



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

TUM School of Medicine and Health

Differenzierung inaktivitätsbedingter Muskelatrophie - Ein Vergleich zwischen Bettruhe und Sprunggelenksimmobilisierung

Luis Vincent Hinterwaldner

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin (Dr. med.) genehmigten Dissertation.

Vorsitz: apl. Prof. Dr. Stefan Thorban

Prüfer*innen der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Rainer Burgkart
2. Priv.-Doz. Dr. Ingo Banke

Die Dissertation wurde am 31.01.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die TUM School of Medicine and Health am 08.11.2023 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	II
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis	V
1 Einleitung	1
1.1 Muskelplastizität	1
1.1.1 Klinische Bedeutung von Muskelatrophie	3
1.1.1.1 Kachexie.....	5
1.1.1.2 Sarkopenie.....	6
1.1.1.3 Inaktivitätsbedingte Muskelatrophie - Schwerelosigkeitsexposition.....	8
1.2 Gebrauch und Mechanik der unteren Extremität	10
1.2.1 Überblick der Muskelfunktionen während Lokomotion.....	10
1.2.2 Biomechanik des Gehens	11
1.2.3 Biomechanik des Laufens und Springens	12
1.3 Modelle zur Untersuchung inaktivitätsinduzierter Muskelatrophie.....	13
1.3.1 Schwerelosigkeit im Weltraum	14
1.3.2 Unilateral Lower Limb Suspension.....	14
1.3.3 Betruhestudien.....	15
1.4 Differentielle Muskelatrophie	16
1.5 Molekulare Mechanismen zur Regulierung der Muskelmasse	17
1.6 Entlastungsothese HEPHAISTOS	19
1.6.1 Grundgedanke	19
1.6.2 Prinzip der Methode zur Sprunggelenksimmobilisierung.....	19
1.7 Hypothesen.....	21
2 Material und Methodik	22
2.1 Studiendesign	22

2.1.1	Sprunggelenksimmobilisierende HEPHAISTOS-Studie	22
2.1.2	Betruhestudie AGBRESA	24
2.2	Studienteilnehmer:innen.....	25
2.3	Protokoll der Magnetresonanztomographieaufnahmen	27
2.4	Bildmessungen	28
2.4.1	Festlegung der Muskelgruppen des Unterschenkels	28
2.4.2	Bestimmung der Querschnittsflächen/Cross Sectional Areas.....	30
2.5	Weitere Datenverarbeitung	31
2.6	Statistische Auswertung	32
3	Ergebnisse	33
3.1	Muskelatrophie durch Sprunggelenksimmobilisierung HEPHAISTOS	33
3.2	Muskelatrophie durch Bettruhe AGBRESA	34
3.3	Vergleich von HEPHAISTOS und AGBRESA	35
3.3.1	Gegenüberstellung der induzierten Muster differentieller Muskelatrophie	35
3.3.2	Inter-individuelle Variabilität.....	37
4	Diskussion	40
4.1	Zusammenfassung der Ergebnisse	40
4.2	Muskelatrophie-Muster in HEPHAISTOS und AGBRESA	41
4.3	Ursachen der inter-individuellen Variabilität	42
4.4	Individuelle Schwellenwerte der Muskelaktivität zum Erhalt von Muskelmasse ...	44
4.4.1	Unterschiedlichkeit in der Funktionalität.....	45
4.4.2	Variabilität im neuronalen Input	47
4.5	Muskuläre Dysbalancen im Unterschenkel nach Immobilisation.....	49
4.6	Limitationen	51
5	Zusammenfassung	55
	Literaturverzeichnis	VI

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Kräfteverhältnisse des oberen Sprunggelenks: Bedingt durch Hebelverhältnisse von 1:3, übersteigt die durch Muskelkontraktion der Wadenmuskulatur erzeugte Kraft die gemessene vertikale Bodenreaktionskraft FGR unter dem Fußballen um das Dreifache. Selbst alltägliche Bewegungen, wie das Abstoßen vom Boden bei jedem einzelnen Schritt beim Gehen mit FGR von 1000 N benötigen also eine Muskelkraft der Plantarflexoren von 3000N, einer Masse von 300kg entsprechend (Rittweger, 2019). 13
- Abbildung 2: Biomechanische Funktionsweise der HEPHAISTOS-Orthese: a) Normalzustand: Die durch den Wadenmuskel aufgewendete Kraft F_{muscle} wird über die Achillessehne auf den Calcaneus übertragen und über das obere Sprunggelenk im Hebelverhältnis von 1:3 auf den Vorfuß umgesetzt. Dort wirkt die Bodenreaktionskraft als Gegenspieler entgegen. b) HEPHAISTOS-Theorie: Durch Wegnahme des Widerlagers am Vorfuß in Form einer elastischen Sohle in Kombination mit Immobilisation des oberen Sprunggelenks wird die Kraftentwicklung im Wadenmuskel stark behindert, während die Bodenreaktionskraft nun auf die untere der beiden Sohlen der Orthese einwirkt. c) HEPHAISTOS-Orthese: Reale Orthese (Weber et al., Manuskript in Arbeit). 20
- Abbildung 3: Proband mit Hephaistos: Ein Versuchsteilnehmer trägt die Hephaistos-Orthese am Interventionsbein und am kontralateralen Bein den entsprechenden Plateauschuh (Weber, Ducos et al. 2013). 23
- Abbildung 4: :envihab Bettruhe: Proband in -6° HDT Lagerung während der AGBRESA-Studie (DLR 2019). 25
- Abbildung 5: Vollständig segmentierte Schicht des proximalen Unterschenkels: rechtes Bein aus der AGBRESA-Studie (*links*) und linkes Bein aus der HEP-Studie (*rechts*) jeweils mit Tibialis-Anterior- (ANT), Tibialis-Posterior- (POST), Peronei-Gruppe (PER) und den drei Köpfen des Triceps surae Soleus (SOL) sowie Gastrocnemius medialis (GMED) und Gastrocnemius lateralis (GLAT). 30
- Abbildung 6: CSA-Verläufe des Musculus Soleus SOL zu 3 Messzeitpunkten: Muskelverlauf des SOL generiert aus Querschnittsflächen aller segmentierten Schichten zwischen den beiden Landmarken Malleolus lateralis (distal: $x = 0$) und Caput fibulae (proximal: $x > 0$), AGBRESA-Studie (Versuchszeitpunkt und -person randomisiert); Für den Leser soll zur leichteren Einordnung der Muskelverläufe festgehalten werden, dass die blaue Kurve CS1 der Messung

an R+5 entspricht und bereits eine Volumenreduktion inditiert, abgebildet durch ein kleineres Integral der Kurven. 31

Abbildung 7: Relative Volumenveränderung der sechs Muskelgruppen sowie des Gesamtmuskelvolumens (sum) nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation mit der HEPHAISTOS-Orthese. Einzelwertdarstellung nach Muskelgruppe durch Punkte und Mittelwertdarstellung mittels Strich; HEP-Studie..... 34

Abbildung 8: Relative Volumenveränderung der 6 Muskelgruppen sowie des Gesamtmuskelvolumens (sum) nach 60 Tagen Bettruhe in -6° Kopftieflagerung und 5 Tagen normaler Ambulation. Einzelwertdarstellung nach Muskelgruppe durch Punkte und Mittelwertdarstellung mittels Strich; AGBRESA-Studie 35

Abbildung 9: Vergleich der relativen Volumenänderungen der sechs Muskelgruppen und des Gesamtvolumens (volTotal), auf 30 Tage zeitnormiert, aus der AGBRESA-Studie (x-Achse) mit der HEPHAISTOS-Studie (y-Achse). Die Punktkoordinaten (Fehlerbalken: Standardfehler) setzen sich aus den Mittelwerten beider Studien zusammen, sodass durch die Nähe zur Einheitsgerade die Gleichheit der Veränderungen in den Muskelvolumina ausgedrückt wird. Das induzierte Atrophie-Muster stellt sich für beide Studien ähnlich dar mit insgesamt stark um die Einheitsgerade angeordneten Datenpunkten. Die stärksten Volumenveränderungen sind in der SOL und GMED-Gruppe zu finden. Insgesamt zeigt sich eine etwas stärker ausgeprägte Muskelatrophie in der AGBRESA-Gruppe, ausgedrückt durch eine Linksverschiebung der Datenpunkte. 36

Abbildung 10: Ähnlichkeit der jeweils induzierten differentiellen Atrophie für AGBRESA- und HEP-Studie: Die durchschnittliche Volumenänderungen in den untersuchten Muskelgruppen wurden zeitnormiert als prozentuale Veränderung der Muskelvolumina pro Tag dargestellt. Die Ähnlichkeit der Atrophie-Muster der beiden Interventionsmodelle wird gut erkennbar..... 37

Abbildung 11: Einzelwertdarstellung der Muskelgruppen-spezifischen Atrophie-Raten des Unterschenkels, aufgeschlüsselt nach Versuchspersonen; HEP-Studie..... 39

Abbildung 12: Einzelwertdarstellung der Muskelgruppen-spezifischen Atrophie-Raten des Unterschenkels, aufgeschlüsselt nach Versuchsperson; AGBRESA-Studie 39

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Gegenüberstellung physiologischer Anpassungsreaktionen an tatsächliche und simulierte Schwerelosigkeit. Adaptiert von (Pavy-Le Traon, Heer et al. 2007).....	16
Tabelle 2: Veränderung der molekularen Signalwege in der humanen Muskelzelle für Kachexie, Sarkopenie und inaktivitätsbedingte Muskelatrophie	18
Tabelle 3: Kenndaten der HEPHAISTOS und AGBRESA-Studie.....	26
Tabelle 4: Übersicht der definierten Muskelgruppen des Unterschenkels mit zugeordneten Einzelmuskeln	29
Tabelle 5: Durchschnittliche prozentuale Volumenänderung (Standardabweichung) der 6 Muskelgruppen. * $p < 0,01$ weist auf einen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zu BDC in Bezug zur Veränderung der ANT-Gruppe.....	34

Abkürzungsverzeichnis

ANT: Tibialis anterior Gruppe

ARED: Advanced Resistive Exercise Device

BDC: Baseline Data Collection

BMC: Bone Mineral Content

BMI: Body-Mass-Index

COPD: Chronic Obstructive Pulmonary Disease

CSA: Cross Sectional Area

DLR: Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt

ESA: European Space Agency

EVA: Extravehicular Activity

FAK: Focal Adhesive Kinase

GLAT: Musculus gastrocnemius lateralis

GMED: Musculus gastrocnemius medialis

HDT-BR: Head-down-tilt bed rest

HEP: Hephaistos

IGF1: Insulin-like growth Factor 1

ULLS: Unilateral Lower Limb Suspension

MND: Myonuclear Domain

NASA: National Aeronautics and Space Administration

PER: Peronei Gruppe

POST: Tibialis posterior Gruppe

R+: Recovery date plus (days after rehabilitation start)

ROI: Regions of Interest

SOL: Soleus Gruppe

TNF- α : Tumor-Nekrose-Faktor alpha

1 Einleitung

1.1 Muskelplastizität

Die Muskulatur folgt als Bestandteil der materiellen Welt dem Gesetz von Ursache und Wirkung. Damit stellt sich bei der Betrachtung der Muskulatur zwangsläufig die Frage nach möglichen Einflussgrößen (Ursachen) und entsprechenden Folgen (Wirkungen). Diese Dynamik beschreibend, zeichnet der Begriff Muskelplastizität ein wandelbares Bild von Muskulatur. Das entsprechende Korrelat auf Muskelfaserebene stellt die Regulation des Proteinumsatzes dar, der sich aus Proteinsynthese-Rate und Proteinabbau-Rate ergibt. Die Möglichkeit der Anpassung an unterschiedliche Anforderungen stellt einen energetisch effizienten Mechanismus dar und bedarf einer steten Evaluation und Differenzierung zwischen funktionalem und damit zu erhaltendem oder aufzubauendem Gewebe und nicht benötigtem und damit abzubauenem Gewebe (Schiaffino, Dyar et al. 2013). Gewährleistet wird diese Reagibilität der Muskelzelle auf äußere Stimuli und Bedingungen durch spezielle zelluläre Sensoren, welche die verschiedenartigen Reize (hormonell, neurogen, mechanotransduktiv etc.) in elektrische Signale umwandeln und damit feinabgestimmte zelluläre und subzelluläre Prozesse initiieren.

Skelettmuskelfasern können mehrere Zentimeter lang werden und bedürfen als größte Zellen des menschlichen Körpers mehrerer Zellkerne, sogenannter Myonuclei. Diese gleichmäßig verteilten, nicht-teilungsfähigen Myonuclei stellen Genprodukte, als Ausgangsstoff für Zellorganellen und Proteine, für einen festgelegten Zuständigkeitsbereichs des Zytoplasmas bereit, die sogenannte myonuclear domain MND (Bruusgaard, Johansen et al. 2010). Um eine schnelle Modifikation des myofibrillären Proteinumsatzes als unmittelbare Reaktion auf endogene und exogene Einflüsse in der vielkernigen Skelettmuskelfaser zu gewährleisten, ist es daher notwendig, die Größe der MND in gewissen Rahmen konstant zu halten (Yin, Price et al. 2013). Daher ist bei Betrachtung der Muskelplastizität neben dem Proteinumsatz auch der Zellkernumsatz von großer Bedeutung. Außerdem gilt es Muskelfasertyp-spezifische Unterschiede, wie die erhöhte Protein-Turnover-Rate in langsam-kontrahierenden Typ I Muskelfasern im Vergleich zu den Typ II Fasern zu beachten (van Wessel, de Haan et al. 2010).

Bei der Untersuchung von Muskelplastizität ist es essenziell, die Vielzahl an Einflussfaktoren auf die Muskulatur zu berücksichtigen. Dazu zählen einerseits räumlich stabile Größen, wie die

Schwerkraft oder der Sauerstoffgehalt der Luft (Debevec, Ganse et al. 2018). Auf der anderen Seite dynamische Größen, wie Einflüsse von Begleitgeweben, darunter Nervenfasern (Clark, Fernhall et al. 2006) und Blutgefäßen (Deveci and Egginton 2002) sowie Hormone (Urban, Bodenburg et al. 1995), Ernährung (Paddon-Jones 2006) und körperliche Aktivität (Alkner and Tesch 2004). Durch Modifikation einzelner Einflussgrößen wird das Gesamtgleichgewicht aller muskeldefinierender Reize verschoben und somit entsprechende Anpassungsreaktionen in Form eines modifizierten Proteinumsatzes im Muskel bewirkt. Grob lassen sich diese Anpassungsreaktionen durch Modifikation der Proteinbiosyntheserate beziehungsweise der Proteindegradationsrate einer atrophen oder einer hypertropher Natur zuordnen (Schiaffino, Dyar et al. 2013).

Diese dynamischen Adaptationen der Muskulatur an ein verändertes Geflecht aus Einflussgrößen lässt sich beispielhaft an den einzelnen Phasen einer Raumfahrtmission mit den entsprechenden für die Muskulatur relevanten Maßnahmen darstellen. Vorbereitend auf Raumfahrtmissionen unterziehen sich Astronaut:innen einem intensiven Krafttraining und setzen so mechanotransduktive Wachstumsreize auf die Skelettmuskulatur, die eine unmittelbare Verstärkung der transkriptionellen und translationellen Aktivität bewirken. Folglich übersteigt die Proteinsyntheserate die Proteindegradationsrate und der Muskel wächst. Neben weiteren Anpassungen qualitativer Art können nachgeschaltet auch längerfristige strukturelle Anpassungen induziert werden (Chen, Nader et al. 2002). So können durch Satellitenzellproliferation weitere Myonuclei generiert und in die Muskelfaser integriert werden (Bruusgaard, Johansen et al. 2010). Damit wird eine konstante Größe der MND sowie ein effizienter Muskelstoffwechsel gewährleistet und insgesamt den erhöhten Anforderungen an die Muskulatur entsprochen (Qaisar, Renaud et al. 2012). Während der Raumfahrtmission hingegen wird bedingt durch die Schwerelosigkeitsexposition die posturale sowie die lokomotorisch-relevante Muskulatur nur in reduziertem Umfang für die täglichen Aufgaben benötigt und aktiviert, was letztlich eine Atrophie dieser Muskelgruppen zur Folge hat (Convertino 1990). Diese Form der Muskelatrophie lässt sich auf die Inaktivität zurückführend und stellt sich auf subzellulärer Ebene als eine verminderte Stimulation der Proteinbiosynthese dar, sodass der weiterhin konstante Abbau von Proteinen deren Neubildung übertrifft. Damit resultiert ein absoluter Verlust an Muskelmasse in Form von kontraktilen Proteinen, der Zellorganellen und des Zytoplasmas (de Boer, Selby et al. 2007). Das Verhalten der Myonuclei in menschlichen Skelettmuskelfasern während Atrophie wird kontrovers diskutiert (Eftestol, Psilander et al. 2020, Murach, Mobley et al. 2020). Ergebnisse in Mäusen deuten darauf hin, dass die Anzahl der Muskelzellkerne nicht proportional zur Muskelfaseratrophie abnimmt,

weswegen dieser Mechanismus als mögliche Erklärung für ein „Muskelgedächtnis“ gehandelt wird (Bruusgaard, Johansen et al. 2010). Aktuelle Trainingsprotokolle für Astronauten auf der Internationalen Raumstation ISS mit täglichen, großen Umfängen an Krafttraining, unter anderem am Advanced Resistive Exercise Device ARED (Loehr, Guilliams et al. 2015) stellen eine notwendige und partiell wirksame in-flight Maßnahme dar, um den Muskelatrophiebegünstigenden Bedingungen des Weltraums entgegenzuwirken und Muskelschwund zu reduzieren (Narici and de Boer 2011).

Jede Veränderung einer der auf die Muskelstruktur und -funktion einwirkenden Faktoren bewirkt eine Anpassung der Muskulatur. Diese Plastizität ist die Reaktion der Natur auf ein komplexes Geflecht aus Einflussgrößen auf das Muskelgewebe, verkörpert durch die variablen Anforderungen des Alltags. Dabei ist besonders zu unterstreichen, dass Plastizität nicht auf eine rein quantitative Zu- und Abnahme der Muskelgröße beschränkt ist, sondern eine individuell an das jeweilige Reizprofil angepasste Modifikationen der Muskelfaser beschreibt, auch auf qualitativer Ebene. Beispielhaft dafür: ausschließlich durch aerobes Training wird eine Zunahme der aeroben Kapazität durch verbesserte Mitochondrienfunktion der Muskelfasern bewirkt, während reines Krafttraining vor allem die Muskelkraft steigert (Phillips, Williams et al. 2017, Robinson, Dasari et al. 2017).

1.1.1 Klinische Bedeutung von Muskelatrophie

Die Unverzichtbarkeit der Muskulatur für den Menschen ist vor allem aufgrund ihrer Relevanz für die Mobilität und Funktionalität des Körpers zu verstehen. Die unmittelbaren Auswirkungen des kachektischen Muskelverlustes sind dramatisch und resultieren in reduzierter Lebensqualität sowie erhöhter Mortalität. Die Beteiligung von Herz-, Schlund- und Atemmuskulatur betrifft unter anderem lebensnotwendige Systeme, deren Dysfunktionalität in potentiell letalen Zuständen, wie Herzversagen, bewirkt durch kardiales Remodelling, Dysphagie und respiratorische Insuffizienz endet (Vigano, Donaldson et al. 2004).

Was für kachektische, klinische Zustände zutrifft, gilt im Alter generell: der Grad der Funktionseinschränkung der aktivitätserhaltenden Muskulatur ist prädiktiv für die Lebensqualität und Überlebenszeit. Dabei sind vor allem zwei Punkte hervorzuheben: Zum Einen der mit der Abnahme der maximalen Muskelkraft einhergehende Selbstständigkeitsverlust (Fiatarone, Marks et al. 1990) und zum Anderen die verminderte

Fähigkeit zur Sturzprophylaxe (Robbins, Rubenstein et al. 1989). Die verringerte Kontraktionsgeschwindigkeit einzelner Muskelfasern resultiert in einer geringeren maximalen Beschleunigungsfähigkeit angesteuerter Körperteile, welche nach Balanceverlust und einem drohenden Sturz für das schnelle Wiedererlangen des Gleichgewichts nötig wären (Schultz, Ashton-Miller et al. 1997). Die erhöhte Suszeptibilität der unteren Extremität für die Vielzahl an Sarkopenie-bedingten Veränderungen erklärt daher die starke, positive Korrelation mit der Häufigkeit von Sturzereignissen und Sturz-assoziierten Verletzungen (Fiatarone, Marks et al. 1990). Vermeintlich primär verantwortlich für die verringerte Fähigkeit, mit schnellen, kräftigen Muskelkontraktionen Sturzereignisse zu vermeiden, sind strukturelle Alterserscheinungen auf myozellulärer Ebene (Schultz, Ashton-Miller et al. 1997).

Ähnlich verhält es sich mit der inaktivitätsbedingten Muskelatrophie. Sie umfasst ein breites Spektrum klinischer Fälle und reicht von lokalen, rehabilitationsbedingten Ruhigstellungen einzelner Körperteile bis zu generalisiertem Muskelschwund durch alters- und krankheitsbedingte Bettlägerigkeit. Auch Astronaut:innen sind bei Raumfahrtmissionen durch Schwerelosigkeitsexposition und die dadurch veränderten Anforderungen an die Muskulatur von generalisierter Muskelatrophie betroffen, was sowohl die erfolgreiche Durchführung missionsspezifischer Aktivitäten wie körperlich anspruchsvoller extravehicular activities EVAs gefährden als auch speziell nach Wiedereintritt in Umgebungen mit erhöhter Gravitation, wie der Erde in mangelhafter Funktionalität und damit in einer erhöhten Verletzungswahrscheinlichkeit münden kann (Adams, Caiozzo et al. 2003). Vor dem Hintergrund geplanter Mondmissionen als Etappenziel auf dem Weg zum Mars und der damit einhergehenden Vervielfachung der Missionsdauer von aktuell durchschnittlichen 180 Tagen einer ISS-Mission, wird es zunehmend relevanter, diesen Anpassungserscheinungen bestmöglich entgegenwirken zu können (Horneck, Facius et al. 2006).

Mangelnde Funktionalität, muskuläre Dysbalancen und erhöhte Verletzungswahrscheinlichkeit gelten als unmittelbare Folgen von Muskelatrophie und finden sich übergreifend in den drei klinisch-relevanten Formen Kachexie, Sarkopenie und inaktivitätsbedingter Muskelatrophie wieder. Oft treten diese Formen gemeinsam auf. So lassen sich beispielsweise sowohl bei kachektischem als auch bei Sarkopenie-bedingtem Muskelschwund Einflüsse von Inaktivität auf den Muskel finden (Degens and Alway 2006). Die Trennung in drei Formen anhand des typischen Musters an Einflussgrößen ist dennoch vor dem Gesichtspunkt eines detaillierten, ätiologischen Verständnisses und dem daraus erwachsenen Ausblick auf eine differenzierte Behandlung logisch (Muscaritoli, Lucia et al. 2013).

1.1.1.1 Kachexie

Definitionsgemäß wird ab einem ungewollten Verlust von > 5% Körpergewicht innerhalb von sechs Monaten, der mit Krebserkrankungen, Sepsis oder schweren chronischen Organdysfunktionen wie COPD, chronischem Nierenversagen oder chronischem Leberschaden assoziiert ist, von Kachexie gesprochen (Fearon, Strasser et al. 2011, von Haehling and Anker 2012). Gewichtsverlust ist die direkte Auswirkung einer komplexen, kachektischen Stoffwechsellage und bezeichnet in erster Linie das sichtbare Leitsymptom eines multifaktoriellen, generalisierten Syndroms, welches zudem durch Herzmuskelatrophie, Knochenmineralisationsstörungen und nicht zuletzt durch inflammatorische Modifikation des Lebermetabolismus, des Darmmikrobioms und auch des Gehirns definiert sein kann (Wyart, Bindels et al. 2020). Diese Vielzahl und wechselseitige Beeinflussung beteiligter Systeme spielt auch bei der Betrachtung von Ursache und Wirkung der Kachexie eine wichtige Rolle.

Ätiologisch besonders relevant ist ein der systemischen Inflammationsreaktion zugrundeliegendes, dysfunktionales Immunsystem (Douglas and McMillan 2014). Davon ausgehend werden vermittelt durch pro-inflammatorische Zytokine eine Vielzahl betroffener Endorgane erreicht und kachektische Signalwege hochreguliert. Diese humoralen Veränderungen gehen dem klinisch objektivierbaren Gewichtsverlust als führendem Symptom zeitlich voraus (Baracos, Martin et al. 2018). Kachektischer Muskelschwund wird dabei sowohl direkt durch die Dysbalance aus pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen als auch auf indirektem Wege über einen modifizierten Lebermetabolismus induziert. Während die übermäßige Stimulation der Synthese von Akut-Phase-Proteinen in der Leber eine erhöhte Bereitstellung von Aminosäuren aus Muskelprotein nötig macht und bewirkt (Stephens, Skipworth et al. 2008), werden TNF- α -vermittelt gleichzeitig der proteolytische Ubiquitin-Proteasom-pathway induziert sowie der anabole IGF1-Akt-mTOR-pathway gehemmt (Mitch and Goldberg 1996, Stewart 2004). Eine einfache Übersicht der beteiligten Signalwege findet sich in Tabelle 2, Kapitel 1.5. Das komplexe Bild eines Kachexie-typischen, gestörten Metabolismus kommt zudem durch das Zusammenwirken der folgenden Veränderungen zustande: erhöhte Glukokortikoidspiegel triggern die myogene Proteindegradation zugunsten einer verstärkten Glukoneogenese (Shimizu, Yoshikawa et al. 2011); gesteigerte Lipo- und Proteolyse; Malabsorptionsstörung; erhöhter Energiebedarf (Evans, Morley et al. 2008). Auch konnte eine mit systemischen Inflammationsreaktionen vergesellschaftete erhöhte Insulinresistenz als Ursache eines gestörten Glukosestoffwechsels in Tumorpatient:innen festgestellt werden (Khodabandehloo, Gorgani-Firuzjaee et al. 2016). Diese der Kachexie

zugrundeliegenden Prozesse sorgen letztendlich durch das Ausbleiben anaboler Effekte (Fujita, Rasmussen et al. 2006) sowie Stimulation kataboler Effekte (Stewart 2004) für eine insgesamt Muskelatrophie-begünstigende Stoffwechsellage. Bei Erkrankungen mit chronischer, systemischer Inflammation ist dem Verlust an Muskelmasse unmittelbar ein Verlust der Muskelfunktion angeschlossen (Muscaritoli, Lucia et al. 2013).

1.1.1.2 Sarkopenie

Den Verlust von Muskelmasse und -funktion in hohem Lebensalter haben alle Säugetiere gemein (Larsson, Degens et al. 2019). Während erste strukturelle sowie elektrophysiologische Anpassungsreaktionen des Muskels beim Menschen zumeist ab der sechsten Lebensdekade beobachtet werden (Oertel 1986), weisen Untersuchungen von Masterathleten aus Leichtathletik-Disziplinen bereits ab dem dreißigsten Lebensjahr auf eine lineare Abnahme der Muskelkraft als Indikator einer veränderten Muskelfunktion hin (Gava, Kern et al. 2015).

Sarkopenie beschreibt das Phänomen, das dem altersbedingten Verlust von Muskelmasse mit qualitativen sowie quantitativen Veränderungen der Muskelarchitektur und -funktion zugrunde liegt. Während für den Symptomkomplex der Sarkopenie der Verlust an Muskelmasse, Muskelkraft und eine reduzierte Bewegungsgeschwindigkeit typisch sind (Larsson, Degens et al. 2019), hat sich bei der ätiologischen Betrachtung vor allem ein multifaktorieller Erklärungsansatz etabliert, um die heterogenen, teilweise miteinander interagierenden Einflussfaktoren zu beschreiben. Es lassen sich sowohl biologische, dem Alter zuordenbare Veränderungen aufzeigen als auch solche, die zwar mit hohem Alter assoziiert sind, aber nicht obligat mit diesem einhergehen. Zu letzteren gehören unter anderem eine inaktive, vornehmlich sitzende Lebensweise, eine spezielle oder generalisierte Mangelernährung sowie die Anhäufung akuter und chronischer Krankheiten (Fiatarone and Evans 1993). Die Tatsache, dass auch körperlich aktive, gut-genährte und gesunde Individuen einem langsam fortschreitenden Prozess der muskulären Veränderung ausgesetzt sind, weist auf kausal mit dem Alter verknüpfte Anpassungen der motorischen Einheit auf zellulärer und subzellulärer Ebene hin (Korhonen, Cristea et al. 2006). Dank intensiver Forschung der letzten Jahrzehnte mittels Querschnitts- sowie Langzeitstudien am Menschen sowie experimentelle Grundlagenforschung am Tiermodell sind diese Veränderungen mittlerweile teils verstanden. Auf zellulärer Ebene ist dabei eine veränderte neuronale Ansteuerung der Muskelfasern hervorzuheben. Ursächlich für die Reorganisation neuromuskulärer Kontakte im Alter scheint ein progressiver Verlust an

Motoneuronen zu sein, speziell der alpha-Motoneuronen, welche große motorische Einheiten mit vermehrt fast-twitch Fasern ansteuern (Tomlinson and Irving 1977, Mittal and Logmani 1987, Ansved and Larsson 1990). Die kompensatorische Reinnervation durch Kollateralbildung und Sprossung der übrigen alpha-Motoneuronen ist inkomplett (Einsiedel and Luff 1994), fragmentiert (Li, Lee et al. 2011) und durch die limitierte Kapazität zur Ausbildung neuer axonaler Verzweigungen auf eine gewisse Anzahl an motorischen Endplatten der Skelettmuskelfasern beschränkt (Thompson and Jansen 1977). Muskelstrukturelle Folgen dieses langsam fortschreitenden Motoneuronenverlustes sind die Abnahme von Motoreinheiten und folglich weniger, aber kompensatorisch vergrößerten Motoreinheiten, eine Atrophie auf Muskelfaserebene (Oertel 1986, Larsson and Ansved 1995), eine Umstrukturierung der Faserverteilung im Muskel (Larsson, Edstrom et al. 1991) ebenso wie eine veränderte Faserzusammensetzung mit einem Shift von schnell kontrahierenden Typ-II zu langsam kontrahierenden Typ-I-Fasern innerhalb einer Motoreinheit (Larsson, Ansved et al. 1991, Korhonen, Cristea et al. 2006).

Gründe für den altersbedingten Motoneuronenverlust sind komplex und aktuell Bestandteil der wissenschaftlichen Debatte. Daten aus experimentellen Nager- und Humanstudien weisen auf eine zugrundeliegende Anhäufung von DNA-Schäden hin (de Waard, van der Pluijm et al. 2010), was unter anderem durch posttranslationale Modifikation der Nukleinsäuren durch nichtenzymatische Glykosilierungsprozesse zu begründen ist (Bucala, Model et al. 1984, Brownlee 1995). Diese im hohen Alter gesteigerte Anzahl an Proteinmodifikationen resultiert aus einer altersbedingt verminderten Fähigkeit zur Deaktivierung freier Sauerstoff- und Stickstoffradikale an freien Lysinresten (Chawla, Parks et al. 1983) und betrifft neben Motoneuronen ebenso langlebige extrazelluläre (Ramamurthy and Larsson 2013) wie auch intrazelluläre Proteine, so unter anderem Myosin (Syrový and Hodný 1992, Watanabe, Ogasawara et al. 1992). Die dadurch gestörte Aktin-Myosin-Interaktion während Muskelkontraktion nimmt eine weitere wichtige Rolle im multifaktoriellen Erklärungsansatz der Sarkopenie ein (Li, Ogilvie et al. 2015). Neben den veränderten Eigenschaften kontraktiler Proteine ist auch die Reagibilität des Sarkoplasmatischen Retikulums, als den intrazellulären Calcium-Spiegel kontrollierendes Zellorganell, reduziert (Jimenez-Moreno, Wang et al. 2010). Vor allem diese beiden subzellulären Anpassungen scheinen neben den qualitativen wie quantitativen Veränderungen der Faserstruktur maßgeblich für die altersbedingt verlangsamte Kontraktilität und damit Funktionalität des Muskels verantwortlich (Salviati, Betto et al. 1984). Darüber hinaus gilt festzuhalten, dass Muskelplastizität durch eine altersbedingt reduzierte

Proteinbiosyntheserate als Basis zellstruktureller und -funktioneller Anpassung in absoluten Zahlen abnimmt (Balagopal, Rooyackers et al. 1997, Degens and Korhonen 2012).

Diese Vielzahl obligat altersassoziierter, zellulärer wie subzellulärer Veränderungen berücksichtigend, ist die wissenschaftliche Evidenz eindeutig und zeigt, dass das Ausmaß der muskulären Anpassungsreaktionen, die unter dem Begriff Sarkopenie subsummiert werden, nicht allein durch hohes Alter per se bewirkt werden, sondern zu entscheidendem Teil auch einem inaktiven Lebensstil mit wenig körperlicher Belastung zuzuschreiben ist (Degens and Alway 2006). Dieser allerdings ist oft mit hohem Alter assoziiert (Ingram 2000).

1.1.1.3 Inaktivitätsbedingte Muskelatrophie – Schwerelosigkeitsexposition

Die Nicht-Benutzung der Muskulatur entspricht einer Reduktion Hypertrophie-induzierender Muskelreize und resultiert in einer Umstrukturierung und Atrophie der inaktiven Muskelgruppen. Dabei sind Speziesdifferenzen und klare Unterschiede, den Grad der Atrophie betreffend, sowohl zwischen Interventionsmodellen (Narici and de Boer 2011) als auch zwischen Körperregionen, insgesamt mit einem eindeutigen Fokus auf die Muskulatur der unteren Extremität (Desplanches, Hoppeler et al. 1998), festzuhalten. Etablierte Modelle zur Untersuchung inaktivitätsbedingter Muskelatrophie sind Raumfahrt, Bettruhe und ULLS, welche gesondert in Kapitel 1.3 besprochen werden.

Dem Konzept der Muskelplastizität entsprechend, beschreibt der für inaktivitätsbedingten Muskelschwund zugrundeliegende Mechanismus eine Störung der Homöostase zwischen Hypertrophie- und Atrophie-induzierenden Einflussfaktoren. Diese Dysbalance resultiert aus mangelhaften, mechanotransduktiven Reizen und zeigt sich in immobilisierten, humanen Muskeln auf subzellulärer Ebene in Form einer reduzierten Proteinbiosynthese myofibrillärer Proteine, nicht aber durch vermehrten Proteinabbau (de Boer, Maganaris et al. 2007, Murton, Constantin et al. 2008). Detaillierte Ausführungen zu molekularen Signalwegen inaktivitätsbedingter Muskelatrophie finden sich in Kapitel 1.5.

Zunächst sollen die daraus entstehenden, strukturellen Anpassungsreaktionen beschrieben werden. Die quantitative Abnahme des Muskelvolumens geht vorwiegend auf eine Abnahme der Durchmesser der einzelnen Muskelfasern zurück und wird ferner von qualitativen Veränderungen auf myozellulärer Ebene begleitet. Die Umstrukturierung der Muskelarchitektur, welche sich durch seriellen sowie parallelen Sarkomerverlust in einer

reduzierten Faszikellänge und verändertem Pinnationswinkel widerspiegelt (Gans and Bock 1965), ist neben der Anpassung der Fasertypverteilung eine typische Folge von Inaktivität (Narici and de Boer 2011). Während im Tiermodell die Evidenz auf eine verstärkte slow-twitch Faseratrophie der haltungsrelevanten Anti-Schwerkraftmuskeln hinweist (Rennie, Selby et al. 2010), findet sich bei Beobachtung von Astronaut:innen nach Schwerelosigkeitsexposition für den Menschen eine weniger eindeutige Datenlage für eine faserspezifische Suszeptibilität gegenüber Atrophie (Widrick, Knuth et al. 1999, Fitts, Riley et al. 2000). Klinische Untersuchungen aus terrestrischen Studien mit simulierter Schwerelosigkeit gewährleisten hohe Reproduzier- und Vergleichbarkeit und ergänzen das heterogene Bild der inaktivitätsbedingten Muskelatrophie um wertvolle Erkenntnisse (Narici and de Boer 2011). So zeigen Bettruhe und ULLS eine Tendenz zu vermehrter Typ-I-Faseratrophie durch Nicht-Benutzung der Muskulatur (Rudnick, Puttmann et al. 2004, Trappe, Trappe et al. 2004, Gao, Arfat et al. 2018).

Eine direkte Auswirkung der strukturellen Anpassungsreaktionen ist die veränderte Muskelfunktion. Neben einer erhöhten maximalen Kontraktionsgeschwindigkeit (Caiozzo, Baker et al. 1994, Lambertz, Perot et al. 2001), die vermeintlich durch veränderte Anteile kontraktiver Proteine (Riley, Bain et al. 2000) sowie der Fasertypen selbst bedingt ist (Fitts, Riley et al. 2001), steht die Reduktion der maximalen Muskelkraft mit den daraus resultierenden Folgen für die Motorik im Vordergrund. Von der Atrophie-induzierenden Entlastungsintervention unabhängig zeigt sich speziell in der ersten Phase der Entlastung eine starke Homogenität in der Reduktion der Muskelkraft (Alkner and Tesch 2004, Reeves, Maganaris et al. 2005). In Betruhestudien konnte gezeigt werden, dass die Muskelkraft nur bis zu einem gewissen Plateau abnimmt und nach circa 90-120 Tagen stabil bleibt (Alkner and Tesch 2004). Zudem muss von einer Abnahme der muskelintrinsic Kraft selbst ausgegangen werden, da der gemessene Kraftverlust überproportional stark im Vergleich zum reduzierten Muskelquerschnitt ausfällt (Narici, Kayser et al. 2003). Die dafür ursächlichen Einflussfaktoren sind vielseitig und reichen von reduzierter myofibrillärer Dichte (Larsson, Li et al. 1996) über eine Erhöhung des nicht-kontraktiven Anteils im Muskel (Ryan, Dobrovolny et al. 2002) bis zu einem schwächeren Aktivierungsmuster beteiligter motorischer Endplatten (Berg and Tesch 1996, Koryak 1998). Beobachtungen an Astronaut:innen einer defizitären zentralen Aktivierung der durch Minderbelastung atrophierenden Muskulatur (Antonutto, Capelli et al. 1999) konnten in einigen Immobilisationsmodellen durch elektromyographische Aktivitätsmessungen während maximaler willkürlicher Kontraktion bestätigt und sogar besonders hervorgehoben werden (Alkner and Tesch 2004, Clark, Fernhall et al. 2006). Weitere

Untersuchungsergebnisse aus einer aktuellen Betruhestudie konnten diese Beobachtungen nicht wiederholen (Attias, Grassi et al. 2020). Dabei wurden allerdings keine klassischerweise von Inaktivitätsbedingter Muskelatrophie betroffenen Muskeln untersucht. Dennoch unterstreicht dieses Beispiel ein insgesamt heterogenes Bild, das aus differentiellen, muskelspezifischen Anpassungsreaktionen an veränderte Anforderungen entsteht und als Folge des hohen Spezialisierungsgrades von Muskelgewebe logisch erscheint.

1.2 Gebrauch und Mechanik der unteren Extremität

Die untere Extremität des Menschen ist für eine große Bandbreite vielseitiger Bewegungen zuständig. Die täglichen, funktionellen Arbeitsweisen reichen dabei von minimalen, das Gleichgewicht stabilisierenden Bewegungen während des Standes bis zu dynamischen, den gesamten Körper fortbewegenden, großen, motorischen Handlungen während Lokomotion. Die untere Extremität ist, bedingt durch die Gravitation der Erde, in aufrechter Position lasttragend. Auf evolutionsbiologischer Grundlage lässt sich die Anatomie der unteren Extremität als Ergebnis der auf sie einwirkenden mechanischen Kräfte während bipedaler Lokomotion erklären (Sylvester, Lautzenheiser et al. 2021). Damit kommt der Muskulatur, welche durch Kontraktion erhebliche Kräfte auf Knochen und Begleitgewebe ausübt, eine besondere Rolle zu (Rittweger 2008).

1.2.1 Überblick der Muskelfunktionen während Lokomotion

Für ein physiologisches Gangbild ist das ökonomische Zusammenspiel aller beteiligten Muskeln und Gelenken notwendig. Die Kontraktionsmuster der Muskulatur unterscheiden sich dabei je nach Anforderungsprofil und lassen sich vier hauptsächlichen Funktionsweisen zuordnen: a) Antrieb durch rein konzentrische Kontraktion; b) Feder mit zweiphasigem Verlauf erst durch Energiespeicherung, dann Freisetzung der elastischen Dehnungsenergie; c) Stütze durch vorwiegend isometrische Kontraktion; d) Stoßdämpfer durch exzentrische Kontraktion (Lai, Biewener et al. 2019). Generell lässt sich bei der Verteilung dieser Funktionen auf die Muskulatur innerhalb der unteren Extremität ein proximo-distaler Gradient erkennen mit der Tendenz distalen Muskeln vorwiegend stützende und federnde Funktionen zuzuschreiben, während proximal vermehrt antriebs- und dämpfungsfokussierte Muskelarbeit geleistet wird (Biewener 2016). Diese anatomische Ordnung passt sich darüber hinaus der lokomotorischen

Aktivität und den damit einhergehenden mechanischen Anforderungen an. So übernimmt der *Musculus Biceps femoris* bei Erhöhung der Fortbewegungsgeschwindigkeit vorwiegend dämpfende anstatt federnder Arbeit (Lai, Biewener et al. 2019); ebenso kann eine deutliche Zunahme der sprungfederartigen Muskelarbeit der Plantarflexoren beim Laufen im Vergleich zum Gehen festgestellt werden (Lai, Schache et al. 2016). Das Verhalten der einzelnen Plantarflexoren lässt sich durch Unterschiede im Kontraktionsverhalten auf Muskelfaserebene, also unter Nichtberücksichtigung der viskoelastischen und damit federnden Eigenschaften der gesamten Muskel-Sehnen-Einheit (Lichtwark, Bougoulas et al. 2007), weiter differenzieren. Dabei werden den Muskelfasern des *Musculus Soleus* sowie des lateralen Kopfes des *Musculus Gastrocnemius* vor allem stützende Eigenschaften während des Ganges zugesprochen, während die des medialen Kopfes des *Musculus Gastrocnemius* vermehrt federnde Eigenschaften übernehmen (Lai, Biewener et al. 2019).

Insgesamt lässt sich die Muskeltätigkeit bei Lokomotion als ein feines Zusammenspiel aus Einzelmuskeln mit individueller, mechanischer Funktion beschreiben, welches sich je nach Anforderungsprofil einem vordefinierten Schema aus Muskelfunktionsmustern bedient.

1.2.2 Biomechanik des Gehens

Lokomotion als komplexe motorische Aufgabe wird vor allem unterbewusst über einen spinalen Schrittgenerator, welcher wechselseitig Flexion und Extension hemmt, gesteuert (Kiehn 2016). Die dafür initiierten Bewegungen unterliegen innerhalb gesunder Vertreter der Spezies Mensch einem gewissen Rahmen motorischer Muster. Trotz natürlicher interpersoneller Variabilität ermöglicht diese hohe Reproduzierbarkeit intra- sowie interpersonelle Vergleiche zu ziehen und damit Prognosen über das Maß der Funktionalität des Bewegungsapparates abzugeben (Kadaba, Ramakrishnan et al. 1989).

Lokomotion als zyklisch remittierende Abfolge von Bewegungsmustern lässt sich grob in zwei Abschnitte unterteilen: eine Standphase, in der das Bein Bodenkontakt hat und eine Schwungphase ohne Bodenkontakt. Eine feinere Einteilung dieser beiden Abschnitte des Gangs in jeweils zwei weitere, also insgesamt vier Phasen, ist gängig, wobei erwähnt sein soll, dass weitere Unterteilungen möglich und je nach Anwendung nützlich sind (Barnett 1956, Taborri, Palermo et al. 2016): 1) Gewichtaufnahme, 2) Antrieb 3) frühe Schwungphase 4) späte Schwungphase. Diese Untergliederung ist durchaus auch aus funktioneller Sichtweise sinnvoll,

bedenkt man, dass Gelenke und Muskeln der unteren Extremität über den Durchlauf eines Gangzyklus unterschiedlich stark an der Bewegungsausführung beteiligt sind (Qiao and Jindrich 2016, Lai, Biewener et al. 2019). Einer möglichst effizienten neuronalen Ansteuerung entsprechend, werden im Zentralen Nervensystem die je nach Phase der Lokomotion benötigten Muskelgruppen gemeinsam angesteuert (Bizzi, Cheung et al. 2008). So entstehen während lokomotorischer Aktivität Muster oder Synergien aus modular aktivierten Muskeln. Vier dieser zeitlich nacheinander geschalteten synergistisch arbeitenden Muskeln sind ausreichend, um den zyklischen Ablauf der Lokomotion entsprechend der oben genannten Unterteilung vollständig zu beschreiben. Das erste Modul aus kombinierter Aktivität von Knieextensoren und Glutealmuskulatur lässt sich der Gewichtsaufnahme-Phase zuordnen, gefolgt von starker Aktivität der Plantarflexoren als Korrelat zur Antriebsphase. Der dritte Synergismus aus Dorsalextensoren definiert die frühe Schwungphase und geschlossen wird der Kreis durch Aktivierung des vierten und letzten Moduls aus Knieflexoren und Dorsalextensoren, stellvertretend für die späte Schwungphase (Santuz, Ekizos et al. 2018).

Wie im vorigen Abschnitt beschrieben, kommen dabei den beteiligten Muskelgruppen individuelle, mechanische Funktionen zu, welche insgesamt in einem präzise dirigierten Zusammenspiel physiologische Bewegung möglich machen. Dass Muskeln dabei generell an kurzen Hebelarmen angreifen und aus diesem Grund vor allem an der unteren Extremität oft enorme Kräfte erzeugen, wird bei Betrachtung der Biomechanik des oberen Sprunggelenks während Lokomotion deutlich (Abbildung1).

1.2.3 Biomechanik des Laufens und Springens

Der Lauf weist im Gegensatz zum Gang zwei Flugphasen mit beiden Beinen in der Luft anstelle zweier Zweibeinstandphasen auf sowie eine kürzere Stand- bzw. Kontaktphase als Schwung- bzw. Flugphase. Letztere nimmt mit zunehmender Laufgeschwindigkeit relativ zur Kontaktphase zu, jedoch wird der gesamte Zyklus schneller durchlaufen (Vaughan 1984). Während der Antriebsphase sind vor allem der *Musculus Soleus* und *Musculus Gastrocnemius medialis* aktiv (Lai, Biewener et al. 2019) und sichern das Abstoßen vom Boden durch Plantarflexion. Die dabei aufgewendete Kraft übersteigt aufgrund der Hebelverhältnisse von 1:3 im oberen Sprunggelenk die gemessenen Bodenreaktionskräfte um das Dreifache, was bei anspruchsvoller lokomotorischer Aktivität wie Sprinten oder einbeinigem Springen mit

Bodenreaktionskräften von 2500N, durchaus Muskelkräfte von 7500 Newton, entsprechend 750kg, nötig machen (Rittweger 2019).

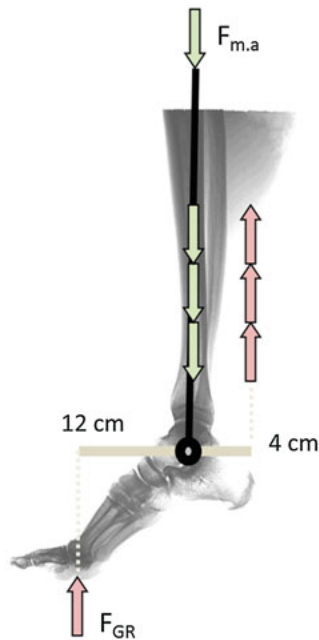


Abbildung 1: Kräfteverhältnisse des oberen Sprunggelenks: Bedingt durch Hebelverhältnisse von 1:3, übersteigt die durch Muskelkontraktion der Wadenmuskulatur erzeugte Kraft die gemessene vertikale Bodenreaktionskraft F_{GR} unter dem Fußballen um das Dreifache. Selbst alltägliche Bewegungen, wie das Abstoßen vom Boden bei jedem einzelnen Schritt beim Gehen mit F_{GR} von 1000 N benötigen also eine Muskelkraft der Plantarflexoren von 3000N, einer Masse von 300kg entsprechend (Rittweger, 2019).

1.3 Modelle zur Untersuchung inaktivitätsinduzierter Muskelatrophie

Ein fundiertes Verständnis von inaktivitätsbedingter Muskelatrophie und den zugrundeliegenden Mechanismen ist für eine verbesserte Gesundheitsversorgung auf der Erde ebenso von großer Bedeutung wie für die sichere Durchführung bemannter, interplanetarer Raumfahrt (Adams, Caiozzo et al. 2003). Um tatsächliche Einflussfaktoren sowie deren Stellenwert auf das Atrophie-Verhalten durch Inaktivität, Alter und Krankheiten sowie Verletzungen zu identifizieren und die damit verbundenen Folgen zu unterbinden (Wolfe, Jahoor et al. 1989), werden ein gesundes Kollektiv geeigneter Proband:innen sowie entsprechende Atrophie-induzierende Modelle benötigt.

Weltraumflüge sowie Betruhestudien als terrestrisches Simulationsmodell von Schwerelosigkeit und Unilateral lower limb suspension (ULLS) sind etablierte Methoden zur Untersuchung der Anpassungsreaktionen gesunder Muskulatur an Inaktivität (Narici and de Boer 2011). Allen ist ein nicht-linearer Atrophieverlauf mit früh messbaren Veränderungen der Parameter von Muskelstruktur und -funktion schon wenige Tage nach Nicht-Belastung gemein.

1.3.1 Schwerelosigkeit im Weltraum

Daten aus bemannten Raumfahrtmissionen ergeben ein heterogenes Bild physiologischer Adaptionen an die insgesamt veränderten Umweltbedingungen im Weltall. Auswirkungen der Zero-Gravity-Umgebung sind vor allem Veränderungen im kardiovaskulären, neuro-vestibulären und muskuloskeletalen System (Buckey 2006). Mit Blick auf die Anpassungsreaktionen von Muskelfasern an Schwerelosigkeit zeigt sich ein einheitliches Bild der Atrophie, welches speziessübergreifend und unabhängig von natürlicherweise terrestrischem oder aquatischem Habitat bestehen bleibt (Furukawa, Chatani et al. 2021).

Nach kurzen 8-17 tägigen Raumfahrtmissionen konnten beim Menschen Verluste von 4-10% der CSA des Gastrocnemius-Muskels und 5-15% der CSA des Quadriceps-Muskels festgestellt werden (Adams, Caiozzo et al. 2003). Neben der großen Variabilität der Muskelvolumina-Änderung zeigen Daten von Astronaut:innen auch eine erhebliche Heterogenität im weiteren Atrophie-Verhalten, was unter anderem auf die folgenden Gründe zurückzuführen ist: 1) kleine Stichprobengröße von Personen, die an derselben Weltraummission teilgenommen haben, 2) Unterschiede in der Dauer der Mission, 3) Variationen zwischen den Arten und der Einhaltung von Gegenmaßnahmen während des Fluges, 4) Variationen in der Energiezufuhr 5) unterschiedliche Zeitspannen zwischen Messungen und Landung 6) geschlechterspezifische Unterschiede und 7) interindividuelle Variabilität (Adams, Caiozzo et al. 2003, Narici and de Boer 2011, Stein 2013). Dementsprechend sind weitere Simulationsmodelle nötig, um zusätzlich zu den Daten dieses besonderen und gut erforschten Kollektivs weitere Evidenz höchster, wissenschaftlicher Qualität zu generieren.

1.3.2 Unilateral Lower Limb Suspension

Die einseitige Aufhängung der unteren Extremität in Verbindung mit einem Plateauschuh am kontralateralen Bein und Krückenunterstützung, im Folgenden als Unilateral lower limb suspension ULLS bezeichnet, dient nicht zur Schwerelosigkeitssimulation per se, sondern imitiert die Effekte, die durch das Nicht-Belasten und Nicht-Tragen des eigenen Körpergewichts in Schwerelosigkeit auf die untere Extremität entsteht. Dabei wird eine vollständige Bewegungsfreiheit in allen Gelenken des Interventionsbeins gewährleistet, während durch den fehlenden Bodenkontakt mechanische Kräfte des Interventionsbeines stark reduziert sind, was insgesamt den Bedingungen in Schwerelosigkeit sehr nahe kommt (Berg,

Dudley et al. 1991). Die Methodik der Intervention wurde seit Einführung im Jahr 1991 durch Berg et al. weiterentwickelt und lässt sich nun durch die Entfernung der das ipsilaterale Bein aufhängenden Seilschlinge und weitere Erhöhung des Plateauschuhs eher als einseitig freies Hängen eines Beines beschreiben (Tesch, Lundberg et al. 2016).

Ähnlich den im Abschnitt 1.3.1 Veränderungen des Musculus Quadriceps konnte im ULLS-Modell eine Reduktion der CSA des Musculus Quadriceps von 5.2 und 10% nach 14 und 23 Tagen nach Interventionsbeginn gemessen werden (de Boer, Maganaris et al. 2007). Die Abnahme der CSA in den Plantarflexoren wurde nach 28 Tagen mit 9% (Clark, Fernhall et al. 2006) und nach 42 Tagen mit 18% quantifiziert (Dudley, Hather et al. 1992). In den letzten Jahrzehnten konnte ferner bestätigt werden, dass das ambulant durchführbare Studiendesign der ULLS vergleichbare quantitative sowie auch qualitative muskuläre Veränderungen induziert wie Raumfahrt und Bettruhe (Adams, Hather et al. 1994)

1.3.3 Betruhestudien

Nach derzeitigem Kenntnisstand ist eine streng kontrollierte Bettruhe mit einer Kopftieflagerung von -6° , head-down-tilt bed rest (HDT-BR), ohne Gegenmaßnahmen für Zeiträume größer als wenige Minuten die effektivste terrestrische Schwerelosigkeitssimulation (Pavy-Le Traon, Heer et al. 2007). So konnten bei konsequenter Durchführung Ergebnisse erzeugt werden, die mit Daten von Astronaut:innen nach Raumfahrtmissionen vergleichbar sind. Für einen Überblick dieser physiologischen Anpassungsreaktionen und die Vergleichbarkeit von Spaceflight und HDT-BR siehe Tabelle 1.

Durch die -6° Kopftieflagerung wird eine Flüssigkeitsverschiebung von den Beinen zum Kopf bewirkt, die in selber Weise auch im Weltraum auftritt (Montgomery 1993). Zur bestmöglichen Versorgung der Proband:innen werden die oft mehrwöchigen Interventionen, einem stationärem Studiendesign folgend, in hochspezialisierten Einrichtungen durchgeführt. Dabei wird die Einflussnahme möglicher Störgrößen auf die tatsächlich durch Bettruhe verursachten Anpassungsreaktionen des Körpers maximal reduziert. So können beispielsweise den potentiellen, psychologischen Folgen langer Bettlägerigkeit wie Angst, Isolation und stressbedingt erhöhten Cortisolspiegeln durch psychologische Begleitung vorgebeugt sowie Veränderungen im Energieumsatz in individuell angepassten Ernährungsprotokollen berücksichtigt werden (Pavy-Le Traon, Heer et al. 2007).

	Raumfahrt	Bettruhe
Körpergröße	↑ ± 1.3 cm	↑ ± 1.0 cm
Gewicht	↓ 3-4 %	↓ 2-4%
Plasmavolumen	↓ 10-15 %	↓ 10-15 %
VO2max	Keine Daten	↓ 25 %
Knochendichte	↓ 1.6%/Monat	↓ 0.5-1%/Monat
Muskelmasse	↓	↓
Muskelkraft	↓	↓
Insulinsensitivität	↓	↓
Neurovestibuläre Symptome	Schwer 7% Moderat 23% Leicht 35%	Schwindel 10% Kaum Nausea

Tabelle 1: Gegenüberstellung physiologischer Anpassungsreaktionen an tatsächliche und simulierte Schwerelosigkeit. Adaptiert von (Pavy-Le Traon, Heer et al. 2007)

Mit Blick auf das Atrophie-Verhalten gilt auch für diese Interventionsmethode festzuhalten, dass bereits nach 7 Tagen eine Abnahme des Oberschenkelvolumens von 3% zu beobachten ist (Ferrando, Stuart et al. 1995), die nach 89 Tagen mit 18% noch verstärkt ausfällt (Alkner and Tesch 2004). Für die Abnahme des Plantarflexorenvolumen konnte nach 20 Tagen eine Abnahme von 12% (Kubo, Akima et al. 2004), respektive nach 120 Tagen von 30% im Vergleich zum Ausgangswert ermittelt werden (LeBlanc, Schneider et al. 1992). Dabei ist hervorzuheben, dass Bettruhe-bedingte muskuläre Veränderungen mäßigen Ausmaßes nach sieben Tagen zunächst durch Abnahme der maximal willkürlichen Kraft messbar werden, große Effekte jedoch am schnellsten in der Abnahme des Volumens und der CSA nach circa 28 Tagen sichtbar werden (Winnard, Scott et al. 2019).

1.4 Differentielle Muskelatrophie

Das Phänomen der Differentiellen Muskelatrophie wird durch interindividuelle sowie muskelspezifische Variabilität in der Reaktion auf externe und interne Stimuli begründet und äußert sich in einer für jeden Muskel typischen, plastischen Adaptation je nach einwirkendem Reizprofil. Ein vielbenutztes Mittel zur Objektivierung dieser unterschiedlichen Anpassungsreaktionen sind Vergleiche der Änderungen im Muskelvolumen. Dabei konnten

durch direkte Vergleiche der Atrophie-Raten sowohl innerhalb der Individuen als auch innerhalb von Körperbereichen Unterschiede für Kachexie-, Sarkopenie-, und Inaktivitätsbedingte Atrophie mit einheitlich geringerer Betonung der oberen Extremität festgestellt werden (Janssen, Heymsfield et al. 2000, Brocca, Toniolo et al. 2017)

Eine erhöhte Suszeptibilität der posturalen und lokomotorisch-relevanten Muskulatur der unteren Extremität (Desplanches, Hoppeler et al. 1998) und zu etwas geringerem Ausmaß der Haltungsmuskulatur des unteren Rückens (LeBlanc, Schneider et al. 1992) gegenüber inaktivitätsbedingter Muskelatrophie konnte übereinstimmend für Raumfahrt und Bettruhe nachgewiesen und weiter spezifiziert werden: Plantarflexoren sind gefolgt von Knieextensoren besonders von Muskelatrophie betroffen (Narici and de Boer 2011).

Nachdem Daten aus Betruhestudien auf intermuskuläre Variabilität innerhalb des Triceps surae als synergistisch arbeitende Muskelgruppe hingewiesen hatten (Akima, Kawakami et al. 2000), konnten diese Ergebnisse von Belavy et al. 2009 zunächst mittels direkter statistischer Vergleiche der relativen Volumenänderungen von Ober- und Unterschenkelmuskeln für Bettruhe-induzierte Muskelatrophie validiert werden. Demzufolge zeigte der mediale Kopf des Musculus Gastrocnemius über die 8-wöchige Bettruheintervention hinweg die größten relativen Volumenverluste, wobei die Atrophie-Raten innerhalb der drei Köpfe des Triceps surae auch statistisch unterschiedlich waren (Belavy, Miokovic et al. 2009). Für weitere Interventionsmodelle (Kapitel 1.3) liegen nach aktuellem Kenntnisstand keine Ergebnisse zu direkten vergleichenden, statistischen Tests vor, die differentielle Atrophie bestätigen würden.

1.5 Molekulare Mechanismen zur Regulierung der Muskelmasse

Bei der Betrachtung des komplexen Bildes subzellulärer, der Muskelatrophie zugrundeliegender Prozesse stechen zwei besonders relevante Signalwege heraus. Während die multipel induzierbare IGF1/AKT1/mTOR-Kaskade auf die Proteinbiosynthese stimulierend einwirkt, reguliert der Ubiquitin/Proteasom-Signalweg vor allem die Proteindegradation (Schiaffino, Dyar et al. 2013). Die Modulation dieser beiden sowie einer Vielzahl weiterer molekularer Mechanismen zugunsten eines verstärkten Muskelabbaus erfolgt für die in Kapitel 1.1.2 besprochenen Formen von Muskelschwund individuell (Tabelle 2). Für die inaktivitätsbedingte Muskelatrophie des Menschen scheinen dabei weniger der Proteasom-moderierte Proteinabbau relevant zu sein als vielmehr diejenigen Signalwege, welche durch

fehlende mechanische Beanspruchung die Proteinbiosynthese nur mehr vermindert aktivieren (Murton, Constantin et al. 2008). Hierbei stehen vor allem durch Mechanotransduktion induzierte, intrinsische Regulationsprozesse der Muskelzelle im Vordergrund. Ursächlich für deren verminderte Ansteuerung sind fehlende extrazelluläre Kräfte, sodass folglich unter anderem die Integrin-vermittelte Aktivierung der intrazellulären focal adhesive kinase FAK ausbleibt, welche physiologischerweise über Transkriptionsverstärkung die myofibrilläre Proteinbiosynthese stimuliert (Klossner, Durieux et al. 2009). Im ruhiggestellten Quadrizeps-Muskel konnte bereits nach zehn Tagen ULLS-Intervention sowohl ein verminderter Spiegel als auch eine verminderte Aktivität der FAK gemessen werden (de Boer, Selby et al. 2007). Es scheint eindeutig, dass die Transduktion mechanischer Kräfte der Extrazellulären Matrix auf das Zytoskelett für die Aktivierung von wachstumsstimulierenden Signalwegen nötig ist. Einen wichtigen Signalweg dabei stellt der IGF1/AKT1/mTOR-Signalweg dar, welcher unter anderem über FAK aktiviert wird (Graham, Gallagher et al. 2015) und die Größe und Proteinbiosynthese der Muskelzelle steuert (Reiling and Sabatini 2006). Durch Immobilisierung werden demnach Wachstum-stimulierende Signalwege der Mechanotransduktion herunterreguliert.

	Kachexie	Sarkopenie	Inaktivitätsbedingte Muskelatrophie
Proteinbiosynthese:			
- Mechanotransduktion	↓	↓	↓↓
- IGF1/AKT1/mTOR	↓	↓	↓
Proteindegradation:			
- Ubiquitin/Proteasom	↑	-	-

Tabelle 2: Veränderung der molekularen Signalwege in der humanen Muskelzelle für Kachexie, Sarkopenie und inaktivitätsbedingte Muskelatrophie

1.6 Entlastungsorthese HEPHAISTOS

1.6.1 Grundgedanke

Das Zusammenspiel mechanischer Kräfte verschiedenen Ursprungs und die destruktiven Auswirkungen auf den Bewegungsapparat bei kombinierter Abwesenheit dieser Kräfte wurde in diversen Immobilisationsstudien vielfach untersucht. Sowohl raumfahrtsbedingte Schwerelosigkeitsexposition (Turner 2000) sowie strikte Bettruhe ohne Gegenmaßnahmen (Pavy-Le Traon, Heer et al. 2007) und ULLS (Berg, Dudley et al. 1991) schaffen Bedingungen, unter welchen adaptive Vorgänge des menschlichen Körpers an die synchrone Aufhebung aller mechanischen Kräfte untersucht werden können. Weiter präzisiert gehören zu diesen sowohl die durch Gravitation und Muskelarbeit erzeugten Kräfte als auch durch Ambulation bedingte Bodenreaktions- und Scherkräfte. Um jedoch den individuellen Einfluss einzelner mechanischer Reize auf die dynamischen Strukturen des muskuloskeletalen Systems und dessen physiologische Anpassungsreaktionen beobachten zu können, ist deren Differenzierung notwendig. Im Vergleich zu bisherigen Immobilisationsstudien ermöglicht die Hephaistos-Orthese die Untersuchung der muskuloskeletalen Einheit des Unterschenkels inklusive Begleitstrukturen unter starker Reduktion der muskulären Aktivität und damit der muskulär erzeugten Kräfte. Gleichzeitig bleiben durch Gravitation und Ambulation bedingte Kräfte vollständig erhalten (Weber, Ducos et al. 2014). Probanden behalten ihre normale lokomotorische Aktivität bei und tragen in gewohntem Umfang ihr Körpergewicht gleichsam auf beide Beinen verteilt, während speziell die Muskeln der unteren Extremität des Interventionsbeines ruhiggestellt werden. Die Haupt-Hypothese der HEPHAISTOS-Studie lautet: „Body weight bearing is insufficient to maintain bone mineral content (BMC) in the distal human tibia“ (Weber, Ducos et al. 2013). Die HEPHAISTOS-Orthese macht ein ambulantes Studiendesign möglich, in welchem die Probanden ihren alltäglichen Erledigungen nachgehen.

1.6.2 Prinzip der Methode zur Sprunggelenksimmobilisierung

Die Hephaistos-Orthese gewährleistet ein natürliches Gangbild mit wirklichkeitsgetreuem Verhältnis von Bodenreaktions- und Scherkräften auf die untere Extremität (Ducos 2013). Durch die spezielle Konstruktion des individuell angefertigten Exoskeletts wird trotz Sprunggelenksimmobilisierung, welche die Abrollbewegung des Interventionsbeines verhindert unter Zuhilfenahme eines Plateauschuhs für das kontralaterale Bein ein normales

Gangbild ermöglicht (Weber, Ducos et al. 2013). Während das untere Sprunggelenk vollständig in seinem Bewegungsumfang in Pro- und Supination und das obere Sprunggelenk nahezu vollständig in Extension und Flexion eingeschränkt wird, behält das Kniegelenk in allen Bewegungsgraden seine Freiheiten. Die nahezu vollständige Bewegungseinschränkung im oberen Sprunggelenk wird durch ein Metallgelenk unter dem festen, proximalen Anteil der Sohle kompensiert. Um mögliche Kraftentwicklung durch isometrische Kontraktion der Plantarflexoren während des Standes oder Ganges zu minimieren, ist der distale Bereich der Sohle unter dem Vorfuß aus elastischem Material konstruiert und so resultiert die Verminderung einer stabilen Widerlagerfläche unter dem Vorfuß in einem verkürzten plantaren Hebelarm und einer stark geschwächten Hebelwirkung des oberen Sprunggelenks (siehe Abbildung 2). Den theoretischen Ansatz bestätigend, ist die Spannung der Achillessehne als direktem Indikator für die erzeugte Muskelkraft des Musculus triceps surae beim Gang stark vermindert, sonographisch objektivierbar durch eine reduzierte Längenänderung der Achillessehne im Vergleich zum kontralateralen Bein (Meskemper 2013). Eine unter der Sohle befestigte Sprungfeder, welche die Orthesensohle mit einer circa 10cm tiefer liegenden elastischen Sohle mit Bodenkontakt verbindet, übernimmt die energiespeichernde und -freisetzende Funktion der Achillessehne während des Ganges.

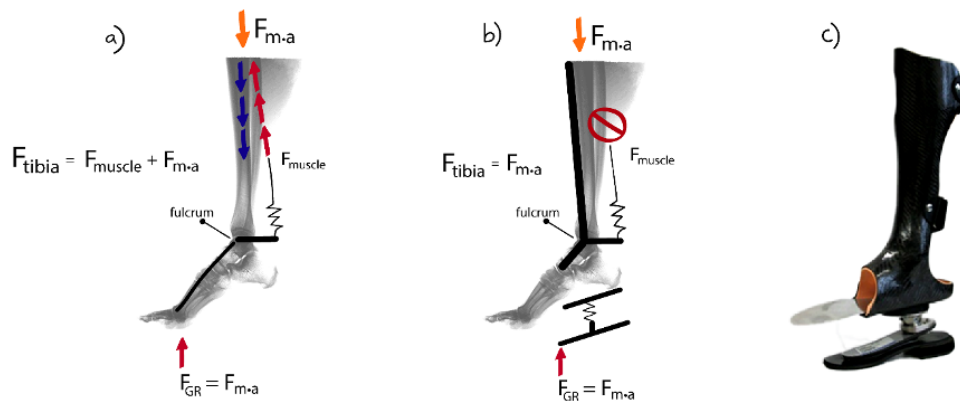


Abbildung 2: Biomechanische Funktionsweise der HEPHAISTOS-Orthese: a) Normalzustand: Die durch den Wadenmuskel aufgewendete Kraft F_{muscle} wird über die Achillessehne auf den Calcaneus übertragen und über das obere Sprunggelenk im Hebelverhältnis von 1:3 auf den Vorfuß umgesetzt. Dort wirkt die Bodenreaktionskraft als Gegenspieler entgegen. b) HEPHAISTOS-Theorie: Durch Wegnahme des Widerlagers am Vorfuß in Form einer elastischen Sohle in Kombination mit Immobilisation des oberen Sprunggelenks wird die Kraftentwicklung im Wadenmuskel stark behindert, während die Bodenreaktionskraft nun auf die untere der beiden Sohlen der Orthese einwirkt. c) HEPHAISTOS-Orthese: Reale Orthese (Weber et al., Manuskript in Arbeit).

Die Sprunggelenksimmobilisation sowie die Verkürzung des plantaren Hebelarms um circa 35% durch Hephaistos führen zur elektromyographisch beobachteten Aktivitätsverminderung der Plantarflexoren, vor allem des Musculus Soleus (SOL) um -73 % und des Musculus Gastrocnemius medialis (GMED) um -44 % (Ducos 2013).

1.7 Hypothesen

Direkte Vergleiche von muskelspezifischen Atrophie-Raten innerhalb des Unterschenkels liegen nach aktuellem Kenntnisstand ausschließlich aus Betruhestudien ohne Gegenmaßnahmen vor und deuten auf ein interpersonell einheitliches Muster differentieller Muskelatrophie hin (Belavy, Miokovic et al. 2009). Das Tragen der sprunggelenksimmobilisierenden Orthese Hephaistos geht mit einer starken Aktivitätsverminderung des SOL und des GMED einher, während die natürliche Lokomotion und die daraus resultierenden Kräfte auf die Strukturen des Unterschenkels unverändert bleiben (Ducos 2013). Daraus lässt sich vor allem eine reduzierte Stimulation der mechanotransduktiven Reize auf die Unterschenkelmuskulatur ableiten. Das Ziel dieser Studie ist daher die Untersuchung differentieller Atrophie innerhalb vordefinierter Muskelgruppen des Unterschenkels nach 49-tägiger Sprunggelenksimmobilisation mit der Hephaistos-Orthese. Ferner sollen Atrophie-Raten der HEPHAISTOS-Studie mit Atrophie-Raten der 60-tägigen Betruhestudie AGBRESA als aktuellem Goldstandard für terrestrische Interventionen zur Untersuchung inaktivitätsinduzierter Muskelatrophie in Relation gesetzt werden. Die Hypothesen dieser Studie lauten wie folgt:

1. Nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation durch die HEPHAISTOS-Orthese wird ein signifikanter Muskelschwund im Unterschenkel zu beobachten sein.
2. Die Muskelgruppen des Unterschenkels werden in unterschiedlichem Ausmaß von der Atrophie betroffen sein - differentielle Muskelatrophie.
3. Das durch Tragen des HEPHAISTOS-Exoskeletts induzierte Muskelatrophie-Muster gleicht demjenigen einer Betruhestudie. Wir erwarten daher stärkeren Muskelschwund der Plantarflexoren, vor allem des Musculus Soleus, im Vergleich zu den Dorsalextensoren des Unterschenkels.

2 Material und Methodik

2.1 Studiendesign

Zur Darstellung differentieller Muskelatrophie als Ausdruck muskelspezifischer Plastizität können in erster Näherung quantitative Unterschiede im Ausmaß der Volumenänderung nach entsprechender Umwelt- oder Reizexposition dienen. Um eine möglichst präzise CSA-basierte Volumenbestimmung zu gewährleisten, wurden für beide Interventionsmodelle vor sowie nach Intervention MRT-Aufnahmen erstellt. Das MRT-basierte Vorgehen ist vielfach durchgeführt worden (Alkner and Tesch 2004, Belavy, Miokovic et al. 2009) und etabliert. Dabei stellt die Muskelatrophie-Rate einen relativen Wert dar, welcher einen Vergleich unabhängig vom Ausgangsvolumen ermöglicht.

Die vorliegende Arbeit bedient sich dazu zweier Teilstudien, die jeweils zu eigenständigen Großprojekten gehören. Die HEPHAISTOS-Studie, vom Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt (DLR) finanziert und 2011 bis 2012 in Köln durchgeführt, zielte darauf ab, die physiologischen Reaktionen des muskuloskeletalen Systems auf eine 56-tägige muskuläre Entlastung und die dadurch stark reduzierten mechanotransduktiven Kräfte zu untersuchen, während Gravitations- und Ambulationsbelastungsmuster unverändert blieben.

Die zweite Studie ist die AGBRESA-Studie, eine internationale Zusammenarbeit zwischen der National Aeronautics and Space Administration (NASA), der Europäischen Weltraumorganisation (ESA) und dem DLR mit dem Ziel, die Erkenntnisse früherer Studien zu ergänzen und insbesondere intermittierend applizierte, künstliche Schwerkraft, die durch eine Kurzarm-Zentrifuge erzeugt wird, als potenzielle, generalisierte Gegenmaßnahme, die die Gesamtheit aller durch Schwerelosigkeit betroffenen physiologischen Systeme auf einmal anspricht, näher zu untersuchen.

2.1.1 Sprunggelenksimmobilisierende HEPHAISTOS-Studie

Dazu trugen 11 männliche Teilnehmer (31 ± 6 Jahre) bei allen lokomotorischen Aktivitäten über den Tag hinweg für 8 Wochen (HEP1 – HEP56) am zufällig ausgewählten Interventionsbein eine individuell angepasste, spezielle Entlastungs-Orthese, während die Höhendifferenz durch

einen Plateauschuh mit erhöhter Sohle am kontralateralen Bein ausgeglichen und ein natürlicher Gang erhalten werden konnte. Zur detaillierten Beschreibung und Funktionsweise der HEP-Orthese siehe Kapitel 1.6. In der 14-tägigen Gewöhnungsphase wurden Ausgangsdatensätze erhoben (baseline data collection BDC-14 – BDC-1). Mittels vorgefertigter Essenspakete, einem 1,5-fachen Energiegehalt des zuvor berechneten Grundumsatzes entsprechend, wurde trotz des ambulanten Studiendesigns eine standardisierte Diät mit einer täglichen Proteinzufuhr von 1.2g/kg Körpergewicht, <30% Fett und 50-55% Kohlehydratanteil an der Gesamtenergieaufnahme über die Interventionsphase sichergestellt. Über Beschleunigungssensoren an der Orthese sowie wöchentliche Kontrolluntersuchungen wurde die Compliance der Probanden überprüft. Ausführliche Informationen zum Studiendesign und Durchführung der Hephaistos-Studie wurden von Weber et al. 2013 veröffentlicht.



Abbildung 3: Proband mit Hephaistos: Ein Versuchsteilnehmer trägt die Hephaistos-Orthese am Interventionsbein und am kontralateralen Bein den entsprechenden Plateauschuh (Weber, Ducos et al. 2013)

2.1.2 Bettruhestudie AGBRESA

Die 60-tägige Bettruhe-Studie wurde 2019 in zwei aufeinander folgenden Kohorten a 12 Teilnehmer:innen im humanphysiologischen Simulationslabor envihab: des DLR in Köln durchgeführt. Vorgeschaltet an die 60-tägige Bettruhephase (HDT1 - HDT60) durchliefen die Versuchspersonen eine 14-tägige Eingewöhnungsphase normaler körperlicher Aktivität, in welcher Ausgangswerte bestimmt wurden (baseline data collection BDC-14 – BDC-1) sowie eine 14-tägige Erholungsphase mit normaler körperlicher Aktivität sowie zusätzlichem Fokus auf physiotherapeutisch-geleitetem Training und postinterventioneller Datenerhebung (recovery R+0 – R+13). Ab 9 Uhr des Tages HDT1 hielten die Proband:innen für die komplette Dauer der Interventionsphase 24 Stunden pro Tag sowie über Aktivitäten der Körperhygiene und Nahrungs- wie Flüssigkeitsaufnahme eine strikte Bettruhe von -6° HDT ein. Die Einhaltung des Protokolls, welches die Vermeidung unnötiger, willkürlicher Bewegungen und isometrischer Muskelkontraktion beinhaltet, wurde durch Personal und Videoüberwachung sichergestellt. In stationärem Setting konnten zur Gewährleistung der gesundheitlichen Sicherheit der Versuchsteilnehmer:innen sowie zur Reduktion möglicher Folgen einer in Zusammensetzung und Energiegehalt inadäquaten Flüssigkeits- sowie Nahrungsaufnahme eine standardisierte Diät gewährleistet werden. Dabei wurden während BDC- und R-Phasen der 1,6-fache und während HDT-Phase der 1,3-fache Energiegehalt des individuell gemessenen Grundumsatzes zugeführt. Referenzwerte der täglichen Proteinaufnahme waren 1.2g/kg Körpergewicht sowie 30-35% Fett und 45-55% Kohlehydrate der täglichen Gesamtenergieaufnahme. Ebenso wurden tägliche, sowie regelmäßig auch in erweitertem Umfang, medizinische Kontrollen durchgeführt und mittels physiotherapeutischer und psychologischer Begleitung unterstützt. Alle 24 Teilnehmer:innen wurden nach dem Zufallsprinzip in eine von drei verschiedenen Studiengruppen eingeteilt. Die inaktive Kontrollgruppe (8 Proband:innen) erhielt während der Bettruhephase keinerlei Gegenmaßnahmen. Die anderen 16 Teilnehmer:innen wurden täglich mittels Kurzarm-Zentrifuge mit einer künstlichen Schwerkraft von +1 g auf den Körperschwerpunkt und +2g auf die Füße belastet. Davon wiederum wurden acht Proband:innen 30 Minuten ohne Pause zentrifugiert, während die andere Hälfte gemäß einem strikten Zentrifugationsprotokoll sechs kurze Perioden von fünf Minuten künstlicher Schwerkraft mit je drei-minütigen Pausen zwischen den Sätzen erhielt. Die Zentrifugationsrichtung wurde täglich gewechselt. Für die aktuelle Arbeit wurden ausschließlich Daten der Kontrollgruppe benutzt, welche entsprechend nicht zentrifugiert und auch keine weiteren Gegenmaßnahmen erhielten.



Abbildung 4: :envihab Bettruhe: Proband in -6° HDT Lagerung während der AGBRESA-Studie (DLR 2019)

2.2 Studienteilnehmer:innen

HEPHAISTOS-Studie: Für diese Studie wurden elf männliche Teilnehmer ausgewählt, deren anthropometrischen Daten in Tabelle 3 festgehalten sind. Die Berechnung der Stichprobengröße wurde für die primäre Hypothese der Studie, nämlich den Knochenmineralgehalt, unter Verwendung von BMC-Daten aus einer früheren Betruhekampagne als Referenz (Rittweger, Beller et al. 2010) konzipiert. Eine detailliertere Beschreibung der Berechnung der Stichprobengröße, die zu 11 Studienteilnehmern führte, wurde an anderer Stelle veröffentlicht (Weber, Ducos et al. 2013). Allgemeine Einschlusskriterien waren ein Body-Mass-Index BMI zwischen 20 und 30 kg/m^2 , ein Alter zwischen 20 und 45 Jahren und, um die physiologische und psychologische Gesundheit der Teilnehmer sicherzustellen, musste zudem eine ärztliche Untersuchung durchgeführt werden. Außerdem mussten die Teilnehmer einen standardisierten Persönlichkeitstest (Freiburger Persönlichkeitsinventar, FPI) sowie ein 45-minütiges Gespräch mit zwei Psychologen absolvieren. Ausschlusskriterien waren vorbekannte Krankheiten oder Anomalien, die dauerhafte Einnahme von verschreibungspflichtigen Medikamenten, Rauchen, regelmäßiges Krafttraining oder eine Verletzung des Bewegungsapparats innerhalb der letzten 12 Monate.

Jeder Teilnehmer unterzeichnete eine Einverständniserklärung, nachdem er über die potenziellen Risiken und Vorteile der Studie aufgeklärt worden war, und es stand den Teilnehmern frei, die Studie jederzeit zu verlassen. Genehmigung erhielt die Studie von der Ethikkommission Nordrhein in Düsseldorf und die Registrierung wurde unter www.clinicaltrials.gov (NCT01576081) vorgenommen.

	HEPHAISTOS	AGBRESA
Anzahl Proband:innen	10	6
Alter (Jahre)	31.1 ± 6.6	35 ± 7.8
Gewicht (kg)	81.2 ± 10.0	77.7 ± 11.4
Größe (m)	1.82 ± 0.06	1.77 ± 0.07
Body mass index (BMI)	24.6 ± 2.9	24.7 ± 2.3
Frauen (%)	0	33
Messzeitpunkte	BDC-14; HEP49	BDC-14; BDC-8; R+5
Bilder pro Proband:in	40	75

Tabelle 3: Kenndaten der HEPHAISTOS und AGBRESA-Studie

AGBRESA-Studie: Die Zuteilung der 24 Proband:innen in Interventions- und Kontrollgruppe erfolgte an HDT+1 zufällig. Ein Überblick der anthropometrischen Daten der acht Versuchspersonen der Kontrollgruppe, welche keine Gegenmaßnahmen erhielten, sind in Tabelle 3 zusammengefasst. Allgemeine Einschlusskriterien waren männliches sowie weibliches Geschlecht, ein BMI zwischen 19 und 30 kg/m², ein Alter zwischen 24 und 55 Jahren, eine Körpergröße zwischen 153cm und 190cm +/-1cm und um die physiologische und psychologische Gesundheit der Teilnehmer sicherzustellen, fanden je zwei Runden psychologischer und ärztlicher Screening-Untersuchungen statt. Ausschlusskriterien waren sehr umfangreich und beinhalteten bestehende Schwangerschaft, bekannte Krankheiten oder Anomalien, die konsequente Einnahme jeglicher verschreibungspflichtigen Medikamente und hormonelle Unregelmäßigkeiten. Vor dem Studieneinschluss gaben alle Teilnehmer:innen eine schriftliche Einverständniserklärung ab, welche von der Ethikkommission der Ärztekammer Nordrhein (Antrag Nr. 2018143) in Düsseldorf sowie vom Bundesamt für Strahlenschutz

genehmigt wurden. Die Proband:innen wurden für die Teilnahme an der Studie finanziell entschädigt, waren jedoch frei, die Studie jederzeit zu verlassen. Die Studie ist beim Deutschen Register Klinischer Studien registriert (DRKS00015677).

Drop-Outs: Bei einem Teilnehmer der HEPHAISTOS-Gruppe fehlten die Daten der Ausgangsmessung. Daher wurde dieser Teilnehmer aus der Analyse der differentiellen Atrophie herausgenommen.

In der AGBRESA-Studie konnten für zwei nachträglich rekrutierte Versuchsteilnehmer:innen aus terminlichen Gründen keine Aufnahmen in der BDC-Phase erstellt werden, sodass diese aus der Studie ausgeschlossen werden mussten. Zudem konnte aufgrund von Artefakten einer der beiden Ausgangsmessungen eines AGBRESA-Probanden dieser Datensatz nicht segmentiert werden, sodass in diesem Fall nur ein BDC-Datensatz zur Normalisierung verwendet wurde.

2.3 Protokoll der Magnetresonanztomographieaufnahmen

Die unterschiedlichen Untersuchungsbedingungen und -schwerpunkte der beiden Studien resultieren in zwei geringfügig voneinander abweichenden MRT-Protokollen.

HEPHAISTOS-Studie: Axiale Bilder des nach dem Zufallsprinzip für die Intervention ausgewählten Beins wurden in Rückenlage mit den Füßen nach vorne mit der Turbo-Spin-Echo-Sequenz PDw_aTSE auf einem ACHIEVA-System (Philips Medical Systems, 3 Tesla, Flip-Winkel 90 Grad, gefolgt von 10 Echos im Abstand von 30 ms, TR = 4719 ms, 512 x 512 Pixel bei 160 mm x 160 mm Sichtfeld, 5 mm Schichtdicke mit 5,3 mm Zwischenschichtabstand) aufgenommen. Idealerweise wurden 40 Bilder ausgehend von der Stelle des maximalen Unterschenkeldurchmessers nach distal sowie proximal sowohl an BDC-14 als auch an HEP49 aufgenommen.

AGBRESA-Studie: Die Magnetresonanztomographie-Aufnahmen wurden alle in Rückenlage mit den Füßen voran, unter Verwendung einer T1-gewichteten Turbo-2-Spin-Echo-Sequenz mit DIXON-Auswertung akquiriert (Siemens Biograph mMr, 3 Tesla, Flip-Winkel = 5 Grad, TR = 7,02 ms, TE1 = 2,46, TE2 = 3,69 ms, transversale Bilder, Pixelmatrix = 256 x 256, Gesichtsfeld 300 mm x 300 mm, Schichtdicke = 4 mm). Die Daten der Bettruhestudie umfassen ausnahmslos den gesamten Bereich von Caput fibulae bis Malleolus lateralis der Fibula.

Zwischen diesen anatomischen Orientierungspunkten (Landmarks) wurden 75 kohärente Bilder, beginnend am Fibulaköpfchen nach distalwärts, für die Messungen benutzt. So kann eine optimale intra- sowie interpersonelle Vergleichbarkeit der relativen Muskelvolumina gewährleistet werden. Die Zeitpunkte der Messungen waren BDC-14 und BDC-8 zur Bestimmung der Ausgangsvolumina und nach Ausgleich der Bettruhe-induzierten Flüssigkeitsumverteilung (Bosutti, Mulder et al. 2020) postinterventionell R+5.

2.4 Bildmessungen

Ein Untersucher, bezüglich Probanden und Zeitpunkt verblindet, führte die Muskelquerschnittsmessungen aller Datensätze durch. Die Verblindung des Auswerters wurde durch die Zuordnung einer zufälligen Buchstabenkombination zu den Proband:innen sowie der Vermischung der chronologischen Ordnung der Messzeitpunkte sichergestellt. Somit konnten weder persönliche Informationen der Proband:innen noch Erstellungsdaten der Aufnahmen nachvollzogen werden. Stichprobenartig wurden die Querschnittsmessungen von einem weiteren, ebenfalls verblindeten Untersucher überprüft.

2.4.1 Festlegung der Muskelgruppen des Unterschenkels

Die anatomische Einteilung der Unterschenkelmuskulatur erfolgt in drei voneinander getrennte Kompartimente, separiert durch die Membrana interossea cruris sowie der beiden Septa intermuscularia cruris anterior und posterior. So ergeben sich drei eigenständig innervierte Muskelgruppen: die Extensorengruppe, die Fibularisgruppe und die Flexorengruppe, wobei letztgenannte noch in einen tiefen und einen oberflächlichen Teil untergliedert werden kann. Zur feinteiligen Untersuchung differentieller Atrophie gilt es diese gängige Unterteilung weiter anzupassen. Dabei wurden die drei Köpfe des Musculus Triceps surae der oberflächlichen Flexorenloge als drei eigenständige Gruppen betrachtet, was bei der Untersuchung differentieller Atrophie eine etablierte Herangehensweise darstellt (Belavy, Miokovic et al. 2009). Ferner stellt sich dies unter dem Gesichtspunkt der verschiedenartigen biomechanischen Funktionalität der einzelnen Muskeln während Lokomotion als sinnvoll dar (Lai, Biewener et al. 2019). Eine noch feinere Unterteilung zur individuellen Volumenbestimmung jedes Unterschenkelmuskels ist aufgrund der interpersonell variierenden intermuskulären Differenzierbarkeit, speziell kleiner Muskeln, nicht durchgeführt worden. Anhand

anatomischer und funktioneller Merkmale wurden somit sechs Muskelgruppen definiert (siehe Tabelle 4).

Muskelgruppe	Zugeordnete Einzelmuskeln
ANT	m. tibialis anterior, m. extensor hallucis longus, m. extensor digitorum longus
PER	m. peroneus longus et brevis (et tertius)
POST	m. tibialis posterior, m. flexor digitorum longus
SOL	m. soleus, m. hallucis longus
GMED	m. gastrocnemius medialis
GLAT	m. gastrocnemius lateralis

Tabelle 4: Übersicht der definierten Muskelgruppen des Unterschenkels mit zugeordneten Einzelmuskeln

Sowohl bei der Dorsalextensorengruppe ANT wie auch der Peroneusgruppe PER wurde aus Gründen der Differenzierbarkeit die gängige anatomische Einteilung der Unterschenkelkompartimente beibehalten und entsprechend synergistisch-arbeitende Muskeln gemeinsam segmentiert. Während die beiden Gastrocnemiusköpfe GMED und GLAT individuell vermessen wurden, konnte der M. Soleus aufgrund fehlender anatomischer Orientierungspunkte bei einigen Probanden nicht ausreichend genau vom M. Flexor hallucis longus unterschieden werden, weshalb beide Muskeln unter SOL zusammengefasst wurden. Dabei orientierten wir uns an Vorgängerarbeiten, wobei durch diese Zuordnung keine Veränderung der Ergebnisse festgestellt worden waren (Belavy, Miokovic et al. 2009). Die sechste und letzte Gruppe POST wird von M. Tibialis posterior zusammen mit M. Flexor digitorum longus gebildet, da hierbei ebenfalls die Trennung bei einigen MRT-Aufnahmen nicht möglich war.

2.4.2 Bestimmung der Querschnittsflächen/Cross Sectional Areas

CSA-basierte Volumenbestimmung ist eine verlässliche und etablierte Methode zur Quantifizierung Entlastungsbedingter Muskelatrophie (Berry, Berry et al. 1993). Für die vordefinierten sechs Muskelgruppen wurden manuell in jeder Schicht eines Datensatzes regions of interest ROIs stellvertretend für die Cross Sectional Areas bestimmt. In Abbildung 5 ist beispielhaft eine vollständig segmentierte MRT-Schicht je Studie sichtbar. Es wurde speziell darauf geachtet, ausschließlich die Fläche des Muskels unter bestmöglicher Ausgrenzung von Begleitstrukturen und Sehnen zu markieren. In Fällen zentral oder nicht-randständig gelegener Sehnenanteile wurden diese gleichsam für alle Messungen und Proband:innen innerhalb der ROI entsprechenden Muskelgruppe belassen, um ein einheitliches Segmentationsprotokoll einzuhalten. Diese Unsicherheiten und Sonderfälle wurden separat festgehalten. Für die Segmentierung beider Studien wurde der ROI-Segmenter (Ver. 1.7.7; Niederrhein University of Applied Sciences, Institute for Pattern Recognition) verwendet. Insgesamt wurden für die manuelle Segmentierung aller eingeschlossenen Datensätze 400 Arbeitsstunden aufgebracht.

Ausgehend von der schichtweisen Segmentierung konnten zunächst einzelne CSA-basierte Muskelverläufe erstellt werden, beispielhaft in Abbildung 6 dargestellt für SOL zu 3 Messzeitpunkten der AGBRESA-Studie.

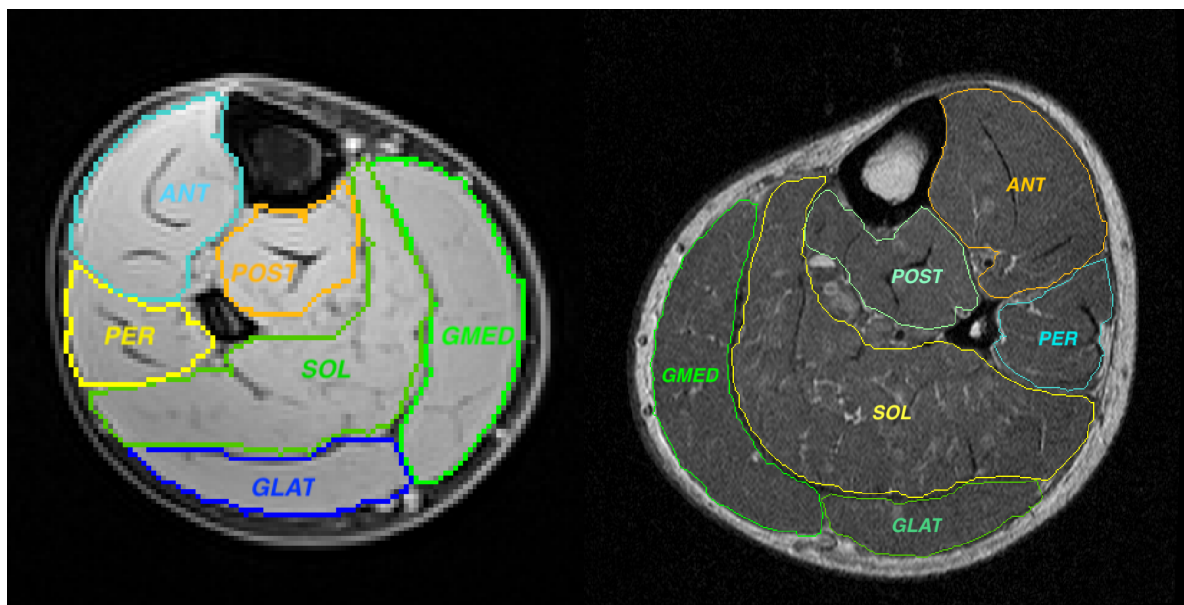


Abbildung 5: Vollständig segmentierte Schicht des proximalen Unterschenkels: rechtes Bein aus der AGBRESA-Studie (*links*) und linkes Bein aus der HEP-Studie (*rechts*) jeweils mit Tibialis-Anterior- (ANT), Tibialis-Posterior- (POST), Peronei-Gruppe (PER) und den drei Köpfen des Triceps surae Soleus (SOL) sowie Gastrocnemius medialis (GMED) und Gastrocnemius lateralis (GLAT).

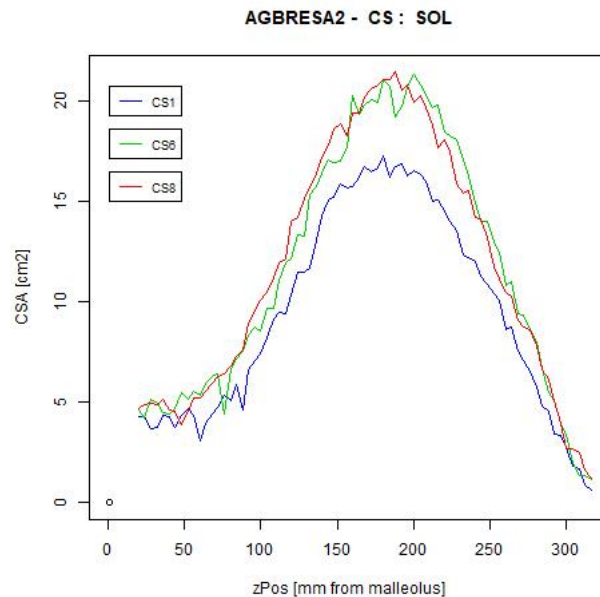


Abbildung 6: CSA-Verläufe des Musculus Soleus SOL zu 3 Messzeitpunkten: Muskelverlauf des SOL generiert aus Querschnittsflächen aller segmentierten Schichten zwischen den beiden Landmarken Malleolus lateralis (distal: $x = 0$) und Caput fibulae (proximal: $x > 0$), AGBRESA-Studie (Versuchszeitpunkt und -person randomisiert); Für den Leser soll zur leichteren Einordnung der Muskelverläufe festgehalten werden, dass die blaue Kurve CS1 der Messung an R+5 entspricht und bereits eine Volumenreduktion indiziert, abgebildet durch ein kleineres Integral der Kurven.

2.5 Weitere Datenverarbeitung

Um die Atrophie-Raten der jeweiligen Muskeln vergleichen zu können, mussten zunächst die Muskelvolumina zu den jeweiligen Messzeitpunkten generiert werden. Dazu wurde die Summe aller Produkte der CSA-Messungen aller Schichten pro Datensatz mit der zugehörigen Schichtdicke gebildet. Für die Hephaistos-Daten wurde die Gleichung um einem Faktor von 1,03 cm (bestehend aus der Schichtdicke von 0,5 cm und dem Abstand zwischen den Schichten von 0,53 cm) entsprechend angepasst, um die im MRT-Protokoll voreingestellte Zwischenschichtabstand (inter-slice-distance) zu berücksichtigen. Die folgende Gleichung wurde verwendet:

$$\text{Muskelvolumen} = \sum_{i=1}^n \text{CSA}_i \times \text{Schichtdicke}$$

wobei n für die Anzahl der Schichten in einem Datensatz steht und die Schichtdicke für AGBRESA 0,4cm und der zugehörige Konversionsfaktor für HEPHAISTOS 1,03cm entspricht. Wir normalisierten die Muskelvolumina nach der Intervention auf die jeweiligen Ausgangsvolumina. Da für die Teilnehmer der Bettruhestudie zwei unterschiedliche prä-interventionelle Datensätze zur Verfügung standen, wurden beide miteinbezogen. Indem der Mittelwert der BDC-14- und BDC-8-Datensätze verwendet wurde, konnte insgesamt eine genauere Annäherung an das wahre Ausgangsvolumen erreicht werden.

Auf diese Weise erhielten wir Muskelatrophie-Raten für alle zuvor definierten Muskelgruppen und konnten muskelgruppen-spezifische Unterschiede herausarbeiten und mögliche Atrophie-Muster erkennen. Um Störfaktoren vor allem in Form von interpersonell variierenden Anpassungsreaktionen zu minimieren, wurden die Atrophie-Raten der einzelnen Muskelgruppen immer im Verhältnis zur Atrophie-Rate der Tibialis-anterior-Gruppe (ANT) des jeweiligen Datensatzes betrachtet.

2.6 Statistische Auswertung

Die statistischen Analysen wurden mit dem open-source Softwarepaket R in der Version 4.0.0 durchgeführt (www.r-project.org). Das Signifikanzniveau α wurde auf 0,05 und β auf 0,20 festgelegt. Um auf Unterschiede zwischen den Ansprechraten der jeweiligen Muskelgruppen auf Bettruhe oder Hephaistos zu testen, wurden die individuellen relativen Volumenänderungen als prozentuale Veränderung gegenüber dem Ausgangswert zeitnormiert, durch 49 bzw. 60 Tage für Hephaistos und Bettruhe geteilt, berechnet. Die Werte werden als prozentuale Veränderung pro Monat (30 Tage) angegeben, gemittelt über alle Teilnehmer:innen pro Studie und deren Standardabweichungen. Lineare Modelle mit gemischten Effekten wurden mit der Funktion 'lme' aus dem R-Paket 'nlme' erstellt, wobei Studie, Muskelgruppe und deren Interaktion als feste Effekte und die Teilnehmer-ID als Zufallseffekt verwendet wurden. Die Modelle wurden mit Residuenplots und q-q-Plots überprüft und erwiesen sich dabei als brauchbar.

3 Ergebnisse

3.1 Muskelatrophie durch Sprunggelenksimmobilisierung HEPHAISTOS

Nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation durch die HEP-Orthese wurde eine signifikante Reduktion des gesamten Muskelvolumens sum um -5.1% im Unterschenkel gemessen ($p < 0.01$). Dabei konnte differentielle Atrophie beobachtet werden, ausgedrückt durch muskelgruppen-spezifische Empfindlichkeit gegenüber Muskelatrophie in den vordefinierten Muskelgruppen ($p < 0.01$). Besonders ausgeprägt war die relative Volumenreduktion des SOL um -7.6% in Relation zu ANT ($p < 0.01$). Außerdem war die Atrophie-Rate des GM mit -6.8% signifikant schneller als ANT ($p > 0.01$). Für die übrigen Muskelgruppen GL, PER und POST konnte keine statistische Unterschiedlichkeit der Atrophie-Raten im Vergleich zu ANT festgestellt werden (alle $p > 0.10$). Tabelle 5 gibt einen detaillierten Überblick über die durchschnittlichen Volumenänderungen mit Standardabweichungen und Signifikanzen. In Abbildung 7 findet sich außerdem die Verteilung der Einzelwerte der HEPHAISTOS-Teilnehmer für alle Muskelgruppen sowie das Gesamtvolumen.

	HEPHAISTOS- Studie	AGBRESA- Studie
	HEP 49 (% BDC)	R +5 (% BDC)
SOL	-7.6 (4.5) *	-9.9 (7.8) *
GM	-6.8 (6.3) *	-7.0 (12.2) *
GL	-2.4 (12.1)	-3.0 (11.9)
PER	-3.2 (4.8)	-5.9 (8.2)
TIB- ANT	-0.3 (4.3)	-2.9 (5.7)
TIB- POST	-1.3 (6.4)	-6.0 (4.4)
SUM	-5.1 (3.2) *	-6.9 (7.5) *

Tabelle 5: Durchschnittliche prozentuale Volumenänderung (Standardabweichung) der 6 Muskelgruppen. * $p < 0,01$ weist auf einen statistisch signifikanten Unterschied im Vergleich zu BDC in Bezug zur Veränderung der ANT-Gruppe.

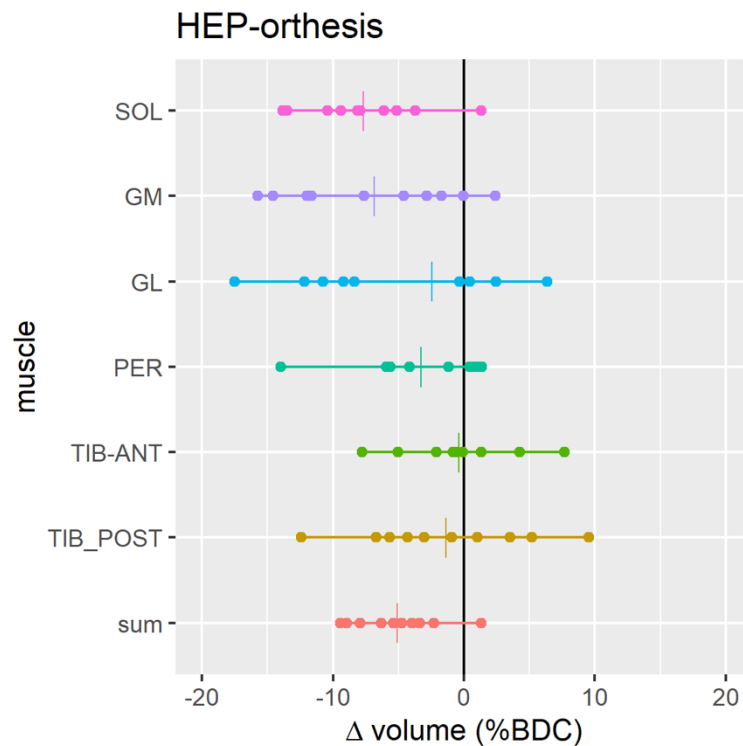


Abbildung 7: Relative Volumenveränderung der sechs Muskelgruppen sowie des Gesamtmuskelvolumens (sum) nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation mit der HEPHAISTOS-Orthese. Einzelwertdarstellung nach Muskelgruppe durch Punkte und Mittelwertdarstellung mittels Strich; HEP-Studie

3.2 Muskelatrophie durch Bettruhe AGBRESA

Nach 60-tägiger Bettruhe-Intervention konnte in der Kontrollgruppe der AGBRESA-Studie eine signifikante Reduktion des Muskelvolumens des Unterschenkels gemessen werden. Die Abnahme des Gesamtmuskelvolumens sum konnte auf -6.9% quantifiziert werden ($p < 0.01$). Dabei waren die vorab festgelegten sechs Muskelgruppen unterschiedlich stark von der Muskelatrophie betroffen ($p = 0.007$), was auf differentielle Muskelatrophie nach Bettruhe hinweist. Besonders ausgeprägt war die relative Volumenreduktion im Bezug zur Ausgangsmessung im SOL mit -9.9% sowie im GM mit -7.0% (beide $p < 0.01$), jeweils verglichen mit ANT. Für Gastrocnemius lateralis, die Peroneus-Gruppe sowie die Tibialis-posterior-Gruppe konnte keine statistische Unterschiedlichkeit der Atrophie-Raten im

Vergleich zu ANT festgestellt werden (alle $p > 0.10$). Tabelle 5 gibt einen Überblick über die durchschnittlichen Volumenänderungen mit Standardabweichungen und statistischen Ergebnissen. In Abbildung 8 findet sich außerdem die Verteilung der Einzelwerte der AGBRESA-Teilnehmer:innen für alle Muskelgruppen sowie des Gesamtvolumens.

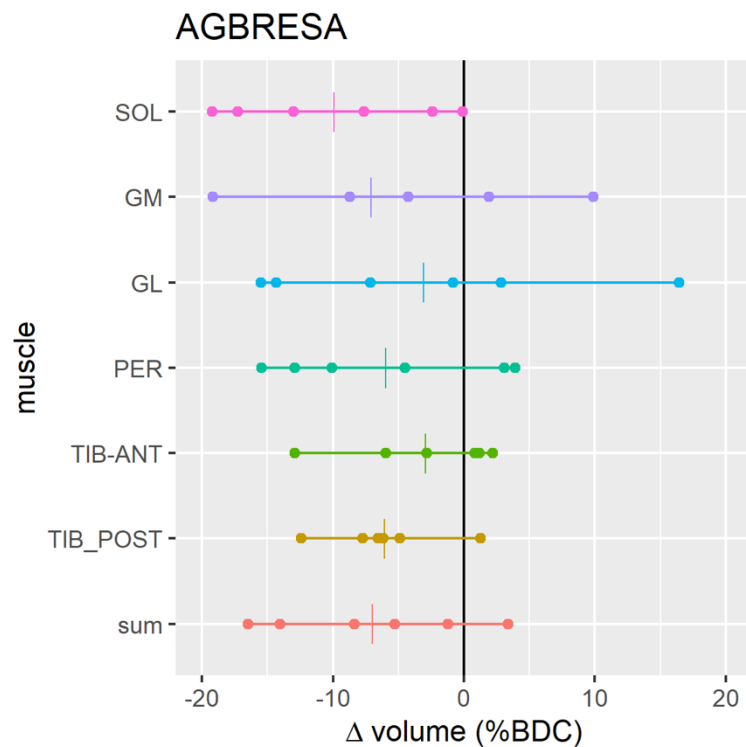


Abbildung 8: Relative Volumenveränderung der 6 Muskelgruppen sowie des Gesamtmuskelvolumens (sum) nach 60 Tagen Bettruhe in -6° Kopftieflagerung und 5 Tagen normaler Ambulation. Einzelwertdarstellung nach Muskelgruppe durch Punkte und Mittelwertdarstellung mittels Strich; AGBRESA-Studie

3.3 Vergleich von HEPHAISTOS und AGBRESA

3.3.1 Gegenüberstellung der induzierten Muster differentieller Muskelatrophie

Sowohl die relativen Volumenverluste ($p=0.46$) als auch die variable Suszeptibilität gegenüber Volumenreduktion innerhalb der vordefinierten Muskelgruppen ($p=0.95$) waren zwischen den beiden Interventionsmodellen vergleichbar. Die inaktivitätsbedingte Muskelatrophie des Unterschenkels weist unabhängig von der Interventionsmethode ein einheitliches Muster mit starker Volumenreduktion in den Plantarflexoren Musculus Soleus und Musculus Gastrocnemius medialis auf und schwächeren Atrophie-Raten in den Peronei, der Tibialis-

posterior-Gruppe und dem M. Gastrocnemius lateralis auf, während die Dorsalextensoren der Tibialis-anterior-Gruppe am wenigstens betroffen sind. Die starke Übereinstimmung des Bettruhe- bzw. Sprunggelenksimmobilisierungs-induzierten Atrophie-Verhaltens zeigt sich in Abbildung 9 durch die starke Orientierung der muskelspezifischen und zeitnormierten Mittelwerte der relativen Volumenreduktion entlang der Einheitsgerade. Die Tendenz einer Linksverschiebung kommt durch eine insgesamt geringfügig stärker ausgeprägte Atrophie nach 60-tägiger Bettruhe mit Kopftieflagerung im Gegensatz zu 49-tägiger Sprunggelenksimmobilisation durch die HEP-Orthese zustande. In Abbildung 10 wird die starke Übereinstimmung der induzierten Atrophie-Muster graphisch verdeutlicht.

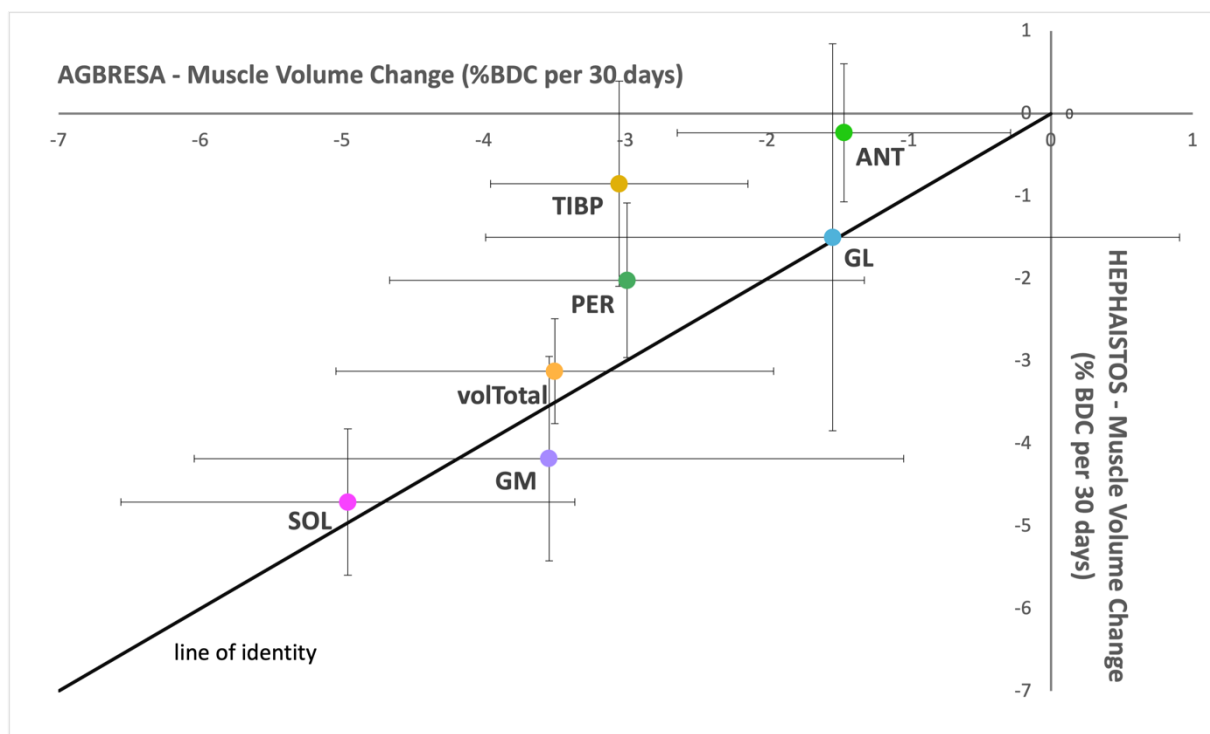


Abbildung 9: Vergleich der relativen Volumenänderungen der sechs Muskelgruppen und des Gesamtvolumens (volTotal), auf 30 Tage zeitnormiert, aus der AGBRESA-Studie (x-Achse) mit der HEPHAISTOS-Studie (y-Achse). Die Punktkoordinaten (Fehlerbalken: Standardfehler) setzen sich aus den Mittelwerten beider Studien zusammen, sodass durch die Nähe zur Einheitsgerade die Gleichheit der Veränderungen in den Muskelvolumina ausgedrückt wird. Das induzierte Atrophie-Muster stellt sich für beide Studien ähnlich dar mit insgesamt stark um die Einheitsgerade angeordneten Datenpunkten. Die stärksten Volumenveränderungen sind in der SOL und GMED-Gruppe zu finden. Insgesamt zeigt sich eine etwas stärker ausgeprägte Muskelatrophie in der AGBRESA-Gruppe, ausgedrückt durch eine Linksverschiebung der Datenpunkte.

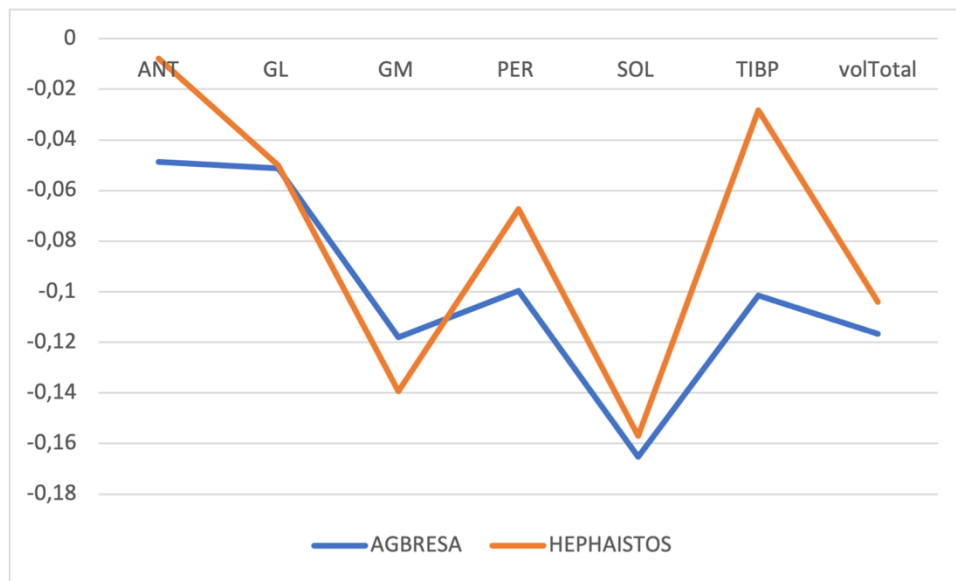


Abbildung 10: Ähnlichkeit der jeweils induzierten differentiellen Atrophie für AGBRESA- und HEP-Studie: Die durchschnittliche Volumenänderungen in den untersuchten Muskelgruppen wurden zeitnormiert als prozentuale Veränderung der Muskelvolumina pro Tag dargestellt. Die Ähnlichkeit der Atrophie-Muster der beiden Interventionsmodelle wird gut erkennbar.

3.3.2 Inter-individuelle Variabilität

Bei Betrachtung der Einzelpunktverteilung sowohl in der HEP-Studie (Abbildung 7) als auch noch deutlicher in der AGBRESA-Studie (Abbildung 8) wird eine große Schwankung der relativen Volumenverluste in den sechs Muskelgruppen zwischen den Versuchsteilnehmer:innen deutlich. Vor allem in der AGBRESA-Gruppe zeigen sich für GLAT eine inter-individuelle Variabilität mit Extremwerten von -15,4% Volumenverlust bis hin zu +16,4% Volumenzuwachs (SD: 11,9). Ähnlich verhält es sich bei GMED mit Schwankungen der Volumenantwort von einer Abnahme von -22,1% im Vergleich zu BDC bis zu einem Wachstum von bis zu +9,8% (SD: 12,2). Interessanterweise war dabei eine konsistente intra-individuelle Einheitlichkeit gegeben, sodass gegenüber Bettruhe-induzierter Muskelatrophie besonders empfindliche Proband:innen mit über alle Muskelgruppen hinweg konsistent starken Atrophie-Raten (siehe Abbildung 12, Versuchsperson CS,WA) von weniger Betroffenen mit geringeren Atrophie-Raten unterschieden werden konnte. Dabei schien vor allem die Intensität der Volumenveränderung mit inter-individuell ähnlichem Verhältnis der Muskelgruppen zueinander verändert. Diese Beobachtung unterstreicht die Ähnlichkeit des induzierten

Atrophie-Musters zwischen den Versuchspersonen, lediglich das Ausmaß der Ausprägung scheint durch die individuelle Suszeptibilität moduliert. Interessanterweise muss von dieser Annahme Versuchsperson OU aus der AGBRESA-Gruppe ausgeschlossen werden. Für OU deuten alle relativen Volumenänderungen der sechs Einzelmuskelgruppen bis auf SOL (-0.08% BDC) auf einen deutlichen Volumenzugewinn hin (siehe Abbildung 12).

In der HEPHAISTOS-Studie fällt insgesamt eine geringere Streuung in den Volumen Anpassungen der sechs Muskelgruppen auf. Für GLAT (Maximale Volumenreduktion: -17.4 %; Maximaler Volumenzuwachs: +24.6 %; SD: 12.1), aber nicht für GMED ergab sich jedoch auch in der HEP-Gruppe eine große Bandbreite an Volumenveränderungen zwischen den Versuchspersonen im Vergleich zu BDC. Die Unterschiedlichkeit der Adaptionen des Muskelvolumens stellte sich in der HEP-Gruppe in einer Intensitätsdifferenz zwischen den Versuchspersonen dar. Darüber hinaus wurde für einige Teilnehmer ein vom klassischen Muster abweichendes Atrophie-Verhalten beobachtet. So wurden beispielsweise in einigen Probanden für GLAT, PER und POST positive Maximalwerte, die den größten Volumenzuwachs über alle Muskelgruppen dieses Probanden hinweg indizieren, festgestellt. Gleichzeitig konnten wir für dieselben Muskelgruppen in anderen Probanden negative Maximalwerte beobachten, gleichbedeutend mit der stärksten Muskelatrophie-Rate aller Muskelgruppen dieses Probanden (siehe Abbildung 11).

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass das Atrophie-Muster insgesamt über beide Interventionsstudien hinweg gleichgerichtet ausfällt (siehe Abbildung 10), in einzelnen HEP-Studienteilnehmern ist das einheitliche Profil differentieller Atrophie im Unterschenkel jedoch aufgehoben.

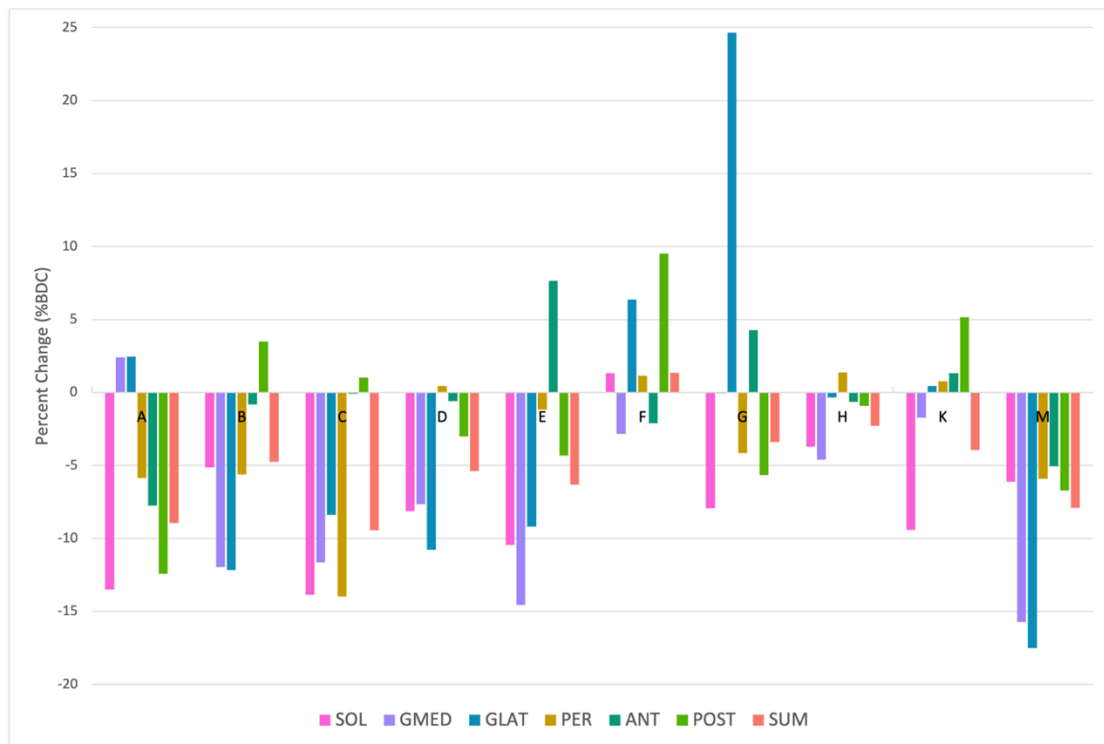


Abbildung 11: Einzelwertdarstellung der Muskelgruppen-spezifischen Atrophie-Raten des Unterschenkels, aufgeschlüsselt nach Versuchspersonen; HEP-Studie

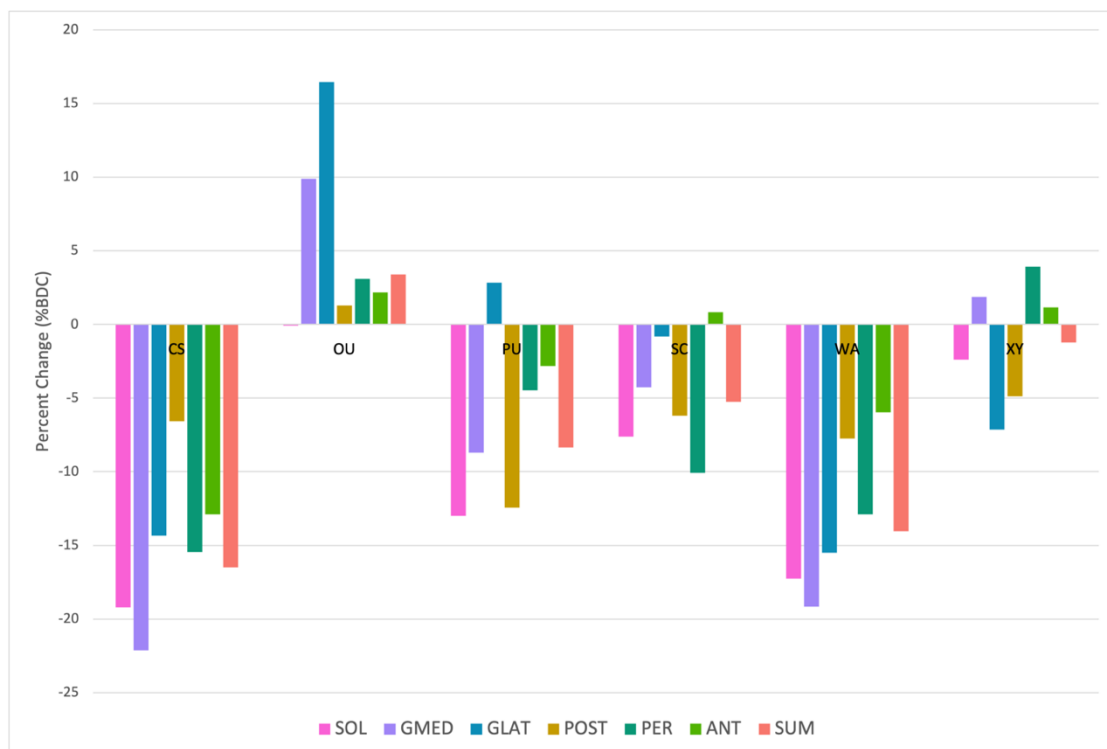


Abbildung 12: Einzelwertdarstellung der Muskelgruppen-spezifischen Atrophie-Raten des Unterschenkels, aufgeschlüsselt nach Versuchsperson; AGBRESA-Studie

4 Diskussion

4.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die vorliegende Studie liefert zusätzliche, wichtige Einblicke in das individuelle Atrophieverhalten der einzelnen Muskelgruppen des Unterschenkels nach mehrwöchiger Inaktivität. Hervorzuheben ist dabei die starke Ähnlichkeit des induzierten Atrophie-Musters sowohl nach 60-tägiger Bettruhe als nach Tragen der Entlastungsothese HEPHAISTOS für 49 Tage, welche gering erhaltene elektromyographische Restaktivität der Plantarflexoren ermöglichte. Es zeigte sich differentielle Muskelatrophie im Sinne unterschiedlich stark betroffener Muskelvolumina in den vordefinierten sechs Einzelmuskelgruppen des Unterschenkels für beide Interventionen ($p < 0,01$) und ferner, in beiden Inaktivitätsmodellen in vergleichbarer Weise ($p = 0,95$). Unsere Ergebnisse deuten dementsprechend darauf hin, dass eine geringe neuromuskuläre Ansteuerung von 27% Restaktivität des SOL und 56% Restaktivität des GM ebenso wie die Beibehaltung der Schwer- sowie Scherkräfte während normaler Ambulation nicht ausreichend sind, um eine Unterschiedlichkeit in den Anpassungsreaktionen der Muskelvolumina im Vergleich zur Bettruhe zu induzieren. Das übereinstimmende Atrophie-Muster beider Interventionen lässt sich wie folgt beschreiben: Die Plantarflexoren (SOL > GM) zeigten die stärkste, signifikante Atrophie während für GL, PER, POST und ANT keine signifikante Volumenveränderungen verzeichnet werden konnten – jedoch zeigten sich auch für diese Muskelgruppen jeweils ähnliche Atrophie-Verhalten in beiden Interventionsmodellen.

In der HEPHAISTOS-Gruppe wurde nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation ein prozentualer Verlust des Gesamtmuskelvolumens von -5.1% (SD: 3.2; $p < 0.01$) gemessen. Ebenfalls signifikante Atrophie-Raten stellten wir für die Einzelmuskeln SOL (-7.6%; SD: 4.5) und GM (-6.8%; SD: 6.3) im Bezug zu ANT (-0.3%; SD: 4.3; beide $p < 0.01$) fest. Die weiteren Muskelgruppen GL, PER und POST wiesen vergleichbare Atrophie-Raten wie ANT auf (alle $p > 0.10$).

In der AGBRESA-Gruppe stellten wir nach 60-tägiger HDT-Bettruhe an R+5 einen prozentualen Verlust des Gesamtmuskelvolumens von -6.9% (SD: 7.5, $p < 0.01$) im Vergleich zum gemittelten Ausgangswert fest, während für die Einzelmuskeln SOL (-9.9%; SD: 7.8) und GM (-7.0%; SD: 12.2) ebenfalls signifikante Atrophie-Raten im Vergleich zu ANT (-2.9%; SD: 5.7; beide $p < 0.01$) gemessen wurden. Für die weiteren Muskelgruppen GL, PER, POST konnte

keine signifikant stärkeren Atrophie-Raten im Vergleich zu ANT festgestellt werden (alle $p > 0.01$).

4.2 Muskelatrophie-Muster in HEPHAISTOS und AGBRESA

Die Ergebnisse der aktuellen Studie bestätigen unsere Hypothesen, sodass insgesamt Folgendes festgehalten werden kann:

1. Nach 49 Tagen Sprunggelenksimmobilisation durch die HEPHAISTOS-Orthese wurde ein signifikanter Muskelschwund im Unterschenkel beobachtet.
2. Die Muskelgruppen des Unterschenkels waren in unterschiedlichem Ausmaß von der Atrophie betroffen, als Nachweis differentieller Muskelatrophie nach Inaktivität.
3. Das durch Tragen des HEPHAISTOS-Exoskeletts induzierte Muskelatrophie-Muster gleicht demjenigen einer Betruhestudie. Wir beobachteten also stärkeren Muskelschwund in den Plantarflexoren SOL und GM (nicht aber GL) im Vergleich zu den Dorsalextensoren des Unterschenkels.

Mit Blick auf das generelle Ausmaß der Volumenveränderungen der Unterschenkelmuskulatur in beiden Studien fielen etwas geringere Verluste als in vergleichbaren Betruhestudien oder ULLS-Studien auf. So wurde beispielsweise eine signifikante Reduktion in Wadenmuskel-CSA von 25.6% nach 90-tägiger Bettruhe (Rittweger, Frost et al. 2005) und von 18% nach 42 Tagen ULLS gefunden (Dudley, Hather et al. 1992).

Unsere Beobachtungen differentieller Atrophie im Unterschenkel entsprechen zu weiten Teilen der bisherigen Datenlage. So zeigten auch Belavy et al. 2009 größte Volumenverluste nach 56 Tagen Bettruhe in GM und SOL. Schwächere Atrophie-Raten wurden auch dort für PER, POST und wie in unseren Untersuchungen am schwächsten für ANT verzeichnet. Einzig der Plantarflexor GL stellt in unseren Untersuchungen mit seinen geringen relativen Volumenverlusten in beiden Interventionen eine Ausnahme zur aktuell verfügbaren Datenlage dar. Dieser Umstand wird unter anderem im Kapitel 4.4 diskutiert.

Dass Atrophie-Raten der HEP-Studie mit denjenigen der AGBRESA-Studie vergleichbar sind, zeigt, dass trotz der weiter bestehenden muskulären Restaktivität und den durch Gravitation

und Lokomotion entstehenden Kräften keine ausreichende Stimulation mechanotransduktiver Signalwege stattgefunden hat, um Muskelerhalt oder zumindest einen weniger starken Muskelschwund verglichen mit Bettruhe Bettruhe zu induzieren. Diese Ähnlichkeit in den induzierten Muskelatrophie-Mustern legt die Benutzung der HEPHAISTOS-Orthese als kosteneffiziente und für individuell weniger restriktive Alternative zu Bettruhe für künftige Forschungen an inaktivitätsbedingtem Muskelschwund nahe.

4.3 Ursachen der inter-individuellen Variabilität

Die inter-individuelle Variabilität drückte sich in den Ergebnissen der AGBRESA-Studie vor allem in unterschiedlichen Intensitäten der Volumenadjustierungen aus, während das Verhältnis der Muskelatrophie-Raten der sechs Muskelgruppen zueinander über die Versuchspersonen hinweg als konstant bezeichnet werden konnte. In den Ergebnissen der HEPHAISTOS-Versuchsreihe beobachteten wir neben diesen Intensitätsunterschieden zwischen den Probanden außerdem vereinzelte Auflösungen der Atrophie-Mustern mit entsprechend abweichenden Verhältnissen der Atrophie-Raten der einzelnen Muskelgruppen.

Erklärungsansätze für diese Beobachtungen in der HEPHAISTOS-Versuchsreihe bedienen sich vorzugsweise personen-unabhängiger, externer Faktoren. Sowohl die HEP-Orthese selbst, die durch Sprunggelenksimmobilisation speziell die muskuläre Aktivität der Plantarflexoren unterbindet, dabei allerdings weiterhin Spielraum für kleine Bewegungen und isometrische Kontraktionen der Unterschenkelmuskulatur zulässt, als auch das ambulante Studiendesign generell kommen als potenzielle Ursachen für die beobachteten Unterschiede in Frage. Durch ein Aktivitätsmonitoring, gestützt auf an der HEP-Orthese befestigte Beschleunigungssensoren, konnte eine mangelnde Compliance der Probanden sowie eine Reduktion der lokomotorischen Aktivität über die Interventionsdauer hinweg ausgeschlossen werden. Ebenso war die elektromyographisch gemessene Aktivität des Tibialis Anterior während der ersten sechs Schritte nach Abnahme der Orthese signifikant herabgesetzt, was darauf schließen lässt, dass Probanden über die acht wöchige Intervention gelernt haben, die Dorsalflexoren beim Gang auszuschalten. Diese Beobachtungen deuten erneut auf eine konsequente Einhaltung des Studienprotokolls hin (Weber, Ducos et al. 2013).

Bei der generellen Ursachensuche der inter-individuellen Variabilität in den Anpassungsreaktionen des Muskelvolumens an Inaktivität muss neben methodischen

Störgrößen von weiteren, personenspezifischen Einflussfaktoren auf die Muskelplastizität ausgegangen werden. Um Gewissheit über den wahren Effekt inter-individueller Variabilität zu erhalten und nicht fälschlicherweise zufällige Ungenauigkeiten in Messung und Auswertung für ursächlich anzusehen, sind wiederholte Beobachtungen gleichgerichteter Reaktionen derselben Versuchspersonen nach erneuter Muskelatrophie-Stimulation mit zwischengeschaltet ausreichender Regenerationszeit ein mögliches Mittel. Durch Zusammenführung der Daten aus drei Betruhestudien in Cross-Over-Design konnte diese Reproduzierbarkeit gezeigt werden und eine klinisch relevante, inter-individuelle Unterschiedlichkeit in der Anpassungsreaktion auf Inaktivität von >5% im Wadenmuskel-Querschnitt festgestellt werden (Fernandez-Gonzalo, McDonnell et al. 2021). Da bekannte, beeinflussbare Faktoren wie die Energieaufnahme und die Einhaltung des Studienprotokolls in Betruhestudien aufmerksam adressiert werden, gilt es weitere persönliche Ursachen für die beobachteten Unterschiede herauszuarbeiten. Ein Erklärungsansatz dafür ist die epigenetische Modifikation, welche durch wiederholt dargebotene Muskelreize, wie beispielsweise regelmäßiges Krafttraining, aber ebenso durch akute anabole Reize induziert wird. Die verstärkte Expression von für die Regulation des Muskelstoffwechsels kodierenden Genabschnitten wird vor allem durch Hypomethylierung bewirkt und scheint zumindest teilweise für eine gewisse Zeit persistent. So konnte ein schnelleres und stärkeres hypertrophes Ansprechen auf eine zweite Periode regelmäßigen Krafttrainings trotz längerer Reizabstinenz und Muskelatrophie bis auf das Ausgangsniveau gezeigt werden (Seaborne, Strauss et al. 2018). Es ist daher wahrscheinlich, dass die eigene Historie erfahrener beziehungsweise nicht-erfahrener Reize durch anhaltende epigenetische Modifikation eine relevante Rolle in der Reaktion auf externe sowie interne Muskelreize spielt und dadurch das Ausmaß der Muskelplastizität, quantitativ in Hypertrophie und Atrophie sowie qualitativ in Architektur, Faserzusammensetzung und Funktion mitbestimmt.

Die Berücksichtigung dieser Variabilität in der Reaktion auf Inaktivität hat für viele klinische Situationen unmittelbare Konsequenz. Zum Einen sollte eine Implementierung der Untersuchung individueller Reagibilität auf inaktivitätsinduzierten Muskelschwund als festen Bestandteil von Auswahlprogrammen für zukünftige Astronaut:innen diskutiert werden, um so potentiell gefährdetere Personen vor den Folgen von Raumfahrtsmissionen bewahren zu können oder diese dafür gesondert vorbereiten zu können. Vor dem Hintergrund zwangsläufig immer längerer Reisezeiten und Aufenthalt bei von ESA und NASA gemeinsam definierten Zielorten Mond und Mars wird die Relevanz dieser Betrachtung noch verstärkt (Horneck, Facius et al. 2006). Zum Anderen eröffnet die große Bandbreite unterschiedlicher

Muskelatrophien zwischen Proband:innen die Debatte über die Unterscheidung von Anpassungsreaktionen physiologischer beziehungsweise akzeptabler Natur und solchen, größerer und somit potenziell pathologischer Natur, wobei letztere konsequenterweise mit einer deutlichen Erhöhung von Verletzungsrisiko und Sturzrisiko einhergehen. Im Hinblick auf die hohe Prävalenz von krankheitsbedingter Bettlägerigkeit und lokalen Ruhigstellungsmaßnahmen zu Rehabilitationszwecken und der Gefahr einer möglichen Potenzierung der Muskelatrophie und ihren unmittelbaren Folgen bei gleichzeitigem Auftreten von Inaktivität, Kachexie und Sarkopenie (Schaap, Pluijm et al. 2006, Muscaritoli, Lucia et al. 2013) ist es bedeutsam, vulnerable Personengruppen sowie Individuen erkennen und schützen zu können. Unabhängig, ob im Weltraum oder auf der Erde, wird es zur Erstellung individualisierter Risikoprofile notwendig sein, die der inter-individuellen Variabilität zugrundeliegenden Mechanismen herauszuarbeiten und darauf aufbauend geeignete Screening-Untersuchungen zu entwickeln. Ein wichtiger Schritt dazu ist die detaillierte Analyse differentieller Atrophie, um Unterschiede muskelspezifischer Art von solchen, personenspezifischer Art abgrenzen zu können.

4.4 Individuelle Schwellenwerte der Muskelaktivität zum Erhalt von Muskelmasse

Die Ergebnisse des direkten Vergleichs von Bettruhe- mit Sprunggelenksimmobilisation-induzierter Muskelatrophie machen eindrucksvoll klar wie relevant mechanotransduktive Kräfte für den Muskelerhalt sind.

Unverändert auf die Unterschenkelmuskulatur einwirkende Bodenreaktions- und Scherkräfte sowie elektromyographisch gemessene Restaktivitäten des SOL von 27% und des GMED von 56 % während Lokomotion in der HEPHAISTOS-Studie ergaben nach 49 Tagen vergleichbare Verluste des Gesamtmuskelvolumens im Unterschenkel wie in der AGBRESA-Studie nach 60 Tagen Bettruhe. Die vollständige Beibehaltung des Belastungsmusters des Unterschenkels sowie die teilweise erhaltene, muskuläre Aktivität waren demzufolge nicht ausreichend, um mechanotransduktive Signalwege derart zu stimulieren, dass inaktivitätsbedingtem Muskelschwund entgegengewirkt werden konnte. Folglich drängt sich die Frage auf, in welchem Ausmaß Muskelaktivität nötig ist, um Muskelerhalt oder zumindest einen signifikant geringeren Verlust an Muskelmasse zu bewirken. Die für beide Interventionsmodelle ähnliche, differentielle Atrophie im Unterschenkel erweitert diese Thematik um den Aspekt muskelspezifischer Schwellenwerte kontraktiver Aktivität zur Aufrechterhaltung der

Muskelmasse. Im Folgenden sollen daher zunächst Ursachen des für Inaktivität typischen Muskelatrophie-Musters im Unterschenkel erörtert werden, wodurch nachfolgend Rückschlüsse auf individuelle Schwellenwerte gezogen werden können.

4.4.1 Unterschiedlichkeit in der Funktionalität

Entwicklungsgeschichtlich lässt sich das skeletale System des Menschen als Resultat des engen Zusammenspiels aus Verhalten, wie beispielsweise Lokomotion, sowie Funktion, als die einwirkenden Kräfte, und Morphologie betrachten. Die Funktion ermöglicht ein Verhalten und determiniert die Morphologie (Sylvester, Lautzenheiser et al. 2021). Dieser paleontologisch-begründete Ansatz stellt eine Kernthese in der Erklärung der Anatomie des heutigen Menschen dar und lässt sich ebenso bei der Betrachtung von Muskelplastizität und ferner differentieller Atrophie anwenden. Ein funktionszentrierter Blick liefert für die beobachteten Atrophie-Raten der sechs Muskelgruppen des Unterschenkels einen logischen Zusammenhang. Muskeln, die das Körpergewicht in aufrechter Position tragen und durch tonische Aktivierung gegen die Schwerkraft arbeiten werden demnach zur Gruppe der Anti-Schwerkraftmuskeln gezählt. Zu diesen gehören in erster Näherung vor allem die Plantarflexoren SOL, GM und GL sowie in etwas schwächerem Ausmaß PER und POST, die den Fuß in Pro- und Supination einstellen und während Lokomotion für ein stabiles und funktionsfähiges Fußgewölbe elementar sind.

Bedingt durch ihre Funktion gewährleisten Plantarflexoren und Knieextensoren durch permanente Arbeit unter der Last des Körpergewichtes in aufrechter Haltung Stand und Gang. Logisch erscheint daher die erhöhte Suszeptibilität der Anti-Schwerkraftmuskeln gegenüber Muskelschwund durch Bettruhe oder Schwerelosigkeit, einer Disruption der charakteristischen, alltäglichen Belastungsmuster entsprechend, verglichen mit den antagonistisch arbeitenden Dorsalextensoren und Knieflexoren, welche weniger haltungsstabilisierend und damit zu größeren Anteilen phasisch kontrahieren.

Auch die Differenzen in den durchschnittlichen Atrophie-Raten von PER und POST zwischen AGBRESA- und HEP-Studie erscheint unter Berücksichtigung der jeweiligen Funktionalität und der verwendeten Interventionsmodelle logisch. Beide Muskelgruppen dienen sowohl während Lokomotion als auch während des Standes der Gewährleistung der mediolateralen Stabilität im Sprunggelenk. Diese Zusammenarbeit der stark pronierenden Peronei-Gruppe PER (Louwerens, van Linge et al. 1995) mit der Posterior-Gruppe POST, speziell dem Tibialis

posterior, welcher unter anderem starke Supination im Fußgelenk bewirkt (Kaye and Jahss 1991), stellt als muskuläre Komponente des medialen, longitudinalen Fußgewölbes dessen Funktion in der Abroll- und Abstoßbewegung sicher; auch das proximale, transversale Fußgewölbe wird durch diese Muskelschlinge in Stand und Gang gestützt (Babu and Bordoni 2021). Speziell diese kleinen ausgleichenden Bewegungen oder gar isometrischen Kontraktionen zur Stabilisierung der Fußposition können durch die HEP-Orthese nicht vollständig ausgeschaltet werden und es muss daher davon ausgegangen werden, dass diese Muskelgruppen auch während Intervention durch normale Ambulation zumindest partiell ihren Funktionen entsprochen haben, während sich dazu in der liegenden Bettruheposition kein Anlass ergeben haben sollte, was die stärker ausgeprägten (wenn auch nicht signifikant unterschiedlichen) Volumenverluste erklären könnte.

Dieser Ansatz kann die Unterschiede zwischen antagonistisch arbeitenden Muskelgruppen gut erklären, dient jedoch ebenso zum Verständnis der beobachteten differentiellen Atrophie synergistisch arbeitender Einzelmuskeln. So zeigen detaillierte Analysen des muskelspezifischen Kontraktionsverhaltens während Lokomotion auch innerhalb synergistischer Muskelgruppen, wie beispielsweise dem Triceps surae als hauptsächlichem Plantarflexor im Sprunggelenk, funktionelle Unterschiede auf. Mit Blick auf die geleistete Muskelfaserarbeit während langsamen Gehens mit einer konstanten Geschwindigkeit von 1.4 m/s zeigen sich für den GLAT unabhängig von der Gesamtmuskelgröße insgesamt deutlich niedrigere Werte verglichen mit den beiden anderen Muskelköpfen SOL und GM. Außerdem unterscheiden sich die Hauptarbeitsweisen der Muskelfasern der drei Köpfe des Triceps surae im Gehen sowie andersgeartet auch im Laufen voneinander (Lai, Biewener et al. 2019). Insgesamt geben diese Untersuchungen Hinweise auf die funktionellen Unterschiede von SOL, GM und GL während bestimmter Bewegungen und können zumindest partiell die differentiellen Atrophie-Raten von SOL, GM und GL nach Bettruhe sowie Sprunggelenksimmobilisierung erklären.

Da die Muskulatur, einem breiten Anforderungsprofil gerecht werdend, verschiedenartiges Kontraktionsverhalten zeigt, ist es notwendig die entsprechenden Hauptarbeitsweisen der Einzelmuskeln identifizieren zu können, um so valide Rückschlüsse über den Einfluss von Funktion auf Atrophie-Verhalten zu ziehen. Der Ansatz einer an Funktion orientierten Muskelplastizität erlaubt es, durch Untersuchung der Muskelmorphologie von Einzelmuskeln auf deren Funktionalität und Verhalten zurückzuschließen und umgekehrt. Non-invasive Verfahren zur Muskelfaseranalyse bedienen sich beispielsweise messbaren, faserspezifischen

Eigenschaften wie der Kontraktionsgeschwindigkeit, um auf die Faserzusammensetzung von Einzelmuskeln rückschließen zu können (Hall, Lysenko et al. 2021). Klassischerweise findet sich ein höherer Anteil an Typ-I-Fasern in Muskulatur, die Haltung gewährleistet und kontinuierlich mit geringer Intensität angesteuert wird, während phasisch und mit höherer Intensität aktivierte Muskeln tendenziell einen höheren Typ-II-Faseranteil aufweisen (Schiaffino and Reggiani 2011). Dabei ist festzuhalten, dass die Faserzusammensetzung über den Muskel hinweg sowie zwischen Individuen stark variabel ist (Johnson, Polgar et al. 1973).

Überträgt man dieses Prinzip, indem man die vordefinierten sechs Muskelgruppen unserer Studie auf ihre typischen Faserzusammensetzung hin untersucht und so auf ihre Hauptfunktion schließt, fällt auf, dass die stärker von Inaktivitätsbedingter Atrophie betroffenen Muskelgruppen als klassische Anti-Schwerkraftmuskeln eine höhere Typ-I-Faser-Dichte aufweisen. So zeigen histologische Untersuchungen an post-mortem Biopsien von jungen Erwachsenen für SOL den höchsten Anteil langsam-kontrahierender Typ-I-Fasern im Unterschenkel, gefolgt von den Gastrocnemii und einem vergleichsweise geringen Anteil im ANT. Damit erklären sie die stärksten relativen Volumenverluste im SOL, gefolgt von GM und bestätigen damit den Zusammenhang zwischen Muskelfunktion, respektive -verhalten und Fasertyp (Susheela and Walton 1969, Edgerton, Smith et al. 1975). Die klassischerweise stärker betroffenen Muskeln nach Inaktivität scheinen die Typ-I-Fasern mit geringerer Kontraktionsgeschwindigkeit, erhöhter oxidativer Kapazität und vermehrt tonischem Aktivitätsmuster zu sein (Fitts, Riley et al. 2000, Schiaffino and Reggiani 2011, Gao, Arfat et al. 2018). Unsere Beobachtungen einer starken Atrophie im SOL, gefolgt von GMED und nur geringer Atrophie im ANT stützen demnach die aktuelle Datenlage.

4.4.2 Variabilität im neuronalen Input

Während im drastischen Fall einer Denervierung eine Defunktionalisierung der betroffenen Muskulatur durch Muskelatrophie folgt (Shah, Stevens et al. 2006), kann ebenso auf eine Defunktionalisierung der Muskulatur, beispielsweise durch Muskelentnahme oder Amputation eine Atrophie des peripheren Nerven und Veränderungen der motorischen Endplatten als Schnittstelle zwischen Nerv und Muskel folgen (McComas, Sica et al. 1978). Diese wechselseitige Beeinflussung ist essenziell, versucht man differentielle Adaptionen der Muskulatur an Inaktivität zu erklären. Physiologischerweise bezieht sich die neuronale Einflussnahme auf die Muskulatur sowohl auf die unmittelbare Initiation der

Muskelkontraktion durch elektrische Nervenimpulse, auch neuromotorische Kontrolle genannt, als auch auf die permanente Freisetzung neurotropher Signalstoffe aus alpha-Motoneuronen an motorischen Endplatten, auch neurotrophe Kontrolle genannt. Mittelfristig wird so je nach Innervationsmuster auf die plastische Anpassung der Muskelfaser an den jeweiligen Bedarf Einfluss genommen (Cisterna, Cardozo et al. 2014). In Phasen reduzierter Innervation, unter anderem also während Inaktivität, stellt der reduzierte neuronale Input ein Ausbleiben eines hypertrophen Reizes auf die Muskulatur dar und die aktuelle Datenlage lässt spekulieren, dass dieser Einfluss im Verhältnis zum Ausmaß der Abweichung vom charakteristischen Innervationsmuster des Muskels steht (Ochala, Gustafson et al. 2011).

Die veränderte neuromuskuläre Ansteuerung während Inaktivität, dargestellt in einer reduzierten elektromyographisch gemessenen Muskelaktivität nach HEP-Intervention (Weber, Ducos et al. 2013) sowie nach HDT-Bettruhe (Alkner and Tesch 2004), ist daher ein möglicher Erklärungsansatz für die beobachtete differentielle Atrophie.

Den unterschiedlichen Funktionen entsprechend weisen die sechs Einzelmuskeln des Unterschenkels unterschiedliche Innervationsmuster auf, welche durch die jeweilige elektromyographische Aktivität (Santuz, Ekizos et al. 2018) objektivierbar werden. So zeigen Muskeln wie M. soleus, die bereits während geringer körperlicher Aktivität, wie im Stehen das Körpergewicht tragen und damit permanent gegen die Schwerkraft arbeiten, eine tonische und demnach insgesamt höhere elektromyographische Aktivität als beispielsweise M. Extensor digitorum longus als Teil der ANT-Gruppe, welcher charakteristischerweise phasisch angesteuert wird (Hennig and Lomo 1985). Daraus begründet sich der Ansatz muskelspezifischer Schwellenwerte neuronalen Inputs zur Aufrechterhaltung der Muskelmasse. Gestützt werden kann dieser Ansatz durch Beobachtungen an Patient:innen mit kompletter (Castro, Apple et al. 1999) sowie inkompletter Rückenmarksverletzung (Shah, Stevens et al. 2006), welche beide unmittelbar mit einer Reduktion des neuronalen Inputs sowie der Aktivität aller betroffenen Muskeln gleichsam einhergehen (Gordon and Mao 1994) und, ebenso wie unsere Ergebnisse, differentielle Atrophie mit vornehmlich betroffenen Plantarflexoren im Verhältnis zu Dorsalextensoren des Unterschenkels bewirken. Auf der Suche nach entsprechenden Schwellenwerten bis zu denen eine Reduktion des neuromuskulären Inputs ohne Muskelverlust möglich ist, ist es notwendig sich durchschnittliche Werte gesunder Vergleichspersonen zu vergegenwärtigen. Interessante Ergebnisse aus Langzeit-EMG-Untersuchungen der unteren Extremität gesunder Personen aus Finnland liefern diese Informationen, welche auf Inaktivität der Oberschenkelmuskulatur von

über 65% über einen normalen Tag hinweg hinweisen (Definition der Inaktivitätsschwelle pro Muskelgruppe als 90% der individuellen EMG-Aktivität im Stehen). Die Autor:innen der Studie führten das beobachtete Aktivitätsmuster auf die westliche Lebensweise mit vornehmlich sitzenden Tätigkeiten zurück (Tikkanen, Haakana et al. 2013). Zu betonen ist, dass selbst intensive, sportliche Aktivität diesen Trend eines inaktiven Lebensstils aufgrund der täglich langen Phasen von Inaktivität und Schlaf nur marginal beeinflusst (Westerterp 2009). Vorausgesetzt dieses beobachtete Aktivitätsmuster induzierte keine permanente Atrophie, lassen sich die Ergebnisse in Bezug auf den Einfluss der neuromotorischen Kontrolle für den Muskelstoffwechsel in zweierlei Hinsicht interpretieren. Erstens eröffnet sich die Debatte über einen logarithmischen Zusammenhang zwischen neuromuskulärer Ansteuerung und Muskelplastizität, welcher einen gewissen Schwellenwert erwarten ließe, ab dem keine zusätzliche Wachstumsstimulation durch neuronalen Input erzielbar wäre. Zweitens aber könnten diese Ergebnisse auf einen geringeren Einfluss der neuromuskulären Ansteuerung in Form einer Zelldepolarisation per se hindeuten, was wiederum der neurotrophen Kontrolle einen größeren Anteil an der prominenten Muskelatrophie nach Nervenverletzung oder -durchtrennung zuschreiben würde. Für letztere Annahme spricht die im Tiermodell beobachtete Instabilität und Reduktion neuromuskulärer Kontakte als Folge von Alter und Muskeltraumata (Li, Lee et al. 2011, Li and Thompson 2011). Auch für Inaktivität konnten ähnliche Entwicklungen beobachtet und ferner, muskelspezifische oder präzise fasertypspezifische Unterschiede herausgearbeitet werden (Schiaffino and Reggiani 2011, Baehr, West et al. 2016). Aufgrund von erheblichen Speziesdifferenzen (Rennie, Selby et al. 2010) gilt es trotzdem zunächst zu klären, ob diese Beobachtungen auch für den Menschen zutreffen und wenn ja, inwiefern diese Veränderungen muskelspezifischer Variabilität unterliegen und damit tatsächlich als robuste Erklärung für differentielle Muskelatrophie im Menschen in Frage kommt. Aufgrund der in steigender Lebenserwartung und demographischem Wandel begründeten Zunahme der Prävalenz dieser Phänomene lässt sich die wachsende Relevanz differentieller Atrophie sowie inter-individueller Variabilität für unser Verständnis von Muskulatur selbst sowie für die unmittelbare Anwendung des Wissens zur verbesserten Versorgung von Patient:innen und Astronaut:innen verstehen.

4.5 Muskuläre Dysbalancen im Unterschenkel nach Immobilisation

Unsere Ergebnisse zeigen eindeutig, dass muskuläre Inaktivität, unabhängig von der Immobilisationsmethode, sowohl generellen Muskelschwund des betroffenen Körperteils als

auch differentielle Atrophie in antagonistisch sowie auch in synergistisch arbeitenden Muskeln induziert. Unter der Annahme, dass der Kraftverlust den Volumenverlust der Muskulatur durch Atrophie übertrifft (Narici, Kayser et al. 2003, Kress and Hall 2014), werden die Auswirkungen auf die Betroffenen noch hervorgehoben. Dieser Umstand kann zumindest partiell durch eine Atrophie-bedingt veränderte Muskelfaser-Morphologie erklärt werden, ausgedrückt durch einen bindegewebigen Umbau der kontraktiven Fasern sowie einen gesteigerten intramyozellulären Einbau von Fettsäuren (Marcus, Addison et al. 2012).

Sowohl statische als auch dynamische Funktionalität der unteren Extremität werden maßgeblich durch das feinabgestimmte Zusammenspiel der beteiligten Muskelgruppen gewährleistet. Dieses für die Funktionalität notwendige Kräfteverhältnis wird durch Muskelschwäche per se sowie beschleunigte Ermüdbarkeit und ebenso muskuläre Dysbalancen, welche durch differentielle Atrophie-Raten der Einzelmuskeln entstehen, unterbrochen. Die Folgen dieses Funktionsverlustes sind eine veränderte Gelenkstellung sowie -mechanik und damit eine veränderte Bewegungsausführung. Die skeletalen Effektorstrukturen der Unterschenkelmuskulatur sind hauptsächlich das obere sowie untere Sprunggelenk und durch die beiden biartikulären Gastrocnemii zu einem geringen Anteil das Kniegelenk. Daher resultieren aus muskulärer Dysfunktionalität im Unterschenkel eine reduzierte Stabilität der Sprunggelenke und damit vor allem pathologische Fehlstellungen des Fußes. So lassen sich beispielsweise Plattfußdeformitäten auf eine Insuffizienz des Tibialis-Posterior-Muskels zurückführen (Kaye and Jahss 1991), während schwache und vor allem durch Inaktivität steifere Gastrocnemii und Soleus-Muskeln eine Spitzfußdeformität prädisponieren (Subotnick 1971). Die Auswirkungen einer varisierenden oder valgusierenden Fußfehlstellung auf die gesamte untere Extremität sind immens und beeinträchtigen ebenso Knie und Hüftgelenk in Gelenkausrichtung, Bewegungsspielraum, Lastverteilung und Muskelarbeit. Folglich und durch die lasttragende Eigenschaft der unteren Extremität besonders betont, finden sich gehäuft ein verändertes, pathologisches Gangbild, Osteoarthritis und verfrühte Arthrose in allen beteiligten Gelenken (Rao, Riskowski et al. 2012).

Diese klinisch-relevanten Folgen vor Augen, ist eine am Ausmaß der betroffenen Muskelgruppen orientierte Rehabilitation vor beziehungsweise während Reambulation und vollständig lasttragender Aktivitäten unabdingbar. Unsere Ergebnisse verbessern die wissenschaftliche Evidenz differentieller Atrophie und legen damit die Grundlage für muskelspezifische Trainingsprotokolle nach Inaktivitätsbedingter Atrophie, die idealerweise die Vorbeugung von Langzeitschäden oder Verletzungen sowie die Wiederherstellung der

körperlichen Verfassung adressieren (Petersen, Lambrecht et al. 2017). Diese Trainingsprotokolle sollten dementsprechend vermehrt auf die besonders atrophierten Muskelgruppen des Unterschenkels ausgerichtet sein, präzise die Plantarflexoren SOL, GM und GL, gefolgt von PER und TIBP.

4.6 Limitationen

Limitationen des Studiendesigns: Eine relevante Limitation unserer Studie ist der geringe Stichprobenumfang in beiden Gruppen, der die statistische Aussagekraft und detaillierte Untergruppenanalysen einschränkt. Ähnliche Ergebnisse früherer Untersuchungen zu Anpassungsreaktionen der Muskelvolumina vor allem der Hüft- und Oberschenkelmuskulatur (Miokovic, Armbrecht et al. 2011) und der Unterschenkelmuskulatur (Belavy, Miokovic et al. 2009) nach Bettruhe unterstützen jedoch unsere Beobachtungen zu differentieller Muskelatrophie.

Zudem waren in der HEP-Studie, wie auch in bisherigen Studien zu differentieller Muskelatrophie keine Frauen eingeschlossen, während in der Kontrollgruppe der AGBRESA-Studie ein Anteil des weiblichen Geschlechts von 33% erreicht wurde. Physiologischerweise gibt es zwischen Mann und Frau relevante Unterschiede der Muskulatur selbst, wie beispielsweise die Differenz im myogenen Proteinumsatz, der Faserverteilung und der Anzahl und Proliferationsbereitschaft von Satellitenzellen, sowie systemische Unterschiede, welche ebenfalls auf die Muskelplastizität Einfluss nehmen; so beispielweise die Unterschiedlichkeit im Hormonhaushalt (Rosa-Caldwell and Greene 2019). Die aktuelle Datenlage deutet auf eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Inaktivitätsbedingter Muskelatrophie von Frauen verglichen mit männlichen Vergleichspersonen hin (De Jonghe, Sharshar et al. 2002). Es ist daher nicht auszuschließen, dass ein gewisser Anteil der beobachteten Veränderungen im Muskelvolumen auf die ungleiche Geschlechterverteilung zurückzuführen ist.

Limitationen der Methoden: MRT-basierte CSA-Messungen gelten als Standardmethode zur in-vivo Bestimmung des Muskelvolumens aufgrund ihrer hohen Muskelsensitivität im Vergleich zu anderen bildgebenden Verfahren (Elliott, Walter et al. 1997). Die bedingte Übertragbarkeit der Veränderungen auf Ebene der Gesamtmuskeln auf die tatsächlichen Veränderungen auf Faserebene stellt allerdings eine generelle Kritik an der CSA-basierten Volumenbestimmung der Gesamtmuskeln dar und kommt vor allem durch physiologische

Anpassungsreaktionen an die jeweilige Interventionsmethode zustande: veränderter, intramuskulärer Wassergehalt nach Bettruhe und gesteigerte Fettinfiltration des Muskels als Reaktion auf Muskelatrophie.

Durch Flüssigkeitsverschiebungen in der Unterschenkelmuskulatur - zunächst durch HDT-Bettruhe nach extrazellulär und nach Reambulation wieder nach intrazellulär - entstehen je nach Messzeitpunkt deutliche Volumenunterschiede und können daher zu Fehleinschätzungen des tatsächlichen Ausmaßes der Muskelatrophie führen. So zeigten Bosutti et al. 2020, dass die schnelle partielle Erholung des Volumens der Unterschenkelmuskeln in den ersten Tagen nach HDT-Bettruhe vornehmlich durch einen gesteigerten Wassergehalt in der Muskulatur zustande kommt. Um die Dynamik in der Flüssigkeitsverteilung nach Bettruhe zu adressieren, wählten wir für die AGBRESA-Studie daher bewusst R+5 als postinterventionellem Messzeitpunkt für die Volumenbestimmung, um eine bessere Vergleichbarkeit mit der ambulant durchgeführten HEPHAISTOS-Studie zu erreichen.

Bei der Darstellung der Individualwerte der AGBRESA-Studie (Abbildungen 13) fällt vor allem ein Ausreißer auf. Für die AGBRESA-Studie wurden entgegen unseren Erwartungen für eine Versuchsperson konstante Volumenzugewinne in allen Muskelgruppen (bis auf SOL - 0.08% BDC) verzeichnet. Eine mögliche Erklärung dafür könnte ein überdurchschnittlich hoher intramyozellulärer Wassergehalt sein, der zum Einen eine langanhaltende Folge der orthostatisch bedingten Flüssigkeitsverschiebung in der Reambulationsphase sein könnte oder aber zum Anderen eine entzündliche Schwellung widerspiegelt, ausgelöst durch das intensive, potenziell muskeltraumatische Rehabilitationsprogramm. Wir ordnen diese Veränderungen tendenziell einer pseudohypertrophen Natur zu. Diese Vermutung könnte durch den Vergleich der muskelspezifischen T2-Werte aus Wasser-fokussierten MRT-Aufnahmen prä- sowie postinterventionell überprüft werden. Die Implementierung dieses zusätzlichen Tests sollte sinnvollerweise für zukünftige Untersuchungen der Adaptationen der Muskelvolumina an Bettruhe diskutiert werden, um durch Normalisierungen auf die Ausgangswerte die Flüssigkeitsverschiebung fassbar zu machen und entsprechend attributablen Effekte zu erkennen.

Ähnlich verhält es sich mit der intramuskulären Fettverteilung, die als Infiltration adipösen Gewebes in einen Muskel definiert ist (Marcus, Addison et al. 2012) und vermehrt mit Muskelatrophie im Alter als auch nach Inaktivität assoziiert ist (Yoshiko, Hioki et al. 2017). Im dry-immersion Modell konnte dieses Phänomen nach nur drei Tagen Inaktivität nachgewiesen werden (Pagano, Brioche et al. 2018). Durch den Ersatz der kontraktilen Masse durch Fett und

Bindegewebe entstehen Differenzen zwischen gemessenen und rein Muskelmasse-spezifischen Volumenunterschieden als wahrer Zielgröße (Imamura, Ashida et al. 1983), sodass von einer insgesamt noch stärkeren Reduktion des Volumens auf Faserebene als auf Gesamtmuskelebene ausgegangen werden muss. Mittels Fett-fokussierten DIXON-MRT-Sequenzen kann das intramuskuläre Fett quantifiziert werden und so die Spezifität der Methode einer rein CSA-basierten Volumenbestimmung erhöht werden (Fischer, Pfirrmann et al. 2014). Folglich sollte auch dieser Ansatz für künftige Untersuchungen von Volumenveränderungen beachtet und diskutiert werden.

Zur Untersuchung von Muskelatrophie des Unterschenkels nach Inaktivität, stellen Biopsien und deren histologische Aufarbeitung zwar eine mögliche Alternative zur Untersuchung der Anpassungsreaktionen auf Faserebene dar, ihre Praktikabilität in dieser Anwendung steht allerdings zur Debatte, da invasive Probeentnahmen aus allen sechs vordefinierten Muskelgruppen erfolgen müssten und so die Rehabilitation nach Intervention mitsamt aller Folgeuntersuchungen beeinträchtigen würden. Eine geeignetere Alternative ist daher die zusätzliche, non-invasive Bestimmung von Fett- sowie Wassergehalt in der Bildgebung, da so einer veränderten Muskelmorphologie nach Inaktivität entsprechende Beachtung geschenkt wird und folglich die Übertragbarkeit der Ergebnisse aus Gesamtvolumenmessungen auf einzelne Muskelfasern verbessert werden kann.

Limitierung durch Ausführung: Durch Variationen in den Studienlängen werden beim direkten Vergleich der prozentualen Abnahmen der Muskelvolumina die Effekte der HEP-Orthese tendenziell unterschätzt. Versuchspersonen der AGBRESA-Studie waren der Bettruhe-Intervention elf Tage länger ausgesetzt als Versuchspersonen der HEPHAISTOS-Studie der Sprunggelenksimmobilisierung bis zum Messzeitpunkt an HEP49. Dies spricht insgesamt für eine noch größere Übereinstimmung in den induzierten Volumenreaktionen der beobachteten Muskelgruppen in der direkten Gegenüberstellung der relativen Volumenveränderungen beider Interventionsmethoden, geht man davon aus, dass eine verlängerte Immobilisationsdauer eine verstärkte Atrophie induziert. Dementsprechend haben wir für die zentrale Abbildung 9 eine zeitnormierte Darstellung (Atrophie-Raten auf 30 Tage) gewählt, um diese Effekte angemessen zu beachten. Abbildung 10 zeigt die zeitnormierten Volumenveränderungen der Einzelmuskeln. Die statistischen Ergebnisse nach Zeitnormierung indizierten jedoch keine anderweitige Signifikanz.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass einige der beobachteten Ergebnisse der beiden Studien durch die leicht voneinander abweichenden, jeweils auf die Haupthypothesen ausgelegten MRT-Protokolle und Auflösungen der Datensätze und nicht durch Unterschiede in den Interventionen selbst zustande kamen. Ebenso können Messungenauigkeiten, bedingt durch die Methode der manuellen Segmentation, die einer gewissen Subjektivität des Untersuchers unterliegt, nicht ausgeschlossen werden, was ebenfalls bei der Interpretation der Ergebnisse beachtet werden sollte.

5 Zusammenfassung

Größe, Qualität und damit auch Funktion der Skelettmuskulatur gelten als die ausschlaggebenden Einflussfaktoren auf die allgemeine Lebensqualität sowie die Mortalität einer Vielzahl von Erkrankungen (Evans 2010). Ein großer Anteil der Atrophie-bedingten Veränderungen erwächst aus Inaktivität (Degens and Alway 2006).

Wir fanden, dass 49 Tage Sprunggelenksimmobilisation durch die HEPHAISTOS-Orthese differentielle Atrophie innerhalb vordefinierter sechs Muskelgruppen des Unterschenkels induziert, die mit dem Atrophie-Muster nach 60-tägiger Bettruhe vergleichbar ist. Dementsprechend sind Schwerkraft sowie Scherkräfte, welche durch den Erhalt der Ambulation mit der Entlastungsorthese gewährleistet wurden und darüber hinaus elektromyographisch messbare muskuläre Restaktivitäten von 27% des SOL und 56% des GM nicht ausreichend, um die Muskelatrophie im Vergleich zur Bettruhe signifikant reduzieren zu können.

Unsere Beobachtungen der stärksten relativen Volumenverluste für die Plantarflexorgruppen SOL (-8.5%, SD 5.9%) und GM (-6.9%, SD 8.6%) im Vergleich zur ANT-Gruppe (-1.3%, SD 4.9%; beide $P < 0.01$), gemittelt aus beiden Interventionsgruppen, sind vereinbar mit ähnlichen Untersuchungen (Belavy, Miokovic et al. 2009), was die Vermutung der Einheitlichkeit von Atrophie-Mustern nach Inaktivität, unabhängig vom Interventionsmodell, unterstützt.

Ausgehend vom Ausmaß der Abweichung vom funktionsspezifischen Geflecht multipler Einflussgrößen auf einen Muskel während forschungsbedingter Intervention, krankheits- und verletzungsbedingter Inaktivität oder einer Raumfahrtsmission lassen sich Veränderungen in der Muskelmorphologie und -funktion antizipieren. Diese Überlegungen zu differentieller Atrophie sollten intensiviert werden, um Charakteristika der Einzelmuskeln, wie beispielsweise individuelle Schwellenwerte zum Muskelerhalt nötiger mechanotransduktiver Stimuli definieren und so spezialisierte Gegenmaßnahmen entwickeln zu können. Ferner sollte auf dem Weg zu individualisierter Medizin, einem effizienteren Gesundheitssystem und dem hochgesteckten Ziel interplanetarer Raumfahrt den inter-individuellen Unterschieden in den Reaktionen auf Inaktivität vermehrte Aufmerksamkeit geschenkt werden und dafür ursächliche Faktoren identifiziert werden. Für künftige Untersuchungen an inaktivitätsbedingter

Muskelatrophie, sollte die HEPHAISTOS-Orthese als eine vielversprechende, ambulante Alternative zu bereits etablierten Interventionsmodellen diskutiert werden.

Literaturverzeichnis

Adams, G. R., V. J. Caiozzo and K. M. Baldwin (2003). "Skeletal muscle unweighting: spaceflight and ground-based models." *J Appl Physiol* (1985) 95(6): 2185-2201.

Adams, G. R., B. M. Hather and G. A. Dudley (1994). "Effect of short-term unweighting on human skeletal muscle strength and size." *Aviat Space Environ Med* 65(12): 1116-1121.

Akima, H., Y. Kawakami, K. Kubo, C. Sekiguchi, H. Ohshima, A. Miyamoto and T. Fukunaga (2000). "Effect of short-duration spaceflight on thigh and leg muscle volume." *Med Sci Sports Exerc* 32(10): 1743-1747.

Alkner, B. A. and P. A. Tesch (2004). "Knee extensor and plantar flexor muscle size and function following 90 days of bed rest with or without resistance exercise." *Eur J Appl Physiol* 93(3): 294-305.

Ansved, T. and L. Larsson (1990). "Quantitative and qualitative morphological properties of the soleus motor nerve and the L5 ventral root in young and old rats. Relation to the number of soleus muscle fibers." *J Neurol Sci* 96(2-3): 269-282.

Antonutto, G., C. Capelli, M. Girardis, P. Zamparo and P. E. di Prampero (1999). "Effects of microgravity on maximal power of lower limbs during very short efforts in humans." *J Appl Physiol* (1985) 86(1): 85-92.

Attias, J., A. Grassi, A. Bosutti, B. Ganse, H. Degens and M. Drey (2020). "Head-down tilt bed rest with or without artificial gravity is not associated with motor unit remodeling." *Eur J Appl Physiol* 120(11): 2407-2415.

Babu, D. and B. Bordoni (2021). *Anatomy, Bony Pelvis and Lower Limb, Medial Longitudinal Arch of the Foot*. StatPearls. Treasure Island (FL).

Baehr, L. M., D. W. West, G. Marcotte, A. G. Marshall, L. G. De Sousa, K. Baar and S. C. Bodine (2016). "Age-related deficits in skeletal muscle recovery following disuse are associated with neuromuscular junction instability and ER stress, not impaired protein synthesis." *Aging (Albany NY)* 8(1): 127-146.

Balagopal, P., O. E. Rooyackers, D. B. Adey, P. A. Ades and K. S. Nair (1997). "Effects of aging on in vivo synthesis of skeletal muscle myosin heavy-chain and sarcoplasmic protein in humans." *Am J Physiol* 273(4): E790-800.

Baracos, V. E., L. Martin, M. Korc, D. C. Guttridge and K. C. H. Fearon (2018). "Cancer-associated cachexia." *Nat Rev Dis Primers* 4: 17105.

Barnett, C. H. (1956). "The phases of human gait." *Lancet* 271(6943): 617-621.

Belavy, D. L., T. Miokovic, G. Armbrecht, C. A. Richardson, J. Rittweger and D. Felsenberg (2009). "Differential atrophy of the lower-limb musculature during prolonged bed-rest." *Eur J Appl Physiol* 107(4): 489-499.

- Berg, H. E., G. A. Dudley, T. Haggmark, H. Ohlsen and P. A. Tesch (1991). "Effects of lower limb unloading on skeletal muscle mass and function in humans." *J Appl Physiol* (1985) 70(4): 1882-1885.
- Berg, H. E. and P. A. Tesch (1996). "Changes in muscle function in response to 10 days of lower limb unloading in humans." *Acta Physiol Scand* 157(1): 63-70.
- Berry, P., I. Berry and C. Manelfe (1993). "Magnetic resonance imaging evaluation of lower limb muscles during bed rest--a microgravity simulation model." *Aviat Space Environ Med* 64(3 Pt 1): 212-218.
- Biewener, A. A. (2016). "Locomotion as an emergent property of muscle contractile dynamics." *J Exp Biol* 219(Pt 2): 285-294.
- Bizzi, E., V. C. Cheung, A. d'Avella, P. Saltiel and M. Tresch (2008). "Combining modules for movement." *Brain Res Rev* 57(1): 125-133.
- Bosutti, A., E. Mulder, J. Zange, J. Buhlmeier, B. Ganse and H. Degens (2020). "Effects of 21 days of bed rest and whey protein supplementation on plantar flexor muscle fatigue resistance during repeated shortening contractions." *Eur J Appl Physiol* 120(5): 969-983.
- Brocca, L., L. Toniolo, C. Reggiani, R. Bottinelli, M. Sandri and M. A. Pellegrino (2017). "FoxO-dependent atrogenes vary among catabolic conditions and play a key role in muscle atrophy induced by hindlimb suspension." *J Physiol* 595(4): 1143-1158.
- Brownlee, M. (1995). "Advanced protein glycosylation in diabetes and aging." *Annu Rev Med* 46: 223-234.
- Bruusgaard, J. C., I. B. Johansen, I. M. Egner, Z. A. Rana and K. Gundersen (2010). "Myonuclei acquired by overload exercise precede hypertrophy and are not lost on detraining." *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(34): 15111-15116.
- Bucala, R., P. Model and A. Cerami (1984). "Modification of DNA by reducing sugars: a possible mechanism for nucleic acid aging and age-related dysfunction in gene expression." *Proc Natl Acad Sci U S A* 81(1): 105-109.
- Buckey, J. C. (2006). *Space Physiology*. New York, NY, Oxford University Press.
- Caiozzo, V. J., M. J. Baker, R. E. Herrick, M. Tao and K. M. Baldwin (1994). "Effect of spaceflight on skeletal muscle: mechanical properties and myosin isoform content of a slow muscle." *J Appl Physiol* (1985) 76(4): 1764-1773.
- Castro, M. J., D. F. Apple, Jr., E. A. Hillegass and G. A. Dudley (1999). "Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle cross-sectional area within the first 6 months of injury." *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 80(4): 373-378.
- Chawla, R. K., J. S. Parks and D. Rudman (1983). "Structural variants of human growth hormone: biochemical, genetic, and clinical aspects." *Annu Rev Med* 34: 519-547.
- Chen, Y. W., G. A. Nader, K. R. Baar, M. J. Fedele, E. P. Hoffman and K. A. Esser (2002). "Response of rat muscle to acute resistance exercise defined by transcriptional and translational profiling." *J Physiol* 545(1): 27-41.

Cisterna, B. A., C. Cardozo and J. C. Saez (2014). "Neuronal involvement in muscular atrophy." *Front Cell Neurosci* 8: 405.

Clark, B. C., B. Fernhall and L. L. Ploutz-Snyder (2006). "Adaptations in human neuromuscular function following prolonged unweighting: I. Skeletal muscle contractile properties and applied ischemia efficacy." *J Appl Physiol* (1985) 101(1): 256-263.

Convertino, V. A. (1990). "Physiological adaptations to weightlessness: effects on exercise and work performance." *Exerc Sport Sci Rev* 18: 119-166.

de Boer, M. D., C. N. Maganaris, O. R. Seynnes, M. J. Rennie and M. V. Narici (2007). "Time course of muscular, neural and tendinous adaptations to 23 day unilateral lower-limb suspension in young men." *J Physiol* 583(Pt 3): 1079-1091.

de Boer, M. D., A. Selby, P. Atherton, K. Smith, O. R. Seynnes, C. N. Maganaris, N. Maffulli, T. Movin, M. V. Narici and M. J. Rennie (2007). "The temporal responses of protein synthesis, gene expression and cell signalling in human quadriceps muscle and patellar tendon to disuse." *J Physiol* 585(Pt 1): 241-251.

De Jonghe, B., T. Sharshar, J. P. Lefaucheur, F. J. Authier, I. Durand-Zaleski, M. Boussarsar, C. Cerf, E. Renaud, F. Mesrati, J. Carlet, J. C. Raphael, H. Outin, S. Bastuji-Garin and R. Groupe de Reflexion et d'Etude des Neuromyopathies en (2002). "Paresis acquired in the intensive care unit: a prospective multicenter study." *JAMA* 288(22): 2859-2867.

de Waard, M. C., I. van der Pluijm, N. Zuiderveen Borgesius, L. H. Comley, E. D. Haasdijk, Y. Rijksen, Y. Ridwan, G. Zondag, J. H. Hoeijmakers, Y. Elgersma, T. H. Gillingwater and D. Jaarsma (2010). "Age-related motor neuron degeneration in DNA repair-deficient *Ercc1* mice." *Acta Neuropathol* 120(4): 461-475.

Debevec, T., B. Ganse, U. Mittag, O. Eiken, I. B. Mekjavic and J. Rittweger (2018). "Hypoxia Aggravates Inactivity-Related Muscle Wasting." *Front Physiol* 9: 494.

Degens, H. and S. E. Alway (2006). "Control of muscle size during disuse, disease, and aging." *Int J Sports Med* 27(2): 94-99.

Degens, H. and M. T. Korhonen (2012). "Factors contributing to the variability in muscle ageing." *Maturitas* 73(3): 197-201.

Desplanches, D., H. Hoppeler, M. H. Mayet, C. Denis, H. Claassen and G. Ferretti (1998). "Effects of bedrest on deltoideus muscle morphology and enzymes." *Acta Physiol Scand* 162(2): 135-140.

Deveci, D. and S. Egginton (2002). "Muscle ischaemia in rats may be relieved by overload-induced angiogenesis." *Exp Physiol* 87(4): 479-488.

DLR. (2019). "AGBRESA: Strikte Bettruhe für 60 Tage." from https://www.dlr.de/blogs/desktopdefault.aspx/tabid-5893/9577_read-1096/

Douglas, E. and D. C. McMillan (2014). "Towards a simple objective framework for the investigation and treatment of cancer cachexia: the Glasgow Prognostic Score." *Cancer Treat Rev* 40(6): 685-691.

Ducos, M. (2013). HEPHAISTOS: a new model to explore muscle bone interactions. DLR - Institute of Aerospace Medicine - 19th IAA Humans in Space (HIS) Symposium.

Dudley, G. A., B. M. Hather and P. Buchanan (1992). "Skeletal muscle responses to unloading with special reference to man." *J Fla Med Assoc* 79(8): 525-529.

Edgerton, V. R., J. L. Smith and D. R. Simpson (1975). "Muscle fibre type populations of human leg muscles." *Histochem J* 7(3): 259-266.

Eftestol, E., N. Psilander, K. T. Cumming, I. Juvkam, M. Ekblom, K. Sunding, M. Wernbom, H. C. Holmberg, B. Ekblom, J. C. Bruusgaard, T. Raastad and K. Gundersen (2020). "Muscle memory: are myonuclei ever lost?" *J Appl Physiol* (1985) 128(2): 456-457.

Einsiedel, L. J. and A. R. Luff (1994). "Activity and motor unit size in partially denervated rat medial gastrocnemius." *J Appl Physiol* (1985) 76(6): 2663-2671.

Elliott, M. A., G. A. Walter, H. Gulish, A. S. Sadi, D. D. Lawson, W. Jaffe, E. K. Insko, J. S. Leigh and K. Vandenborne (1997). "Volumetric measurement of human calf muscle from magnetic resonance imaging." *MAGMA* 5(2): 93-98.

Evans, W. J. (2010). "Skeletal muscle loss: cachexia, sarcopenia, and inactivity." *Am J Clin Nutr* 91(4): 1123S-1127S.

Evans, W. J., J. E. Morley, J. Argiles, C. Bales, V. Baracos, D. Guttridge, A. Jatoi, K. Kalantar-Zadeh, H. Lochs, G. Mantovani, D. Marks, W. E. Mitch, M. Muscaritoli, A. Najand, P. Ponikowski, F. Rossi Fanelli, M. Schambelan, A. Schols, M. Schuster, D. Thomas, R. Wolfe and S. D. Anker (2008). "Cachexia: a new definition." *Clin Nutr* 27(6): 793-799.

Fearon, K., F. Strasser, S. D. Anker, I. Bosaeus, E. Bruera, R. L. Fainsinger, A. Jatoi, C. Loprinzi, N. MacDonald, G. Mantovani, M. Davis, M. Muscaritoli, F. Ottery, L. Radbruch, P. Ravasco, D. Walsh, A. Wilcock, S. Kaasa and V. E. Baracos (2011). "Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus." *Lancet Oncol* 12(5): 489-495.

Fernandez-Gonzalo, R., A. C. McDonnell, E. J. Simpson, I. A. Macdonald, E. Rullman and I. B. Mekjavic (2021). "Substantial and Reproducible Individual Variability in Skeletal Muscle Outcomes in the Cross-Over Designed Planica Bed Rest Program." *Frontiers in Physiology* 12(1101).

Ferrando, A. A., C. A. Stuart, D. G. Brunder and G. R. Hillman (1995). "Magnetic resonance imaging quantitation of changes in muscle volume during 7 days of strict bed rest." *Aviat Space Environ Med* 66(10): 976-981.

Fiatarone, M. A. and W. J. Evans (1993). "The etiology and reversibility of muscle dysfunction in the aged." *J Gerontol* 48 Spec No: 77-83.

Fiatarone, M. A., E. C. Marks, N. D. Ryan, C. N. Meredith, L. A. Lipsitz and W. J. Evans (1990). "High-intensity strength training in nonagenarians. Effects on skeletal muscle." *JAMA* 263(22): 3029-3034.

Fischer, M. A., C. W. Pfirmann, N. Espinosa, D. A. Raptis and F. M. Buck (2014). "Dixon-based MRI for assessment of muscle-fat content in phantoms, healthy volunteers and patients with achillodynia: comparison to visual assessment of calf muscle quality." *Eur Radiol* 24(6): 1366-1375.

- Fitts, R. H., D. R. Riley and J. J. Widrick (2000). "Physiology of a microgravity environment invited review: microgravity and skeletal muscle." *J Appl Physiol* (1985) 89(2): 823-839.
- Fitts, R. H., D. R. Riley and J. J. Widrick (2001). "Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity." *J Exp Biol* 204(Pt 18): 3201-3208.
- Fujita, S., B. B. Rasmussen, J. G. Cadenas, J. J. Grady and E. Volpi (2006). "Effect of insulin on human skeletal muscle protein synthesis is modulated by insulin-induced changes in muscle blood flow and amino acid availability." *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291(4): E745-754.
- Furukawa, S., M. Chatani, A. Higashitani, A. Higashibata, F. Kawano, T. Nikawa, T. Numaga-Tomita, T. Ogura, F. Sato, A. Sehara-Fujisawa, M. Shinohara, T. Shimazu, S. Takahashi and H. Watanabe-Takano (2021). "Findings from recent studies by the Japan Aerospace Exploration Agency examining musculoskeletal atrophy in space and on Earth." *NPJ Microgravity* 7(1): 18.
- Gans, C. and W. J. Bock (1965). "The functional significance of muscle architecture--a theoretical analysis." *Ergeb Anat Entwicklungsgesch* 38: 115-142.
- Gao, Y., Y. Arfat, H. Wang and N. Goswami (2018). "Muscle Atrophy Induced by Mechanical Unloading: Mechanisms and Potential Countermeasures." *Front Physiol* 9: 235.
- Gava, P., H. Kern and U. Carraro (2015). "Age-associated power decline from running, jumping, and throwing male masters world records." *Exp Aging Res* 41(2): 115-135.
- Gordon, T. and J. Mao (1994). "Muscle atrophy and procedures for training after spinal cord injury." *Phys Ther* 74(1): 50-60.
- Graham, Z. A., P. M. Gallagher and C. P. Cardozo (2015). "Focal adhesion kinase and its role in skeletal muscle." *Journal of muscle research and cell motility* 36(4-5): 305-315.
- Hall, E. C. R., E. A. Lysenko, E. A. Semenova, O. V. Borisov, O. N. Andryushchenko, L. B. Andryushchenko, T. F. Vepkhvadze, E. M. Lednev, P. Zmijewski, D. V. Popov, E. V. Generozov and Ahmetov, II (2021). "Prediction of muscle fiber composition using multiple repetition testing." *Biol Sport* 38(2): 277-283.
- Hennig, R. and T. Lomo (1985). "Firing patterns of motor units in normal rats." *Nature* 314(6007): 164-166.
- Horneck, G., R. Facius, M. Reichert, P. Rettberg, W. Seboldt, D. Manzey, B. Comet, A. Maillet, H. Preiss, L. Schauer, C. G. Dussap, L. Poughon, A. Belyavin, G. Reitz, C. Baumstark-Khan and R. Gerzer (2006). "HUMEX, a study on the survivability and adaptation of humans to long-duration exploratory missions, part II: Missions to Mars." *Advances in Space Research* 38(4): 752-759.
- Imamura, K., H. Ashida, T. Ishikawa and M. Fujii (1983). "Human major psoas muscle and sacrospinalis muscle in relation to age: a study by computed tomography." *J Gerontol* 38(6): 678-681.
- Ingram, D. K. (2000). "Age-related decline in physical activity: generalization to nonhumans." *Med Sci Sports Exerc* 32(9): 1623-1629.

- Janssen, I., S. B. Heymsfield, Z. Wang and R. Ross (2000). "Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr." *Journal of Applied Physiology* 89(1): 81-88.
- Jimenez-Moreno, R., Z. M. Wang, M. L. Messi and O. Delbono (2010). "Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ depletion in adult skeletal muscle fibres measured with the biosensor D1ER." *Pflugers Arch* 459(5): 725-735.
- Johnson, M. A., J. Polgar, D. Weightman and D. Appleton (1973). "Data on the distribution of fibre types in thirty-six human muscles. An autopsy study." *J Neurol Sci* 18(1): 111-129.
- Kadaba, M. P., H. K. Ramakrishnan, M. E. Wootten, J. Gainey, G. Gorton and G. V. Cochran (1989). "Repeatability of kinematic, kinetic, and electromyographic data in normal adult gait." *J Orthop Res* 7(6): 849-860.
- Kaye, R. A. and M. H. Jahss (1991). "Tibialis posterior: a review of anatomy and biomechanics in relation to support of the medial longitudinal arch." *Foot Ankle* 11(4): 244-247.
- Khodabandehloo, H., S. Gorgani-Firuzjaee, G. Panahi and R. Meshkani (2016). "Molecular and cellular mechanisms linking inflammation to insulin resistance and beta-cell dysfunction." *Transl Res* 167(1): 228-256.
- Kiehn, O. (2016). "Decoding the organization of spinal circuits that control locomotion." *Nat Rev Neurosci* 17(4): 224-238.
- Klossner, S., A. C. Durieux, D. Freyssenet and M. Flueck (2009). "Mechano-transduction to muscle protein synthesis is modulated by FAK." *Eur J Appl Physiol* 106(3): 389-398.
- Korhonen, M. T., A. Cristea, M. Alen, K. Hakkinen, S. Sipila, A. Mero, J. T. Viitasalo, L. Larsson and H. Suominen (2006). "Aging, muscle fiber type, and contractile function in sprint-trained athletes." *J Appl Physiol* (1985) 101(3): 906-917.
- Koryak, Y. (1998). "Effect of 120 days of bed-rest with and without countermeasures on the mechanical properties of the triceps surae muscle in young women." *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 78(2): 128-135.
- Kress, J. P. and J. B. Hall (2014). "ICU-acquired weakness and recovery from critical illness." *N Engl J Med* 370(17): 1626-1635.
- Kubo, K., H. Akima, J. Ushiyama, I. Tabata, H. Fukuoka, H. Kanehisa and T. Fukunaga (2004). "Effects of 20 days of bed rest on the viscoelastic properties of tendon structures in lower limb muscles." *Br J Sports Med* 38(3): 324-330.
- Lai, A., A. G. Schache, N. A. Brown and M. G. Pandy (2016). "Human ankle plantar flexor muscle-tendon mechanics and energetics during maximum acceleration sprinting." *J R Soc Interface* 13(121).
- Lai, A. K. M., A. A. Biewener and J. M. Wakeling (2019). "Muscle-specific indices to characterise the functional behaviour of human lower-limb muscles during locomotion." *J Biomech* 89: 134-138.
- Lambertz, D., C. Perot, R. Kaspranski and F. Goubel (2001). "Effects of long-term spaceflight on mechanical properties of muscles in humans." *J Appl Physiol* (1985) 90(1): 179-188.

- Larsson, L. and T. Ansved (1995). "Effects of ageing on the motor unit." *Prog Neurobiol* 45(5): 397-458.
- Larsson, L., T. Ansved, L. Edstrom, L. Gorza and S. Schiaffino (1991). "Effects of age on physiological, immunohistochemical and biochemical properties of fast-twitch single motor units in the rat." *J Physiol* 443: 257-275.
- Larsson, L., H. Degens, M. Li, L. Salviati, Y. I. Lee, W. Thompson, J. L. Kirkland and M. Sandri (2019). "Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function." *Physiol Rev* 99(1): 427-511.
- Larsson, L., L. Edstrom, B. Lindegren, L. Gorza and S. Schiaffino (1991). "MHC composition and enzyme-histochemical and physiological properties of a novel fast-twitch motor unit type." *Am J Physiol* 261(1 Pt 1): C93-101.
- Larsson, L., X. Li, H. E. Berg and W. R. Frontera (1996). "Effects of removal of weight-bearing function on contractility and myosin isoform composition in single human skeletal muscle cells." *Pflugers Arch* 432(2): 320-328.
- LeBlanc, A. D., V. S. Schneider, H. J. Evans, C. Pientok, R. Rowe and E. Spector (1992). "Regional changes in muscle mass following 17 weeks of bed rest." *J Appl Physiol* (1985) 73(5): 2172-2178.
- Li, M., H. Ogilvie, J. Ochala, K. Artemenko, H. Iwamoto, N. Yagi, J. Bergquist and L. Larsson (2015). "Aberrant post-translational modifications compromise human myosin motor function in old age." *Aging Cell* 14(2): 228-235.
- Li, Y., Y. Lee and W. J. Thompson (2011). "Changes in aging mouse neuromuscular junctions are explained by degeneration and regeneration of muscle fiber segments at the synapse." *J Neurosci* 31(42): 14910-14919.
- Li, Y. and W. J. Thompson (2011). "Nerve terminal growth remodels neuromuscular synapses in mice following regeneration of the postsynaptic muscle fiber." *J Neurosci* 31(37): 13191-13203.
- Lichtwark, G. A., K. Bougoulas and A. M. Wilson (2007). "Muscle fascicle and series elastic element length changes along the length of the human gastrocnemius during walking and running." *J Biomech* 40(1): 157-164.
- Loehr, J. A., M. E. Guilliams, N. Petersen, N. Hirsch, S. Kawashima and H. Ohshima (2015). "Physical Training for Long-Duration Spaceflight." *Aerosp Med Hum Perform* 86(12 Suppl): A14-A23.
- Louwerens, J. W., B. van Linge, L. W. de Klerk, P. G. Mulder and C. J. Snijders (1995). "Peroneus longus and tibialis anterior muscle activity in the stance phase. A quantified electromyographic study of 10 controls and 25 patients with chronic ankle instability." *Acta Orthop Scand* 66(6): 517-523.
- Marcus, R. L., O. Addison, L. E. Dibble, K. B. Foreman, G. Morrell and P. Lastayo (2012). "Intramuscular adipose tissue, sarcopenia, and mobility function in older individuals." *J Aging Res* 2012: 629637.

- McComas, A. J., R. E. Sica and S. Banerjee (1978). "Long-term effects of partial limb amputation in man." *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 41(5): 425-432.
- Meskemper, J. (2013). Die Längenänderung der Achillessehne beim Gehen als Prädiktor für die Entlastung der Plantarflexoren durch die Hephaistos Orthese, Institut für Biomechanik und Orthopädie, Deutsche Sporthochschule Köln.
- Miokovic, T., G. Armbrecht, D. Felsenberg and D. L. Belavy (2011). "Differential atrophy of the postero-lateral hip musculature during prolonged bedrest and the influence of exercise countermeasures." *J Appl Physiol* (1985) 110(4): 926-934.
- Mitch, W. E. and A. L. Goldberg (1996). "Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway." *N Engl J Med* 335(25): 1897-1905.
- Mittal, K. R. and F. H. Logmani (1987). "Age-related reduction in 8th cervical ventral nerve root myelinated fiber diameters and numbers in man." *J Gerontol* 42(1): 8-10.
- Montgomery, L. D. (1993). "Body volume changes during simulated microgravity. II: Comparison of horizontal and head-down bed rest." *Aviat Space Environ Med* 64(10): 899-904.
- Murach, K. A., C. B. Mobley, C. J. Zdunek, K. K. Frick, S. R. Jones, J. J. McCarthy, C. A. Peterson and C. M. Dungan (2020). "Muscle memory: myonuclear accretion, maintenance, morphology, and miRNA levels with training and detraining in adult mice." *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 11(6): 1705-1722.
- Murton, A. J., D. Constantin and P. L. Greenhaff (2008). "The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy." *Biochim Biophys Acta* 1782(12): 730-743.
- Muscaritoli, M., S. Lucia, A. Molino, T. Cederholm and F. Rossi Fanelli (2013). "Muscle atrophy in aging and chronic diseases: is it sarcopenia or cachexia?" *Intern Emerg Med* 8(7): 553-560.
- Narici, M., B. Kayser, P. Barattini and P. Cerretelli (2003). "Effects of 17-day spaceflight on electrically evoked torque and cross-sectional area of the human triceps surae." *Eur J Appl Physiol* 90(3-4): 275-282.
- Narici, M. V. and M. D. de Boer (2011). "Disuse of the musculo-skeletal system in space and on earth." *Eur J Appl Physiol* 111(3): 403-420.
- Ochala, J., A. M. Gustafson, M. L. Diez, G. Renaud, M. Li, S. Aare, R. Qaisar, V. C. Banduseela, Y. Hedstrom, X. Tang, B. Dworkin, G. C. Ford, K. S. Nair, S. Perera, M. Gautel and L. Larsson (2011). "Preferential skeletal muscle myosin loss in response to mechanical silencing in a novel rat intensive care unit model: underlying mechanisms." *J Physiol* 589(Pt 8): 2007-2026.
- Oertel, G. (1986). "Changes in human skeletal muscles due to ageing. Histological and histochemical observations on autopsy material." *Acta Neuropathol* 69(3-4): 309-313.
- Paddon-Jones, D. (2006). "Interplay of stress and physical inactivity on muscle loss: Nutritional countermeasures." *J Nutr* 136(8): 2123-2126.

- Pagano, A. F., T. Briocche, C. Arc-Chagnaud, R. Demangel, A. Chopard and G. Py (2018). "Short-term disuse promotes fatty acid infiltration into skeletal muscle." *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 9(2): 335-347.
- Pavy-Le Traon, A., M. Heer, M. V. Narici, J. Rittweger and J. Vernikos (2007). "From space to Earth: advances in human physiology from 20 years of bed rest studies (1986-2006)." *Eur J Appl Physiol* 101(2): 143-194.
- Petersen, N., G. Lambrecht, J. Scott, N. Hirsch, M. Stokes and J. Mester (2017). "Postflight reconditioning for European Astronauts - A case report of recovery after six months in space." *Musculoskelet Sci Pract* 27 Suppl 1: S23-S31.
- Phillips, B. E., J. P. Williams, P. L. Greenhaff, K. Smith and P. J. Atherton (2017). "Physiological adaptations to resistance exercise as a function of age." *JCI Insight* 2(17).
- Qaisar, R., G. Renaud, K. Morine, E. R. Barton, H. L. Sweeney and L. Larsson (2012). "Is functional hypertrophy and specific force coupled with the addition of myonuclei at the single muscle fiber level?" *FASEB J* 26(3): 1077-1085.
- Qiao, M. and D. L. Jindrich (2016). "Leg joint function during walking acceleration and deceleration." *J Biomech* 49(1): 66-72.
- Ramamurthy, B. and L. Larsson (2013). "Detection of an aging-related increase in advanced glycation end products in fast- and slow-twitch skeletal muscles in the rat." *Biogerontology* 14(3): 293-301.
- Rao, S., J. L. Riskowski and M. T. Hannan (2012). "Musculoskeletal conditions of the foot and ankle: assessments and treatment options." *Best Pract Res Clin Rheumatol* 26(3): 345-368.
- Reeves, N. D., C. N. Maganaris, G. Ferretti and M. V. Narici (2005). "Influence of 90-day simulated microgravity on human tendon mechanical properties and the effect of resistive countermeasures." *J Appl Physiol* (1985) 98(6): 2278-2286.
- Reiling, J. H. and D. M. Sabatini (2006). "Stress and mTOR signaling." *Oncogene* 25(48): 6373-6383.
- Rennie, M. J., A. Selby, P. Atherton, K. Smith, V. Kumar, E. L. Glover and S. M. Philips (2010). "Facts, noise and wishful thinking: muscle protein turnover in aging and human disuse atrophy." *Scand J Med Sci Sports* 20(1): 5-9.
- Riley, D. A., J. L. Bain, J. L. Thompson, R. H. Fitts, J. J. Widrick, S. W. Trappe, T. A. Trappe and D. L. Costill (2000). "Decreased thin filament density and length in human atrophic soleus muscle fibers after spaceflight." *J Appl Physiol* (1985) 88(2): 567-572.
- Rittweger, J. (2008). "Ten years muscle-bone hypothesis: what have we learned so far?--almost a festschrift." *J Musculoskelet Neuronal Interact* 8(2): 174-178.
- Rittweger, J. (2019). *Maintaining Crew Bone Health. Handbook of Life Support Systems for Spacecraft and Extraterrestrial Habitats*. E. Seedhouse and D. J. Shayler. Cham, Springer International Publishing: 1-15.

- Rittweger, J., H. M. Frost, H. Schiessl, H. Ohshima, B. Alkner, P. Tesch and D. Felsenberg (2005). "Muscle atrophy and bone loss after 90 days' bed rest and the effects of flywheel resistive exercise and pamidronate: results from the LTBR study." *Bone* 36(6): 1019-1029.
- Robbins, A. S., L. Z. Rubenstein, K. R. Josephson, B. L. Schulman, D. Osterweil and G. Fine (1989). "Predictors of falls among elderly people. Results of two population-based studies." *Arch Intern Med* 149(7): 1628-1633.
- Robinson, M. M., S. Dasari, A. R. Konopka, M. L. Johnson, S. Manjunatha, R. R. Esponda, R. E. Carter, I. R. Lanza and K. S. Nair (2017). "Enhanced Protein Translation Underlies Improved Metabolic and Physical Adaptations to Different Exercise Training Modes in Young and Old Humans." *Cell Metab* 25(3): 581-592.
- Rosa-Caldwell, M. E. and N. P. Greene (2019). "Muscle metabolism and atrophy: let's talk about sex." *Biol Sex Differ* 10(1): 43.
- Rudnick, J., B. Puttmann, P. A. Tesch, B. Alkner, B. G. Schoser, M. Salanova, K. Kirsch, H. C. Gunga, G. Schiffl, G. Luck and D. Blottner (2004). "Differential expression of nitric oxide synthases (NOS 1-3) in human skeletal muscle following exercise countermeasure during 12 weeks of bed rest." *FASEB J* 18(11): 1228-1230.
- Ryan, A. S., C. L. Dobrovolsky, G. V. Smith, K. H. Silver and R. F. Macko (2002). "Hemiparetic muscle atrophy and increased intramuscular fat in stroke patients." *Arch Phys Med Rehabil* 83(12): 1703-1707.
- Salviati, G., R. Betto, D. Danieli Betto and M. Zeviani (1984). "Myofibrillar-protein isoforms and sarcoplasmic-reticulum Ca²⁺-transport activity of single human muscle fibres." *Biochem J* 224(1): 215-225.
- Santuz, A., A. Ekizos, N. Eckardt, A. Kibele and A. Arampatzis (2018). "Challenging human locomotion: stability and modular organisation in unsteady conditions." *Sci Rep* 8(1): 2740.
- Schaap, L. A., S. M. Pluijm, D. J. Deeg and M. Visser (2006). "Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength." *Am J Med* 119(6): 526 e529-517.
- Schiaffino, S., K. A. Dyar, S. Ciciliot, B. Blaauw and M. Sandri (2013). "Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy." *FEBS J* 280(17): 4294-4314.
- Schiaffino, S. and C. Reggiani (2011). "Fiber types in mammalian skeletal muscles." *Physiol Rev* 91(4): 1447-1531.
- Schultz, A. B., J. A. Ashton-Miller and N. B. Alexander (1997). "What leads to age and gender differences in balance maintenance and recovery?" *Muscle Nerve Suppl* 5: S60-64.
- Seaborne, R. A., J. Strauss, M. Cocks, S. Shepherd, T. D. O'Brien, K. A. van Someren, P. G. Bell, C. Murgatroyd, J. P. Morton, C. E. Stewart and A. P. Sharples (2018). "Human Skeletal Muscle Possesses an Epigenetic Memory of Hypertrophy." *Sci Rep* 8(1): 1898.
- Shah, P. K., J. E. Stevens, C. M. Gregory, N. C. Pathare, A. Jayaraman, S. C. Bickel, M. Bowden, A. L. Behrman, G. A. Walter, G. A. Dudley and K. Vandenberg (2006). "Lower-extremity muscle cross-sectional area after incomplete spinal cord injury." *Arch Phys Med Rehabil* 87(6): 772-778.

- Shimizu, N., N. Yoshikawa, N. Ito, T. Maruyama, Y. Suzuki, S. Takeda, J. Nakae, Y. Tagata, S. Nishitani, K. Takehana, M. Sano, K. Fukuda, M. Suematsu, C. Morimoto and H. Tanaka (2011). "Crosstalk between glucocorticoid receptor and nutritional sensor mTOR in skeletal muscle." *Cell Metab* 13(2): 170-182.
- Stein, T. P. (2013). "Weight, muscle and bone loss during space flight: another perspective." *Eur J Appl Physiol* 113(9): 2171-2181.
- Stephens, N. A., R. J. Skipworth and K. C. Fearon (2008). "Cachexia, survival and the acute phase response." *Curr Opin Support Palliat Care* 2(4): 267-274.
- Stewart, C. E. (2004). "The physiology of stem cells: potential for the elderly patient." *J Musculoskelet Neuronal Interact* 4(2): 179-183.
- Subotnick, S. I. (1971). "Equinus deformity as it affects the forefoot." *J Am Podiatry Assoc* 61(11): 423-427.
- Susheela, A. K. and J. N. Walton (1969). "Note on the distribution of histochemical fibre types in some normal human muscles. A study on autopsy material." *J Neurol Sci* 8(2): 201-207.
- Sylvester, A. D., S. G. Lautzenheiser and P. A. Kramer (2021). "Muscle forces and the demands of human walking." *Biol Open* 10(7).
- Syrový, I. and Z. Hodný (1992). "Non-enzymatic glycosylation of myosin: effects of diabetes and ageing." *Gen Physiol Biophys* 11(3): 301-307.
- Taborri, J., E. Palermo, S. Rossi and P. Cappa (2016). "Gait Partitioning Methods: A Systematic Review." *Sensors (Basel)* 16(1).
- Tesch, P. A., T. R. Lundberg and R. Fernandez-Gonzalo (2016). "Unilateral lower limb suspension: From subject selection to "omic" responses." *J Appl Physiol* (1985) 120(10): 1207-1214.
- Thompson, W. and J. K. Jansen (1977). "The extent of sprouting of remaining motor units in partly denervated immature and adult rat soleus muscle." *Neuroscience* 2(4): 523-535.
- Tikkanen, O., P. Haakana, A. J. Pesola, K. Hakkinen, T. Rantalainen, M. Havu, T. Pullinen and T. Finni (2013). "Muscle activity and inactivity periods during normal daily life." *PLoS One* 8(1): e52228.
- Tomlinson, B. E. and D. Irving (1977). "The numbers of limb motor neurons in the human lumbosacral cord throughout life." *J Neurol Sci* 34(2): 213-219.
- Trappe, S., T. Trappe, P. Gallagher, M. Harber, B. Alkner and P. Tesch (2004). "Human single muscle fibre function with 84 day bed-rest and resistance exercise." *J Physiol* 557(Pt 2): 501-513.
- Turner, R. T. (2000). "Invited review: what do we know about the effects of spaceflight on bone?" *J Appl Physiol* (1985) 89(2): 840-847.
- Urban, R. J., Y. H. Bodenbun, C. Gilkison, J. Foxworth, A. R. Coggan, R. R. Wolfe and A. Ferrando (1995). "Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis." *Am J Physiol* 269(5 Pt 1): E820-826.

- van Wessel, T., A. de Haan, W. J. van der Laarse and R. T. Jaspers (2010). "The muscle fiber type-fiber size paradox: hypertrophy or oxidative metabolism?" *Eur J Appl Physiol* 110(4): 665-694.
- Vaughan, C. L. (1984). "Biomechanics of running gait." *Crit Rev Biomed Eng* 12(1): 1-48.
- Vigano, A., N. Donaldson, I. J. Higginson, E. Bruera, S. Mahmud and M. Suarez-Almazor (2004). "Quality of life and survival prediction in terminal cancer patients: a multicenter study." *Cancer* 101(5): 1090-1098.
- von Haehling, S. and S. D. Anker (2012). "Cachexia as major underestimated unmet medical need: facts and numbers." *Int J Cardiol* 161(3): 121-123.
- Watanabe, H., M. Ogasawara, N. Suzuki, N. Nishizawa and K. Ambo (1992). "Glycation of Myofibrillar Protein in Aged Rats and Mice." *Biosci Biotechnol Biochem* 56(7): 1109-1112.
- Weber, T., M. Ducos, E. Mulder, A. Beijer, F. Herrera, J. Zange, H. Degens, W. Bloch and J. Rittweger (2014). "The relationship between exercise-induced muscle fatigue, arterial blood flow and muscle perfusion after 56 days local muscle unloading." *Clin Physiol Funct Imaging* 34(3): 218-229.
- Weber, T., M. Ducos, E. Mulder, F. Herrera, G. P. Bruggemann, W. Bloch and J. Rittweger (2013). "The specific role of gravitational accelerations for arterial adaptations." *J Appl Physiol* (1985) 114(3): 387-393.
- Weber, T., M. Ducos, P. Yang, D. Jos, P. Frings-Meuthen, G. P. Bruggemann, W. Bloch and J. Rittweger (2013). "The HEPHAISTOS study: compliance and adherence with a novel orthotic device for calf muscle unloading." *J Musculoskelet Neuronal Interact* 13(4): 487-495.
- Westerterp, K. R. (2009). "Assessment of physical activity: a critical appraisal." *Eur J Appl Physiol* 105(6): 823-828.
- Widrick, J. J., S. T. Knuth, K. M. Norenberg, J. G. Romatowski, J. L. Bain, D. A. Riley, M. Karhanek, S. W. Trappe, T. A. Trappe, D. L. Costill and R. H. Fitts (1999). "Effect of a 17 day spaceflight on contractile properties of human soleus muscle fibres." *J Physiol* 516 (Pt 3): 915-930.
- Winnard, A., J. Scott, N. Waters, M. Vance and N. Caplan (2019). "Effect of Time on Human Muscle Outcomes During Simulated Microgravity Exposure Without Countermeasures-Systematic Review." *Front Physiol* 10: 1046.
- Wolfe, R. R., F. Jahoor and W. H. Hartl (1989). "Protein and amino acid metabolism after injury." *Diabetes Metab Rev* 5(2): 149-164.
- Wyart, E., L. B. Bindels, E. Mina, A. Menga, S. Stanga and P. E. Porporato (2020). "Cachexia, a Systemic Disease beyond Muscle Atrophy." *Int J Mol Sci* 21(22).
- Yin, H., F. Price and M. A. Rudnicki (2013). "Satellite cells and the muscle stem cell niche." *Physiol Rev* 93(1): 23-67.
- Yoshiko, A., M. Hioki, N. Kanehira, K. Shimaoka, T. Koike, H. Sakakibara, Y. Oshida and H. Akima (2017). "Three-dimensional comparison of intramuscular fat content between young and old adults." *BMC Med Imaging* 17(1): 12.

