, and assessment. *Osteoporosis International*, *21*(4), S. 543–559.
- Langley, B., Thomas, M., Bishop, A., Sharma, M., Gilmour, S., & Kambadur, R. (2002). Myostatin inhibits myoblast differentiation by down-regulating MyoD expression. *J Biol Chem*. 2002 Dec 20; *277*(51); *277*(51), S. 49831-49840.
- Lee, S. J., & McPherron, A. C. (2001). Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *98*(16), S. 9306-9311.
- Lee, S. J., Lee, Y. S., Zimmers, T. A., Soleimani, A., Matzuk, M. M., Tsuchida, K., et al. (2010). Regulation of muscle mass by follistatin and activins. *Mol Endocrinol*, *24*(10), S. 1998-2008.
- Lee, S.-J. (2007). Quadrupling muscle mass in mice by targeting TGF-beta signaling pathways. *PLoS One*, *2*(8), S. e789.
- Lee, S.-J., Reed, L. A., Davies, M. V., Girgenrath, S., Goad, M. E., Tomkinson, K. N., et al. (2005). Regulation of muscle growth by multiple ligands signaling through activin type II receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, *102*(50), S. 18117–18122.
- Léger, B., Derave, W., Bock, K. D., Hespel, P., & Russell, A. P. (2008). Human sarcopenia reveals an increase in SOCS-3 and myostatin and a reduced efficiency of Akt phosphorylation. *Rejuvenation Res*, *11*(1), S. 163-175B.
- Lexell, J., Henriksson-Larsén, K., Winblad, B., & Sjöström, M. (1983). Distribution of different fiber types in human skeletal muscles: effects of aging studied in whole muscle cross sections. *Muscle Nerve*, *6*(8), S. 588–595.
- Lexell, J., Taylor, C., & Sjöström, M. (1988). What is the cause of the ageing atrophy? Total number, size and proportion of different fiber types studied in whole vastus lateralis muscle from 15- to 83-year-old men. *J Neurol Sci*, *84*(2-3), S. 275–294.
- Ling, C. H., Taekema, D., Craen, A. J., Gussekloo, J., Westendorp, R. G., & Maier, A. B. (2010). Handgrip strength and mortality in the oldest old population: the Leiden 85-plus study. *CMAJ*, *182*(5), S. 429–435.
- Lippi, G., Sanchis-Gomar, F., & Montagnana, M. (2014). Biological Markers in Older People at Risk of Mobility Limitations. *Curr Pharm Des*, *20*(19), S. 3222-3244.
- Löffler, G. (2008). *Basiswissen Biochemie mit Pathochemie*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Loria, P., Petraglia, F., Concari, M., Bertolotti, M., Martella, P., Luisi, S., et al. (1998). Influence of age and sex on serum concentrations of total dimeric activin A. *Eur J Endocrinol*, *139*(5), S. 487–492.
- Lutz, C. T., & Quinn, L. S. (2012). Sarcopenia, obesity, and natural killer cell immune senescence in aging: altered cytokine levels as a common mechanism. *Aging*, *4*(8), S. 535-546.

- M, L.-O., & P, A. (2015). Anthropometric characteristics and body composition in Mexican older adults: age and sex differences. *Br J Nutr*, S. 1-10.
- McCarthy, J. J., Mula, J., Miyazaki, M., Erfani, R., Garrison, K., Farooqui, A. B., et al. (2011). Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. *Development (Cambridge, England)*, 138(17), S. 3657–3666.
- McCarthy, J. J., Mula, J., Miyazaki, M., Erfani, R., Garrison, K., Farooqui, A. B., et al. (2011). Effective fiber hypertrophy in satellite cell-depleted skeletal muscle. *Development*. 2011 September 1; 138(17): 3657–3666, 17, S. 3657–3666.
- McKay, B. R., Ogborn, D. I., Bellamy, L. M., Tarnopolsky, M. A., & Parise, G. (2012). Myostatin is associated with age-related human muscle stem cell dysfunction. *FASEB J*, 26(6), S. 2509–2521.
- McMahon, C. D., Popovic, L., Oldham, J. M., Jeanplong, F., Smith, H. K., Kambadur, R., et al. (2003). Myostatin-deficient mice lose more skeletal muscle mass than wild-type controls during hindlimb suspension. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285(1), S. E82–E87.
- McPherron, A. C., Lawler, A. M., & Lee, S. J. (1997). Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature*, 387(6628), S. 83–90.
- Mediagnost. (2014). Human IGF-1 ELISA, RMEE20.
- Mimeault, M., & Batra, S. K. (2010). Divergent Molecular Mechanisms Underlying the Pleiotropic Functions of Macrophage Inhibitory Cytokine-1 in Cancer. *J Cell Physiol*, 224(3), S. 626–635.
- Munk, P. S., Valborgland, T., Butt, N., & Larsen, A. I. (2011). Response of growth differentiation factor-15 to percutaneous coronary intervention and regular exercise training. *Scand Cardiovasc J.*, 45(1), S. 27-32.
- Näf, S., Escote, X., Ballesteros, M., Yañez, R. E., Simón-Muela, I., Gil, P., et al. (2014). Serum Activin A and Follistatin Levels in Gestational Diabetes and the Association of the Activin A-Follistatin System with Anthropometric Parameters in Offspring. *PLoS One*, 9(4), S. 1-7.
- Nindl, B. C., Urso, M. L., Pierce, J. R., Scofield, D. E., Barnes, B. R., Kraemer, W. J., et al. (2012). IGF-I measurement across blood, interstitial fluid, and muscle biocompartments following explosive, high-power exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 303(10), S. 1080–1089.
- Nishida, Y., Matsubara, T., Tobina, T., & Shindo, M. (2010). Effect of Low-Intensity Aerobic Exercise on Insulin-Like Growth Factor-I and Insulin-Like Growth Factor-Binding Proteins in Healthy Men. *Int J Endocrinol*, Volume 2010(ID 452820).
- Osborn, C. J. (2009). Advantages and limitations of quantitative PCR(Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol*, 67, S. 6-20.
- Pallafacchina, G., Blaauw, B., & Schiaffino, S. (2013). Role of satellite cells in muscle growth and maintenance of muscle mass. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, Suppl 1, S. 12-8.

- Pedersen, B. K. (2009). The disease of physical inactivity--and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J Physiol*, *587*(23), S. 5559-5568.
- Pedersen, B. K. (2011). Muscles and their myokines. *J Exp Biol*, *214*(2), S. 337-346.
- Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev*, *88*(4), S. 1379-1406.
- Pedersen, B. K., & Febbraio, M. A. (2012). Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol*, *8*(8), S. 457-465.
- Pedersen, B. K., Åkerström, T. C., Nielsen, A. R., & Fischer, C. P. (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl Physiol*, *103*(3), S. 1093-1098.
- Pedersen, B., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Keller, P., Plomgaard, P., et al. (2003). Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? *J Muscle Res Cell Motil*, *24*(2-3), S. 113-119.
- Petersen, A. M., & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol*, *98*(4), S. 1154-1162.
- Philippou, A., & Barton, E. R. (2014). Optimizing IGF-I for skeletal muscle therapeutics. *Growth Horm IGF Res*, *24*(5), S. 157-163.
- Philippou, A., Halapas, A., Maridaki, M., & Koutsilieris, M. (2007). Type I insulin-like growth factor receptor signaling in skeletal muscle regeneration and hypertrophy. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, *7*(3), S. 208-218.
- Pollak, M. (2001). Insulin-like growth factors and prostate cancer. *Epidemiol Rev*, *23*(1), S. 59-66.
- Pratesi, A., Tarantini, F., & Bari, M. D. (2013). Skeletal muscle: an endocrine organ. *Clin Cases Miner Bone Metab*, *10*(1), S. 11-14.
- Qaisar, R., Renaud, G., Morine, K., Barton, E. R., Sweeney, H. L., & Larsson, L. (2012). Is functional hypertrophy and specific force coupled with the addition of myonuclei at the single muscle fiber level? *FASEB J*, *26*(3), S. 1077-1085.
- R&D Systems. (2014). Quantikine Human Follistatin Immunoassay, DFN00.
- Rantanen, T., Avlund, K., Suominen, H., Schroll, M., Frändin, K., & Pertti, E. (2002). Muscle strength as a predictor of onset of ADL dependence in people aged 75 years. *Aging Clin Exp Res*, *14*(3), S. 10-15.
- Ratkevicius, A., Joyson, A., Selmer, I., Dhanani, T., Grierson, C., Tommasi, A. M., et al. (2011). Serum concentrations of myostatin and myostatin-interacting proteins do not differ between young and sarcopenic elderly men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *66*(6), S. 620-626.
- Reardon, K. A., Davis, J., Kapsa, R. M., Choong, P., & Byrne, E. (2001). Myostatin, insulin-like growth factor-1, and leukemia inhibitory factor mRNAs are upregulated in chronic human disuse muscle atrophy. *Muscle Nerve*, *24*(7), S. 893-839.

- Reis, F. M., Cobellis, L., Tameirão, L. C., Gabriele Anania, S. L., Silva, I. S., Gioffrè, W., et al. (2002). Serum and tissue expression of activin a in postmenopausal women with breast cancer. *J Clin Endocrinol Metab*, 87(5), S. 2277–2282.
- Rodriguez, J., Vernus, B., Chelh, I., Cassar-Malek, I., Gabillard, J. C., Hadj Sassi, A., et al. (2014). Myostatin and the skeletal muscle atrophy and hypertrophy signaling pathways. *Cell Mol Life Sci*, 71(22), S. 4361-4371.
- Roth, S. M., Martel, G. F., Ferrell, R. E., Metter, E. J., Hurley, B. F., & Rogers, M. A. (2003). Myostatin gene expression is reduced in humans with heavy-resistance strength training: a brief communication. *Exp Biol Med*, 228(6), S. 706-709.
- Rowlands, M.-A., Gunnell, D., Harris, R., Vatten, L. J., Holly, J. M., & Martin, R. M. (2009). Circulating insulin-like growth factor (IGF) peptides and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*(124), S. 2416–2429.
- Sanchis-Gomar, F., Bonaguri, C., Aloe, R., Pareja-Galeano, H., Martinez-Bello, V., Gomez-Cabrera, M. C., et al. (2013). Effects of acute exercise and xanthine oxidase inhibition on novel cardiovascular biomarkers. *Transl Res.*, 162(2), S. 102-109.
- Sandri, M. (2008). Signaling in Muscle Atrophy and Hypertrophy. *Physiology*, 23, S. 160–170.
- Sandri, M. (2008). Signaling in Muscle Atrophy und Hypertrophy. *Physiology*, 23, S. 160-170.
- Schiaffino, S., & Mammucari, C. (2011). Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skelet Muscle*, 1(4), S. 1-14.
- Schiaffino, S., Dyar, K. A., Ciciliot, S., Blaauw, B., & Sandri, M. (2013). Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.*, 280(17), S. 4294-4314.
- Silva, R. N., Bueno, P. G., Avó, L. R., Nonaka, K. O., Selistre-Araújo, H. S., & Leal, A. M. (2014). Effect of physical training on liver expression of activin A and follistatin in a nonalcoholic fatty liver disease model in rats. *Braz J Med Biol Res.*, 47(9), S. 746–752.
- Sjögren, K., Liu, J. L., Blad, K., Skrtic, S., Vidal, O., Wallenius, V., et al. (1999). Liver-derived insulin-like growth factor I (IGF-I) is the principal source of IGF-I in blood but is not required for postnatal body growth in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96(12), S. 7088-7092.
- Statistik Austria. (2013). Abgerufen am 30. 11 2015 von [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/soziales/gender-statistik/demographie/043902.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/soziales/gender-statistik/demographie/043902.html)
- Statistik Austria. (2015). *Statistik des Bevölkerungsstandes, Bevölkerungsprognose 2014*. Abgerufen am 2016. Jänner 6 von [http://www.statistik.at/web\\_de/statistiken/menschen\\_und\\_gesellschaft/soziales/gender-statistik/demographie/043902.html](http://www.statistik.at/web_de/statistiken/menschen_und_gesellschaft/soziales/gender-statistik/demographie/043902.html)
- Strimbu, K., & Tavel, J. A. (2010). What are Biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*, 5(6), S. 463-466.

- Suetta, C., Frandsen, U., Mackey, A. L., Jensen, L., Hvid, L. G., Bayer, M. L., et al. (2013). Ageing is associated with diminished muscle re-growth and myogenic precursor cell expansion early after immobility-induced atrophy in human skeletal muscle. *J Physiol*, *519*(Pt 15), S. 3789–3804.
- Szabó, G., Dallmann, G., Müller, G. P., Soller, M., & Varga, L. (1998). A deletion in the myostatin gene causes the compact (Cmpt) hypermuscular mutation in mice. *Mamm Genome*, *9*(8), S. 671–672.
- Taekema, G. D., Ling, C. H., Blauw, G. J., Meskers, C. G., Westendorp, R. G., et al. (2011). Circulating levels of IGF1 are associated with muscle strength in middle-aged-and oldest-old women. *Eur J Endocrinol*, *164*(2), S. 189-196.
- Tay, L., Ding, Y. Y., Leung, B. P., Ismail, N. H., Yeo, A., Yew, S., et al. (2015). Sex-specific differences in risk factors for sarcopenia amongst community-dwelling older adults. *Age*, *37*(6), S. 121.
- Tobina, T., Nakashima, H., Mori, S., Abe, M., Kumahara, H., Yoshimura, E., et al. (2009). The utilization of a biopsy needle to obtain small muscle tissue specimens to analyze the gene and protein expression. *J Surg Res*, *154*(2), S. 252-257.
- Trendelenburg, A. U., Meyer, A., Jacobi, C., Feige, J. N., & Glass, D. J. (2012). *Skeletal Muscle*, *2*(3).
- Tsai, C.-L., Wang, C.-H., Pan, C.-Y., & Chen, F.-C. (2015). The effects of long-term resistance exercise on the relationship between neurocognitive performance and GH, IGF-1, and homocysteine levels in the elderly. *Front. Behav. Neurosci*, *9*(23), S. 1-12.
- Ueland, T., Aukrust, P., Aakhus, S., Smith, C., Endresen, K., Birkeland, K. I., et al. (2012). Activin A and cardiovascular disease in type 2 diabetes mellitus. *Diab Vasc Dis Res*, *9*(3), S. 234–237.
- Van Thienen, R., D'Hulst, G., Deldicque, L., & Hespel, P. (2014). Biochemical artifacts in experiments involving repeated biopsies in the same muscle. *Physiol Rep.*, *2*(5), S. e00286.
- Vasunilashorn, S., Coppin, A. K., Patel, K. V., Lauretani, F., Ferrucci, L., Bandinelli, S., et al. (2009). Use of the Short Physical Performance Battery Score to predict loss of ability to walk 400 meters: analysis from the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, *64*(2), S. 223-229.
- Walsh, F., & Celeste, A. (2005). Myostatin: a modulator of skeletal-muscle. *Biochem Soc Trans*, *33*(6), S. 1513-1517.
- Wang, X., Chrysovergis, K., Kosak, J., Kissling, G., Streicker, M., Moser, G., et al. (2014). hNAG-1 increases lifespan by regulating energy metabolism and insulin/IGF-1/mTOR signaling. *Aging*, *6*(8), S. 690–704.
- Wiklund, F. E., Bennet, A. M., Magnusson, P. K., Eriksson, U. K., Lindmark, F., Wu, L., et al. (2010). Macrophage inhibitory cytokine-1 (MIC-1/GDF15): a new marker of all-cause mortality. *Aging Cell*, *9*(6), S. 1057–1064.
- Williams, M. A., Haskell, W. L., Ades, P. A., Amsterdam, E. A., Bittner, V., Franklin, B. A., et al. (2007). Resistance exercise in individuals with and without cardiovascular disease: 2007 update: a

- scientific statement from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*, 116(5), S. 572-584.
- Willoughby, D. S. (2004). Effects of heavy resistance training on myostatin mRNA and protein expression. *Med Sci Sports Exerc*, 36(4), S. 574-582.
- Winbanks, C. E., Weeks, K. L., Thomson, R. E., Sepulveda, P. V., Beyer, C., Qian, H., et al. (2012). Follistatin-mediated skeletal muscle hypertrophy is regulated by Smad3 and mTOR independently of myostatin. *J Cell Biol*, 197(7), S. 997-1008.
- Wu, H., Wu, M., Chen, Y., Allan, C. A., Phillips, D. J., & Hedger, M. P. (2012). Correlation between Blood Activin Levels and Clinical Parameters of Type 2 Diabetes. *Exp Diabetes Res*, 2012(410579), S. 1-9.
- Xu, J., Kimball, T. R., Lorenz, J. N., Brown, D. A., Bauskin, A. R., Klevitsky, R., et al. (2006). GDF15/MIC-1 functions as a protective and antihypertrophic factor released from the myocardium in association with SMAD protein activation. *Circ Res*, 98(3), S. 342-350.
- Yakar, S., Liu, J.-L., Stannard, B., Butler, A., Accili, D., Sauer, B., et al. (1999). Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. *Proc Natl Acad Sci US A*, 96(13), S. 7324-7329.
- Yarasheski, K. E., Bhasin, S., Sinha-Hikim, I., Pak-Loduca, J., & Gonzalez-Cadavid, N. F. (2002). Serum myostatin-immunoreactive protein is increased in 60-92 year old women and men with muscle wasting. *J Nutr Health Aging*, 6(5), S. 343-348.
- Yu, Y., Jinqun Mu, J., Fan, Z., Lei, G., Yan, M., Wang, S., et al. (2012). Insulin-like growth factor 1 enhances the proliferation and osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells via ERK and JNK MAPK pathways. *Histochem Cell Biol*, 137(4), S. 513-525.
- Zhu, J., Li, Y., Lu, A., Gharaibeh, B., Ma, J., Kobayashi, T., et al. (2011). Follistatin Improves Skeletal Muscle Healing after Injury and Disease through an Interaction with Muscle Regeneration, Angiogenesis, and Fibrosis. *Am J Pathol*, 179(2), S. 915-930.

# Lebenslauf

## Angaben zur Person

Vor- und Nachname	Jasmin Anderle, Bakk. rer. nat.
E-Mail	jasmin.anderle@gmx.net
Geburtsdatum	15.März 1991
Staatsbürgerschaft	Österreich

## Ausbildung

April 2015	Eintragung als Trainingstherapeutin für innere Erkrankungen, Erkrankungen des Bewegungs- und Stützapparates und Neurologie, Psychiatrie und Psychosomatik
Seit Oktober 2013	Masterstudium Sportwissenschaften mit Schwerpunkt Trainingstherapie, Universität Wien
Oktober 2010 – Juni 2013	Bakkalaureatstudium Sportwissenschaften, Universität Wien, Abschluss Juni 2013
Oktober 2009 - Juni 2010	Bachelorstudium Ernährungswissenschaften, Universität Wien
2007 – Juni 2009	Sigmund Freud Gymnasium, 1020 Wien Matura mit ausgezeichnetem Erfolg bestanden
2006 - 2007	Besuch einer High School (Missouri, USA) im Rahmen eines Austauschprogrammes

## Berufliche Erfahrungen

Seit März 2015 (Aktuell)	Physikalisches Institut Physico-Therapie Clusiusgasse
Jänner – Februar 2015	Schischule Wien Nord
September 2014	Assistent Uniqa VitalTruck
Oktober 2012 – Juli 2014	Trainerin bei Mrs. Sporty Essling-Groß Enzersdorf
Oktober 2010- Juni 2014	Trainerin einer Kindergruppe (U9/U10/U12) beim Hockey Club Wien

## Praktika

November 2014	Institut für Präventiv – und Angewandte Sportmedizin, LK Krems
Oktober 2014	Rehabilitationszentrum Weißer Hof, Abteilung Sporttherapie
August 2014	Klinik Bad Pirawarth, Abteilung Trainingstherapie
Februar 2014	Neurologisches Rehabilitationszentrum Rosenhügel, Abteilung Diagnostik und Sporttherapie
März 2013 – April 2013	Orthopädisches Spital Speising, BewegungsanalySELabor

## Sport

Landhockey	Wichtigsten Wettkämpfe international: Hallen-EM Jänner 2016, B-EM Juli 2015, World League Round 2 März 2015, 4. Platz Hallen-WM Februar 2015, 4. Platz Hallen-EM Jänner 2014, Olympic Qualifier April 2012
------------	--

## **Eidesstattliche Erklärung**

---

„Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe und nur die ausgewiesenen Hilfsmittel verwendet habe. Diese Arbeit wurde weder an einer anderen Stelle eingereicht noch von anderen Personen vorgelegt.“