Analyse des intramuskulären Raums mittels Mikrodialyse-Technik

Veränderungen des lokalen Metabolismus innerhalb der Skelettmuskulatur sowie der systemischen Immunantwort durch Ischaemic Preconditioning

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Lukas Reintke, geb. Miethe

aus Ibbenbüren

2026

Angefertigt mit der Genehmigung

der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: ..... Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Frank Alexander Schildberg
2. Gutachter: ..... PD Dr. med. Stefan Felix Ehrentraut

Tag der mündlichen Prüfung: 24.09.2026

Aus der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 6

1. Einleitung 12

1.1 Mikrodialyse-Technik 15

1.2 Ischaemic Preconditioning 21

1.3 Die Physiologie der Skelettmuskulatur 23

1.3.1 Aufbau der Skelettmuskulatur 24

1.3.2 Metabolische Prozesse 26

1.3.3 Immunologische Prozesse 33

1.3.3.1 Systemische immunologische Reaktion 33

1.3.3.2 Lokale immunologische Reaktionen 38

1.4 Fragestellung 42

2. Material und Methoden 43

2.1 Studiendesign 43

2.1.1 Stichprobe 43

2.2 Versuchsdurchführung und Datenerfassung 44

2.2.1 Probandencharakterisierung 44

2.2.2 Mikrodialyse 46

2.2.2.1 Vorbereitung und Einbringung des Mikrodialysekatheters 46

2.2.2.2 Ischaemic Preconditioning 49

2.2.2.3 Messprotokoll und Probenzuordnung 50

2.3 Probenanalyse 52

2.4 Statistik 52

3. Ergebnisse 55

3.1 Probandencharakterisierung 55

3.2 Mikrodialyse und IPC-Intervention 58

3.2.1 Glukose 59

3.2.2 Laktat 61

3.2.3 Pyruvat 63

3.2.4 Glycerol 65

3.2.5 Laktat/Pyruvat-Verhältnis 67

3.2.6 Korrelationen 67

3.3 Blutproben 68

3.3.1 Monozyten und dendritische Zellen 69

3.3.2 Natürliche Killerzellen 72

3.3.3 Myeloid-derived suppressor cells (MDSC) 74

4. Diskussion 76

4.1 Methode der Mikrodialyse 76

4.1.1 Methodische Aspekte 76

4.1.2 Metabolite 78

4.1.2.1 Glucose 78

4.1.2.2 Laktat 79

4.1.2.3 Pyruvat 80

4.1.2.4 Glycerol 81

4.1.2.5 Laktat/Pyruvat-Verhältnis 82

4.1.2.6 Korrelationen 84

4.2 Methode des Ischaemic Preconditioning 84

4.2.1 Mechanismen des IPC am Beispiel der Kardioprotektion 85

4.2.2 Einfluss von IPC auf den Skelettmuskel und die körperliche Leistungsfähigkeit 88

4.2.2.1 Methodische Aspekte 88

4.2.2.2 Potentielle Mechanismen 89

4.3 Immunologische Antwort auf das IPC 92

4.4 Limitationen 98

5. Zusammenfassung 99

6. Abbildungsverzeichnis 101

7. Tabellenverzeichnis 103

8. Literaturverzeichnis 104

9. Erklärung zum Eigenanteil 120

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung/Abbildungen
ADP	Adenosindiphosphat
Akt	PI3K-/Akt-Signalweg
AMP	Adenosinmonophosphat
AMPK	AMP-aktivierte Kinase
ANOVA	analysis of variance
AOP	arterieller Okklusionsdruck
AP	activator protein
AREG	Amphiregulin
ARNT	aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator
ATP	Adenosintriphosphat
BDNF	brain-derived neutrophic factor
BMI	Body Mass Index
BOLD	Blood-Oxygen-Level Dependent
C	Konzentration
Ca	Calcium
CCL	CC-chemokine ligand
CD	cluster of differentiation
CGRP	calcitonin gene-related peptide
CK	Creatinkinase
COX	Cyclooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
CXCL	C-X-C motif chemokine ligand
Da	Dalton

DAMP	damage assoziated molecular pattern
DC	dendritische Zellen
DTH	delayed-type hypersensitivity
DXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eMDSC	early myeloid-derived suppressor cells
et al.	et alia
FAP cells	fibro-adipogenic progenitor cells
FGF21	fibroblast growth factor 21
fMRT	funktionelle Magnetresonanztomographie
G	Gauge-Zahl
Glc	Glukose
Glc-6-P	Glukose-6-Phosphat
GLP	glucagon like peptide
GLUT	Glukosetransporter
GS	Glykogensynthase
GSK	Glykogensynthase-Kinase
H	Wasserstoff
HIF	hypoxia inducible factor
HLA	humanes Leukozytenantigen
HSP	Hitzeschockprotein
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IMC	imature myeloid cells
IMP	Inosinmonophosphat

INF	Interferon
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid-Synthase
IGF	insuline-like growth factor
IPC	Ischaemic Preconditioning
IPost	Ischaemic Postconditioning
IRI	ischaemia reperfusion injury
K	Kalium
KCO	K_{ATP}-Kanal-Öffner
kDa	Kilodalton
KG	Körpergewicht
Lak	Laktat
LDH	Laktatdehydrogenase
Le	Leukozyten
Lin	Linienmarker
LOP	limb occlusion pressure
Ly	Lymphozyten
M.	Musculus
MDSC	myeloid-derived suppressor cells
mM	Millimol
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
MPC	myogenic precursor cells
mPTP	mitochondrial permeability transition pore
MRS	Magnetresonanzspektroskopie
mTOR	mechanistic target of Rapamycin
MVC	maximum voluntary contraction

MW	Mittelwert
MWCO	molecular weight cut-off
N	Stickstoff
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NAD	Nikotinamidadenindinukleotid
Ne	Neutrophile
NET	neutrophil extracellular traps
NF	nuclear factor
NH_3	Ammoniak
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
Nm	Newtonmeter
NO	Stickstoffmonoxid
NSAR	nicht-steroidale Antirheumatika
O	Sauerstoff
OB	oxydative burst
o/i ratio	outflow/inflow ratio
p	Signifikanzniveau
P	Proband
P_i	anorganisches Phosphat
PCr	Kreatinphosphat
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
pH	Potenzial des Wasserstoffs
PhK	Phosphorylase-Kinase
PKA	Proteinkinase A

PP1G	Proteinphosphatase 1 Gamma
PTS	Personalized Tourniquet System
Pyr	Pyruvat
r	Korrelationskoeffizient
ra	Rezeptorantagonist
RIPC	Remote Ischaemic Preconditioning
RIPost	Remote Ischaemic Postconditioning
RNA	Ribonukleinsäure
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RP	Reperfusion
RR	relative recovery
SD	Standardabweichung
SPARC	secreted protein acid and rich in cystein
SPM	specialized preresolving mediators
SR	sarkoplasmatisches Retikulum
STAT	signal transducers and activators of transcription
SWOP	second window of preconditioning
Tab.	Tabelle
TLR	toll-like receptor
TNF	Tumornekrosefaktor
T_{reg}-Zellen	regulatorische T-Lymphozyten
µl	Mikroliter
µM	Mikromol
UDP	Uridindiphosphat
VHL	von Hippel-Lindau

$\dot{V}O_{2\ max}$	maximale Sauerstoffaufnahme
1-RM	1-repetition maximum
^{31}-P-MRS	31-Phosphor-Magnetresonanzspektroskopie
“	Zoll
°	Grad

1. Einleitung

Die Skelettmuskulatur des Menschen stellt in ihrer Gesamtheit das größte Organ des menschlichen Körpers dar und macht abhängig vom Geschlecht etwa 40 % des Körpergewichts aus. Zusammen mit der Herzmuskulatur, dem sog. Myokard, und der glatten Muskulatur, welche in den Wänden von Blutgefäßen und vielen anderen Organen vorkommt, bildet die Skelettmuskulatur die drei verschiedenen Muskelgewebstypen ab. Des Weiteren ist sie hauptverantwortlich für die Fähigkeit zur Fortbewegung sowie für andere lebenswichtige Prozesse des Menschen wie z. B. die Atmung. Ihr grundlegender mikroskopischer Aufbau aus den kontraktilen Sarkomeren ist heute sehr gut verstanden und gleichzeitig Hauptbestandteil der charakteristischen Querstreifung der Skelettmuskulatur, die sie von der glatten Muskulatur unterscheidet (Gekle et al., 2015; Lüllmann-Rauch und Asan, 2015). Darüber hinaus enthält sie schätzungsweise 50-75 % der Gesamtheit der Proteine des Körpers, dem sog. Proteom, und ist für etwa 30-50 % des gesamten Proteinumsatzes verantwortlich. Neben Proteinen (20 %) besteht sie zu etwa 75 % aus Wasser sowie aus anorganischen Salzen, Mineralien, Fetten und Kohlenhydraten (5 %) (Frontera und Ochala, 2015).

Die vielen wichtigen Funktionen der Skelettmuskulatur gehen jedoch auch mit der Tatsache einher, dass Einschränkungen oder der Verlust dieser Funktionen häufig mit einer verminderten Lebensqualität vergesellschaftet sind. Dabei sind die Gründe für solche Einschränkungen vielfältig und können alle Altersgruppen betreffen wie z. B. Verletzungen, (chronische) Krankheiten, fehlende körperliche Aktivität oder der altersbedingte Rückgang der Muskulatur (Sarkopenie). Jedoch sind v. a. durch letzteres, also bei älteren Menschen, die Folgen oft schwerwiegender, da das Risiko für weitere Krankheiten oder Verletzungen durch die Immobilität bzw. die fehlende Stabilität steigt und die Teilhabe an der Gesellschaft sowie die Selbstständigkeit zur Ausübung alltäglicher Aufgaben abnimmt (Brooks et al., 2023).

Der allgemein bekannte positive Effekt von Sport bzw. körperlicher Aktivität auf die Muskulatur war in der Vergangenheit und ist bis heute Gegenstand unzähliger Untersuchungen. Er wirkt dabei der muskulären Alterung entgegen und vermindert den

altersbedingten Rückgang von Muskelmasse, -kraft und der Fähigkeit zur Regeneration (Distefano und Goodpaster, 2018). Darüber hinaus ist die Muskulatur in der Lage sich an verschiedene Anforderungen anzupassen. So konnten Sahlin et al. (1998) bereits vor über 20 Jahren feststellen, dass die Muskulatur in der Lage ist, ihren Energieumsatz auf mehr als das 100-fache zu erhöhen, wenn man den Ruhezustand mit dem Zustand voller Aktivität vergleicht. Ein ebenfalls intensiv untersuchtes Themenfeld ist das des Immunsystems und die Frage, wie dieses von körperlicher Aktivität beeinflusst wird. Dieses Feld wird in der Literatur auch als exercise immunology bezeichnet. Bekannt ist u.a., dass abhängig vom Trainingsumfang und der Trainingsintensität ein positiver Effekt auf das Immunsystem erzielt und das Risiko für Krankheiten reduziert werden kann. Darüber hinaus wird durch körperliche Aktivität die Immunregulation verbessert und das Einsetzen eines altersbedingten Funktionsverlustes verzögert (Nieman und Wentz, 2019).

Um die beschriebenen Prozesse sowie die lokalen Mechanismen zu verstehen, die diesen Veränderungen und Anpassungen der Skelettmuskulatur zugrunde liegen, bedarf es Methoden, die es erlauben, einen Blick in das Muskelgewebe, also in den intramuskulären Raum, zu werfen.

Zum einen gelingt dies indirekt über die Gewinnung von Blutproben, mithilfe derer im Blut befindliche Zellen wie bspw. Zellen des Immunsystems sowie sog. Biomarker, die u.a. aus dem Muskel in das Blut freigesetzt werden, untersucht werden können. Solche blutbasierten Biomarker eignen sich gut, um bspw. die Belastung, die Regeneration oder die Ermüdung objektiv darzustellen sowie zur Prognose bzw. Diagnose von Verletzungen, Krankheiten oder nutritiven Mängeln. Gut etablierte Biomarker sind in diesem Kontext u.a. Laktat, Creatinkinase (CK), das C-reaktive Protein (CRP), Myoglobin, Troponin oder Harnstoff (Brancaccio et al., 2010; Haller et al., 2023). Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei den blutbasierten Biomarkern jedoch nur um indirekte Marker, wenn es um die Betrachtung der intramuskulären Situation geht. Diese unterliegen einigen Störfaktoren, die eine Limitierung der Aussagekraft bedingen. So wird die CK bspw. aus dem Muskel zunächst über das lymphatische System abtransportiert, bevor sie in das venöse Blut gelangt und dort gemessen werden kann. Prozesse, die vor dem Eintritt in das Blut stattfinden, können also nicht berücksichtigt werden. (Haller et al., 2023).

Eine invasive Messmethode zur Analyse des Muskelgewebes sowie des intramuskulären Raums stellt zum anderen die Muskelbiopsie dar, bei der eine Gewebeprobe aus dem Muskel entnommen wird und anschließend untersucht werden kann. Zwar wurde diese Methode bereits im Jahr 1865 erstmalig beschrieben (Charrière und Duchenne, 1865), aber erst rund 100 Jahre später von Bergström (1962) für den klinischen Gebrauch etabliert. Die Weiterentwicklung dieser Technik hat dazu geführt, dass Muskelbiopsien heutzutage eine sichere Methode darstellen und ein großes Spektrum an Untersuchungen erlauben. So können bspw. die Muskelfasertypen und deren Zusammensetzung bestimmt sowie Enzyme und Metabolite im Biopsat analysiert werden. Nichtsdestotrotz stellt jede Entnahme einen invasiven Eingriff dar und muss zur Vermeidung von Infektionen unter sterilen Bedingungen erfolgen (Ekblom, 2017). Darüber hinaus können Muskelbiopsien immunologische Reaktionen im Gewebe verursachen, die denen von exzentrischem Training auf dem Fahrradergometer gleichkommen oder diese sogar übertreffen und so z. B. eine Interpretation des Trainingsreizes erschweren (Malm et al., 2000). Des Weiteren kann jede Muskelbiopsie nur eine Momentaufnahme der Situation im Muskelgewebe zum Zeitpunkt ihrer Entnahme abbilden. Um Veränderungen im Verlauf darstellen zu können, müssen also mehrere Biopsien entnommen werden, was jedes Mal eine Muskelverletzung zur Folge hat. Dadurch wird die Anzahl der Untersuchungszeitpunkte bzw. der Untersuchungszeitraum limitiert und gleichzeitig die Situation im Muskel beeinflusst.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit soll schließlich eine dritte Methode zur Analyse des intramuskulären Raums sein: die Technik der Mikrodialyse. Hierbei wird ein Dialyse-Katheter-System in den zu untersuchenden Muskel eingebracht, welches es erlaubt über eine Pumpe ein Perfusat in den Muskel zu leiten. Dieses kann dort über eine endständige, semipermeable Membran des Katheters Biomarker und Metabolite aus dem intramuskulären Raum im Sinne der Diffusion aufnehmen, wieder aus dem Muskel ausgeleitet und als Dialysat in Probebehältern aufgefangen werden (s. Abb. 1). Hierdurch lassen sich gezielte lokale Untersuchungen über einen längeren Zeitraum durchführen, bei gleichzeitiger Möglichkeit zur kontinuierlichen Probegewinnung, ohne wiederholte invasive Blut- oder Gewebeproben zu entnehmen.

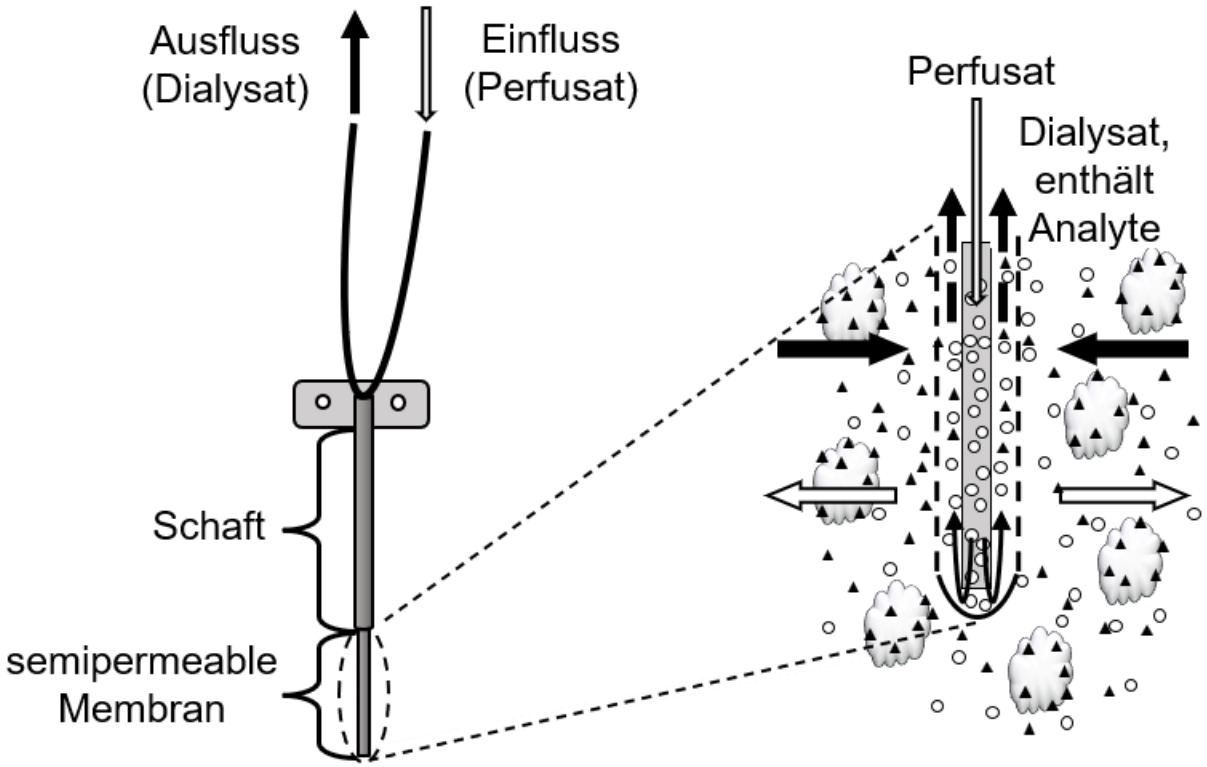

Abb. 1: Prinzip der Mikrodialyse (modifiziert nach Lagler & Zeitlinger, 2014)
Dargestellt ist ein Dialyse-Katheter-System, mit einem Doppellumen im Bereich des Schafts, sowie eine Vergrößerung der semipermeablen Membran, die den Stoffaustausch zwischen dem Perfusat und dem umliegenden Milieu zeigt.

1.1 Mikrodialyse-Technik

Die Anfänge der Mikrodialyse-Technik gehen bis in das Jahr 1966 zurück, als Bito et al. (1966) einen Dialysebeutel unter die Dura mater von Hunden implantierten und nach 10 Wochen wieder entfernten, um das darin gewonnene Dialysat zu analysieren (vorwiegend auf Aminosäuren und Elektrolyte). Einige Jahre später haben Delgado et al. (1972) das Verfahren aufgegriffen und ihre Arbeit gilt durch die Entwicklung der ersten Generation der heute verwendeten Katheter als Grundlage für die moderne Mikrodialyse. Die Autoren benutzten einen push-pull catheter (hier noch Dialytrode genannt) am Gehirn von Affen, der es erlaubte über einen Zugang einen Dialysebeutel von außen mit einem Perfusat zu spülen („push“) und über einen anderen Ausgang das Dialysat zu gewinnen („pull“). So konnte bereits eine permanente Probengewinnung stattfinden. In den folgenden Jahren wurde das Verfahren kontinuierlich weiterentwickelt. Ungerstedt und Pycock (1974) nutzten erstmals sog. hollow-fibers. Diese Dialyseschläuche waren für Stoffe bestimmter

Größe durchlässig (entspricht dem sog. molecular weight cut-off (MWCO) des semipermeablen Materials) und wurden von den Autoren über zwei Bohrungen durch den Schädel von Mäusen in ebendiesen gelegt. So konnte die Ausschüttung radioaktiv markierter Neurotransmitter, die zuvor ebenfalls über den Katheter in das Gewebe gebracht wurden (sog. labeling des Gewebes), gemessen werden. Im folgenden Jahrzehnt gelang es der Arbeitsgruppe um Lönnroth et al. eine Dialysemembran zwischen zwei Nylonschläuchen zu befestigen und diese Sonde über eine Kanüle in das subkutane Gewebe der Periumbilicalregion bei menschlichen Probanden einzubringen. Hierzu war keine Anästhesie nötig. Zur Kontrolle der Flussgeschwindigkeit wurde eine hochpräzise Pumpe am Eingang der Apparatur angeschlossen und die Proben konnten am Ausgang der Sonde gewonnen werden. Die Autoren analysierten hierüber u.a. die Glucose- (Lönnroth et al., 1987) und die Adenosin-Konzentration im subkutanen Gewebe (Lönnroth et al., 1989). Abb. 2 zeigt eine schematische Darstellung der verwendeten Dialysesonde.

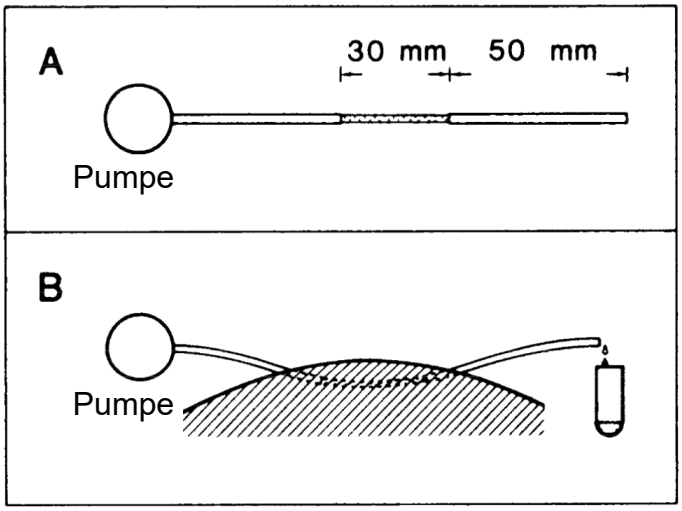

Abb. 2: Schematische Darstellung der von Lönnroth et al. verwendeten Dialysesonde (modifiziert nach Lönnroth et al., 1987)
A 30 mm Dialysemembran zwischen zwei 50 mm Nylonschläuchen mit angeschlossener Pumpe. **B** Dialysesonde im Zielgewebe mit Probengewinnung.

Nach diesen anfänglichen Weiterentwicklungen der Mikrodialyse-Technik kam es Mitte der 1980er Jahre zu einem rasanten Anstieg der veröffentlichten Publikation zu diesem Thema. Der Höhepunkt wurde in den späten 1990er Jahren sowie Anfang der 2000er Jahre erreicht. Zu dieser Zeit gab es jährlich 700 bis knapp 800 Publikationen, gefolgt von

einem Rückgang auf das aktuelle Niveau von etwa 400-500 Publikationen pro Jahr, welcher vermutlich durch die Etablierung anderer Untersuchungsmethoden zu erklären ist. Der Großteil der Autoren (71 %) beschäftigte sich dabei mit Untersuchungen des Gehirns, v. a. im Kontext der Pharmakodynamik verschiedener Wirkstoffe. Außerdem wurden bereits knapp ein Viertel der publizierten Studien (24 %) an menschlichen Probanden durchgeführt (Stand 2016) (Hammarlund-Udenaes, 2017). Auch wenn sich der Großteil der Untersuchungen mit dem extrazellulären Milieu von Nervengewebe bzw. dem Gehirn beschäftigte, ist das Spektrum der untersuchten Organsysteme und Gewebe sehr umfangreich. Abb. 3 zeigt eine Übersicht aus der Arbeit von Shippenberg & Thompson (2001), die bereits vor gut 20 Jahren neben den Organsystemen auch die Substanzen und die Spezies, die mithilfe der Mikrodialyse bis zu diesem Zeitpunkt analysiert wurden, zusammenfassten.

Organsystem	**Quelle**
Fettgewebe	Hallstrom et al., 1989
Nebennieren	Kuzmin et al., 1990
Blut	Sjoberg et al., 1992
Hirngewebe	Hallstrom et al., 1989
Herz	Kuzmin et al., 1992
Ileum	Fukui et al., 1993
Niere	Siragy, 1992
Leber	Okuda et al., 1992b
Lutealgewebe	Sauerwein et al., 1992
Muskel	Hallstrom et al., 1989
Pankreas	Jonsson et al., 1992
Retina	Louzada-Junior et al., 1992
Haut	Petersen et al., 1992b
Milz	Shimizu et al., 1994
Subkutangewebe	Deleu et al., 1993
Uterus	Nordenvall et al., 1989

Abb. 3: Mithilfe der Mikrodialyse analysierte Organsysteme (modifiziert nach Shippenberg und Thompson, 2001)

Die heutzutage verwendeten Systeme bestehen i. d. R. aus einer hochpräzisen Pumpe, in die eine Spritze mit der Perfusionsflüssigkeit (engl.: syringe*)* eingesetzt werden kann, einem Katheter sowie Auffangbehältern für das Dialysat (engl.: microvials). Der Katheter hat in den meisten Fällen ein konzentrisches Design mit einer semipermeablen Membran an dessen Spitze, deren MWCO für gewöhnlich von 6 bis 100 kDa reicht (s. Abb. 4). Durch die Pumpe wird das Perfusat in konstanter Geschwindigkeit (i. d. R. 0,5-5 µl/min) über die innere Leitung (engl.: inlet tubing) zur Spitze des Katheters geleitet, dort passiert es die semipermeable Membran, welche dem Ort des Stoffaustausches entspricht, und gelangt über die äußere Leitung (engl.: outlet tubing) aus dem Untersuchungsmaterial bzw. -gewebe heraus und kann in den Auffangbehältern gesammelt werden (Plock und Kloft, 2005).

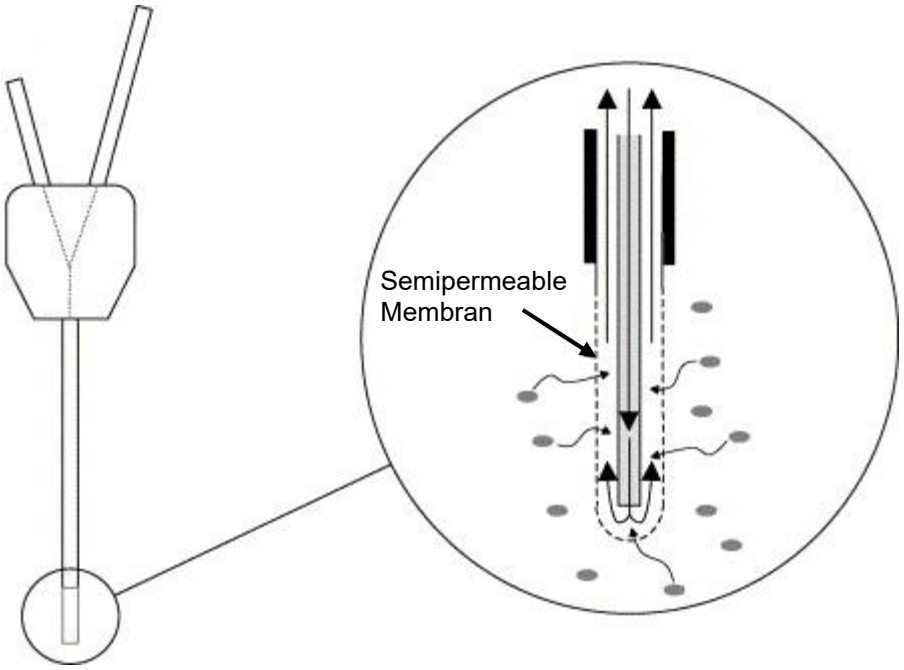

Abb. 4: Schematische Darstellung des konzentrischen Designs eines modernen Mikrodialysekatheters (modifiziert nach Plock und Kloft, 2005)

Der zugrundeliegende Mechanismus des Stoffaustausches über die semipermeable Membran des Katheters basiert auf dem ersten Fick'schen Gesetz der passiven Diffusion. Dabei spielen v. a. der Konzentrationsgradient und der osmotische Druck, aber auch das Molekulargewicht, die Hydrophobizität, die tertiäre Struktur der Moleküle sowie der

MWCO und das Material des Katheters eine wichtige Rolle für die Dialyse (Custers et al., 2022). Die Richtung des Stoffaustauschen der einzelnen Stoffe wird dabei v. a. vom Konzentrationsgradienten zwischen dem Perfusat und dem Raum, der den Katheter umgibt, determiniert. Dies kann ein zu untersuchendes Gewebe, aber bspw. auch eine Untersuchungslösung sein. So kann die Perfusionsflüssigkeit sowohl Stoffe aus dem umliegenden Raum aufnehmen (sog. recovery) als auch abgeben (sog. delivery). Bei letzterem spricht man auch von der sog. Retrodialyse (Plock und Kloft, 2005). Ein osmotischer Gradient kann dazu führen, dass das Perfusat in das Untersuchungsgebiet diffundiert, was v. a. bei geringen Flussraten und einem dementsprechend kleinen Volumen des Dialysats zu einem Problem bei der späteren Analyse führen kann. Um dem entgegenzuwirken kann dem Perfusat ein Kolloid hinzugefügt werden, um den osmotischen Gradienten zu kompensieren und dadurch einem Verlust von Probenvolumen vorzubeugen (Rosdahl et al., 1997). Wird die Mikrodialyse in einem Untersuchungsgewebe angewendet, spielt dessen Struktur ebenfalls eine Rolle beim Stoffaustausch. Da sich die Moleküle auf dem Weg zum Katheter nicht frei bewegen können, wie es bspw. in einer Untersuchungslösung der Fall ist, gelangen diese nicht auf direktem Weg zum Katheter, sondern müssen sich um andere Gewebsbestandteile herumwinden. Dieses Phänomen wird auch als Tortuosität bezeichnet, womit der Grad der Gewundenheit des Transportweges der Moleküle beschrieben wird. Eine hohe Tortuosität verlangsamt also den Stoffaustausch und beeinflusst dadurch die Stoffkonzentration im Dialysat (Hammarlund-Udenaes, 2017).

Auch wenn das Dialysat ein Abbild der Situation im untersuchten Gewebe darstellt, wird die Konzentration der einzelnen Stoffe nie genau die im Gewebe vorherrschende Konzentration erreichen. Die Begründung dafür ist, dass durch die kontinuierliche Perfusion mit einer Flüssigkeit, welche i. d. R. frei von den zu analysierenden Stoffen ist, kein vollständiges Gleichgewicht erreicht werden kann. Die Stoffkonzentration im Dialysat ist also immer nur eine Fraktion der tatsächlichen Stoffkonzentration im Gewebe bzw. im extrazellulären Raum, sodass (mit Ausnahme der Retrodialyse) immer gilt: $C_{Dialysat} < C_{Gewebe}$. Das Verhältnis beider Konzentrationen wird als sog. relative recovery (RR, dt.: Wiederfindungsrate) bezeichnet. Diese erlaubt es schließlich aus den gewonnen Proben einen Rückschluss auf die Stoffkonzentration im Gewebe zu ziehen (Plock und Kloft, 2005). Die RR hängt im Wesentlichen von der Länge und den Eigenschaften der

Membran, der Flussgeschwindigkeit der Perfusionslösung durch den Katheter sowie den Diffusionseigenschaften der Metabolite im Gewebe ab. In vitro lässt sich die RR genau berechnen, da die Stoffkonzentrationen im Medium, dass den Katheter umgibt, bekannt sind. Hier gilt:

$$RR = C_{Dialysat} / C_{Medium} \text{ bzw. } RR = (C_{Dialysat} - C_{Perfusat}) / (C_{Medium} - C_{Perfusat}), \text{ wenn } C_{Perfusat} \neq 0$$

In vivo sind die Konzentrationen im Gewebe i. d. R. jedoch nicht bekannt und meist Gegenstand der Untersuchung. Außerdem unterliegt die Diffusion im Gewebe, wie bereits beschrieben, mehreren Einflussfaktoren (Kho et al., 2017; Korth und Klein, 2001), weshalb sich eine in vitro gemessene RR eines Stoffes nur sehr limitiert auf die RR in vivo übertragen lässt (Hansen et al., 1999). Es bedarf also Methoden, die es ermöglichen die RR in vivo und damit die Konzentration im Gewebe zu kalkulieren bzw. abzuschätzen. Eine der ersten Methoden dieser Art ist die sog. low flow rate method. Das Prinzip dieser Methode besteht in der Annahme, dass geringere Flussraten mit einer höheren RR einhergehen, da der Stoffaustausch effizienter stattfinden kann und so höhere Stoffkonzentrationen im Dialysat erreicht werden (Jacobson et al., 1985). Folglich würde die RR in der Theorie bei einer Flussrate von 0 maximal sein, also 100 % betragen, da sich ohne Fluss ein Gleichgewicht zwischen dem Dialysat und dem extrazellulären Raum einstellen kann. Bei dieser Flussrate würde jedoch kein Dialysat generiert und gewonnen werden, sodass man stattdessen mehrere Flussraten und die dabei entstehenden Stoffkonzentrationen im Dialysat misst und anschließend eine Extrapolation der Stoffkonzentration für eine Flussrate von 0 durchführt. So erhält man eine Abschätzung der tatsächlichen Konzentration im Gewebe (De Lange, 2013; Kho et al., 2017).

Die Technik der Mikrodialyse stellt also eine Methode dar, die es erlaubt lokal in einem umschriebenen Gebiet eine kontinuierliche Probengewinnung zu erzielen und so die Situation in der Untersuchungsumgebung in einem zeitlichen Verlauf abzubilden. Für das Muskelgewebe und damit für die vorliegende Arbeit bedeutet das, dass diese Technik eine Analyse des intramuskulären Raumes ermöglicht und die zu untersuchenden Parameter auf der Ebene der einzelnen Muskelfasern gewonnen und analysiert werden können. Und all das über eine einmalige und minimalinvasive Anlage des Mikrodialyse-Katheters.

1.2 Ischaemic Preconditioning

Vor mehr als 30 Jahren konnten Murry et al. (1986) und Reimer et al. (1986) - jeweils in Zusammenarbeit - in zwei aufeinanderfolgenden Studien den protektiven Effekt vom Ischaemic Preconditioning (IPC, damals als Preconditioning with Ischemia bezeichnet) auf den Herzmuskel von Tieren beobachten. Hierbei wurde zunächst festgestellt, dass vier Zyklen von intermittierender Ischämie (durch Okklusion eines Koronargefäßes) mit anschließender Reperfusion von jeweils 10 min keine Schäden im betroffenen Muskelgewebe verursachten (gemessen an der Erschöpfung von Adenosintriphosphat (ATP)), die über die reversiblen Schäden des ersten Zyklus hinausgingen. Eine durchgehende Ischämie von 40 min hingegen ging mit irreversiblen Schäden einher. Sie schlussfolgerten daraus, dass die Reperfusion, vermutlich durch die Auswaschung Ischämie-induzierter Katabolite, vor kumulativen Schäden schützt. In der darauffolgenden Studie konnte darüber hinaus beobachtet werden, dass ein solches IPC (hier vier Zyklen von jeweils 5 min Ischämie/Reperfusion) dafür sorgt, dass bei einer anschließenden, länger andauernden Ischämie (auch hier 40 min) das Infarktareal des Herzmuskels im präkonditionierten Bereich auf 25 % reduziert wurde, verglichen mit der Kontrollgruppe ohne IPC.

Diese Beobachtungen weckten in den folgenden Jahren großes Interesse an dem Phänomen des IPC, sodass zahlreiche weitere Studien durchgeführt wurden, um den Mechanismus und die Effekte zu untersuchen. Przyklenk et al. (1993) konnten zeigen, dass sich IPC nicht nur auf den präkonditionierten Bereich, sondern auch auf andere Bereiche im Herzen, protektiv auswirkt. Sie bezeichneten diesen Effekt als sog. Remote Ischaemic Preconditioning (RIPC). Spätere Untersuchungen konnten das RIPC sogar dann nachweisen, wenn die Ischämie über Blutdruckmanschetten an den Extremitäten und damit in der Skelettmuskulatur induziert wurde. Neben des reduzierten Infarktareals, wurde auch gezeigt, dass sog. ischämische Reperfusionsschäden (engl. ischaemia reperfusion injury, IRI) reduziert werden konnten (Kharbanda et al., 2002). Diese sind definiert als „die paradoxe Exazerbation von zellulärer Dysfunktion und Zelltod, durch Wiederherstellung des Blutflusses in zuvor ischämischem Gewebe” und entstehen v. a. durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), Zytokine und Proteasen, die nach der Reperfusion vermehrt gebildet und aktiviert werden (Cowled und Fitridge, 2011).

Anschließend daran konnten weitere Arbeiten zeigen, dass auch bei akuten Myokardinfarkten und entsprechender operativer Intervention eine intermittierende Unterbrechung der Reperfusion einen positiven Effekt auf das Myokard hat. Dieser Effekt wurde dementsprechend als Ischaemic Postconditioning (IPost) bezeichnet (Staat et al., 2005). Analog zum IPC konnte folglich auch hier ein Effekt durch Postkonditionierung außerhalb des Herzens (in diesem Fall der Niere) festgestellt werden, dem sog. Remote Ischaemic Postconditioning (RIPost) (Kerendi et al., 2005). Diese Beobachtungen ermöglichten schließlich eine deutlich einfachere Applikation des IPC ohne jegliche Invasivität.

Während sich die bisher genannten Arbeiten v. a. mit protektiven Effekten des IPC auf das Myokardgewebe beschäftigten, konnten andere Arbeiten einige dieser Effekte auch im Skelettmuskel beobachten. So wurde auch hier bereits eine Reduktion des Infarktareals bzw. des Gewebsschadens im Skelettmuskel, verursacht durch Ischämie, sowie ein präventiver Effekt bzgl. IRI bei vorheriger Präkonditionierung durch IPC in Tiermodellen beobachtet (Bushell et al., 2002; Gürke et al., 2000; Pang und Forrest, 1995). Pang & Forrest (1995) vermuteten zunächst die Beteiligung von ATP-abhängigen Kaliumkanälen und Adenosin als Vermittler des zugrundeliegenden Mechanismus, was sich aber in den Ergebnissen von Gürke et al. (2000) nicht bestätigen ließ. Auch zwei Jahrzehnte später ist der Mechanismus weiterhin nicht vollständig verstanden. Andreas et al. (2011) konnten mithilfe der 31-Phopshor-Magnetresonanzspektroskopie (^{31}P-MRS) und der Blood-Oxygenation-Level Dependent funktionellen Magnetresonanztomographie (BOLD fMRT) den Metabolismus und die Oxygenierung im präkonditionierten Skelettmuskel in einem Humanmodell untersuchen. Sie stellten fest, dass ein vorgeschaltetes IPC während einer anschließenden Ischämie dazu führt, dass verstärkt Kreatinphosphat (PCr) neugebildet sowie Sauerstoff umgesetzt wird. Beides als Zeichen einer verbesserten Regeneration von der Ischämie. Auch wenn ein PCr overshoot bei einer IRI ebenfalls zu sehen ist, konnten die negativen Effekte durch das IPC abgefangen werden. Die Autoren schlussfolgerten daraus, dass der Metabolismus der Zellen durch IPC stimuliert wird und diese so besser auf eine Ischämie vorbereitet sind. Als mögliche Protagonisten werden viele Parameter genannt: Adenosin, Acetylcholin, Angiotensin II, Stickstoffmonoxid, freie Radikale, Bradykinin, Katecholamine, Endothelin, Opioide und Hitzeschock-Proteine (Stokfisz et al., 2017).

Die beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass das IPC einen nachweislichen Effekt auf das Muskelgewebe hat und welche Mechanismen möglicherweise dafür verantwortlich sind. Dennoch bleiben die genauen physiologischen und metabolischen Veränderungen, die lokal im Muskel entstehen, weitestgehend unverstanden. Viele der Erkenntnisse beruhen auf indirekten Messungen, was mitunter daran liegt, dass bisher vorwiegend Monitoring genutzt wurde, welches diese Veränderung indirekt im Muskel misst. Mithilfe der eingangs beschriebenen Methode der Mikrodialyse soll im Rahmen dieser Arbeit eine solche Analyse des intramuskulären Raumes während des IPC stattfinden, um die lokalen Veränderungen zwischen den einzelnen Muskelfasern zu messen und möglicherweise einen Rückschluss auf die bereits beobachteten Effekte zu ziehen.

1.3 Die Physiologie der Skelettmuskulatur

Da die Skelettmuskulatur im Zentrum der Untersuchung dieser Arbeit steht, soll sie auf Grundlage des aktuellen Wissensstandes im Folgenden näher beleuchtet werden. Zunächst soll kurz der grundlegende Aufbau der Skelettmuskulatur beschrieben werden. Anschließend werden die dort stattfindenden metabolischen und immunologischen Prozesse dargestellt.

1.3.1 Aufbau der Skelettmuskulatur

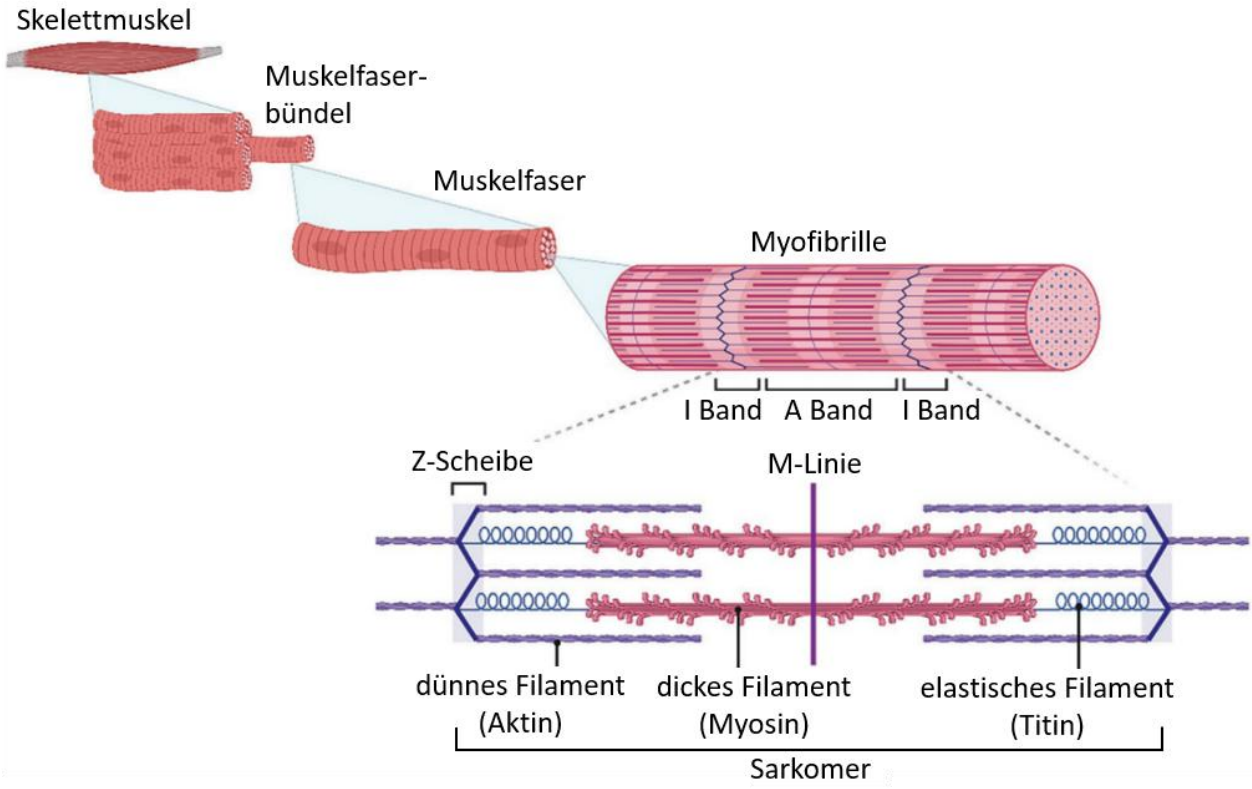

Abb. 5: Hierarchie der Skelettmuskulatur (modifiziert nach Brooks et al., 2023)

Die kleinste funktionelle Einheit der Skelettmuskulatur ist das bereits erwähnte Sarkomer, das sich in regelmäßiger Anordnung aus mehreren Proteinen zusammensetzt (s. Abb. 5). Dabei sind v. a. die Proteine Aktin und Myosin für die Kontraktion der Muskulatur zuständig. Der zugrundeliegende Mechanismus der Kontraktion ist heute als sog. Gleitfilamenttheorie (engl.: sliding filament therory/model) bekannt und wurde bereits 1954 beschrieben (Huxley und Niedergerke, 1954; Huxley und Hanson, 1954). Durch die Verbindung vieler in Reihe sowie in Serie geschalteter Sarkomere entsteht eine Myofibrille, wovon sich wiederum eine Vielzahl zu einer Muskelfaser und diese sich weiter zu einem Muskelbündel zusammenlagern. Der so entstehende quergestreifte Muskel verbindet schließlich seinen Ursprung mit seinem Ansatz und ist durch die kontraktilen Eigenschaften seiner funktionellen Einheiten in der Lage, diese beiden Punkte bzw.

Strukturen aufeinander zu zubewegen und folglich Bewegung zu induzieren (Brooks et al., 2023).

Trotz der weitreichenden Kenntnis über den Aufbau der Muskulatur, bleiben manche Prozesse, die im Muskelgewebe stattfinden, bis dato nur unvollständig verstanden und sind Teil aktueller Forschung. So wurde bspw. erst vor rund 20 Jahren von Pedersen et al. (2003) der Begriff der Myokine vorgeschlagen. Dieser beschreibt Zytokine, die vom Muskelgewebe produziert und sezerniert werden, also endokrine, parakrine oder autokrine Funktionen erfüllen. Hierdurch wird die Muskulatur zu einem endokrinen Organ. Sie nimmt sowohl Einfluss auf sich selber, z. B. im Sinne des Muskelwachstums, als auch auf andere Organe und Körperkompartimente wie z. B. die Leber, das Fettgewebe, das Gehirn oder auch das Immunsystem (Carson, 2017; Febbraio und Pedersen, 2005; Lee und Jun, 2019; Pedersen et al., 2007). Seit Myostatin 1997 als erstes Myokin entdeckt wurde, sind bis heute über 600 weitere Myokine beschrieben. Bei dem Großteil ist die Funktion jedoch bisher nicht bekannt. Einige Myokine werden in direktem Zusammenhang mit der Muskelkontraktion bzw. -aktivität ausgeschüttet, mit teils antagonistischen Funktionen (s. Abb. 6) (Lee und Jun, 2019).

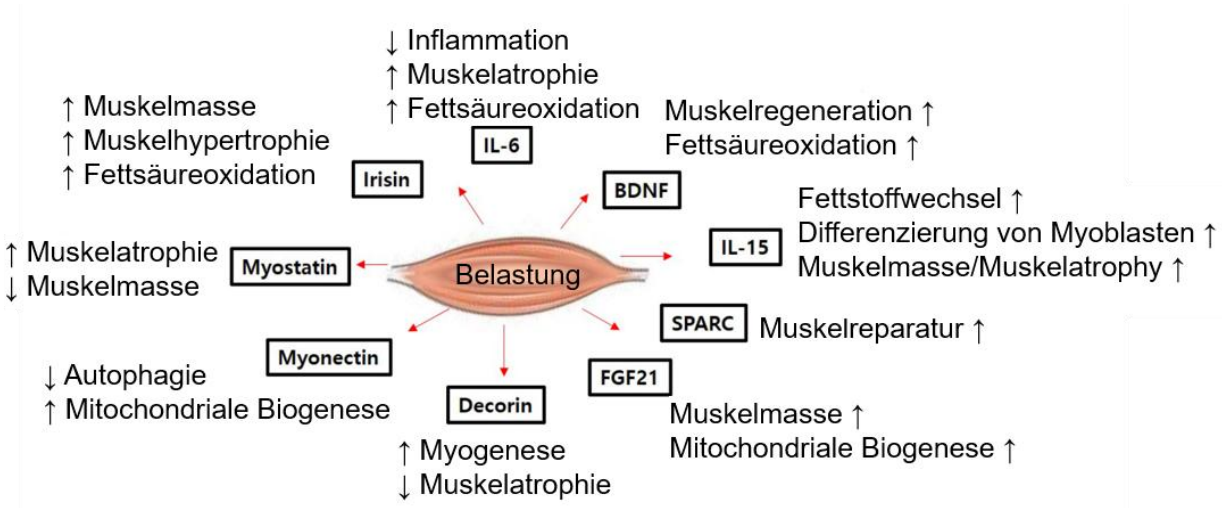

Abb. 6: Durch Muskelkontraktion induzierte Myokine und ihre Funktionen (modifiziert nach Lee und Jun, 2019)
BDNF = brain-derived neutrophic factor, FGF21 = fibroblast growth factor 21, IL = Interleukin, SPARC = secreted protein acidic and rich in cysteine.

1.3.2 Metabolische Prozesse

Unter Metabolismus versteht man die Gesamtheit der Reaktionen, die im gesamten Körper in jeder Zelle ablaufen und die den Körper mit Energie versorgen (Sánchez López de Nava und Raja, 2023). Als Hauptenergielieferant dient den Zellen dabei ATP. Dies gilt im speziellen auch für die Zellen der Skelettmuskulatur und ermöglicht diesen die Ausführung der im vorherigen Abschnitt beschriebenen Funktionen. ATP wird im Zuge der Verstoffwechselung zu Adenosindiphosphat (ADP) und bei entsprechender Stoffwechsellage weiter zu Adenosinmonophosphat (AMP) hydrolysiert. Diese Reaktionen setzen unter Abspaltung freier anorganischer Phosphate (P_i) Energie frei, die sog. Gibbs-Energie oder freie Enthalpie (Dunn und Grider, 2023). In den Muskelzellen wird die freigesetzte Energie während der Kontraktion hauptsächlich von den Myosinköpfen sowie von Ionenpumpen (v. a. im sarkoplasmatischen Retikulum (SR)) verbraucht. Der verfügbare Vorrat an ATP in der Zelle ist dabei sehr klein und wäre bei hoher Aktivität nach etwa zwei Sekunden erschöpft (Westerblad et al., 2010), gleichzeitig ist die Muskulatur aber auch in der Lage, sich an wechselnde Anforderungen anzupassen. So kann sie ihren Energieumsatz bei voller Aktivität auf das über 100-fache steigern, verglichen mit dem Ruhezustand (Sahlin et al., 1998), oder einen moderat gesteigerten Umsatz bei weniger hoher Aktivität für eine lange Zeit aufrechterhalten. All dies geschieht bei einer nahezu gleichbleibenden ATP-Konzentration (Westerblad et al., 2010). Es muss also Prozesse geben, die den Vorrat an ATP in der Zelle ständig erneuern.

Grundsätzlich gibt es für diese Aufgabe zwei verschiedene Arten von Prozessen: anaerobe und aerobe, also ohne den oder mit dem Verbrauch bzw. ohne die oder mit der Notwendigkeit der Anwesenheit von Sauerstoff (Patel et al., 2023).

Zu den aeroben Prozessen der ATP-Gewinnung gehören dabei die Zellatmung, die β-Oxidation von Fettsäuren, die Ketose sowie der Katabolismus von weiteren Lipiden und Proteinen (Dunn und Grider, 2023). Die genauen Abläufe dieser Prozesse sollen hier nicht weiter ausgeführt werden.

Das anaerobe System lässt sich noch einmal unterteilen. Zum einen in die anaerobe Glykolyse, also den Abbau des Monosaccharids Glukose. Hierbei wird bei vorherrschendem Sauerstoffmangel aus dem Endprodukt der Glykolyse, dem Pyruvat,

durch das Enzym Laktatdehydrogenase (LDH) in einer Gleichgewichtsreaktion Laktat produziert. Gleichzeitig wird so das Reduktionsäquivalent Nicotinamidadenindinukleotid (NAD) von seiner reduzierten Form $NADH+H^+$ zu seiner oxidierten Form NAD^+ regeneriert und kann wieder der ATP-Gewinnung in der Glykolyse dienen. Diese Form der Energiegewinnung wird aufgrund der Produktion von Laktat als anaerob-laktazid bezeichnet. Zum anderen kann ATP durch die Hydrolyse von Kreatinphosphat (PCr), katalysiert durch das Enzym CK, regeneriert werden, indem ein Phosphatrest von PCr auf ein Molekül ADP übertragen wird. Außerdem können durch das Enzym Adenylatzyklase die Phosphatreste von zwei Molekülen ADP so umgelagert werden, dass jeweils ein Molekül ATP und AMP entstehen. Hierbei entsteht kein Laktat, beide Prozesse sind daher anaerob-alaktazid (Allen et al., 2008; Gastin, 2001; Roach et al., 2012; Westerblad et al., 2010).

Somit stehen der Zelle drei Wege zur Verfügung ATP zu regenerieren. Diese Wege unterscheiden sich aber nicht nur in ihrem Bedarf an Sauerstoff und der Produktion von Laktat, sondern auch in der Geschwindigkeit und der Menge der möglichen ATP-Produktion. Die Zelle bzw. der Muskel ist dadurch in der Lage sich an unterschiedliche Belastungsanforderungen anzupassen. Anders als früher angenommen, laufen die drei beschriebenen Prozesse nicht nacheinander und voneinander isoliert ab. Zwar gibt es bei jeder Belastungsintensität und -dauer einen Prozess der die Energiebereitstellung dominiert, sie zeigen jedoch eine sich überschneidende Systematik. So geht man heute davon aus, dass bei jeglicher Art von Belastung alle drei Wege zumindest zu einem gewissen Teil an der Energiebereitstellung beteiligt sind (Gastin, 2001). Die die energetischen Prozesse determinierenden Faktoren sind dabei v. a. die maximale Rate (Leistung) sowie die Menge (Kapazität) der ATP-Produktion. Die anaeroben Prozesse können eine hohe Leistung erzielen und sind v. a. zu Beginn intensiver Belastungen sowie bei der Generierung großer Kräfte wichtig, werden jedoch durch ihre geringe Kapazität limitiert. Die Hydrolyse von PCr erreicht dabei bereits nach etwas mehr als einer, die Glykolyse erst nach ca. fünf Sekunden ihr Leistungsmaximum. Die Kapazität der aeroben Systeme hingegen ist quasi unerschöpflich, diese sind jedoch nur zu geringeren Leistungen im Stande und daher v. a. bei andauernden, submaximalen Belastungen von Bedeutung (Sahlin et al., 1998; Westerblad et al., 2010). Dies zeigt sich auch in der Effizienz der aeroben Energiegewinnung: aus einem Molekül Glukose werden hier 38

Moleküle ATP generiert, verglichen mit nur drei Molekülen ATP pro Molekül Glukose bei der Glykolyse (Westerblad et al., 2010).

Abb. 7 zeigt das Verhältnis von aerober Energiegewinnung und der Belastungsdauer bei maximaler Belastung. Hieran wird noch einmal deutlich, dass mit Zunahme der Belastungsdauer der Anteil der aeroben Energiebereitstellung steigt. Nach ca. 75 Sekunden ist in etwa ein Gleichgewicht beider Energiebereitstellungswege erreicht (Gastin, 2001).

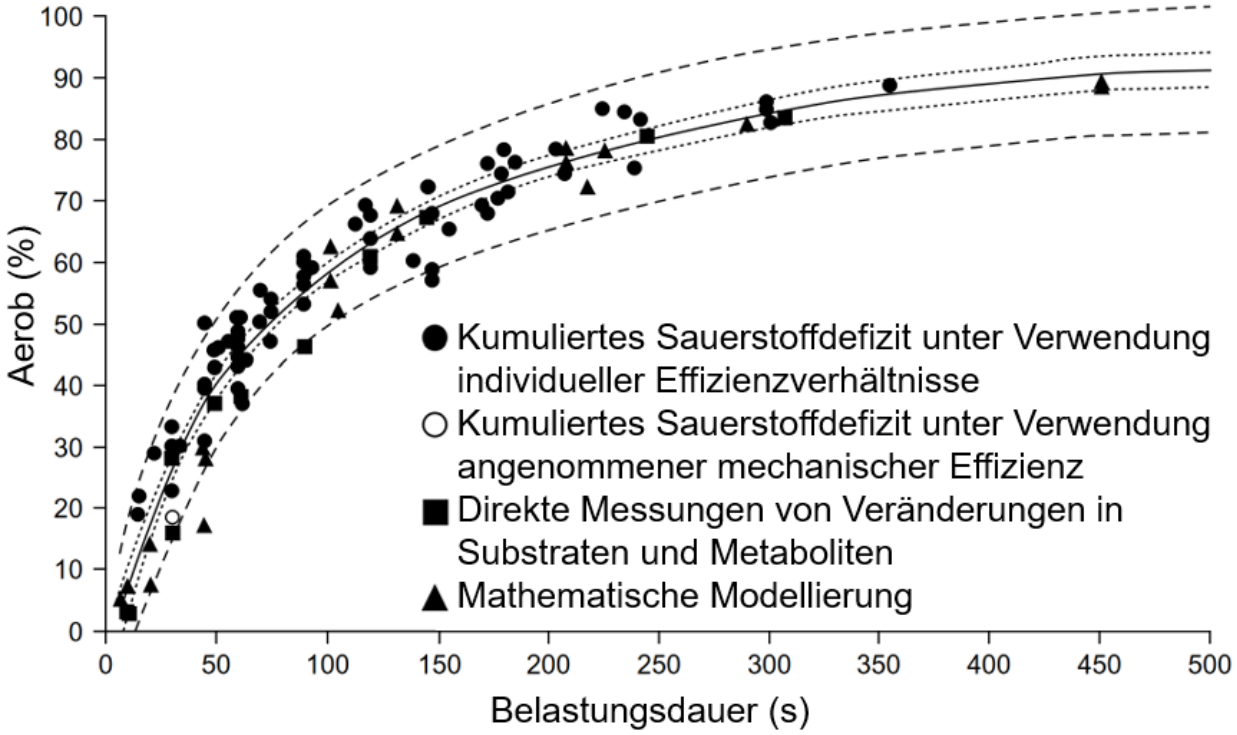

Abb. 7: Anteil der aeroben Energiebereitstellung in Abhängigkeit von der Belastungsdauer bei maximaler Belastung (modifiziert nach Gastin, 2001)
Zusammenfassung aus über 30 Studien zum aeroben Anteil an der gesamten Energiebereitstellung in Abhängigkeit von der Belastungsdauer bei maximaler Belastung. Gemessen mit vier unterschiedlichen Methoden (s. Legende) und unter Angabe des 95 %-Konfidenzintervalls (gepunktete Linie) und des 95 %-Prognoseintervalls (gestrichelte Linie).

Glukose stellt also einen wichtigen Energieträger für den Muskel dar. Gespeichert wird es v. a. in der Skelettmuskulatur und in der Leber in Form seines Polymers Glykogen. Dieses stellt Glukose bei Bedarf zur Verfügung und wird in Situationen des Überschusses aus Glukose (in Form von Uridindiphosphat (UDP)-Glukose) und anderen Bestandteilen wie

Glykosaminen und Phosphaten gebildet. Die Glykogensynthese findet auch in anderen Organen wie der Niere, dem Herzen, dem Fettgewebe und dem Gehirn statt und startet mit dem Protein Glykogenin, welches sich selbst zu einem Oligomer glykosyliert. Ab ca. 10-20 Glukoseresten wird der Hauptteil der Polymerisierung von dem Enzym Glykogensynthase übernommen, ergänzt durch das branching enzyme welches für die Querverbindungen der komplexen Glykogenstruktur verantwortlich ist. Die Glykogensynthase unterliegt diversen Regulationen, so wird sie u.a. durch Glukose-6-Phosphat und Insulin aktiviert und durch Phosphorylierung inaktiviert. So wird die Glykogensynthese besonders nach Mahlzeiten und folglich bei hohem Blutzucker mit darauffolgendem Insulinanstieg sowie in Phasen der Regeneration nach körperlicher Aktivität verstärkt. Glukose gelangt über spezielle Glukose-Transporter, sog. GLUTs, in die Zelle. Neben konstitutiven GLUTs wie dem GLUT1, der in vielen Geweben vorkommt und für den basalen Glukosetransport sorgt, oder dem GLUT2 in der Leber und den β-Zellen des Pankreas, der durch einen Konzentrationsgradienten aktiv wird, gibt es v. a. in Muskel- und Fettgewebe den insulinabhängigen GLUT4. Es ist daher vermutlich ein Zusammenspiel aus Glukosetransport und Regulation der Glykogensynthase, das den Glykogenhaushalt der Zelle determiniert (Roach et al., 2012).

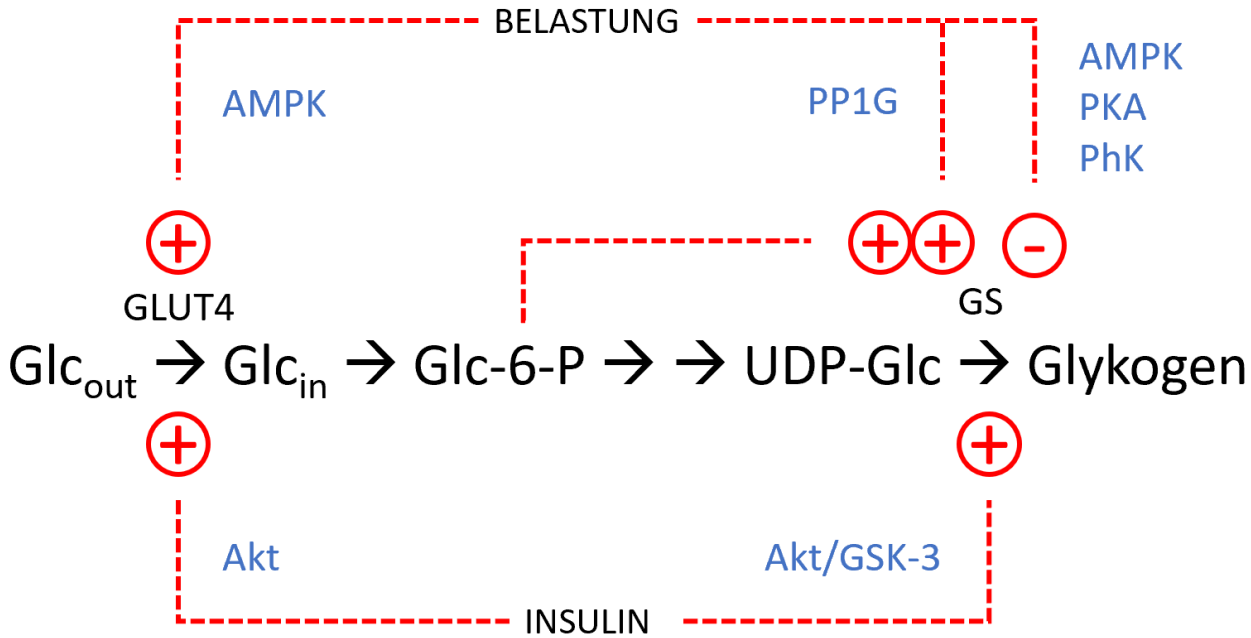

Abb. 8: Kontrolle der Glykogensynthese im Muskel (modifiziert nach Roach et al., 2012) Dargestellt ist der Einfluss von Insulin und Belastung auf die Glykogensynthese. Induzierte Prozesse sind mit einem Plus dargestellt, gehemmte mit einem Minus. AMPK

= AMP-aktivierte Proteinkinase, Akt = PI3K-/Akt-Signalweg, Glc = Glukose, Glc-6-P = Glukose-6-Phosphat, GS = Glykogensynthase, GSK-3 = Glykogensynthase-Kinase 3, PhK = Phosphorylase-Kinase, PKA = Proteinkinase A, PP1G = Proteinphosphatese 1 Gamma.

Während körperlicher Aktivität ist der Glukosebedarf in der Muskelzelle gesteigert, gleichzeitig soll die Glukose jedoch verstoffwechselt und nicht in Glykogen gespeichert werden. Auch hier wird vermehrt Glukose über GLUT4 in die Zelle befördert, in diesem Fall jedoch unabhängig von Insulin. Gleichzeitig wird die Glykogensynthase gehemmt. Der für dieses Zusammenspiel verantwortliche Mechanismus ist bis heute nicht genau verstanden. Ein möglicher Kandidat für diese Regulierung ist die AMP-aktivierte Proteinkinase (AMPK) (s. Abb. 8). Das AMP:ATP-Verhältnis in der Zelle stellt einen sensitiven Marker des Energiestatus der Zelle dar. So wird die AMPK durch jeden zellulären metabolischen Stress aktiviert, der entweder die ATP-Synthese inhibiert (Hitzeschock, Hypoxie, Ischämie oder Glukosemangel) oder den ATP-Verbrauch beschleunigt wie z. B. bei körperlicher Aktivität. Sie ist außerdem an der Phosphorylierung der Glykogensynthase beteiligt. Daher könnte die AMPK als Sensor des Glykogenlevels in der Zelle fungieren und die inverse Korrelation der Glykogenkonzentration und der Aktivität der Glykogensynthase erklären (Hardie und Sakamoto, 2006; Roach et al., 2012).

Steigt die körperliche Aktivität, betritt man ab einem gewissen Punkt den Bereich der Muskelermüdung. Diese lässt sich als progressive Abnahme der Leistung durch Aktivität betrachten mit weitestgehend reversiblem Charakter innerhalb der ersten Stunde (im Unterschied zu Muskelverletzungen als strukturelle Schäden mit inflammatorischen Prozessen) (Allen et al., 2008). Bei diesem Prozess wird ATP, wie eingangs beschrieben, ständig regeneriert. Zum einen führt dies durch die Hydrolyse von PCr zu einer sinkenden Konzentration von PCr und einem Anstieg der dabei entstehenden Produkte, also Kreatin und P_i (Allen et al., 2008; Westerblad et al., 2010). Bereits hier wird durch das P_i die kontraktile Funktion der Muskulatur gehemmt, indem es die myofibrilläre Kraftproduktion sowie die Ca^{2+}-Sensitivität und -Freisetzung aus dem SR reduziert (Allen et al., 2008). Zum anderen wird durch die vermehrte Verstoffwechselung von Glukose und den unzureichenden Verbrauch von Pyruvat zunehmend Laktat akkumuliert. Die Laktatproduktion steigt dabei bereits ab 50-70 % der maximalen Sauerstoffaufnahme

($\dot{V}O_{2\ max}$), also bereits vor Erschöpfung der aeroben Kapazität. Dabei ist die Laktatproduktion vom O_2-Angebot auf zellulärer Ebene abhängig und kann daher auch bei suffizienter Atmung ansteigen (Katz und Sahlin, 1988). Sahlin et al. (1976) und Fitts (1994) konnten bereits vor mehreren Jahrzenten zeigen, dass parallel zu dem Laktat bzw. zu Laktat + Pyruvat auch H^+-Ionen akkumulieren, was im Muskelgewebe zu einem pH-Abfall von ca. 7 auf bis zu 6,2 führen kann. Fitts vermutete damals, dass es ebendiese H^+-Ionen sind, die für den inversen Zusammenhang des Laktatspiegels und der Leistungsfähigkeit verantwortlich sind. Neuere Beobachtungen konnten jedoch sowohl Leistungsabnahmen ohne signifikanten pH-Abfall zeigen als auch im experimentellen Design die Erhaltung der Leistung bei induziertem pH-Abfall feststellen, sodass die Ermüdung auch durch andere Faktoren verursacht werden muss (Westerblad et al., 2010). Hier wäre u.a. der Glykogengehalt der Zelle zu nennen, der ebenfalls einen inversen Zusammenhang mit der Leistungsfähigkeit zeigt. Auch hier ist der zugrundeliegende Mechanismus nicht abschließend geklärt (Allen et al., 2008). Im unmittelbaren Anschluss an eine erschöpfende Belastung lässt sich zudem ein erhöhtes Laktat/Pyruvat-Verhältnis messen, verglichen mit dem Ruhezustand, welches bis zu 20 min nach Belastung anhält. Außerdem ist die Laktatkonzentration im Muskel etwa 2-3 mal höher als die im Blut. Dieses Missverhältnis gleicht sich ca. 8 min nach der Belastung aus und kehrt sich anschließend um. Die Halbwertszeit von Laktat liegt dabei bei etwa 9,5 min. Zudem lässt sich beobachten, dass der Abtransport von Laktat über das Blut von der Perfusion des Muskelgewebes abhängig ist, was dazu führt, dass dieser bei isometrischen Kontraktion reduziert ist, da die Blutzirkulation bei dieser Kontraktionsform bereits bei ca. 20 % der isometrischen Maximalkraft (engl.: maximum voluntary contraction, MVC) stoppt (Sahlin et al., 1976).

Überschreitet der ATP-Verbrauch nun die Kapazitäten der ATP-Regeneration hat dies mehrere Folgen. Zum einen wird das akkumulierende AMP unter Abspaltung von Ammoniak (NH_3) weiter zu Inosinmonophosphat (IMP) desaminiert und anschließend im Nukleotidstoffwechsel zu Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure degradiert. Diese Abbauprodukte können sowohl im Blut (Hypoxanthin und NH_3) als auch im Muskel (IMP und NH_3) gemessen und als Marker für Energiedeffizienz bzw. Ermüdung betrachtet werden (Sahlin et al., 1998). Des Weiteren kann nun auch die ATP-Konzentration nicht mehr aufrechterhalten werden und fällt ab. Über den gesamten Muskel betrachtet fällt die

ATP-Konzentration jedoch nicht unter ca. 60 % des Ruhewerts. Betrachtet man die einzelnen Muskelfasertypen isoliert voneinander, so kann diese in den schnellen Fasern sogar unter 20 % (entspricht etwa 1,2 mM) fallen. Gleichzeitig steigt die ADP-Konzentration von 10 auf 200 mM sowie die IMP-Konzentration von einem nicht messbaren Wert auf ca. 5 mM und die PCr-Konzentration fällt von etwa 30 auf 2,5 mM. In den langsamen Muskelfasern hingegen lässt sich kaum oder sogar keine Änderung der ATP-Konzentration feststellen, wodurch dieser Fasertyp quasi nicht ermüdbar ist, im Gegensatz zur rapiden Ermüdbarkeit der schnellen Muskelfasern (Allen et al., 2008).

Wie bereits ersichtlich geworden ist, spielt Sauerstoff eine wichtige Rolle im Metabolismus der Skelettmuskulatur. Doch wie reagiert dieser auf einen Sauerstoffmangel, also Hypoxie? Generell beschreibt die Hypoxie den Zustand einer Zelle, in dem der O_2-Bedarf das O_2-Angebot übersteigt. Neben der oben beschriebenen Umstellung von aeroben auf anaerobe Wege der Energiebereitstellung gibt es noch weitere Mechanismen, über die eine Zelle auf Hypoxie reagieren kann. Der Hauptsignalweg funktioniert dabei über den hypoxia-inducible factor (HIF), genauer den HIF1, der 1995 von Wang & Semenza (1995) erstmalig beschrieben wurde. Dieser stellt einen Transkriptionsfaktor dar, der den Sauerstoffhaushalt der Zelle reguliert. In Normoxie wird die Untereinheit HIF1-α stets hydroxyliert und kann so an das sog. von-Hippel-Lindau (VHL)-Protein binden, welches es als Teil eines Ubiquitin-Ligase-Komplexes abbaut. Bei vorherrschender Hypoxie ist die Hydroxylierung und damit der Abbau von HIF1-α gehemmt, sodass es an die zweite Untereinheit HIF1-β (auch aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator/ARNT genannt) binden kann und der Transkriptionsfaktor HIF1 entsteht. HIF1 induziert die Genexpression für die Erythropoese/den Eisenstoffwechsel, die Angiogenese, den Glukosestoffwechsel, die Zellproliferation sowie das Zellüberleben bzw. die Apoptose. Neben der Hypoxie können auch nicht-hypoxische Stimuli wie eine Inflammation, ROS oder Stickstoffmonoxid (NO) zur Akkumulation von HIF1-α führen. Die dahinterstehenden Prozesse sind aber weniger verstanden und spielen wahrscheinlich auch nur eine untergeordnete Rolle. Außerdem konnte beobachtet werden, dass bei länger bestehender Hypoxie der HIF1-Spiegel nach einem initialen Anstieg abfällt, was auf mögliche Anpassungsmechanismen zurückgeführt wurde (Lundby et al., 2009). Dies geht mit den Beobachtungen von Fox et al. (2018) einher, die den Einfluss von Hypoxie auf Muskelzellen im Rahmen eines IPC in einem in vitro Modell untersuchten, bei denen das IPC sowie eine anschließende

Ischämie durch hypoxische Umgebung nachempfunden wurde. Dabei stellten sie zunächst fest, dass die Zellen als Reaktion auf die Hypoxie erwartungsgemäß vermehrt HIF-1α exprimierten. Außerdem zeigten die Zellen, die mit IPC präkonditioniert wurden, in der Ischämiephase initial eine verstärkte Expression von Genen, die an der Adaptation an Hypoxie beteiligt sind und einen protektiven Effekt gegenüber Ischämie zeigen. Im weiteren Verlauf der Ischämie wurden diese Gene stärker herunter reguliert als in den Kontrollzellen ohne IPC. Die Autoren schlussfolgerten aus ihren Ergebnissen, dass die Effekte des IPC multifaktoriell sind und durch viele Effektoren, Mediatoren und Veränderung in der Genexpression beeinflusst werden. Welche Rolle HIF1 selbst aber bei der Anpassung im Skelettmuskel spielt ist bisher noch unklar. Eine durch große Höhen verursachte Hypoxie alleine konnte bspw. kaum oder keine Anpassung im Muskel hervorrufen. Die molekularen Prozesse, die die morphologische und enzymatische Antwort auf eine Hypoxie steuern, sind damit ebenfalls weiterhin unvollständig verstanden (Lundby et al., 2009).

Wie im Kapitel 1.2 bereits beschrieben, wird durch das IPC eine Ischämie und damit auch eine Minderversorgung mit Sauerstoff im Muskelgewebe erzeugt, sodass ein Zustand der Hypoxie entsteht. Mithilfe der Mikrodialyse-Technik soll in dieser Arbeit untersucht werden, welchen Einfluss das IPC und damit die Hypoxie auf die intramuskuläre Situation hat und wie sich speziell die metabolischen Prozesse verhalten.

1.3.3 Immunologische Prozesse

Im folgenden Abschnitt sollen einige Immunzellen beleuchtet werden, die als Antwort auf körperliche Belastung an systemischen und lokalen Prozessen beteiligt sind. Außerdem soll die Rolle des Immunsystems bei der Regeneration auf der Ebene des Muskelgewebes erläutert werden.

1.3.3.1 Systemische immunologische Reaktion

Mechanische Belastung im Skelettmuskel verursacht eine systemische Immunreaktion. Hierbei spielen verschieden Immunzellen eine Rolle, welche durch das sog. cluster of

differentiation (CD), ein immunphänotypisches Oberflächenmerkmal, voneinander und innerhalb ihrer Subtypen differenziert werden können.

Monozyten und dendritische Zellen sind die antigenpräsentierenden Zellen im peripheren Blut und bilden damit eine Schnittstelle zwischen dem angeborenen und dem adaptiven/erworbenen Immunsystem. Monozyten (CD14+) werden im Verlauf ihrer Differenzierung zu gewebsständigen Makrophagen, die phagozytotische und antigenpräsentierende Funktionen übernehmen. Nach der seit 2010 geltenden Nomenklatur lassen sich drei Subtypen von Monozyten voneinander unterscheiden: Klassische Monozyten (CD14++/CD16-) machen ca. 70-80 % der Monozyten aus und spielen eine wichtige Rolle in der Einleitung der angeborenen Immunantwort, der Phagozytose sowie der Zellmigration durch die Ausschüttung von Chemokinen und proinflammatorischen Zytokinen, obwohl Letzteres in der Literatur kontrovers diskutiert wird. Mukherjee et al. (2015) bspw. sprechen den klassischen Monozyten keine inflammatorischen Attribute zu. Intermediäre Monozyten (CD14++/CD16+) gelten als Übergangsstadium, wirken antiinflammatorisch durch die Produktion von IL-10 und sind mit der Prozessierung und Präsentation von Antigenen assoziiert. Ihnen werden aber auch inflammatorische Eigenschaften sowie die Fähigkeit zur Phagozytose zugeschrieben. Nicht-klassische Monozyten (CD14+/CD16++) zeigen das größte proinflammatorische Potential unter den Monozyten, u.a. durch die Produktion des Tumornekrosefaktor (TNF)-α und Interleukin (IL)-1β. Sie zeichnen sich durch ein patrouillierendes Verhalten im Gefäßsystem sowie ein hohes Migrationspotenzial aus. Viele Funktionen und Eigenschaften lassen sich jedoch nicht eindeutig zwischen den einzelnen Subtypen abgrenzen und sind auch innerhalb der Subtypen unterschiedlich ausgeprägt. Monozyten sind responsiv für verschiedene Formen der körperlichen Belastung sowie deren Intensität, außerdem werden CD16+-Monozyten gegenüber klassischen Monozyten in größerem Maße während der Belastung mobilisiert, fallen anschließend aber schnell wieder ab (Mukherjee et al., 2015; Simpson, 2013; Williams et al., 2023; Ziegler-Heitbrock et al., 2010).

Dendritische Zellen (DC) machen weniger als 1 % der Leukozyten im peripheren Blut aus, während sie im Gewebe stärker vertreten sind. Hier lassen sich zwei wichtige Subklassen differenzieren: myeloide DCs (mDCs, CD11c+) sind nach ihrer Reifung v. a. für die

Stimulation der antigenspezifischen T-Zellen während der adaptiven Immunantwort verantwortlich. Plasmazytoide DCs (pDCs, CD11c-) produzieren Typ 1-Zytokine wie Interferon (INF)-γ und spielen eine wichtige Rolle in der Abwehr viraler Infektionen. Typischerweise ist das Verhältnis von mDCs zu pDCs etwa 2:1 (Simpson, 2013).

Einen weiteren wichtigen Zelltyp im Rahmen der angeborenen Immunreaktion bilden die natürlichen Killerzellen (NK-Zellen). NK-Zellen machen ca. 5-20 % aller Lymphozyten im Blut aus und sind für den Großteil der trainingsinduzierten Lymphozytose im Blut verantwortlich, sowohl was den absoluten als auch den relativen Anstieg angeht. Anhand der Oberflächenmerkmale lassen sich hauptsächlich zwei Subtypen unterscheiden: frühe/unreife NK-Zellen (CD56+/CD16- oder $CD56^{bright}$) exprimieren eine große Menge an CD56 und gelten als immunregulatorisch. Reife NK-Zellen (CD56+/CD16+ oder $CD56^{dim}$) hingegen exprimieren weniger CD56 und sind hoch zytotoxisch sowie stresssensibel. Daher wird v. a. dieser Subtyp durch Belastung mobilisiert und verzeichnet dabei einen Anstieg um 50-400 %, obwohl er bereits in Ruhe ca. 90 % der NK-Zellen ausmacht. Im Anschluss an die Belastung wird ein schneller Abfall beobachtet, der bei sehr langen Belastungen bis auf 40-60 % unter das Ausgangsniveau reichen kann (Freud et al., 2017; Simpson, 2013). Darüber hinaus gibt es Hinweise darauf, dass auch NK-Zellen antigenspezifische Rezeptoren ausbilden können und bei entsprechenden Infektionen proliferieren. Ebenso konnte beobachtet werden, dass sie in einem Prozess der Differenzierung langlebige Gedächtniszellen ausbilden, womit sich eindeutige Parallelen zu den Lymphozyten des erworbenen Immunsystems ergeben (O'Sullivan et al., 2015; Romee et al., 2012; Sun und Lanier, 2011). Damit geht einher, dass Zellen, die in akuten Belastungsphasen rekrutiert werden, die Gemeinsamkeit haben, dass sie zytotoxische Wirkung besitzen, zur Extravasation in umliegendes Gewebe fähig sind und auf Katecholamine sowie Glucocorticoide reagieren können. Sowohl auf NK-Zellen als auch auf zytotoxische T-Zellen treffen diese Eigenschaften zu (Nieman und Wentz, 2019; Simpson, 2013). Der Differenzierungsprozess der NK-Zellen findet dabei linear von frühen Zellstadien über frühe/unreife NK-Zellen hin zu reifen NK-Zellen statt, wohingegen das terminale Stadium der Gedächtnis-NK-Zellen aus beiden letzteren ausgebildet werden kann (Yu et al., 2013). Ein weiterer häufig beschriebener Subtyp der NK-Zellen sind die terminalen NK-Zellen (CD56-/CD16+), die das für diese Zellklasse typische Oberflächenmerkmal CD56 nicht exprimieren. Dieser Subtyp wurde zwar bereits früh

beschrieben (Hu et al., 1995), galt jedoch zunächst als dysfunktional, aufgrund geringer Zytotoxizität und Zytokinproduktion. Auch heute ist die Funktion noch nicht vollständig verstanden, wohingegen die Zugehörigkeit zur Population der NK-Zellen als gesichert gilt. Es konnte jedoch u.a. ein vermehrtes Auftreten während chronischer Infektionen, z. B. mit dem Hepatitis C-Virus, dem humanen Zytomegalie-Virus oder dem Epstein-Barr-Virus, sowie ein Zusammenhang mit der Malaria-Erkrankung festgestellt werden (Forconi et al., 2020).

Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) sind eine heterogene Gruppe von Zellen myeloiden Ursprungs, die sich aus myeloiden Vorläufern sowie unreifen Makrophagen, unreifen Granulozyten und unreifen dendritischen Zellen zusammensetzen. Unreife MDSCs (engl.: immature MDSCs bzw. IMCs) sind unter physiologischen Bedingungen im Knochenmark zu finden. Die Akkumulation in anderen lymphatischen Organen ist mit verschiedenen Pathologien assoziiert, insbesondere mit malignen Erkrankungen. Normalerweise migrieren IMCs in verschiedene periphere Organe, um sich dort zu Makrophagen, Granulozyten und dendritischen Zellen zu differenzieren. In einem tumorösen Milieu, aber auch bei akuten oder chronischen Infektionen sowie Traumata, werden Faktoren freigesetzt, die zur Akkumulation der IMCs an dieser Stelle führen, ihre Differenzierung verhindern und sie aktivieren, wodurch sie eine immunsuppressive Wirkung erlangen und deshalb MDSCs genannt werden (Gabrilovich und Nagaraj, 2009; Poschke und Kiessling, 2012). Durch die Heterogenität dieser Zellklasse ist die Differenzierung der einzelnen Subtypen voneinander weitaus schwieriger. Die meisten MDSCs exprimieren CD11b sowie CD33 und wenig oder kein humanes Leukozytenantigen HLA-DR, sind also HLA-DR$^{-/low}$ (Poschke und Kiessling, 2012). Des Weiteren empfehlen Bronte et al. (2016) die Bezeichnung „early-stage MDSCs“ (eMDSCs) für Zellen mit den Eigenschaften Lineage$^-$ (kurz Lin$^-$ und bedeutet CD3$^-$, CD14$^-$, CD15$^-$, CD19$^-$ und CD56$^-$)/HLA-DR$^-$/CD33$^+$, da diese unterschiedliche Gruppen von unreiferen Vorläufern vereinen und Unreife generell bereits ein gemeinsames Merkmal der MDSCs ist.

Unter Ruhebedingungen haften ca. 50 % der Leukozyten im Blut am Endothel der Gefäße, der andere Teil zirkuliert frei. Das Gefäßbett der Lunge und zu einem kleineren Teil das anderer Organe wie der Milz und der Leber beherbergen ein großes Reservoir dieser

„ortsständigen“ Leukozyten. Die durch Stress bedingte Ausschüttung von Katecholaminen und Cortisol, aber v. a. der mechanische Reiz durch einen gesteigerten Blutfluss, kann die Leukozyten zur Ablösung von der Gefäßwand und zur freien Zirkulation ins Blut bewegen. Die an eine Belastung anschließende Leukozytopenie wurde früher durch die vermehrte Apoptose von Leukozyten erklärt, diese konnte jedoch nur für weniger als 5 % des Rückgangs verantwortlich gemacht werden und erklärte nicht die erwähnten 40-60 %. Eine Vermutung ist, dass die Leukozyten nach ihrer Aktivierung in periphere Gewebe migrieren und es daher zu einem Abfall der Leukozytenzahl im Blut und dem damit verbundenen open-window effect kommt. Die genauen Mechanismen dieser Extravasation sowie die Frage, was anschließend mit den Leukozyten geschieht, sind bisher noch ungeklärt (Simpson, 2013). Das Ausmaß dieses Effekts hängt dabei stark von der Intensität bzw. der Dauer der Belastung ab.

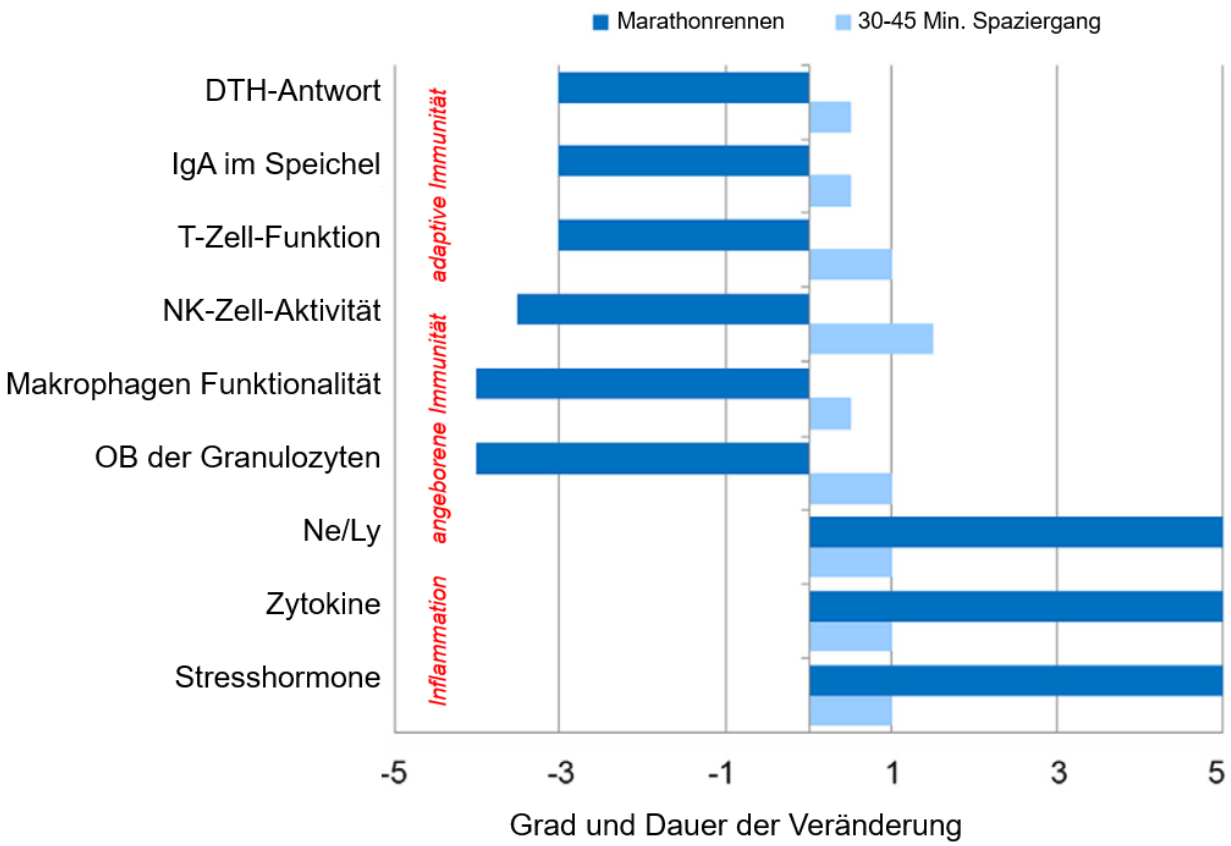

Abb. 9: Immunantwort auf unterschiedliche Belastungen (modifiziert nach Nieman und Wentz, 2019)
Dargestellt ist der Vergleich zwischen einer intensiven und einer extensiven Belastung, hier ein Marathonrennen und ein 30-45 minütiger Spaziergang, bezogen auf deren

Einfluss auf unterschiedliche Immunparameter. DTH = delayed-type hypersensitivity, IgA = Immunglobulin A, OB = oxidative burst, Ne/Ly = Neutrophile/Lymphozyten Verhältnis.

Abb. 9 zeigt beispielhaft den Vergleich zwischen einem 30-45-minütigen Spaziergang und einem Marathonrennen, bezüglich der Aktivität des adaptiven und des angeborenen Immunsystems sowie der ausgelösten Inflammationsreaktion. Die zugrundeliegende Arbeit konnte zeigen, dass nach einem Marathonrennen die Funktion verschiedener Immunzellen des adaptiven und des angeborenen Immunsystems wie T-Zellen, NK-Zellen und Makrophagen im Anschluss an die Belastung abnahm und die Konzentration mehrerer Entzündungsparameter wie Stresshormonen und Zytokinen erhöht war. Außerdem konnte gezeigt werden, dass sowohl andauernde als auch einmalige, hohe körperliche Belastungen mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko einhergehen (Nieman und Wentz, 2019).

1.3.3.2 Lokale immunologische Reaktionen

Manche Krankheiten beruhen auf der pathologischen Interaktion zwischen dem Immunsystem und der Skelettmuskulatur, diese sind zwar häufig schwerwiegend jedoch eher selten. Anders verhält es sich mit Muskelverletzungen, bei denen die Immunantwort auf Gewebsebene rein physiologisch stattfindet und als wichtiger Bestandteil von Anpassungsvorgängen agiert (Tidball, 2017). Gewebsverletzungen im Muskel können dabei unterschiedliche Ursachen haben. Neben der mechanischen Belastung, z. B. bei körperlicher Aktivität, können akute Gewebsverletzungen der Muskulatur auch durch extreme Temperaturen, Kontusionen, Toxine, Platz- oder Schnittwunden entstehen (Tidball, 2011). In jedem Fall antwortet das Immunsystem mit einer Entzündungsreaktion in dem betroffenen Gebiet. Finden diese unter sterilen Bedingungen statt, also ohne offene Hautverletzungen, bedarf es i. d. R. keiner Antwort des erworbenen Immunsystems, wenngleich auch hier Immunzellen mobilisiert werden (Chazaud, 2020). Das folgende Kapitel konzentriert sich daher auf die Prozesse des angeborenen Immunsystems und deren Rolle in der Physiologie der Skelettmuskulatur.

Grundsätzlich läuft jede Entzündung in zwei Phasen ab. Zunächst infiltrieren Leukozyten in der proinflammatorischen Phase das betroffene Gebiet. Anschließend findet der Übergang in die antiinflammatorische Phase statt, in der die Entzündung aufgelöst wird und gewebsspezifische Prozesse initiiert werden. Für den Skelettmuskel bedeutet dies, dass er sich regeneriert (Chazaud, 2020). Bereits im gesunden Muskel sind Leukozyten ein wichtiger Bestandteil der Muskulatur. So sind bspw. gewebsständige Makrophagen mitverantwortlich für den Gewebsumbau während der Organogenese sowie für die Gewebshomöostase (Wang et al., 2020). Nichtsdestotrotz kann sich die Anzahl der Leukozyten in der proinflammatorischen Phase mehr als verhundertfachen. Den größten Anteil machen dabei Monozyten und Makrophagen aus. Bei Gewebsverletzungen werden jedoch zunächst neutrophile Granulozyten durch sog. damage-associated molecular patterns (DAMPs) rekrutiert und diese leiten dann die proinflammatorische Phase ein. Durch Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen bzw. Chemokinen wie dem TNF, NO und INF-γ werden Monozyten und Makrophagen angelockt, die dann die Zelltrümmer der apoptotischen Zellen abräumen. Hierdurch bilden die Makrophagen einen proinflammatorischen Phänotyp aus (auch M1- oder $Ly6C^{pos}$-Makrophagen genannt) und verstärken ihrerseits durch die Ausschüttung weiterer Chemokine wie C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1) und CC-chemokine ligand 2 (CCL2) die Rekrutierung neutrophiler Granulozyten sowie zusätzlicher Effektorzellen wie $CD8^{+}$-Zellen und regulatorischen T-Lymphozyten (T_{reg}-Zellen) (Chazaud, 2020; Domblides et al., 2018; Tidball, 2017). Den Prozess der Phagozytose apoptotischer Zellen und deren Bestandteile nennt man Efferozytose. Dieser wurde erstmals vor mehr als 30 Jahren von Savill et al. (1989) beschrieben und ist ein Bestandteil des nun folgenden Übergangs von der pro- in die antiinflammatorische Phase. Er führt dazu, dass der Metabolismus der Makrophagen umprogrammiert wird, wodurch ein Klassenswitch der Makrophagen von dem proinflammatorischen in einen antiinflammatorischen Phänotyp (auch M2- oder $Ly6C^{neg}$-Makrophagen) initiiert wird. Dabei ist anzumerken, dass die beiden Phänotypen nicht eindeutig voneinander abzugrenzen sind und Eigenschaften beider Typen gleichzeitig in einem Makrophagen vorkommen können und dieser lediglich eine Tendenz zu dem einen oder dem anderen Phänotyp besitzt. Der Übergang von der pro- in die antiinflammatorische Phase ist damit als fließend zu betrachten. Gesteuert wird dieser Klassenswitch durch mehrere Faktoren. Neben dem Prozess der Efferozytose schütten

die Makrophagen nach ihrer Extravasation sog. specialized proresolving mediators (SPMs) aus, die von essenziellen Fettsäuren abgeleitet sind und u.a. durch die Hemmung der Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten antiinflammatorisch wirken. Ein weiterer Faktor ist IL-10, das von T_{reg}-Zellen und Makrophagen selbst ausgeschüttet wird und die Ausschüttungen inflammatorischer Zytokine durch Makrophagen hemmt und so ihren Klassenswitch begünstigt (Chazaud, 2020; Dalli und Serhan, 2017; Domblides et al., 2018; Tidball, 2017).

Die Prozesse der Inflammation und der Muskelregeneration nach Gewebsverletzungen der Skelettmuskulatur sind untrennbar miteinander verbunden, weshalb Letztere an dieser Stelle ebenfalls beschrieben werden sollen. Ausgangspunkt für die Regeneration sind die sog. Satellitenzellen oder auch myogenic precursor cells (MPCs). Diese liegen im Muskel zunächst im Ruhezustand vor und werden durch diverse Stimuli aktiviert wie z. B. durch mechanischen oder oxidativen Stress sowie endokrine oder inflammatorische Faktoren. Nach Ihrer Aktivierung werden sie zur Proliferation angeregt. Dies geschieht u.a. durch die Ausschüttung des insuline-like growth factor 1 (IGF-1) durch proinflammatorische M1-Makrophagen. Gleichzeitig wird durch das ebenfalls proinflammatorische IFN-γ die Differenzierung der MPCs gehemmt, wodurch die Proliferation in dieser Phase im Vordergrund steht. Hieraus schließt Tidball (2017) außerdem, dass eine persistierende Entzündung aufgrund anderer Faktoren durch diesen Mechanismus die Regeneration beeinträchtigt. Ein Teil der neugebildeten MPCs wird dabei wieder in den Ruhezustand zurückversetzt, sodass der Bestand an MPCs im Muskel aufrechterhalten werden kann. Hat nun der Klassenswitch der Makrophagen und der Übergang in die antiinflammatorische Phase stattgefunden, wird die Differenzierung nicht mehr gehemmt und die MPCs können neue Muskelzellen bilden. Unterstützt wird dies u.a. durch die Ausschüttung von Amphiregulin (AREG) durch T_{reg}-Zellen (Tidball, 2017). Abb. 10 zeigt eine Übersicht dieses komplexen Zusammenspiels der Immunologie und der Muskelregeneration nach einer Gewebsverletzung.

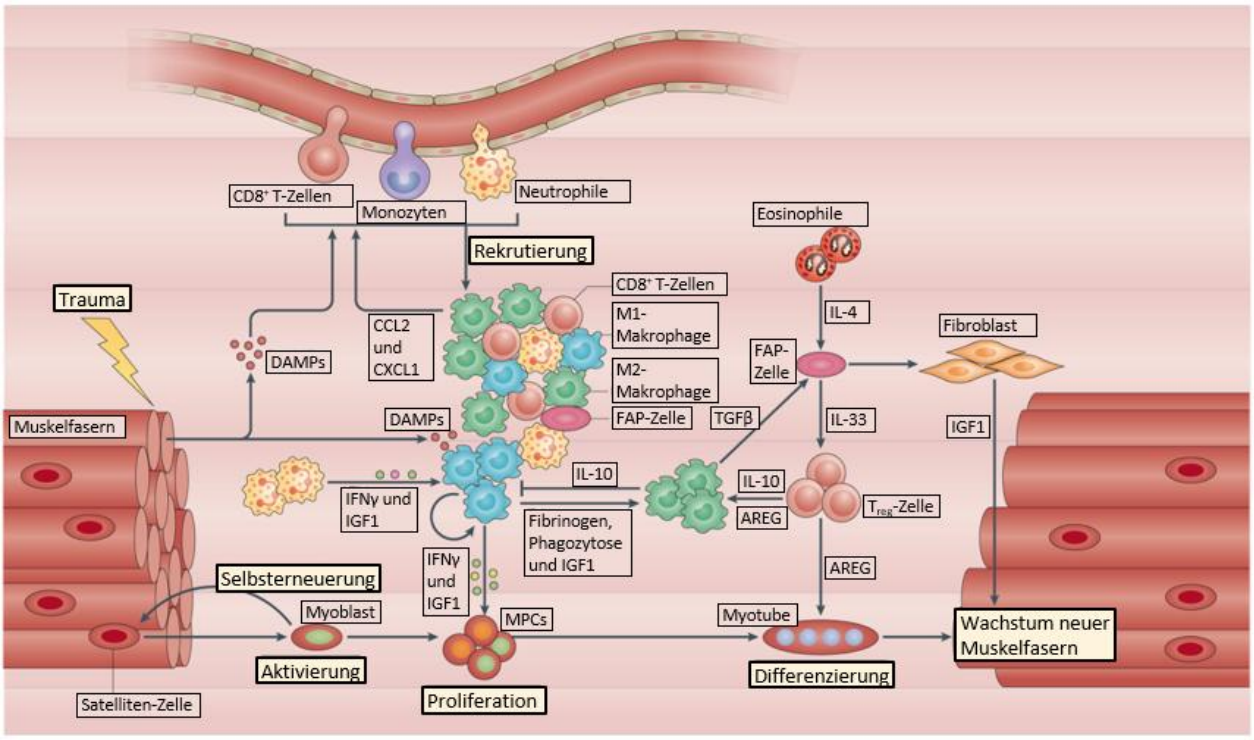

Abb. 10: Immunologie und Regeneration im Skelettmuskel (modifiziert nach Tidball, 2017)
Schematische Darstellung des Zusammenhangs zwischen dem Immunsystem und der Muskelregeneration: Die Rekrutierung und Aktivierung verschiedener Immunzellen durch damaged-associated molecular patterns (DAMPs), z. B. nach einem Trauma, löst eine Kaskade an Reaktionen aus und führt u.a. zur vermehrten Proliferation von myogenic progenitor cells (MPCs). Aus diesen entstehen nach vollzogener Differenzierung neue Muskelfasern. AREG = Amphiregulin, CCL 2 = CC-chemokine ligand 2, CD = cluster of differentiation, CXCL1 = C-X-C motif chemokine ligand 1, FAP cell= fibro-adipogenic progenitor cell, IFN-γ = Interferon-γ, IGF-1 = insulin-like growth factor 1, IL = Interleukin, TNF = Tumornekrosefaktor.

Es wird also deutlich, dass die Muskelregeneration und die immunologischen Prozesse im Gewebe in engem Zusammenhang stehen und dass die Inflammation für die Regeneration eine wichtige Rolle spielt. So wirkt sich bspw. eine Hemmung der Entzündung, z. B. durch Kühlung oder nicht-steroidale Antirheumatika (NSAR), negativ auf die Muskelregeneration aus (Chazaud, 2020). Darüber hinaus konnten Untersuchungen zeigen, dass durch die sog. Kaltwasserimmersion neben der Regeneration auch die langfristigen Anpassungsmechanismen der Muskulatur durch Krafttraining wie Muskelhypertrophie und Leistungszuwachs abgeschwächt werden

(Petersen und Fyfe, 2021). Einschränkungen der Regeneration finden sich, wie bereits erwähnt, auch dann, wenn ein bestehender Infekt das Milieu der Entzündung verändert. Damit einher gehen experimentelle Beobachtungen, die auch bei verzögertem oder beschleunigtem Klassenswitch der Makrophagen eine Einschränkung der Muskelregeneration zeigen konnten (Chazaud, 2020). Außerdem begünstigt eine Fehlregulation der Immunantwort, z. B. in höherem Alter oder bei chronischen Entzündungen, den Muskelschaden. Dabei kommt es zu einer verstärkten Fibrose der Muskulatur, da die Immunzellen vermehrt freie Radikale ausschütten, die die Regeneration stören. Zudem werden wichtige Immunzellen wie die T_{reg}-Zellen weniger gebildet und rekrutiert, sodass die Differenzierung der MPCs gestört wird. Dies führt schlussendlich dazu, dass das Gleichgewicht zugunsten der fibro-adipogenic progenitor cells (FAP cells) verschoben wird, wodurch mehr Fibroblasten heranreifen und eine Fibrosierung des Muskels entsteht (Tidball, 2017).

Nachdem im vorherigen Kapitel beschrieben wurde, welchen Einfluss eine Intervention mittels Ischaemic Preconditioning auf lokaler Ebene im Muskel haben kann, soll im Zuge dieser Arbeit ebenfalls untersucht werden, inwieweit eine solche Intervention in der Lage ist eine systemische Immunantwort auszulösen und welche Zellen hieran beteiligt sind. So lässt sich dieser Belastungsreiz, der vorwiegend über die erzeugte Hypoxie zustande kommt, möglichweiser besser mit anderen Belastungsformen hinsichtlich der ausgelösten Reaktionen vergleichen.

1.4 Fragestellung

Mit der vorliegenden Arbeit soll zum einen überprüft werde, inwieweit mithilfe der Technik zur Mikrodialyse lokale metabolische Veränderungen im intramuskulären Raum der unteren Extremität, die durch ein IPC induziert werden, gemessen werden können und ob diese Technik zum besseren Verständnis der Wirkweise eines solchen Stimulus auf lokaler Ebene beitragen kann. Darüber hinaus soll mittels Analyse von venösen Blutproben eine systemische Immunreaktion überprüft und in Zusammenhang mit der lokalen Reaktion im Muskel sowie mit anderen Belastungsformen gebracht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign

Zur Überprüfung der geschilderten Fragestellung wurden in der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie elf männliche Probanden in Form einer Querschnittstudie untersucht. Im Zeitraum von November 2022 bis Februar 2023 wurden die Probanden an jeweils zwei Messterminen pro Proband untersucht. Der erste Termin diente der Probandencharakterisierung und fand in den Räumlichkeiten der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie der Universitätsklinik Bonn sowie im UKBfit, dem hauseigenen Fitnessraum der Universitätsklinik, statt. Der zweite Untersuchungstermin wurde in den Räumlichkeiten des Zentrums für Physiotherapie und physikalische Therapie der Universitätsklinik durchgeführt und beinhaltete die Einbringung des Mikrodialysekatheters sowie die Datenerhebung vor, während und nach der IPC-Intervention. Beide Untersuchungstermine fanden mit einem Mindestabstand von einem Tag statt.

2.1.1 Stichprobe

Die Probandenakquise fand zum größten Teil über Mundpropaganda sowie zu einem kleineren Teil über die sozialen Medien statt. Für die Teilnahme an der Studie wurden folgende Kriterien vorausgesetzt:

- Männliches Geschlecht
- Alter zwischen 18 und 40 Jahren
- Body-Mass-Index <35
- Keine muskulären Erkrankungen oder Erkrankungen des Bewegungsapparats
- Gesunder Allgemeinzustand

Durch diese Kriterien sollte eine gewisse Vergleichbarkeit gewährleistet werden, da es in dieser Arbeit u.a. um die Erprobung einer Messmethode ging, welche im Rahmen der durchgeführten Intervention bisher kaum erprobt wurde.

Die benötigte Stichprobengröße wurde auf 10 Probanden festgelegt. Zusätzlich dazu fungierte der erste Proband als Pilotproband, um das genaue Untersuchungsprotokoll zu ermitteln. Die Basisinformationen der untersuchten Probanden sind Tab. 1 zu entnehmen.

Tab. 1: Probandeninformationen
BMI = Body-Mass-Index, KG = Körpergewicht, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung.

Proband	Alter [Jahre]	Größe [cm]	KG [kg]	BMI [kg/m²]
P01	22	179	79,78	24,90
P02	24	195	98,27	25,84
P03	22	185	75,23	21,98
P04	28	176	78,19	25,24
P05	30	179	71,80	22,41
P06	23	187	78,79	22,53
P07	27	183	66,75	19,93
P08	23	182	69,87	21,09
P09	22	175	88,34	28,84
P10	22	183	80,88	24,15
P11	27	185	85,86	25,09
MW	24,55	182,64	79,43	23,82
SD	2,91	5,59	8,99	2,53

2.2 Versuchsdurchführung und Datenerfassung

Vor Beginn der ersten Messung wurden die Probanden über mögliche Risiken während der Teilnahme an der Studie aufgeklärt. Nach ausführlicher Aufklärung unterschrieben sie eine Einwilligungserklärung zur Teilnahme sowie eine Einwilligungserklärung zum Datenschutz. Die Probanden wurden aufgeklärt, dass sie zu jedem Zeitpunkt und ohne Angaben von Gründen von der Studie zurücktreten können.

2.2.1 Probandencharakterisierung

Für die Probandencharakterisierung wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

Zur Messung der Muskelkraft des M. quadriceps femoris wurde an einem Beinstrecker (gym80 International GmbH, Gelsenkirchen, Deutschland) im UKBfit eine Messung des

1-Wiederholungsmaximums (engl.: 1-repetition maximum, 1-RM) durchgeführt. Die Übung wurde einbeinig und auf beiden Seiten nacheinander durchgeführt. Dafür wurden die Probanden zunächst so auf dem Gerät positioniert, dass die Bewegungsachse des Geräts bestmöglich mit der Bewegungsachse des Kniegelenks der Probanden übereinstimmte und der Winkel im Kniegelenk etwa 100° betrug, um eine leichte Vorspannung im zu untersuchenden Muskel zu gewährleisten. Außerdem wurde die Rückenlehne so eingestellt, dass diese Kontakt zum gesamten Rücken der Probanden hatte. Vor der Ausführung wurden die Probanden darauf hingewiesen, dass jede Wiederholung aus der vollständigen Ruhe heraus und ohne eine initiale Schwungbewegung durchgeführt werden sollte. Des Weiteren wurde eine Wiederholung nur als gültig gewertet, wenn das Kniegelenk eine Streckung bis 0° erreichte (Jessee et al., 2018).

Die übrigen Untersuchungen der Probandencharakterisierung fanden im Ganglabor der Ambulanz der Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie statt. Zunächst wurden verschiedene anthropometrische Daten der Probanden erhoben: Körpergröße, Körpergewicht sowie Umfänge beider Oberschenkel. Für letzteres wurde die Strecke zwischen der Spina iliaca anterior superior und der Margo superior der Patella beidseits ausgemessen. An den Punkten, die jeweils 30 %, 50 % und 70 % dieser Strecke entsprachen, wurden dann die Umfänge ermittelt. Außerdem wurde eine Blutdruck- sowie eine Pulsmessung in Ruhe mit einem elektronischen Blutdruckmessgerät (Beurer GmbH, Ulm, Deutschland) durchgeführt. Anschließend wurde der sog. chair-rising-test (oder 30 s chair-stand test) nach Jones et al (1999) durchgeführt. Hierfür wurden die Probanden gebeten sich auf einen Stuhl zu setzen (Sitzhöhe 48 cm) und anschließend instruiert die Arme vor der Brust zu verschränken und in zügigem Tempo abwechselnd von diesem aufzustehen und sich vollständig wieder hinzusetzen ohne dabei die Arme zur Hilfe zu nehmen. Über 30 s wurden dabei die absolvierten Wiederholungen ermittelt. Für eine Abschätzung der Ganzkörperkraft wurde zusätzlich eine Griffkraftmessung mit einem Handdynamometer (Fabrication Enterprises Inc., White Plains, USA) durchgeführt. Hierbei saßen die Probanden auf einem Stuhl mit dem Arm der zu untersuchenden Hand in 90° Anteversion und wurden dazu aufgefordert, das Dynamometer mit maximaler Kraft zusammenzudrücken. Der erreichte Wert konnte dann am Dynamometer abgelesen werden. Abschließend erfolgte eine Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA-Messung) mit

einem Knochendichtemessgerät vom Typ Horizon der Firma Hologic Inc. (Berlin, Deutschland), welche im Zuge dieser Arbeit v. a. für die Ermittlung der Körperzusammensetzung bezogen auf Knochen-, Muskel- und fettfreie Masse genutzt wurde. Hierfür wurde der Proband in korrekter Position auf der Untersuchungsliege des Geräts positioniert. Anschließend wurde eine Ganzkörpermessung durchgeführt, welche in einem nächsten Schritt mit der Gerätesoftware des Herstellers (Hologic: QDR Workstation) ausgewertet wurde. Der Zeitaufwand für die Probandencharakterisierung betrug pro Proband etwa eine Stunde.

2.2.2 Mikrodialyse

2.2.2.1 Vorbereitung und Einbringung des Mikrodialysekatheters

Der zweite Untersuchungstag bestand aus der sterilen Einbringung des Mikrodialysekatheters, der Probengewinnung sowie der Durchführung der IPC-Intervention. An jedem Untersuchungstag wurden zwei Probanden parallel untersucht. Dafür wurde zunächst der Faserverlauf des M. vastus lateralis des rechten Oberschenkels der zu untersuchenden Probanden mittels Ultraschall dargestellt und mit einem Hautmarker markiert. Dadurch wurde gewährleistet, dass die anschließende Implantation des Katheters möglichst parallel zu den Muskelfasern im Muskel stattfinden konnte. Dieser Schritt war notwendig, um mögliche Scherkräfte zwischen dem fragilen Katheter und den Muskelfasern bei Kontraktion zu verhindern und so ein Abreißen des Katheters zu vermeiden. Außerdem konnte mithilfe des Ultraschalls die nötige Eindringtiefe und daraus resultierend der Einstichwinkel des Katheters festgestellt werden, sodass dieser sicher im Muskelgewebe und nicht etwa im subkutanen Fettgewebe zum Liegen kam.

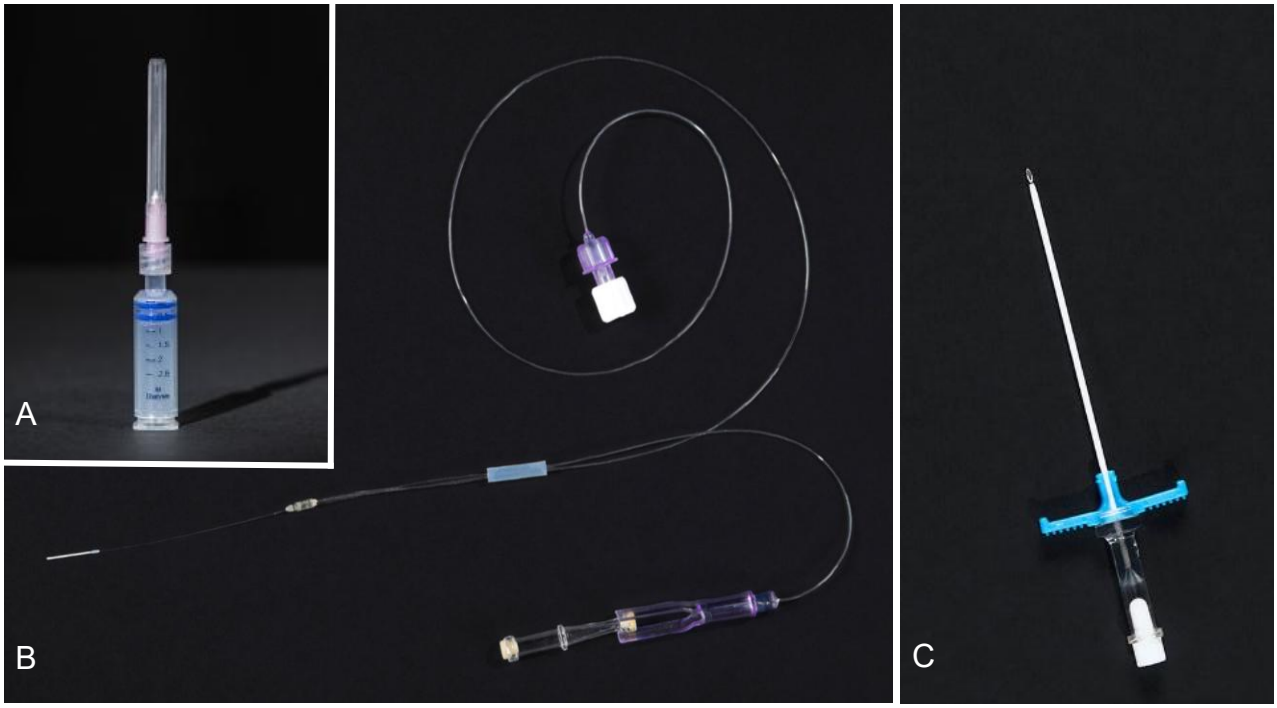

Abb. 11: Mikrodialysesystem
A 106 Syringe 2,5 ml. **B** 71 High Cut-Off Brain Microdialysis Catheter: 1) Inlet tube mit Anschluss für die Mikrodialysepumpe 2) Outlet tube mit Microvial holder und einem Microvial 3) Schaft mit endständiger Mikrodialysemembran (Pfeil). **C** Splitable Introducer SI-2: Kunststoffkanal mit Plastikflügeln und einliegendem Mandrin.

Für die Mikrodialyse wurde ein System der Firma M Dialysis AB (Stockholm, Schweden) genutzt (s. Abb. 11). Der sog. 71 High Cut-Off Brain Microdialysis Catheter ist ein steriles Einwegprodukt und Hauptbestandteil des Systems mit einem MWCO von 100.000 Da bei einer Membranlänge von 30 mm. Zu dem System gehören außerdem der steril verpackte Splitable Introducer SI-2 sowie die entsprechende Spritze für das Dialysat (106 Syringe 2,5 ml) und die microvials zur Gewinnung und Aufbewahrung der Proben. Ergänzt wurde das System durch eine Mikrodialysepumpe (107 Microdialysis Pump) der Firma CMA Microdialysis AB (Stockholm, Schweden, s. Abb. 12).

Abb. 12: Mikrodialysepumpe
A Vorderseite. **B** Rückseite: Legende der LED-Signale sowie Regler für die Flussrate.

Zum Ablauf der Einbringung des Katheters: Für die Platzierung des Katheters legten sich die Probanden auf eine Untersuchungsliege und die vorher markierte Stelle auf dem Oberschenkel wurde von Haaren befreit und desinfiziert. Die Durchführung fand immer mit zwei Personen statt und die Implantation des Katheters wurde von einem Arzt durchgeführt. Zunächst wurde eine sterile Arbeitsfläche aufgebaut, auf der alle sterilen Arbeitsmaterialien abgelegt wurden. Die Kathetermembran wurde zur Gewöhnung an ein feuchtes Milieu bis zu ihrer Verwendung in eine mit NaCl 0,9 %-Lösung gefüllte Spritze (20 ml) geführt. Anschließend wurde das markierte Einstichgebiet erneut desinfiziert und mit einem Lokalanästhetikum (Lidocain 2,0 %) betäubt. Nach der Einwirkzeit wurde die Wirkung der Betäubung sichergestellt und mithilfe einer Kanüle (18 G x 1,5 “) wurde die Haut perforiert, um einen Eintrittskanal für den Introducer zu schaffen. Zur Ablenkung wurde der Proband aufgefordert tief ein- und wieder auszuatmen. Bei der Ausatmung erfolgte dann die Perforation der Haut. Der Introducer konnte nun durch die perforierte Stelle in Richtung des vorher markierten Faserverlaufes und in einem Winkel von ca. 30° zu 2/3 seiner Länge in den Muskel eingeführt werden. Dazu wurde der Introducer entsprechend an die richtige Position angelegt und der Proband wurde wie bei der Hautperforation zum Ein- und Ausatmen aufgefordert, während der Introducer in einer gleichmäßigen und zügigen Bewegung in den Muskel vorgeschoben wurde. Anschließend wurde der Mandrin entfernt. Nun konnte der Katheter durch den Kunststoffkanal des Introducers bis in das Muskelgewebe geführt werden. Letzterer wurde dann mithilfe der Flügelgriffe in der Mitte gespalten und durch seitliches Ziehen entlang

der Zirkumferenz des Oberschenkels aus dem Eintrittskanal entfernt. An der Stelle des Hauteintritts wurde der Katheter dabei durch die zweite Person mit sterilen Handschuhen gesichert. Abschließend wurde die Eintrittsstelle mit sterilen Kompressen abgedeckt und fixiert und der Katheter wurde an der Haut befestigt. Die mit dem Dialysat (NaCl 0,9 %) gefüllte Spritze konnte nun an den Katheter angeschlossen werden. Durch einmaliges Durchspülen bis zur Bildung eines Tropfens an der Spitze des outlet tubes wurde der Katheter entlüftet sowie dessen einwandfreie Funktion kontrolliert. Nun wurde das erste microvial in den microvial holder eingesetzt und durch Einlegen der Spritze in die Mikrodialysepumpe wurde der Versuchsaufbau komplettiert (s. Abb. 13).

Abb. 13: Mikrodialysesystem am Probanden
Abgebildet ist der Aufbau des Mikrodialysesystems mit der Mikrodialysepumpe, dem Katheter, der unter dem Tupfer in den M. vastus lateralis führt, und dem microvial holder.

2.2.2.2 Ischaemic Preconditioning

Für das Ischaemic Preconditioning wurde den Probanden vor Beginn der Intervention ein personalized tourniquet system (PTS) der Firma Delfi Medical Innovations Inc. (Vancouver, Kanada) angelegt (s. Abb. 14). Dafür wurde zunächst die Größe der Manschette (tourniquet cuff) so gewählt, dass diese sich ohne Spannung und ohne zu rutschen schließen ließ. Anschließend wurde die Manschette proximal der Eintrittsstelle des Katheters am rechten Bein der Probanden angelegt und über einen Silikonschlauch mit dem PTS-Computer verbunden. In einem ersten Schritt wurde zunächst der

Verschlussdruck (engl.: limb occlusion pressure (LOP)) der Probanden individuell über das Gerät bestimmt, also der Manschettendruck bei dem eine vollständige Okklusion der arteriellen und venösen Gefäße der Extremität erreicht werden sollte. Dieser Druck wurde dann im Zuge des IPC für 10 Minuten aufrechterhalten (IPC 1), gefolgt von einer 10-minütigen Reperfusionsphase (Reperfusion 1). Dieser Zyklus wurde insgesamt dreimal wiederholt, bevor die Manschette wieder entfernt wurde. Da laut Hersteller das Volumen des outlet tube ca. 10 µl betrug, wurden die microvials jeweils mit einem Zeitversatz von 5 min (bei 2 µl/min) zum entsprechenden Intervall gewechselt (so wurde bspw. die Probe IPC1 erst 5 min nach Beginn des ersten IPC Intervalls eingesetzt). So konnte gewährleistet werden, dass die Probe nicht durch verbliebenes Volumen in dem outlet tube aus dem vorherigen Intervall verfälscht wurde.

Abb. 14: Personalized tourniquet system (PTS) am Probanden
Abgebildet ist das PTS mit der Manschette und der Steuereinheit, welche über einen Schlauch verbunden sind. Der Bildschirm zeigt den aktuellen Verschlussdruck sowie die verbleibende Zeit des Zyklus.

2.2.2.3 Messprotokoll und Probenzuordnung

Das verwendete Messprotokoll lässt sich Tab. 2 entnehmen. Dabei stellt jede Probe (mit Ausnahme der Blutproben) ein Microvial dar, das nach Ablauf der entsprechenden Zeit

(s. Dauer) vom Versuchsleiter an dem microvial holder ausgetauscht und beschriftet wurde (s. Probenkürzel). Die erste Probe, die sog. damage sample, diente der Überbrückung der einsetzenden Reaktion auf den Gewebsschaden, der durch das Einsetzen des Katheters induziert wurde, und wurde entsprechend verworfen. Um den Einfluss der Intervention auf die gemessenen Parameter festzustellen, wurde jeweils vorher und nachher eine Probe zur metabolischen Analyse (Pre- und Post-IPC) generiert. Außerdem wurde den Probanden jeweils eine venöse Blutprobe (ein Serum- und ein EDTA-Röhrchen) vor (Blood sample 1) und nach (Blood sample 2) dem IPC aus der Ellenbeuge abgenommen. Die Flussrate der Mikrodialysepumpe wurde bei den Messungen mit 2 µl/min so gewählt, dass in der kurzen Messdauer (10-20 min) zum einen das nötige Probenvolumen für die Analysen und zum anderen eine möglichst gute RR erreicht wurde.

Tab. 2: Messprotokoll der IPC-Intervention
= Probandennummer, IPC = Ischaemic Preconditioning, µl = Mikroliter.

Proben-kürzel	**Probe**	**Dauer [min]**	**Flussrate [µl/min]**	**Proben-volumen [µl]**
#.B1	Blood sample 1			
#.X	Damage sample	30	2	60
#.1	Pre-IPC	20	2	40
#.2	IPC 1	10	2	20
#.3	Reperfusion 1	10	2	20
#.4	IPC 2	10	2	20
#.5	Reperfusion 2	10	2	20
#.6	IPC 3	10	2	20
#.7	Reperfusion 3	10	2	20
#.8	Post-IPC	20	2	40
#.B2	Blood sample 2			
	Gesamt	130		260

Schlussendlich dauerte die Gewinnung aller Proben pro Proband (bzw. für jeweils zwei Probanden) insgesamt 130 min (zzgl. Vor- und Nachbereitung) und es wurden acht microvials mit einem Gesamtvolumen von ca. 260 µl sowie zwei Blutproben gesammelt. Während der gesamten Messung wurden die Probanden dazu angehalten, sich vorwiegend liegend aufzuhalten und die Beine möglichst wenig zu belasten, um eine

bestmögliche Vergleichbarkeit zu gewährleisten. Nach Abschluss der Messung wurde der Katheter vom Versuchsleiter entfernt, wobei die Eintrittsstelle durch die Kompresse abgedeckt blieb, um das Infektionsrisiko zu reduzieren.

2.3 Probenanalyse

Die gewonnenen Blutproben wurden im Labor für Orthopädie und Unfallchirurgie der Universitätsklinik Bonn mit Hinblick auf immunologische Zellen des angeborenen Immunsystems analysiert. Die Aufbereitung der Proben sowie die Durchflusszytometrie wurden dabei analog zum Protokoll aus einer aktuellen Arbeit der laboreigenen Arbeitsgruppe durchgeführt (Surendar et al., 2024). Für die vorliegende Arbeit wurden folgende Zellen des angeborenen Immunsystems analysiert: 1) dendritische Zellen (DC) mit den Subtypen der myeloiden dendritischen Zellen (mDC) sowie der plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDC), 2) Monozyten mit den Subtypen der klassischen, der nicht-klassischen und der intermediären Monozyten, 3) natürliche Killerzellen (NK-Zellen) mit den Subtypen der frühen und reifen NK-Zellen sowie der terminalen NK-Zellen, 4) myeloide Suppressorzellen (myeloid-derived suppressor cells, MDSC) mit dem Subtyp der frühen MDSCs (eMDSC).

Die Proben der Mikrodialyse wurden nach ihrer Gewinnung in den microvials eingefroren und nach Abschluss aller Untersuchungstermine analysiert. Hierfür wurde ein ISCUSflex Microdialysis Analyzer der Firma M Dialysis AB (Stockholm, Schweden) genutzt, mit dessen Hilfe die Proben für die metabolische Analyse *(*Pre-IPC, IPC 1-3, Reperfusion 1-3, Post-IPC) hinsichtlich der Konzentrationen der Metabolite Glucose, Laktat, Pyruvate und Glycerol untersucht wurden.

2.4 Statistik

Die statistische Auswertung wurde mithilfe des Statistikprogramms GraphPad Prism (Version 10.2.3, GraphPad Software, LLC, Boston, USA) durchgeführt. Das Signifikanzniveau p wurde auf den Standardwert von 5 % festgelegt, sodass von einem signifikanten Unterschied ausgegangen werden konnte, wenn $p < 0{,}05$ ist.

Die anthropometrischen Daten der Probanden wurden auf Zusammenhänge untereinander sowie auf Zusammenhänge zu den Ergebnissen der Mikrodialyse untersucht. Für normalverteilte Werte wurde der Pearson-Korrelationskoeffizient herangezogen, lag keine Normalverteilung vor wurde der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman ermittelt.

Die statistische Auswertung der Blutproben wurde ebenfalls analog zu der Arbeit von Surendar et al. (2024) durchgeführt. Dementsprechend wurde für alle untersuchten Immunzellen ein t-Test für abhängige Stichproben durchgeführt, mit der Fragestellung, ob es einen Unterschied innerhalb der Stichprobe zwischen der Situation vor und nach der IPC-Intervention gab.

Bei der Mikrodialyse wurden insgesamt acht Proben pro Proband an acht aufeinanderfolgenden Messzeitpunkten gewonnen, weshalb diese mithilfe einer ANOVA mit Messwiederholung (Korrektur nach Bonferroni) ausgewertet wurden, sodass jeder Messzeitpunkt mit jedem anderen Messzeitpunkt verglichen und auf Unterschiede zwischen den Zeitpunkten untersucht werden konnte. Dies wurde zum einen für die absoluten Werte der Metabolite als auch für die relativen Anstiege dieser Werte durchgeführt. Hierfür wurden alle Werte eines Probanden durch den Basalwert (Pre-IPC) des jeweiligen Metaboliten geteilt, sodass für den Basalwert ein relativer Wert von 1 kalkuliert wurde und für die folgenden Messzeitpunkte das entsprechende Verhältnis zum Basalwert. Ein Wert von 2 hätte somit eine Verdopplung des Basalwertes zu bedeuten. Darüber hinaus wurde bei jedem Probanden der Mittelwert aus den Ergebnissen der Proben während der IPC-Intervention (von IPC 1 bis Reperfusion 3) für jeden der vier Metabolite (absolute und relative Werte) sowie für das Laktat-Pyruvat-Verhältnis bestimmt und als mean IPC bezeichnet. Mit den neuen Messzeitpunkten Pre-IPC, mean IPC und Post-IPC wurde dann erneut eine ANOVA mit Messwiederholung durchgeführt. Vor der statistischen Auswertung wurde eine Ausreißerkorrektur durchgeführt: Beim sog. 90 % Winsorizing (nach C. P. Winsor, 1895-1951) werden alle Werte, die unterhalb der fünften Perzentile liegen, dem Wert, der der fünften Perzentile entspricht, angeglichen. Ebenso werden alle Werte oberhalb der 95sten Perzentile dem Wert, der der 95sten Perzentile entspricht, angeglichen. So werden zum einen Ausreißer auf einen weniger extremen Wert korrigiert und zum anderen gehen keine Werte durch das Entfernen von Ausreißern

verloren, was v. a. bei kleineren Stichproben günstig ist, wie es bei der vorliegenden Arbeit der Fall ist.

3. Ergebnisse

Im folgenden Kapitel sollen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit dargestellt werden. Diese gliedern sich dabei in drei Abschnitte entsprechend des Studiendesign: zunächst werden die Ergebnisse aus den Probandencharakterisierungen beschrieben, im Anschluss werden die Analysen der Daten aus der Mikrodialyse-Untersuchung sowie die immunologischen Analysen der Blutproben beleuchtet.

3.1 Probandencharakterisierung

Die Probandencharakterisierung bestand aus den in Kapitel 2.2.1 beschriebenen Untersuchungen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 3 und Tab. 4 dargestellt.

Der chair-rising test konnte von allen Probanden problemlos absolviert werden und anhand der Ergebnisse lässt sich festhalten, dass bei keinem der Probanden eine funktionelle Einschränkung vorlag (MW=14,73±2,45).

Bei den Kraftmessungen und der DXA-Untersuchung konnte ein Zusammenhang zwischen der fettfreien Masse (engl.: lean mass) des rechten Beins und dem 1RM des rechten Beins festgestellt werden ($r=0,617$, $p=0,043$). Gleiches galt für beide Werte der linken Seite ($r=0,673$, $p=0,023$). Kein Zusammenhang bestand zwischen der fettfreien Masse des rechten bzw. des linken Arms und der Griffkraft der entsprechenden Seite. Ebenfalls kein Zusammenhang bestand zwischen dem 1RM und der Griffkraft.

Tab. 3: Ergebnisse der Probandencharakterisierung
Dargestellt sind die Ergebnisse der Probandencharakterisierung aller Probanden für den systolischen und diastolischen Blutdruck sowie die Herzfrequenz in Ruhe, das 1-Wiederholungsmaximum am Beinstrecker beidseits, die Griffkraft beidseits, den Oberschenkelumfang bei 30 %, 50 % und 70 % der Strecke zwischen der Spina iliaca anterior superior und der Margo superior der Patella beidseits sowie den chair-rising test. Angegeben sind die Ergebnisse als Einzelwerte und als Mittelwert mit Standardabweichung der Stichprobe. 1RM = 1-Wiederholungsmaximum, mmHg = Millimeter-Quecksilbersäule, Nm = Newtonmeter.

Untersuchung / Proband	Blutdruck [mmHg]		Herzfrequenz	1RM [kg]		Griffkraft [Nm]			Oberschenkelumfang rechts [cm]			Oberschenkelumfang links [cm]			chair-rising-test
	systolisch	diastolisch	[1/min]	rechts	links	rechts	links	MW	30%	50%	70%	30%	50%	70%	Wiederholungen
P001	121	73	63	65	60	52,5	48	50,25	62	61	54	62	61,5	56	15
P002	123	74	74	70	70	51	48,5	49,75	74,5	64,5	55,5	73,5	65	58	13
P003	151	91	78	55	52,5	42,5	49	45,75	61	58,5	50,5	60,8	57,5	50	15
P004	133	78	51	55	52,5	56	52	54	62	59,5	52,5	62	60,5	53	13
P005	120	70	65	55	55	57	50	53,5	57,8	54,5	50,5	55,5	54	49	20
P006	150	91	80	55	55	50	53	51,5	60,5	57	50,5	60,5	55,5	47,5	13
P007	140	83	83	55	52,5	46	40	43	55	53,5	47,5	55,5	53	48	16
P008	137	82	81	57,5	55	52	52	52	57	55,5	52,5	56,5	54	51	13
P009	169	77	77	60	57,5	48	46	47	67	64	56,5	66,5	61	56	12
P010	118	88	67	70	70	54	52	53	66	61	54	64	60,5	53,5	14
P011	142	87	68	65	70	50	42	46	60,5	61	54,5	60,5	59	53,5	18
Mittelwert	136,73	81,27	71,55	60,23	59,09	50,82	48,41	49,61	62,12	59,09	52,59	61,57	58,32	52,32	14,73
Standardabeweichung	15,94	7,40	9,70	6,17	7,35	4,26	4,25	3,66	5,42	3,67	2,65	5,25	3,82	3,50	2,45

Tab. 4: Ergebnisse der Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA)
Dargestellt sind die Ergebnisse der DXA-Messungen aller Probanden mit den Werten für die Magermasse, die Magermasse plus den Knochenmineralgehalt und die Gesamtmasse jeweils für alle Extremitäten, den Rumpf und deren Gesamtwert. Angegeben sind die Ergebnisse als Einzelwerte und als Mittelwert mit Standardabweichung für die Stichprobe.

DXA-Daten / Proband	Magermasse [g]						Magermasse + Knochenmineralgehalt [g]						Gesamtmasse [g]					
	Arm rechts	Arm links	Rumpf	Bein rechts	Bein links	Gesamt	Arm rechts	Arm links	Rumpf	Bein rechts	Bein links	Gesamt	Arm rechts	Arm links	Rumpf	Bein rechts	Bein links	Gesamt
P001	4038	3772	25592	9459	9346	55224	4273	3992	26402	9999	9910	58097	5837	5360	36607	13652	13564	79783
P002	4349	4233	31800	11271	11732	67010	4681	4523	32871	12040	12625	70886	6407	6154	44726	17582	17767	98266
P003	3869	3660	25906	9109	8463	54088	4106	3884	26667	9683	9008	56935	5156	4968	35386	12862	12007	75234
P004	3977	3762	28058	9254	9212	57532	4261	4018	29012	9952	9910	61028	5409	5107	36739	12944	12765	78188
P005	3596	3199	24896	8502	8275	51637	3847	3426	25593	9085	8875	54676	5132	4533	33529	11960	11475	71796
P006	4156	3842	26935	9915	9581	57933	4410	4071	27581	10543	10196	60877	5710	5249	35501	13661	13159	78791
P007	2805	2700	23193	8943	8704	49615	2982	2870	23713	9454	9218	52117	3977	3794	29627	12193	11929	66746
P008	4537	4242	25058	8935	8398	54434	4788	4470	25709	9444	8885	57155	5691	5262	30888	11722	11103	69871
P009	4350	4349	27938	10424	10191	60743	4551	4561	28617	10941	10704	63327	6173	6195	39596	15749	15244	88335
P010	3630	3605	26607	9505	9352	55993	3878	3855	27357	10252	10056	59196	5372	5184	36707	14468	14002	80883
P011	4890	4981	29647	9922	9965	62678	5136	5224	30344	10461	10487	65407	6560	6549	39487	14243	13927	85863
Mittelwert	4017,91	3849,55	26875,45	9567,18	9383,55	56989,73	4264,82	4081,27	27624,18	10168,55	9988,55	59972,82	5584,00	5305,00	36253,91	13730,55	13358,36	79432,36
Standardabeweichu	556,13	607,03	2406,34	783,04	1004,27	5001,34	574,80	622,97	2518,18	827,81	1085,55	5223,70	715,10	781,98	4188,30	1750,18	1914,85	8987,81

3.2 Mikrodialyse und IPC-Intervention

Die Anlage der Mikrodialysekatheter verlief bei allen Probanden problemlos und keiner der Probanden gab bei der Einführung des Katheters oder im späteren Verlauf der Untersuchung Schmerzen im untersuchten Bereich an. Die Zyklen der IPC-Intervention wurden anfangs von einigen Probanden während der Phase der Okklusion als unangenehm empfunden, wobei sich anschließend schnell ein Gewöhnungseffekt einstellte, sodass alle Probanden die Intervention vollständig absolvieren konnten. Während der Phase der Reperfusion konnte am untersuchten Bein verglichen mit dem nicht untersuchten Bein eine deutliche Rötung des Hautkolorits als Zeichen einer vermehrten Perfusion festgestellt werden.

Die Ergebnisse der Mikrodialyse umfassen für jeden der elf Probanden die Messwerte der Konzentrationen der vier analysierten Metabolite (Glucose, Laktat, Pyruvat und Glycerol) sowie des Laktat-Pyruvat-Verhältnisses zu den acht ermittelten Messzeitpunkten. Tab. 5 zeigt exemplarisch die ermittelten absoluten und relativen Werte des Probanden P001. Die Darstellung der Ergebnisse der Metabolite erfolgt sowohl als Graph, um die Trendentwicklung darzustellen, als auch als Säulendiagramm mit den einzelnen Messwerten zu jedem Messzeitpunkt, um eine bessere Darstellung der Streuung zu ermöglichen.

Von der anschließenden statistischen Auswertung wurde ein Proband ausgeschlossen, da die ermittelten Werte einiger Proben bei allen Metaboliten im Vergleich deutliche Abweichungen zeigten, die durch keinen physiologischen Prozess zu erklären gewesen wären und daher auf fehlerhafte Proben hinwiesen. Mit den Ergebnissen der verbliebenen zehn Probanden wurde die in Kapitel 3.5 beschriebene Ausreißerkorrektur sowie die anschließende statistische Auswertung durchgeführt.

Tab. 5: Exemplarische Auswertung der Mikrodialyseproben eines Probanden (P001)
Dargestellt sind die Ergebnisse der Mikrodialyse des Probanden P001 der Metabolite Glucose, Laktat, Pyruvat und Glycerol sowie dem Verhältnis zwischen Laktat und Pyruvat für die acht Messzeitpunkte Pre-IPC, IPC1, Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 2, IPC3, Reperfusion 3 und Post-IPC. Angegeben sind die Ergebnisse als absolute und relative Werte. IPC = Ischaemic Preconditioning, Lak/Pyr = Verhältnis zwischen Laktat und Pyruvat, mM = Millimol, µM = Mikromol.

P001 (absolute Werte)

	Parameter	Glucose	Laktat	Pyruvat	Glycerol	Lak/Pyr
	Einheit	(mM)	(mM)	(µM)	(µM)	
Probe	**Messung**					
1	Pre-IPC	1,82	0,38	9,7	75,2	40
2	IPC1	3,31	0,77	18,6	134,5	41
3	Reperfusion 1	2,19	0,60	12,3	95,9	49
4	IPC2	5,19	1,17	57,0	164,3	21
5	Reperfusion 2	9,45	2,56	93,6	268,0	27
6	IPC3	5,64	1,54	73,0	136,2	21
7	Reperfusion 3	10,72	3,82	105,6	266,0	36
8	Post-IPC	4,11	1,39	61,1	63,7	23

P001 (relative Werte)

	Parameter	Glucose	Laktat	Pyruvat	Glycerol
	Einheit	(mM)	(mM)	(µM)	(µM)
Probe	**Messung**				
1	Pre-IPC	1,00	1,00	1,00	1,00
2	IPC1	1,82	2,01	1,93	1,79
3	Reperfusion 1	1,21	1,57	1,28	1,27
4	IPC2	2,86	3,06	5,89	2,18
5	Reperfusion 2	5,20	6,67	9,67	3,56
6	IPC3	3,10	4,02	7,54	1,81
7	Reperfusion 3	5,90	9,96	10,91	3,54
8	Post-IPC	2,26	3,61	6,31	0,85

3.2.1 Glukose

Abb. 15 zeigt die Ergebnisse der ANOVA mit Messwiederholung für den Metaboliten Glukose sowohl für die absoluten als auch für die relativen Werte. Hierbei konnten zwischen mehreren Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zu einem Signifikanzniveau von 5 % festgestellt werden: für die absoluten Werte ergaben sich Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten Pre-IPC und IPC1 (p=0,0272) sowie zwischen Pre-IPC und Reperfusion 2 (p=0.0377) und zwischen Reperfusion 2 und Post-IPC (p=0,0481). Bei den relativen Werten konnte nur zwischen den Zeitpunkten Pre-IPC

und IPC-1 (p=0,0466) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Beim Vergleich der Durchschnittswerte der IPC-Intervention konnte für die absoluten Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 3,02±1,19 mM auf 5,35±1,46 mM, p<0,001) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 5,35±1,46 mM auf 3,26±0,74 mM, p<0,001) beobachtet werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein Unterschied (p=1,000). Ebenso konnte für die relativen Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 1 auf 2,10±1,03, p=0,001) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 2,10±1,03 auf 1,35±0,85, p=0,029) festgestellt werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein Unterschied (p=0,561).

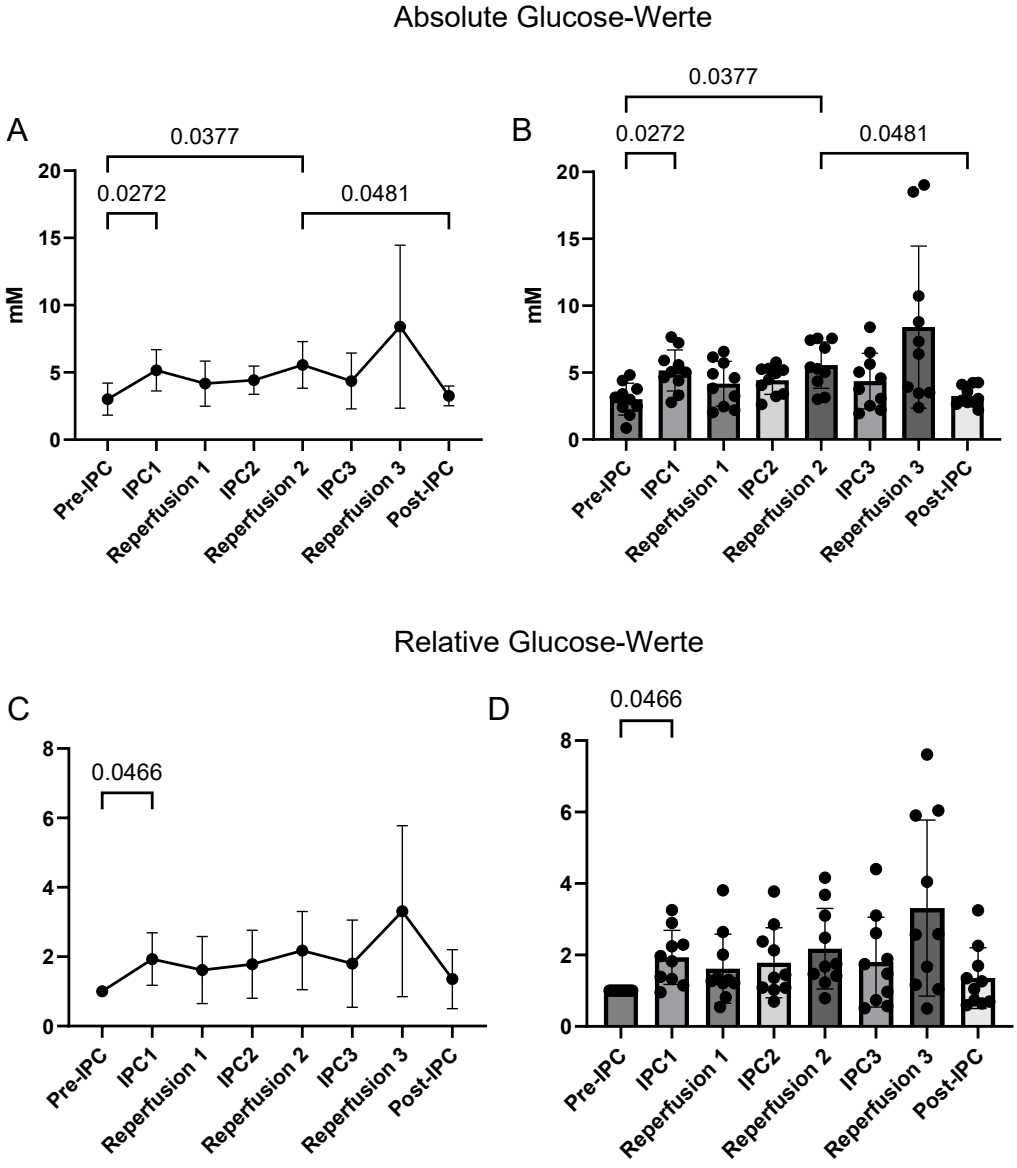

Abb. 15: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Glucose

Dargestellt sind die Ergebnisse der Mikrodialyse aller Probanden für den Metaboliten Glucose für die acht Messzeitpunkte Pre-IPC, IPC 1, Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 2, IPC3, Reperfusion 3 und Post-IPC. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten sind oberhalb als Klammern mit p-Wert dargestellt. **A** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **B** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. **C** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **D** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. IPC = Ischaemic Preconditioning, mM = Millimol.

3.2.2 Laktat

Abb. 16 zeigt die Ergebnisse der ANOVA mit Messwiederholung für den Metaboliten Laktat sowohl für die absoluten als auch für die relativen Werte. Hierbei konnten zwischen mehreren Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zu einem Signifikanzniveau von 5 % festgestellt werden: für die absoluten Werte ergaben sich Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten Pre-IPC und IPC1 ($p=0,0250$) sowie zwischen Pre-IPC und Reperfusion 2 ($p=0,0099$) und zwischen den Zeitpunkten Reperfusion 2 und Post-IPC ($p=0,0147$). Für die relativen Werte konnten Unterschiede zwischen den Zeitpunkten Pre-IPC und Reperfusion 2 ($p=0,0391$) sowie zwischen Reperfusion 2 und Post-IPC ($p=0,0436$) festgestellt werden. Beim Vergleich der Durchschnittswerte der IPC-Intervention konnte für die absoluten Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 0,95±0,49 mM auf 2,85±1,15 mM, $p<0,001$) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 2,85±1,15 mM auf 1,50±0,66 mM, $p<0,001$) beobachtet werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,185$). Ebenso konnte für die relativen Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 1 auf 3,75±2,24, $p<0,001$) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 3,75±2,24 auf 1,97±1,20, $p=0,009$) festgestellt werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied ($p=0,238$).

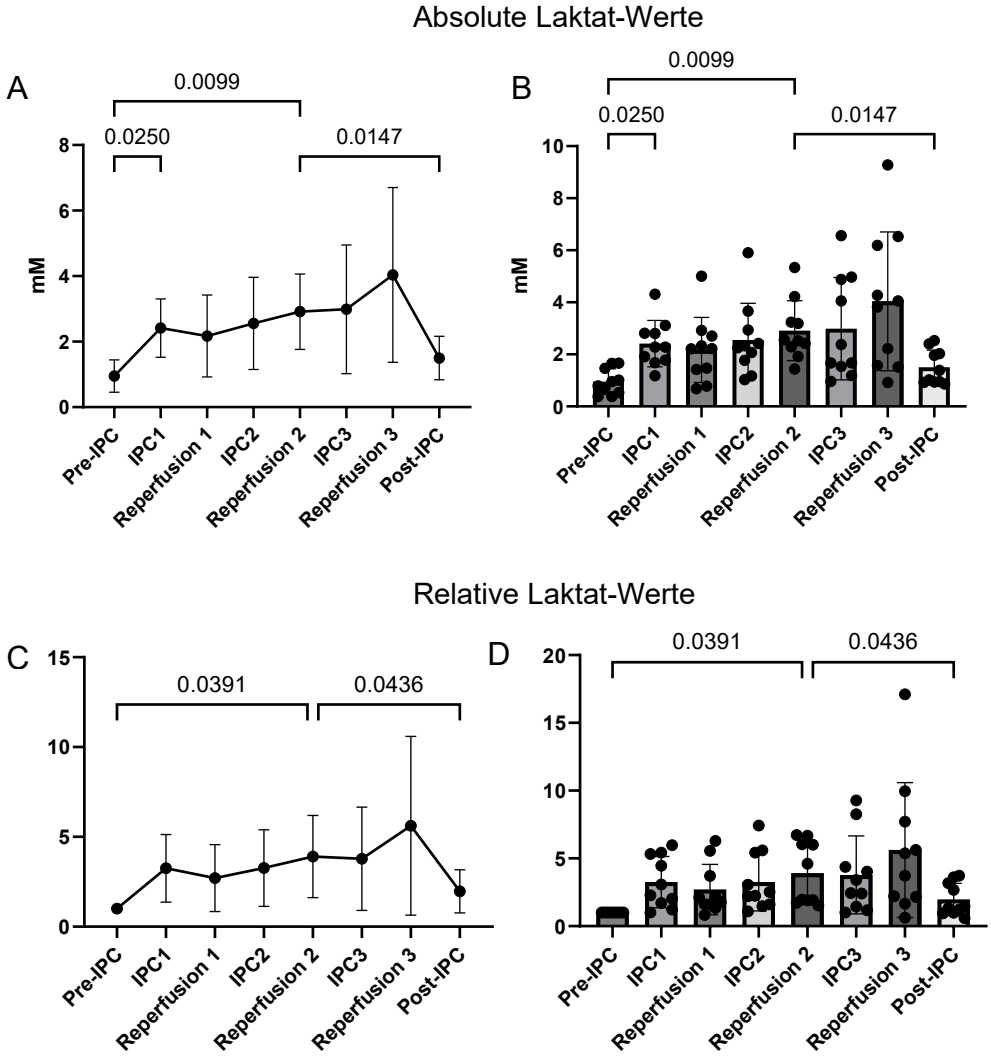

Abb. 16: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Laktat
Dargestellt sind die Ergebnisse der Mikrodialyse aller Probanden für den Metaboliten Laktat für die acht Messzeitpunkte Pre-IPC, IPC 1, Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 2, IPC3, Reperfusion 3 und Post-IPC. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten sind oberhalb als Klammern mit p-Wert dargestellt. **A** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **B** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. **C** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **D** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. IPC = Ischaemic Preconditioning, mM = Millimol.

3.2.3 Pyruvat

Abb. 17 zeigt die Ergebnisse der ANOVA mit Messwiederholung für den Metaboliten Pyruvat sowohl für die absoluten als auch für die relativen Werte. Hierbei konnten zwischen mehreren Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zu einem Signifikanzniveau von 5 % festgestellt werden: für die absoluten Werte lag ein Unterschied zwischen Pre-IPC und IPC1 (p=0,0284), zwischen Pre-IPC und IPC2 (p=0,0102), zwischen Pre-IPC und Reperfusion 2 (p=0,0033), zwischen Pre-IPC und IPC3 (p=0,0043), zwischen Reperfusion 1 und IPC2 (p=0,0048), zwischen Reperfusion 1 und IPC3 (p=0,0036) sowie zwischen IPC3 und Post-IPC (p=0,0344) vor. Für die relativen Werte konnten Unterschiede zwischen Pre-IPC und IPC2 (p=0,0420), zwischen Pre-IPC und IPC3 (p=0,0131), zwischen Reperfusion 1 und IPC2 (p=0,0393), zwischen Reperfusion 1 und IPC3 (p=0,0068) sowie zwischen IPC3 und Post-IPC (p=0,0361) festgestellt werden. Beim Vergleich der Durchschnittswerte der IPC-Intervention konnte für die absoluten Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 19,56±10,89 µM auf 75,68±31,59 µM, p<0,001) sowie zwischen Pre-IPC und Post-IPC (von 19,56±10,89 µM auf 59,67±42,45 µM, p=0,002) beobachtet werden. Zwischen mean IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied (p=0,369). Ebenso konnte für die relativen Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 1 auf 4,8±2,58, p<0,001) sowie zwischen Pre-IPC und Post-IPC (von 1 auf 3,64±2,75, p=0,007) festgestellt werden. Zwischen mean IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied (p=0,413).

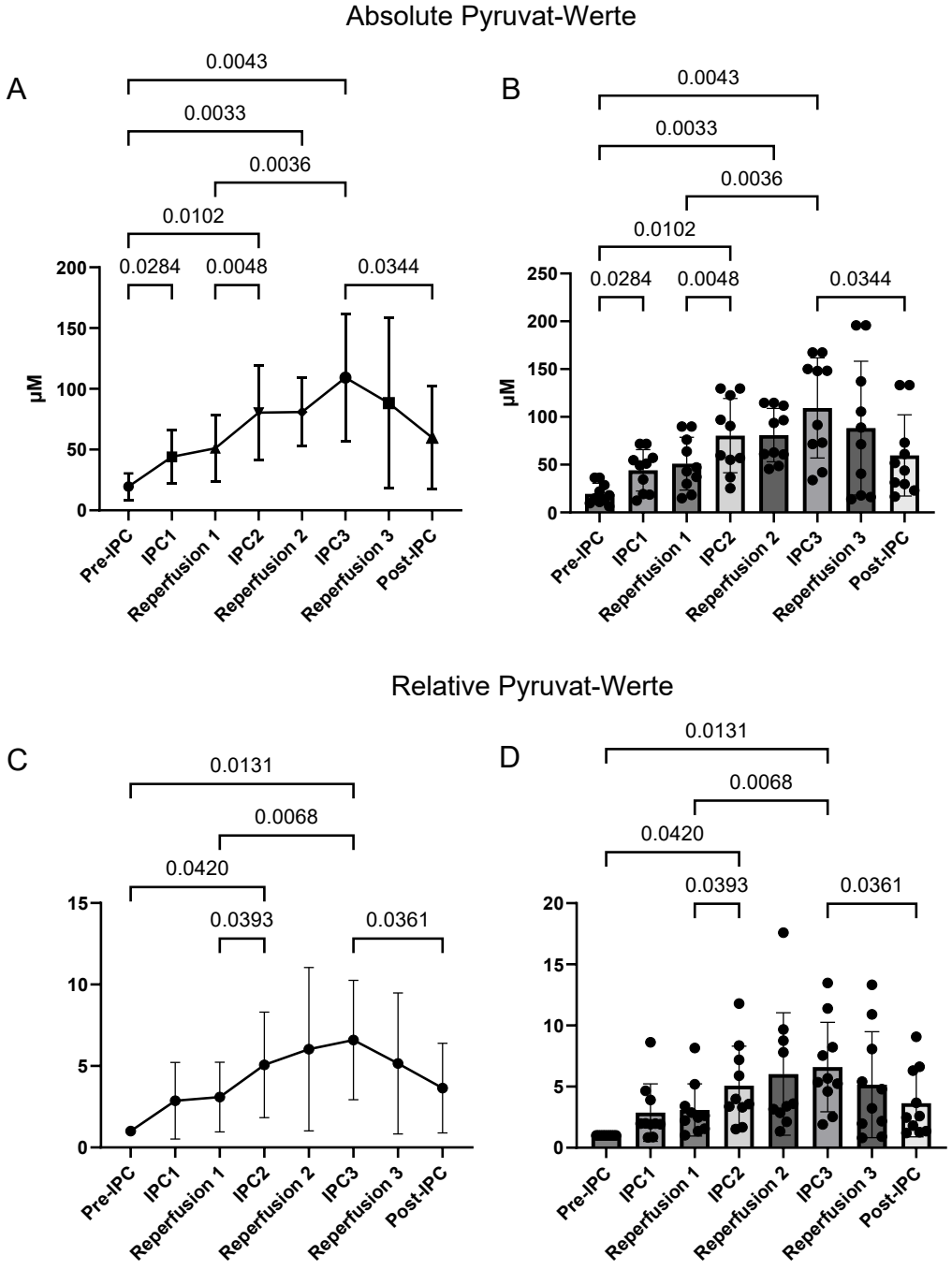

Abb. 17: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Pyruvat
Dargestellt sind die Ergebnisse der Mikrodialyse aller Probanden für den Metaboliten Pyruvat für die acht Messzeitpunkte Pre-IPC, IPC 1, Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 2, IPC3, Reperfusion 3 und Post-IPC. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten sind oberhalb als Klammern mit p-Wert dargestellt. **A** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **B** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. **C** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **D** Darstellung der

Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. IPC = Ischaemic Preconditioning, µM = Mikromol.

3.2.4 Glycerol

Abb. 18 zeigt die Ergebnisse der ANOVA mit Messwiederholung für den Metaboliten Glycerol sowohl für die absoluten als auch für die relativen Werte. Hierbei konnten zwischen mehreren Messzeitpunkten signifikante Unterschiede zu einem Signifikanzniveau von 5 % festgestellt werden: bei den absoluten Werten wurden Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten Pre-IPC und IPC1 (p=0,0396), zwischen Pre-IPC und IPC2 (p=0,0017), zwischen Pre-IPC und Reperfusion 2 (p=0,0093), zwischen Pre-IPC und IPC3 (p=0,0463) sowie zwischen Reperfusion 2 und Post-IPC (p=0,320) gefunden. Bei den relativen Werten wurden Unterschiede zwischen Pre-IPC und IPC1 (p=0,0358), zwischen Pre-IPC und IPC2 (p=0,0021), zwischen Pre-IPC und Reperfusion 2 (p=0,0206), zwischen Pre-IPC und Reperfusion 3 (p=0,0439) sowie zwischen Reperfusion 2 und Post-IPC (p=0,0187). Beim Vergleich der Durchschnittswerte der IPC-Intervention konnte für die absoluten Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 71,41±27,52 µM auf 182,41±61,41 µM, p<0,001) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 182,41±61,41 µM auf 103,95±46,12 µM, p<0,001) beobachtet werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied (p=0,114). Ebenso konnte für die relativen Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 1 auf 2,73±0,84, p<0,001) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 2,73±0,84 auf 1,62±0,94, p=0,002) festgestellt werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand kein signifikanter Unterschied (p=0,089).

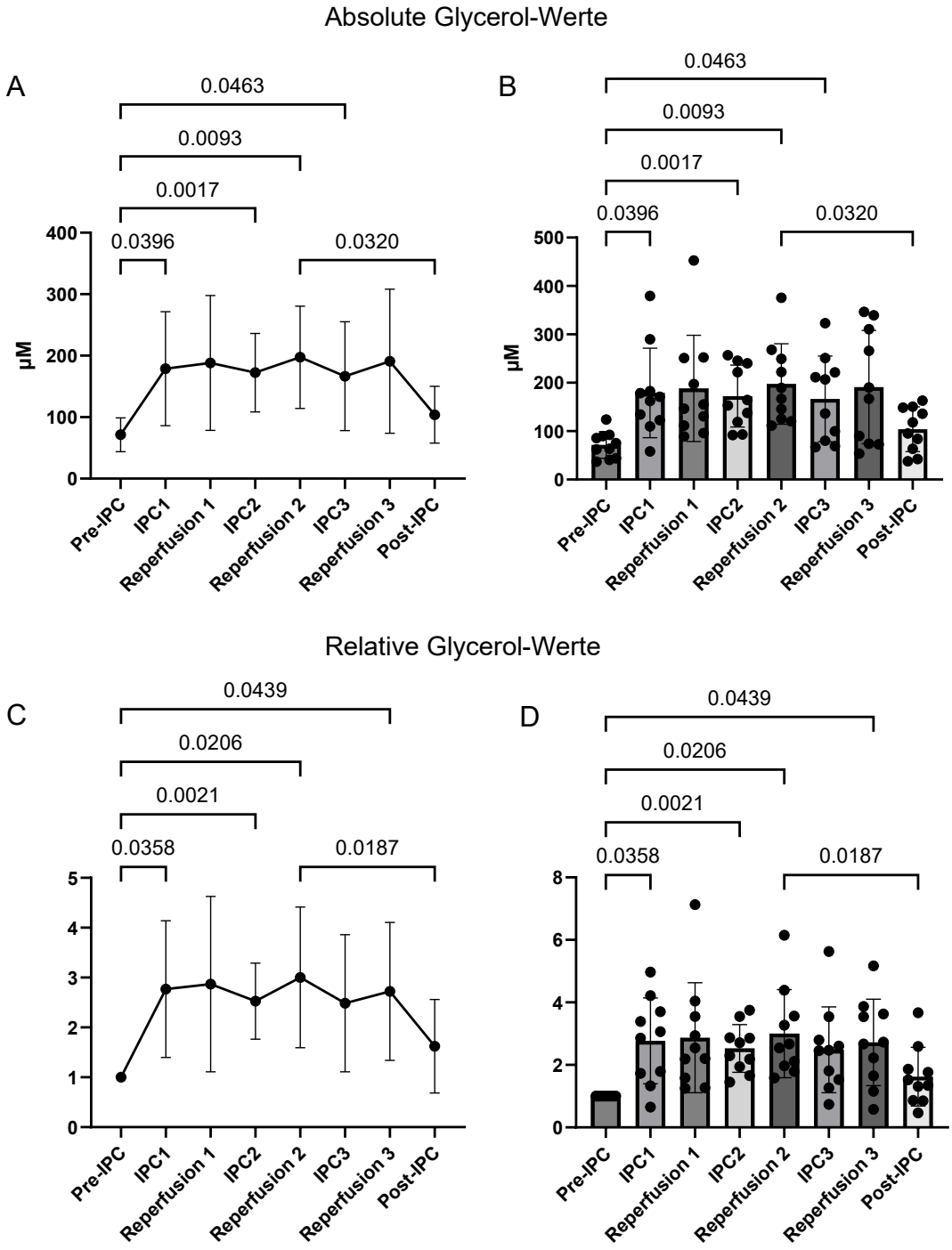

Abb. 18: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Glycerol
Dargestellt sind die Ergebnisse der Mikrodialyse aller Probanden für den Metaboliten Glycerol für die acht Messzeitpunkte Pre-IPC, IPC 1, Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 2, IPC3, Reperfusion 3 und Post-IPC. Signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Messzeitpunkten sind oberhalb als Klammern mit p-Wert dargestellt. **A** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **B** Darstellung der Mittelwerte der absoluten Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. **C** Darstellung der Mittelwerte

der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Graph. **D** Darstellung der Mittelwerte der relativen Messwerte mit Standardabweichungen als Balken sowie der Einzelwerte der Messungen als Punkte. IPC = Ischaemic Preconditioning, µM = Mikromol.

3.2.5 Laktat/Pyruvat-Verhältnis

Für das Laktat/Pyruvat-Verhältnis konnten in der ANOVA mit Messwiederholungen keine Unterschiede zwischen den Messzeitpunkten festgestellt werden. Beim Vergleich der Durchschnittswerte der IPC-Intervention konnte für die absoluten Werte kein Unterschied zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 68,26±44,31 auf 53,99±32,31, p=0,622) sowie zwischen mean IPC und Post-IPC (von 53,99±32,31 auf 35,98±21,04, p=0,348) beobachtet werden. Zwischen Pre-IPC und Post-IPC bestand hingegen ein signifikanter Unterschied (p=0,025). Für die relativen Werte wurde weder zwischen Pre-IPC und mean IPC (von 1 auf 1,01±0,57, p=1,000), noch zwischen mean IPC und Post-IPC (von 1,01±0,57 auf 0,70±0,48, p=0,175) oder Pre-IPC und Post-IPC (p=0,189) ein signifikanter Unterschied festgestellt.

3.2.6 Korrelationen

Die Ergebnisse der Mikrodialyse-Untersuchung wurden auf Zusammenhänge zu den Ergebnissen der Probandencharakterisierung untersucht. Zwischen den Metabolitenkonzentrationen der Mikrodialyse und den Ergebnissen der DXA-Untersuchungen (hierbei wurde ausschließlich die fettfreie Masse, sog. Magermasse, analysiert) konnten die in Tab. 6 dargestellten Zusammenhänge festgestellt werden.

Bei der Betrachtung der Durchschnittswerte der IPC-Intervention zeigte sich für die absoluten Werte von Glukose ein negativer Zusammenhang zwischen mean IPC und Magermasse Bein rechts (r=-0,651, p=0,041). Für die relativen Werte von Pyruvat fand sich ein Zusammenhang zwischen mean IPC und Magermasse Bein rechts (r=0,780, p=0,008). Darüber hinaus wurde der Anteil der fettfreien Masse des rechten Beins am gesamten Weichgewebe des rechten Beins ermittelt und auf einen Zusammenhang zu den Daten der Mikrodialyse untersucht. Hierbei konnte bei den absoluten Werten von Glukose zu den Messzeitpunkten IPC2 (r=0,650, p=0,042) und Reperfusion 3 (r=0,697,

p=0,025) sowie zu den Werten für mean IPC (r=0,872, p=0,001) ein positiver Zusammenhang festgestellt werden.

Tab. 6: Zusammenhänge zwischen der fettfreien Masse und den Ergebnissen der Mikrodialyse
Darstellung der Korrelationen zwischen den DXA-Messungen der fettfreien Masse (sog. Magermasse) und den Ergebnissen der Mikrodialyse mit dem Korrelationskoeffizienten r und dem dazugehörigen p-Wert. Dargestellt sind nur die DXA-Messungen und die Metabolite, bei denen signifikante Zusammenhänge beobachtet werden konnten. DXA = Dual-Röntgen-Absorptiometrie, IPC = Ischaemic Preconditionin, RP = Reperfusion.

Messzeitpunkt / DXA-Messung	Pre-IPC	IPC1	RP1	IPC2	RP2	IPC3	RP3	Post-IPC
Absolute Glukose-Werte								
Magermasse Bein rechts	-	-	-	-	-	-	r=-0,688 p=0,028	-
Absolute Laktat-Werte								
Magermasse gesamt	-	-	-	-	r=0,703 p=0,023	r=0,667 p=0,035	-	-
Magermasse Bein rechts	-	-	-	-	r=0,746 p=0,013	-	-	-
Relative Pyruvat-Werte								
Magermasse gesamt	-	-	r=0,641 p=0,046	-	-	r=0,699 p=0,025	-	-
Magermasse Bein rechts	-	-	r=0,745 p=0,013	r=0,636 p=0,048	-	r=0,760 p=0,011	-	-

3.3 Blutproben

Von neun Probanden wurden jeweils zwei Blutproben entnommen und anschließend prozessiert. Eine Probe wurde vor der IPC-Intervention und eine im Anschluss daran entnommen, um den Einfluss der Intervention zu untersuchen. Bei einem Probanden war es nicht möglich Blutproben zu entnehmen, weshalb schlussendlich neun Probenpaare in die Auswertung aufgenommen wurden. Im Folgenden wird die statistische Auswertung aller in Kapitel 2.3 genannten Zellpopulationen aufgeführt. Dabei werden die Daten vor der IPC-Intervention mit Pre-IPC bezeichnet und die Daten nach der Intervention mit Post-IPC. Die Darstellung erfolgt zum einen in einem Säulendiagramm, inkl. der einzelnen Messwerte, und zum anderen in einem sog. estimation plot, der die Wertepaare jedes einzelnen Probanden sowie deren Differenz darstellt, wodurch die Veränderung innerhalb

der Stichprobe besser beurteilt werden kann. Die y-Achse beider Darstellungen gibt dabei den prozentualen Anteil des jeweiligen Zelltyps an seiner Zellpopulation an. Im Einzelnen bedeutet dies für die Monozyten den Anteil an allen Zellen mit den Merkmalen Ly-/CD56-, für dendritische Zellen den Anteil an allen Zellen mit den Merkmalen Lin-/HLA-DR+, für NK-Zellen den Anteil an allen Zellen mit dem Merkmal Ly-, für MDSCs den Anteil an allen Zellen mit den Merkmalen Ly-/NK-/HLA-DR- sowie für eMDSCs den Anteil an allen Zellen mit den Merkmalen Lin-/HLA-DR-.

3.3.1 Monozyten und dendritische Zellen

Die Abb. 19-Abb. 21 zeigen die statistischen Auswertungen der Subtypen der Monozyten. Bei den nicht-klassischen Monozyten konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten festgestellt werden (p=0,0121). Bei den anderen beiden Subtypen konnte kein Unterschied festgestellt werden (klassische Monozyten: p=0,2709, intermediäre Monozyten: p=0,0927).

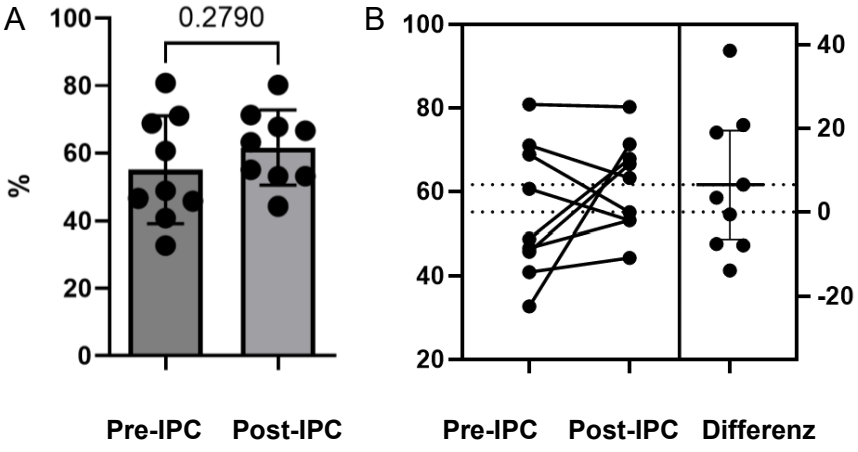

Abb. 19: Statistische Auswertung der klassischen Monozyten
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der klassischen Monozyten vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

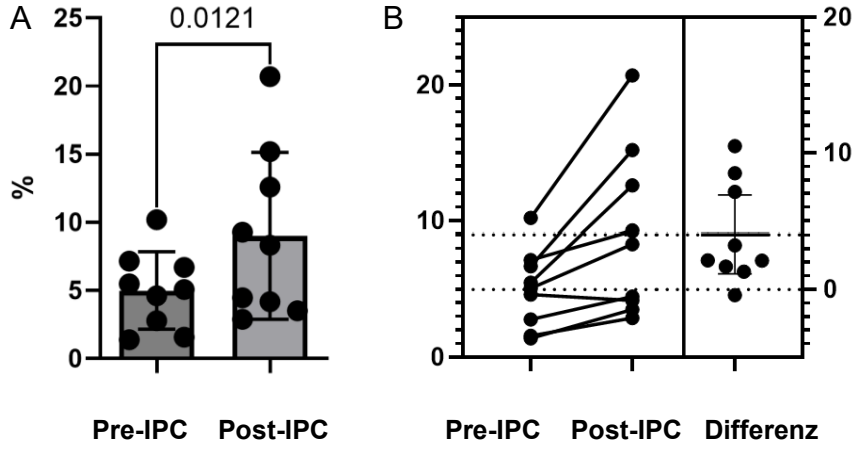

Abb. 20: Statistische Auswertung der nicht-klassischen Monozyten
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der nicht-klassischen Monozyten vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

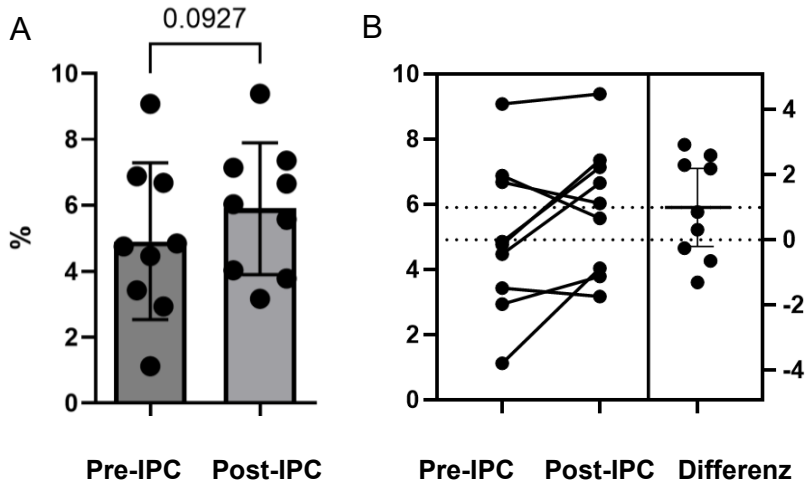

Abb. 21: Statistische Auswertung der intermediären Monozyten
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der intermediären Monozyten vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

Die Abb. 22 und Abb. 23 zeigen die statistischen Auswertungen der Subtypen der dendritischen Zellen. Bei keinem der beiden konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten festgestellt werden (myeloide DCs: p=0,0649, plasmazytoide DCs: p=0,2253).

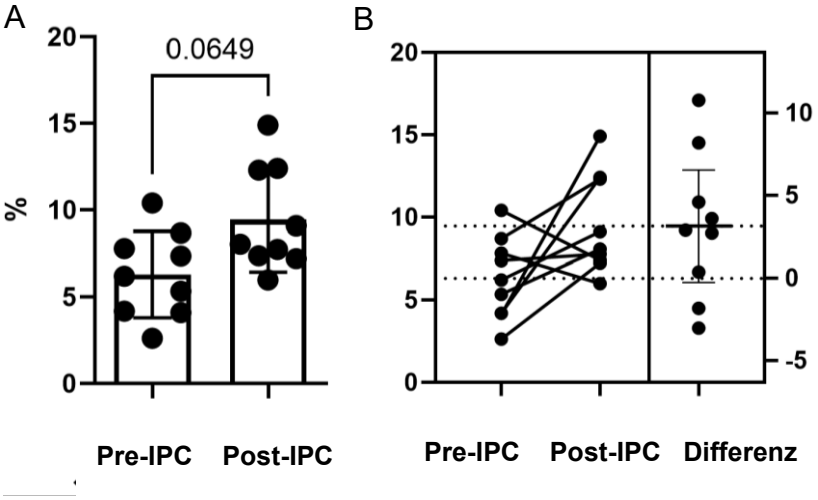

Abb. 22: Statistische Auswertung der myeloiden dendritischen Zellen (mDC)
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der myeloiden dendritischen Zellen vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

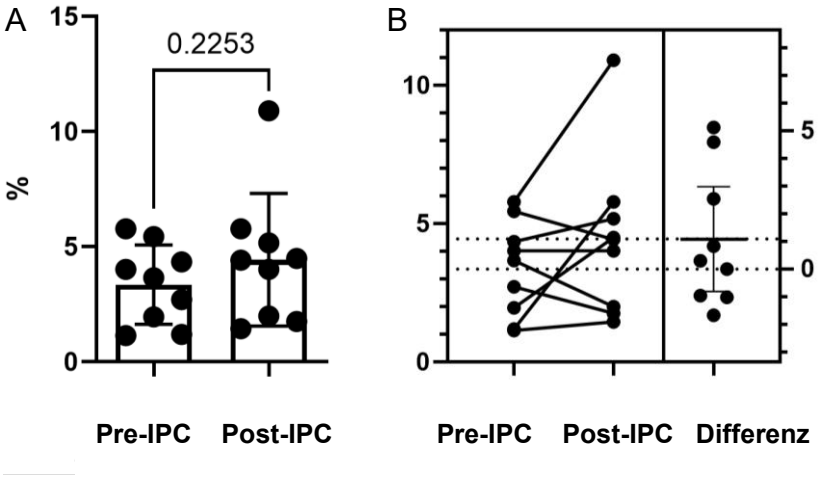

Abb. 23: Statistische Auswertung der plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDC)

Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der plasmazytoiden dendritischen Zellen vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

3.3.2 Natürliche Killerzellen

Die Abb. 24-Abb. 26 zeigen die statistische Auswertung der drei Subtypen der natürlichen Killerzellen. Hierbei konnte in allen Fällen ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten festgestellt werden (frühe/unreife NK-Zellen: p=0,0329, reife NK-Zellen: p=0,0097, terminale NK-Zellen: p=0,0159).

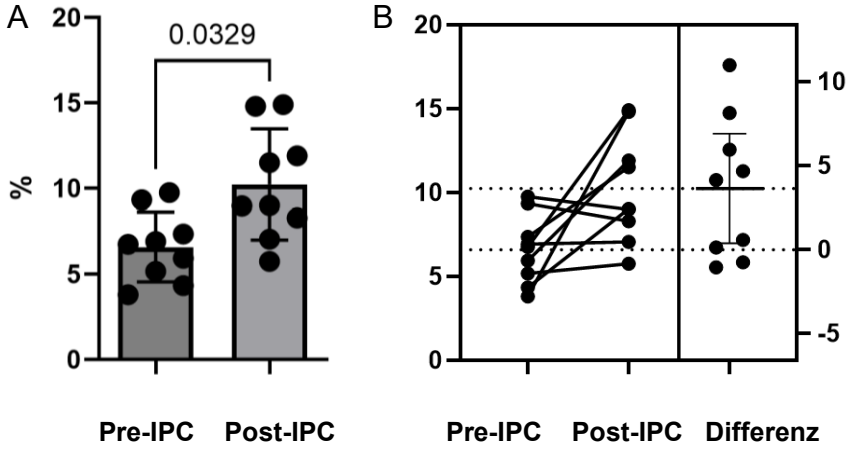

Abb. 24: Statistische Auswertung der frühen/unreifen natürlichen Killerzellen
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der frühen/unreifen natürlichen Killerzellen vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning

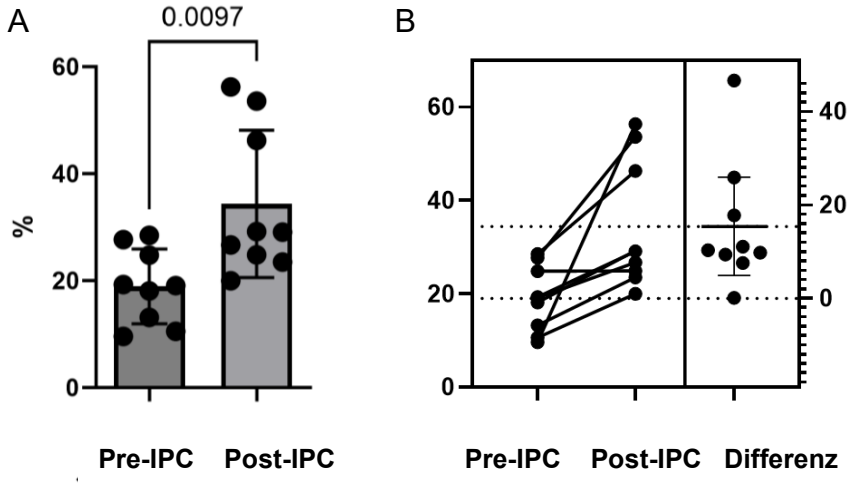

Abb. 25: Statistische Auswertung der reifen natürlichen Killerzellen
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der reifen natürlichen Killerzellen vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

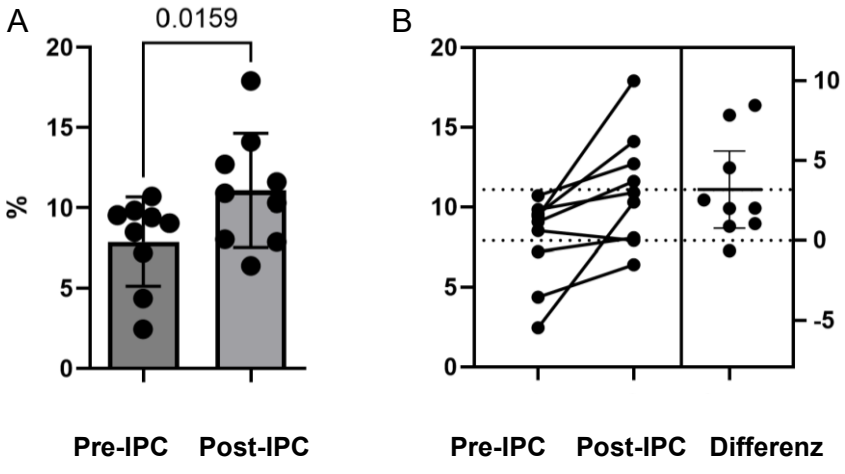

Abb. 26: Statistische Auswertung der terminalen natürlichen Killerzellen
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der terminalen natürlichen Killerzellen vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

3.3.3 Myeloid-derived suppressor cells (MDSC)

Die Abb. 27 und Abb. 28 zeigen die statistische Auswertung der MDSCs sowie ihrem Subtyp der eMDSCs. Dabei konnte sowohl bei den MDSCs (p=0,0266) als auch bei den eMDSCs (p=0,0386) ein signifikanter Unterschied zwischen den Messzeitpunkten festgestellt werden.

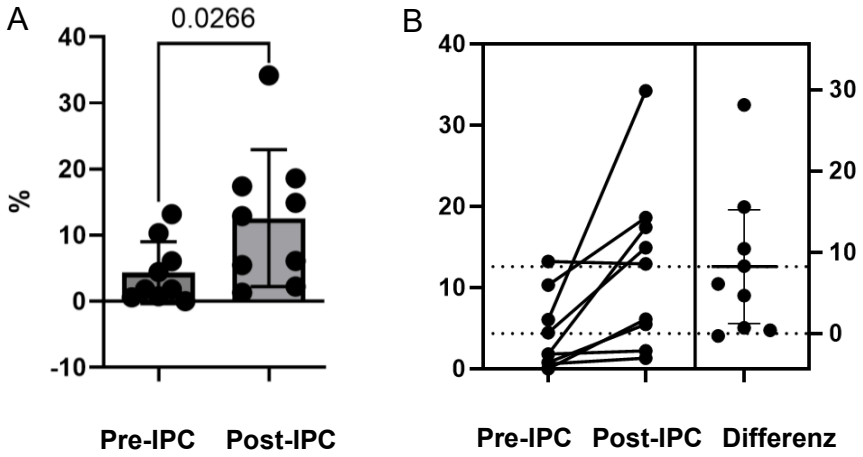

Abb. 27: Statistische Auswertung der myeloid-derived suppressor cells (MDSC)
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der myeloid-derived suppressor cells vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

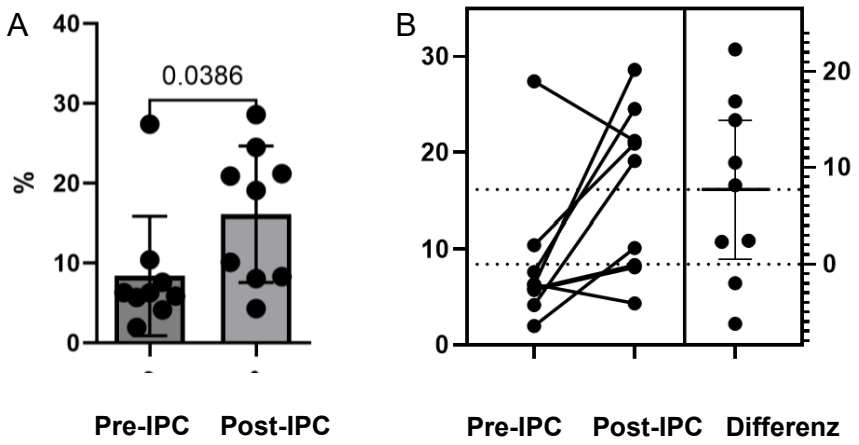

Abb. 28: Statistische Auswertung der early-stage myeloid-derived suppressor cells (eMDSC)
Darstellung der Ergebnisse der Analyse der Blutproben für den Zelltypen der early-stage myeloid-derived suppressor cells vor und nach der IPC-Intervention. Die y-Achse stellt jeweils den prozentualen Anteil des Zelltyps an seiner Zellpopulation dar. **A** Darstellung der Mittelwerte als Balken mit den Standardabweichungen sowie der Einzelwerte als Punkte. Darstellung des p-Werts für den Unterschied der Mittelwerte oberhalb der Klammer. **B** Darstellung der Wertepaare aller Probanden sowie deren Differenzen mit Mittelwert und Standardabweichung. IPC = Ischaemic Preconditioning.

4. Diskussion

Mit der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der Intervention Ischaemic Preconditioning auf die intramuskuläre metabolische Situation mittels der Technik der Mikrodialyse untersucht und eine durch die Intervention verursachte systemische Immunreaktion überprüft. Die beschriebenen Ergebnisse konnten zeigen, dass durch das IPC eine metabolische Reaktion induziert wurde, die mithilfe der Technik der Mikrodialyse gemessen werden konnte. Als weiterer Indikator dafür, dass das IPC einen wirksamen Reiz induziert hat, konnte in den gewonnenen Blutproben eine systemische Immunreaktion als Antwort auf die Intervention beobachtet werden. Nach aktuellem Wissen ist dies die erste Untersuchung, die die immunologische Reaktion auf eine IPC-Intervention an der unteren Extremität untersucht.

Im Folgenden sollen die erzielten Ergebnisse dieser Arbeit in den Kontext des aktuellen Wissensstands der Literatur gebracht und mögliche Schlussfolgerungen diskutiert werden.

4.1 Methode der Mikrodialyse

4.1.1 Methodische Aspekte

Die Methode der Mikrodialyse hat sich seit ihren Anfängen in den 1970er-Jahren in vielen Bereichen und als vielfältig einsetzbare Methode zur Untersuchung verschiedener Gewebe bewährt (s. Kapitel 1.1). Einen besonders großen Mehrwert hat sie bis heute im Bereich der Pharmakologie gebracht. Hier erlaubte die Methode die Untersuchung pharmakokinetischer Fragestellungen, z. B. im Bereich des Transports von Substanzen über die Blut-Hirn-Schranke, oder bei der Untersuchung der Freisetzung von Neurotransmittern in lokalen Bereichen des Gehirns, z. B. nach pharmakologischen Interventionen (Hammarlund-Udenaes, 2017). Im Zuge der vorliegenden Arbeit wurde die Technik erfolgreich zur Untersuchung des Muskelgewebes eingesetzt und das intramuskuläre Milieu konnte anhand der vier untersuchten Metabolite während einer IPC-Intervention analysiert werden.

Bei der Interpretation der Daten bleibt, wie in Kapitel 1.1 bereits erläutert, zu berücksichtigen, dass die Konzentration im entstehenden Dialysat nicht exakt den tatsächlichen Konzentrationen des extrazellulären Raums entsprechen kann, da durch die ständige Perfusion des Katheters kein vollständiges Gleichgewicht erreicht wird. Gleichwohl ist bekannt, dass man bei niedrigen Flussraten nahezu von einem Gleichgewicht bzw. von einer relative recovery (RR) von 100 % ausgehen kann (Rosdahl et al., 1998). Wie ebenfalls bereits erläutert, liegen Methoden vor, die eine Berechnung der tatsächlichen Konzentration im Gewebe anstreben, auch bei höheren Flussraten (Hansen et al., 1999). Des Weiteren bleibt zu berücksichtigen, dass der Stoffaustausch über den Katheter von den Eigenschaften des Mikrodialyse-Systems wie dem Kathetermaterial, der Größe der permeablen Fläche, dem MWCO oder der Flussrate sowie von Parametern abhängt, die nicht direkt beeinflussbar sind (Angleys und Østergaard, 2022).

Hier wäre u.a. der lokale Blutfluss im Untersuchungsgebiet zu nennen, der innerhalb eines Muskels regionale Unterschiede aufweist. Abhängig von den vorherrschenden metabolischen Anforderungen wird dadurch die Konzentration der vorliegenden Metabolite beeinflusst (Rådegran et al., 1998; Rosdahl et al., 1993). Bei der sog. Ethanol outflow/inflow ratio (o/i ratio) wird dem Perfusat eine bekannte Menge an Ethanol zugefügt und ins Verhältnis zur verbliebenen Menge im Dialysat gesetzt. Die Annahme beruht darauf, dass ein antiproportionales Verhältnis zwischen der Durchblutung im Untersuchungsgebiet und der verbliebenen Ethanol-Konzentration im Dialysat besteht. Die Ethanol o/i ratio gilt daher als inverser Marker des lokalen Blutflusses (Hickner et al., 1994; Widegren et al., 2010), auch wenn diese Korrelation nicht in allen Studien reproduziert werden konnte (Rådegran et al., 1998). Für lokale Unterschiede im Metabolismus bzw. für andere Einflussfaktoren innerhalb eines Muskels spricht ebenfalls, dass bei der simultanen Untersuchung eines Muskels mit mehreren Kathetern unterschiedliche Konzentrationen für Glukose und Laktat beobachtet wurden (MacLean et al., 1999).

Die Entnahme von Stoffen aus dem Untersuchungsgebiet führt darüber hinaus zu einem vorübergehenden Abfall der Konzentration dieser Stoffe in unmittelbarer Umgebung des Katheters, wodurch zumindest kurzfristig der für die Diffusion essenzielle

Konzentrationsgradient zwischen dem extrazellulären Raum und dem Perfusat im Katheter beeinflusst wird (Angleys und Østergaard, 2022; Maggs et al., 1995; Rosdahl et al., 1993). Dies würde schlussendlich auch zu einer Beeinflussung der Konzentration im Dialysat führen. Die Tatsache, dass die Mikrodialyse sehr gezielt lokale Veränderungen in einem Gewebe messen kann ist also Vor- und Nachteil zugleich. Auf der einen Seite ist sie in der Lage Veränderungen zu messen, die sich über indirekte Messungen, z. B. des Blutplasmas, oder andere Methoden wie der Positronen-Emissions-Tomografie (PET) oder der Magnetresonanzspektroskopie (MRS) nicht erfassen lassen (Carson et al., 2015; Maggs et al., 1995; Rosendal et al., 2004) bzw. potenziell nicht spezifisch für das untersuchte Gewebe sind (Ren et al., 2009). Auf der anderen Seite unterliegen diese lokalen Messungen vielen Einflussfaktoren, die die Interpretation der Ergebnisse erschweren bzw. die Extrapolation auf das gesamte Gewebe limitieren. Biligin-Freiert et al. (2012) empfehlen deshalb, sich bei der Interpretation auf die relativen Anstiege verglichen mit dem Ausgangsniveau der gemessenen Parameter zu fokussieren, um individuelle Unterschiede weniger ins Gewicht fallen zu lassen.

4.1.2 Metabolite

Im Zuge dieser Arbeit wurden die Metabolite Glucose, Laktat, Pyruvat und Glycerol während einer IPC-Intervention mithilfe der Technik der Mikrodialyse im intramuskulären Raum bzw. im extrazellulären Raum des Muskelgewebes gemessen.

4.1.2.1 Glucose

Die Glucosekonzentration betrug vor der Intervention durchschnittlich 3,02 mM. In vorherigen Studien wurden vorwiegend Konzentrationen zwischen 2,5 mM und 4,7 mM gemessen (Gudbjörnsdóttir et al., 2003; Korth et al., 2000; MacLean et al., 1999; Maggs et al., 1995; McConell et al., 2020; Müller et al., 1996; Östman et al., 2004; Ren et al., 2009; Rosdahl et al., 1993), teilweise aber auch deutlich niedrigere Konzentrationen (Rosdahl et al., 1993). Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen sich also für die Basalwerte gut mit den Ergebnissen frühere Arbeiten vergleichen. Während der IPC-Intervention

wurde ein Anstieg der Glucose-Konzentration auf durchschnittlich 5,35 mM beobachtet, was einem Anstieg auf 177 % entspricht. Nach aktuellem Wissensstand gibt es keine Studie, die die Glucosekonzentration in einem vergleichbaren IPC-Protokoll untersucht hat, weshalb eine Einordnung dieser Ergebnisse nur eingeschränkt möglich ist. Der beobachtete Anstieg lässt sich aber gut mit der Annahme vereinbaren, dass die durch die IPC-Intervention verursachte Belastung zu erhöhten Energieanforderung im Gewebe geführt hat, was eine Freisetzung von Glucose aus den Speichern der Muskulatur zur Folge hätte.

Rosdahl et al. (1993) führten in ihrer Studie eine einmalige Okklusion über 10 min durch und stellten hierbei einen Rückgang der Glucose-Konzentration nach der Intervention fest. Ähnliche Beobachtungen zeigten sich bei den Untersuchungen von Korth et al. (2000) und Östman et al. (2004), die einen Rückgang der Glucose-Konzentration während eines operativen Eingriffs am Bein unter Anlage einer Blutdruckmanschette feststellen konnten. Die Diskrepanz dieser Ergebnisse zu den Beobachtungen der vorliegenden Arbeit lassen sich möglicherweise mit dem hier angewandten intermittierenden IPC-Protokoll erklären, welches in den Phasen der Reperfusion zu einer vermehrten Durchblutung, also einer funktionellen Hyperämie, der untersuchten Extremität geführt hat. Rosdahl et al. (1993) haben in ihrer Arbeit neben den Metaboliten auch den lokalen Blutfluss beobachtet. Sie konnten feststellen, dass bei reduziertem Blutfluss durch Okklusion auch die Glucose-Konzentration abnahm. Gleichzeitig konnten sie bei einem gesteigerten Blutfluss durch Muskelaktivität und ohne Okklusion einen Anstieg der Glucose-Konzentration feststellen. Der gesteigerte Blutfluss in den Phasen der Reperfusion des IPC könnte somit dem Rückgang der Glucosekonzentration entgegengewirkt haben bzw. für den beobachteten Anstieg der Konzentration verantwortlich sein.

4.1.2.2 Laktat

Für die Konzentration von Laktat in Ruhe ergab sich in der vorliegenden Arbeit eine durchschnittliche Konzentration von 0,95 mM. In anderen Arbeiten wurden Werte zwischen 0,44 mM und 3,0 mM beschrieben (Bilgin-Freiert et al., 2012; Hagström-Toft et

al., 1997; Korth et al., 2000; MacLean et al., 1999; Müller et al., 1996; Östman et al., 2004; Rosdahl et al., 1998; Rosdahl et al., 1993), womit die Ergebnisse dieser Arbeit im Rahmen des bisher publizierten Bereichs liegen. Im Verlauf des IPC konnte in dieser Arbeit ein Anstieg der Laktat-Konzentration auf durchschnittlich 2,85 mM beobachtet werden, was einer Verdreifachung entspricht. Bilgin-Freiert et al. (2012) konnten mit einem ähnlichen IPC-Protokoll (vier Zyklen von jeweils 5 min Okklusion/Reperfusion) einen Anstieg der Laktat-Konzentration von 3,0 auf 3,9 mM verzeichnen, was lediglich einem Anstieg um 30 % entspricht. Zu berücksichtigen bleibt hier jedoch die relativ hohe Basalkonzentration von 3,0mM. Die erreichte Laktat-Konzentration von 3,9 mM im Anschluss an die Intervention liegt wiederrum sehr nahe an der in der vorliegenden Arbeit gemessenen Konzentration zu diesem Zeitpunkt (Reperfusion 3: 4,04 mM, nicht publizierte Daten), welche gleichzeitig die höchste gemessene Konzentration darstellte. Boschmann et al. (2002) konnten während einer 70-minütigen Belastung auf dem Fahrradergometer bei 50 % der maximalen Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2\,max}$) einen Anstieg der Laktat-Konzentration von 1,28 mM auf 2,85 mM beobachten, was einen Anstieg um den Faktor 2,2 entspricht und damit etwas unter dem Anstieg der vorliegenden Arbeit liegt. Wenngleich die beiden Belastungsarten nur schwer vergleichbar sind, scheint die metabolische Reaktion bezogen auf den Metaboliten Laktat während einer IPC-Intervention mit einer solchen Belastung auf dem Fahrradergometer vergleichbar zu sein. Auch während permanenter Ischämie durch Anlage einer Blutsperre während operativer Eingriffe konnten verschiedene Arbeiten einen linearen Anstieg der Laktat-Konzentration im Muskel beobachten. Hierbei wurden über 75-90 min Anstiege um das 2-2,5-fache festgestellt. Im Zuge dieser Arbeiten wurde der anaerobe Stoffwechsel zusätzlich durch das Anheben der Extremität vor der Anlage der Blutsperre gefördert (Korth et al., 2000; Östman et al., 2004). Es zeigt sich also, dass die IPC-Intervention, ähnlich wie körperliche Belastung oder eine künstlich herbeigeführte Ischämie, zu einem Anstieg der anaeroben Energiegewinnung führt. Außerdem lässt sich vermuten, dass die lokale Akkumulation der Metabolite durch die mechanische Okklusion gefördert wurde.

4.1.2.3 Pyruvat

Die basale Pyruvat-Konzentration lag in dieser Arbeit bei 19,56 µM. In vorherigen Studien wurden vorwiegend Konzentration zwischen 25 µM und 85 µM gemessen (Boschmann et

al., 2002; Gerdle et al., 2014; Östman et al., 2004; Rosdahl et al., 1998). Damit liegt die hier gemessene Pyruvat-Konzentration etwas unterhalb der bisher gemessenen Werte. Es sind aber auch Werte knapp über 150 µM beschrieben (Bilgin-Freiert et al., 2012). Im Verlauf der hiesigen IPC-Intervention wurde ein Anstieg der Pyruvat-Konzentration auf durchschnittlich 75,68 µM beobachtet, was einem Anstieg auf etwa 387 % des Basalwerts entspricht. In der IPC-Intervention von Bilgin-Freiert et al. (2012) zeigte sich im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit ein leichter Rückgang der Pyruvat-Konzentration durch die Intervention. Östman et al. (2004) beobachteten in ihrer Studie im operativen Setting, dass die Okklusion durch eine Blutsperre über 90 min ebenfalls zu einem leichten Rückgang der Pyruvat-Konzentration führte. Sie beobachteten jedoch auch, dass 20 min nach Einsetzen der Reperfusion ein Anstieg der Pyruvat-Konzentration auf 250 % des Basalwerts stattfand. Diese Beobachtung deckt sich mit den Ergebnissen von Rosendal et al. (2004), die einen Anstieg der Pyruvat-Konzentration von 160 % im Anschluss an eine low-force-movements-Intervention (Simulation leichter Bürotätigkeiten) im M. trapezius nach zuvor unveränderten Werten feststellten. Möglicherweise kam es in der vorliegenden Arbeit durch die längeren Reperfusionsphasen (10 min) bereits zu einem solchen Anstieg der Pyruvat-Konzentration, der nicht nur ein Abfallen in den Phasen der Okklusion maskierte, sondern über den gesamten Zeitraum der Intervention zu einem Anstieg führte.

4.1.2.4 Glycerol

Für Glycerol konnte in dieser Arbeit eine durchschnittliche Konzentration von 71,41 µM gemessen werden, andere Arbeiten maßen vorwiegend Konzentrationen zwischen 40 µM und 96 µM (Hagström-Toft et al., 1997; Ren et al., 2009; Rosdahl et al., 1998), aber auch deutlich geringere (Bilgin-Freiert et al., 2012) und vielfach höhere Werte sind beschrieben (Maggs et al., 1995). Die Werte dieser Arbeit liegen damit im mittleren Bereich, der zum Großteil gemessen Werte vergangener Publikationen. Im Verlauf der IPC-Intervention der vorliegenden Arbeit kam es zu einem Anstieg der Glycerol-Konzentration auf 182,41 µM, was einem 2,5-fachen Anstieg entsprach. In der IPC-Intervention von Bilgin-Freiert et al. (2012) wurde kein Anstieg der Glycerol-Konzentration festgestellt. Sie erklärten es sich damit, dass der ischämische Reiz nicht ausreichend war, um eine Degradation der

Zellwände und damit eine Freisetzung von Glycerol als Bestandteil ebendieser auszulösen. Möglicherweise war die doppelte Länge der Ischämiezeit in der vorliegenden Arbeit (10 min) ausreichend, um eine Auflösung von Zellmembranen und als Folge den gemessenen Konzentrationsanstieg auszulösen. Glycerol gilt als Marker für Muskelschaden und konnte beispielsweise während operativer Eingriffe mithilfe der Mikrodialyse-Technik intramuskulär gemessen werden. Hierbei wurde ein Anstieg um 250 % im beteiligten Muskel und um 20 % in einem entfernten Kontrollmuskel festgestellt. Hieraus wurde abgeleitet, dass der Anstieg zum einen lokal durch den induzierten Muskelschaden und systemisch durch eine gesteigerte Lipolyse infolge eines erhöhten Sympathikotonus verursacht wurde (Ren et al., 2009). Ob die Anstiege der Glycerol-Konzentration schlussendlich nur auf die IPC-Intervention zurückzuführen sind oder ob die Einbringung des Katheters und der damit einhergehende Muskelschaden ebenfalls dazu beigetragen haben, ist nicht eindeutig zu unterscheiden.

4.1.2.5 Laktat/Pyruvat-Verhältnis

Das basale Laktat/Pyruvat (Lak/Pyr)-Verhältnis betrug in der vorliegenden Arbeit durchschnittlich 68,26, während andere Arbeiten vorwiegend Werte zwischen 21 und 50 (Bilgin-Freiert et al., 2012; Boschmann et al., 2002; Gerdle et al., 2014; Korth et al., 2000; Östman et al., 2004; Ren et al., 2009) ermittelten. Damit liegen die Werte dieser Arbeit im Mittel höher als bei bisher publizierten Daten. Ein Teil der Erklärung hierfür sind die vergleichsweise niedrigen basalen Pyruvat-Konzentrationen. Die große Streuung des Lak/Pyr-Verhältnisses (SD: 44,31) spricht darüber hinaus für sehr große interindividuelle Unterschiede. Im Verlauf der IPC-Intervention konnte kein signifikanter Unterschied zu den Basalwerten festgestellt werden, lediglich im Anschluss an die Intervention wurde ein Abfall des Quotienten beobachtet. Durch den ischämischen Reiz der Intervention wäre ein Anstieg des Lak/Pyr-Verhältnisses durch ansteigende Laktat-Werte und tendenziell abfallende oder weniger stark ansteigende Pyruvat-Werte zu erwarten gewesen, da sich der Metabolismus im Muskelgewebe durch die Sauerstoffkarenz auf eine anaerobe Energiegewinnung mit der Bildung von Laktat aus Pyruvat umstellt.

Bilgin-Freiert et al. (2012) konnten in ihrer IPC-Intervention einen solchen Anstieg des Lak/Pyr-Verhältnisses beobachten (von 21,2 auf 26,8) und führten dies ebenfalls auf eine vermehrt anaerobe Energiegewinnung zurück. Dies steht im Einklang mit der Literatur, dass das Lak/Pyr-Verhältnis als Indikator für die Zellischämie gewertet werden kann und unter Hypoxie oder körperlicher Belastung im Allgemeinen ansteigt (Boschmann et al., 2002; Hanberg et al., 2021; Ren et al., 2009).

Die vorliegende Arbeit zeigte demnach hierzu keine Übereinstimmung. Eine mögliche Erklärung könnte in den sehr hohen und breit gestreuten Ausgangswerten liegen. Die Werte des Lak/Pyr-Verhältnisses für mean IPC (53,99) und Post-IPC (35,98) in dieser Arbeit sind durchaus mit Werten für hypoxische oder körperliche Belastung anderer Arbeiten vergleichbar (Boschmann et al., 2002; Hanberg et al., 2021). Ebenso zeigt sich hier in der Tendenz der physiologische Rückgang nach der Intervention, auch wenn kein signifikanter Unterschied bestand. Weshalb die Ausgangswerte so hoch ausfallen, lässt sich nicht eindeutig erklären. Bei den Basalwerten der Metabolite sind lediglich die Werte für Pyruvat verglichen mit anderen Arbeiten auffällig niedrig, was hohe Werte für das Lak/Pyr-Verhältnis zur Folge hat. Ebenso war die geringe Probandenanzahl der vorliegenden Arbeit anfälliger für individuelle Variabilität oder nicht erfasste Störfaktoren. Nicht auszuschließen ist auch, dass die Einbringung des Katheters trotz der 30-minütigen Regenerationszeit vor Beginn der Messung Einfluss auf die Werte hatte. Ungerstedt (1991) geht davon aus, dass der Schaden durch die Katheterimplantation nach etwa einer Stunde abgeklungen sei, andere Autoren sprechen von einer Anpassungszeit von zwei Stunden (Carson et al., 2015). Fraglich bliebe in diesem Fall jedoch, weshalb sich ein solcher Einfluss nur in den Werten für Pyruvat bemerkbar gemacht haben sollte und nicht etwa auch in den Werten von Glycerol, welche, wie bereits ausgeführt, einen Marker für Muskelschaden darstellen. Für die Werte von Laktat und Glukose konnten Carson et al. (2015) keinen Effekt durch die Katheterimplantation beobachten, wohingegen IL-6 und IL-8 als Marker für den Muskelmetabolismus, aber auch für eine inflammatorische Reaktion, noch sieben Stunden nach der Implantation erhöht waren. Es scheint demnach zumindest eine längere Reaktion auf die Einbringung des Katheters zu geben, die über die Anpassungszeit von 30 min hinaus geht.

4.1.2.6 Korrelationen

Nach aktuellem Wissensstand wurden im Zuge dieser Arbeit erstmalig Zusammenhänge zwischen der Muskelmasse und intramuskulären Metabolitkonzentrationen während einer ischämischen Belastung untersucht. Hierbei konnte eine negative Korrelation zwischen der absoluten Glucose-Konzentration während der IPC-Intervention und der Muskelmasse im untersuchten Bein (Magermasse Bein rechts) gezeigt werden. In Verbindung mit dem erwähnten Konzentrationsanstieg bedeutet dies, dass eine größere Muskelmasse zu einem weniger starken Anstieg der Glukose-Konzentration geführt hat. Dies könnte ein Hinweis auf eine schnellere Verstoffwechselung von Glukose durch die größere Muskelmasse sein. Die Laktat-Konzentration zeigte in zwei Untersuchungszeitpunkten (Reperfusion 2 und IPC3) entsprechend einen positiven Zusammenhang zur Magermasse des rechten Beins, was zur vermehrten Verstoffwechselung in Form der anaerob-laktaziden Glykolyse passen würde. Ebenso zeigten auch bei den relativen Pyruvat-Werten einige Messzeitpunkte (Reperfusion 1, IPC2, Reperfusion 3) positive Korrelation. Es bleibt jedoch auch zu berücksichtigen, dass die beobachteten Zusammenhänge nicht durchweg eindeutig sind und es sich um eine kleine Stichprobe handelt. Es bedarf also weiterer Untersuchungen, um die Kausalität dieser Zusammenhänge festzustellen.

4.2 Methode des Ischaemic Preconditioning

Auch bei der Methode des Ischaemic Preconditioning hat sich eine große Entwicklung seit den Anfängen vor mehr als 30 Jahren gezeigt. Von einer invasiven Methode zur Protektion des Herzens vor ischämischen Ereignissen hin zu einer Methode, die durch die einfache Anwendbarkeit an den Extremitäten nicht nur protektive Effekte für verschiedene Organe gezeigt hat, sondern auch erfolgreich zur Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit bzw. als Unterstützung im Trainingsbereich eingesetzt wurde. Es gibt also sowohl lokale („klassisches“ IPC oder IPost) als auch systemische Effekte (RIPC, RIPost). Für beide gilt jedoch, dass die zugrundeliegenden Mechanismen nicht vollständig verstanden sind. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte die Methode des IPC einen messbaren Stimulus im Muskelgewebe erzeugen.

4.2.1 Mechanismen des IPC am Beispiel der Kardioprotektion

Den Effekten des IPC bzw. des RIPC auf das Myokardgewebe wurde in der Vergangenheit besonders viel Aufmerksamkeit geschenkt. Nach aktuellem Wissen ist dies der einzige Effekt, dessen klinische Wirksamkeit in großen multi-center Studien getestet wurde (Hausenloy et al., 2016; Meybohm et al., 2015), was das große Interesse in diesem Bereich unterstreicht, wenngleich diese Studien keine ausschlaggebenden Verbesserungen feststellen konnten. Aus diesem Grund wurden in der Vergangenheit viele Bemühungen angestellt, um die zugrundeliegenden Mechanismen zu erforschen. Auch wenn die genauen Vorgänge bis heute nicht eindeutig verstanden sind, gibt es einen Konsens darüber, dass es drei Komponenten gibt, über die das RIPC seinen Effekt am Herzen vermittelt: eine neuronale, eine humorale und eine systemische (s. Abb. 29). Hierbei werden zunächst Effektoren durch das RIPC im peripheren Gewebe freigesetzt, die dann über diese drei Pfade der Signalübertragung eine kardioprotektive Antwort im Myokard induzieren. Dieser Effekt wird in Studien i. d. R. durch die Reduktion der Größe des Infarktareals quantifiziert (Donato et al., 2021; Gill et al., 2015; Hausenloy und Yellon, 2008).

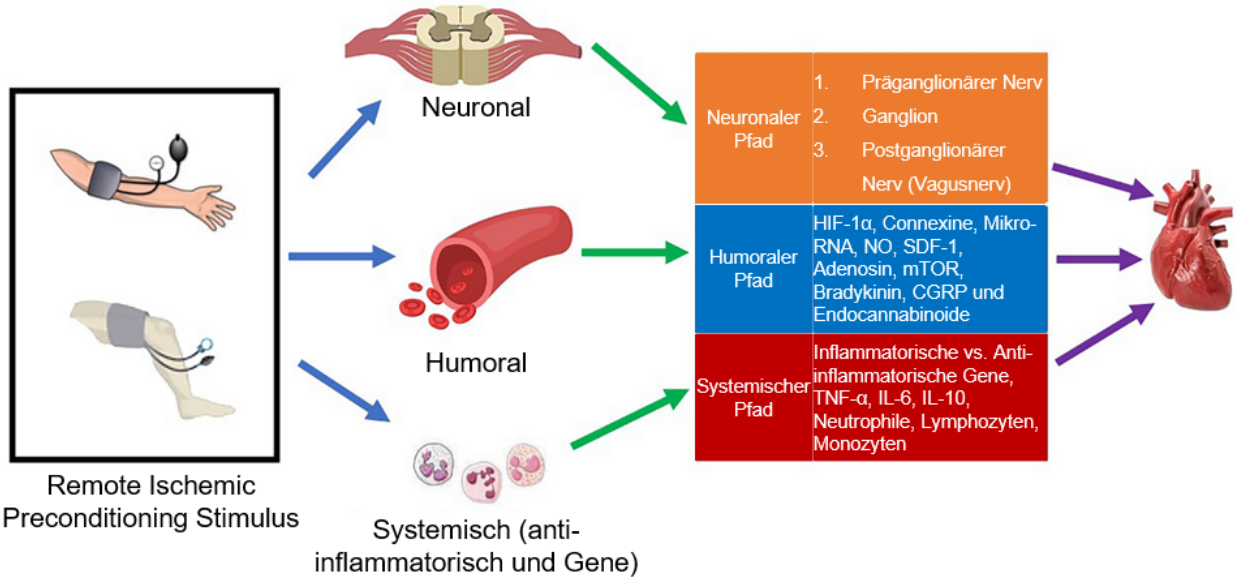

Abb. 29: Mechanismen des Remote Ischemic Preconditioning (RIPC) am Herzmuskel (modifiziert nach Donato et al., 2021)
CGRP = calcitonin gene-related peptide, HIF-1α = hypoxia inducible factor 1α, IL = Interleukin, mTOR = mechanistic target of Rapamycin, NO = Stickstoffmonoxid, RNA =

Ribonukleinsäure, SDF-1 = stroma cell-derived factor 1 (entspricht C-X-C chemokine ligand (CXCL) 12), TNF-α = Tumornekrosefaktor α.

Für die Beteiligung humoraler Faktoren, die über den Blutstrom zum Herzen gelangen und dort wirken, sprechen unterschiedliche Erkenntnisse aus vergangenen Arbeiten. Es konnte gezeigt werden, dass das periphere Gewebe, an dem der Stimulus appliziert wurde, erst wieder reperfundiert werden muss, bevor ein kardioprotektiver Effekt einsetzte (Donato et al., 2021). Darüber hinaus wurde in Tiermodellen beobachtet, dass die Übertragung von Blutbestandteilen aus einem präkonditionierten auf ein nicht-präkonditioniertes Tier ebenfalls zu einer Vermittlung eines kardioprotektiven Effekts geführt hat (Dickson et al., 2001). Auch eine Akkumulation von HIF-1α in atrialem Gewebe, das vermutlich eine zentrale Rolle bei der Kardioprotektion spielt, konnte gezeigt werde und unterstützt die Beteiligung humoraler Faktoren (Eckle et al., 2008). Neben HIF-1α werden vielen weitere potentielle Mediatoren genannt, darunter Stickstoffmonoxid, Nitrite, Aminosäuren, Zytokine, Neuropeptide, Adenosin oder glucagon-like peptide-1 (GLP-1) (Donato et al., 2021; Gill et al., 2015).

Auch für den neuronalen Pfad gibt es Evidenz, dass eine intakte Innervation des präkonditionierten Gewebes benötigt wird, um den Effekt des RIPC an den Herzmuskel zu vermitteln. Beispielsweise konnte nach der Durchtrennung des N. femoralis ein Ausbleiben des Effekts nach RIPC an der unteren Extremität gezeigt werden (Donato et al., 2021). Durch die Freisetzung endogener Substanzen wie Adenosin, Bradykinin oder dem calcitonin gene-related peptide (CGRP) im präkonditionierten Gewebe werden dort afferente Nervenfasern stimuliert, die wiederum über die Aktivierung efferenter Nervenfasern am Myokard wirken und den protektiven Effekt auslösen (Hausenloy und Yellon, 2008; Heusch, 2015). Hierbei scheint das vegetative Nervensystem eine besonders wichtige Rolle zu spielen. Im Speziellen wurde eine Beteiligung der parasymphatisch-vagalen Signalübertragung beobachtet (Donato et al., 2021). Konstantinov et al. (2005) hingegen konnten zeigen, dass ein protektiver Effekt auch dann einsetzt, wenn zuvor eine Denervierung des Herzens stattgefunden hat. Hier scheint der protektive Effekt über einen anderen Mechanismus vermittelt worden zu sein.

Ein Teil des systemischen Pfads beinhaltet eine Antwort immunologischer Parameter auf den IPC-Stimulus. Hierauf soll an späterer Stelle gesondert eingegangen werden. Darüber hinaus zeigt sich ein systemischer Effekt des IPC in einer veränderten Genexpression. Da die hierdurch eingeleitete Synthese bestimmter Proteine Zeit in Anspruch nimmt, zeigen die Effekte des IPC einen zweigipfligen Verlauf. Neben der frühen Phase, die sofort einsetzt und etwa 1-2 h anhält, gibt es noch eine zweite, spätere Phase, die auch als second window of preconditioning (SWOP) bezeichnet wird. Diese setzt etwa nach 12 h ein und zeigt ihre Wirkung über 48-72 h. Diese Verzögerung lässt sich dadurch erklären, dass zunächst Faktoren durch den IPC-Stimulus im präkonditionierten Gewebe generiert werden, darunter auch hier wieder Substanzen wie Adenosin, Bradykinin, Opioide, Zytokine, Stickstoffmonoxid, ROS, TNF-α oder IL-6. Diese rekrutieren Mediatoren wie die Proteinkinase-C, die Tyrosinkinase oder die Januskinase, die wiederum Transkriptionsfaktoren aktivieren wie z. B. signal transducers and activators of transcription 1/3 (STAT1/3), nuclear factor-κB (NF-κB), activator protein-1 (AP-1) oder HIF-1α. Diese induzieren schließlich die de-novo Synthese verschiedener Proteine, darunter die induzierbare NO-Synthase (iNOS), Hitzeschockproteine (HSP) oder die Cyclooxygenase-2 (COX-2), welche das Myokard vor der Infarzierung schützen, indem sie auf ATP-abhängige Kalium-Kanäle (K_{ATP}-Kanäle) und die mitochondrial permeability transition pore (mPTP) wirken (Hausenloy und Yellon, 2010). Hieran schließt sich die Vermutung von Gill et al. (2015) an, die das Mitochondrium als Endstrecke der Signaltransduktion sehen. Hier kommt es zur Öffnung ebendieser K_{ATP}-Kanäle, wodurch wiederum ROS entstehen. Diese vermitteln die Kardioprotektion, indem sie pro-survival Kinasen hochregulieren und die Öffnung der mPTP inhibieren, welche den Zelltod während der frühen Reperfusion vermitteln kann. Darüber hinaus konnten Konstantinov et al. (2004) zeigen, dass die Genexpression unmittelbar nach dem IPC eine große individuelle Variabilität aufweist und nach 24h deutlich homogener zu sein scheint. Hierbei konnte die reduzierte Expression von Genen beobachtet werden, die für die angeborene Immunantwort (toll-like receptor 4, TLR4) sowie für die TNF-α-Signalkaskade, also inflammatorische Prozesse, eine Rolle spielen. Eine gesteigerte Expression wurde wiederum bei Genen für HSP70, die u.a. vor oxidativem Stress schützen, und für Calpastatin beobachtet. Letzteres ist ein endogener Inhibitor der Calpaine, einer

Protease, die u.a. in Prozesse der Apoptose und der Nekrose involviert ist (Zatz und Starling, 2005).

4.2.2 Einfluss von IPC auf den Skelettmuskel und die körperliche Leistungsfähigkeit

4.2.2.1 Methodische Aspekte

Auch in die Trainingswissenschaften und die Forschung am Skelettmuskel hat die Methode des IPC bereits Einzug gefunden, da man beobachten konnte, dass IPC protektive sowie ergogene Effekte auslösen kann. Mehrere Autoren bzw. Arbeitsgruppen haben große Analysen der bisher durchgeführten Studien angestellt und diese hinsichtlich der verschiedenen Effekte von IPC auf die körperliche Leistungsfähigkeit untersucht. Dabei wurden diverse Belastungen sowie die sportliche Performance in unterschiedlichsten Bereichen untersucht, z. B. Schwimmen, Fahrradfahren oder Laufen. Neben diesen Leistungen auf Zeit wurden auch Leistungsparameter wie die Maximalkraft, die maximale Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2\ max}$) oder die Erschöpfungsresistenz untersucht (Caru et al., 2019; Horiuchi, 2017; Incognito et al., 2016). Trotz der Vielzahl an Studien lässt sich jedoch keine eindeutige Aussage über den Effekt des IPC treffen, wenngleich die Effekte aus den einzelnen Studien nicht zu vernachlässigen sind. Ein Grund dafür, weshalb es bisher nicht möglich ist verallgemeinerbare Aussagen über den Effekt des IPC zu treffen, liegt in der großen Variabilität in der Methodik der einzelnen Studien. Durch unterschiedliche Interventionsprotokolle hinsichtlich Anzahl der IPC-Zyklen, der Dauer der Okklusion oder der Zeit zwischen der Intervention und den Leistungstests sowie durch heterogene Probandengruppen lassen sich die Studien untereinander nur schwer vergleichen (Caru et al., 2019; O'Brien und Jacobs, 2021). Außerdem gibt es bislang nur sehr wenig Erkenntnisse darüber, wie ein ideales IPC-Protokoll aussieht. Viele Studien nutzten drei oder vier Zyklen von jeweils 5 min Okklusion und Reperfusion. Eine Arbeit konnte im Vergleich bei deutlich mehr Zyklen (8x5 min) keinen weiteren Effekt auf die Leistung auf dem Fahrradergometer beobachten (Cocking et al., 2018). Ebenso konnte eine Arbeit keinen Effekt auf die sportliche Performance bei weniger als drei Zyklen feststellen (de Groot et al., 2010).

Ein weiterer methodischer Aspekt bezieht sich auf die Anwendung der Blutsperre. In vielen Studien wurde der Druck der Manschette über alle Probanden gleich festgelegt und nicht individualisiert. Es ist jedoch bekannt, dass es eine große interindividuelle Spannweite des arteriellen Okklusionsdrucks (AOP) gibt, der auch von den Eigenschaften der Manschette wie dem Material und der Breite abhängt. Loenneke et al. (2012) beschreiben in ihrer Arbeit Verschlussdrücke von 100-300 mmHg. Darüber hinaus ist bekannt, dass zu hohe Drücke zu Schäden im Gewebe führen können (Murphy et al., 2006), wodurch die Interpretation der Messungen erschwert werden kann, da die Effekte des IPC und die Effekte der verursachten Schäden durch die Blutsperre potentiell miteinander interagieren oder sich überlagern. Es wird daher empfohlen den AOP für jeden Probanden individuell festzulegen und die Blutsperre dementsprechend anzuwenden (O'Brien und Jacobs, 2021).

In Rahmen dieser Studie wurde ein personalized tourniquet system (PTS) verwendet, welches bei jedem Probanden vor der IPC-Intervention zunächst den individuellen Verschlussdruck gemessen hat. Diese reichten von 188-286 mmHg (nicht publizierte Daten) und liegen damit im Rahmen der Werte von Loenneke et al. (2012). Wenngleich auch hier nicht auszuschließen ist, dass durch die Manschette selber Gewebsschäden induziert wurden, ließ sich so das Risiko minimieren, wesentlich höhere Drücke als nötig anzuwenden.

4.2.2.2 Potentielle Mechanismen

Auch im Bereich des Muskelgewebes sind die Mechanismen, die hinter den beobachteten Effekten des IPC stehen, bislang noch nicht eindeutig identifiziert. Incognito et al. (2016) machen zwei grundlegende Mechanismen für die leistungssteigernden Effekte verantwortlich. Zum einen verbessere das IPC die metabolische Effizienz im Muskelgewebe während einer darauffolgenden Belastung. Im Tiermodell konnte beobachtet werden, dass IPC zu einem geringeren Abfall der ATP-Konzentration im Gewebe führt. Wie im Myokard sollen auch hier K_{ATP}-Kanäle eine wichtige Rolle spielen. Dies geht mit der Beobachtung einher, dass eine verminderte Ischämie-induzierte mitochondriale Dysfunktion festgestellt wurde. Hierfür wurde eine vermehrte NO-Produktion durch das IPC verantwortlich gemacht. Gürke et al. (2000) konnten die Beteiligung der K_{ATP}-Kanäle in ihrer Arbeit jedoch nicht eindeutig bestätigen. Zwar gelang

es ihnen den Effekt von IPC mittels medikamentöser K_{ATP}-Kanal-Öffner (KCO, hier: Cromakalin) nachzuahmen, jedoch konnte eine Blockade dieser Kanäle den Effekt nicht unterdrücken. Vermutlich konnte eine multifaktorielle Genese der Effekt die Blockade der Kanäle kompensieren. Des Weiteren konnte ein geringerer Abfall von Glukose sowie eine geringerer Laktatproduktion durch die Belastung im Muskelgewebe beobachtet werde. Zusammen spricht dies für eine gesteigerte metabolische Effizienz und/oder einen reduzierten Energiebedarf durch IPC in Situation von ischämischem Stress bzw. muskulärer Belastung.

Zum anderen beeinflusse IPC den Blutfluss im präkonditionierten Gewebe. Hierdurch ergibt sich im Anschluss an die Intervention ein disproportional erhöhter Blutfluss verglichen mit dem vorherrschenden Sauerstoffbedarf, was in einer verbesserten Sauerstoffsättigung im Muskelgewebe resultiert. Weiter konnten protektive Effekte des IPC gegen Ischämie-induzierte endotheliale und mikrovaskuläre Dysfunktionen gezeigt werden. An dieser Stelle wird erneut NO als wichtiger Mediator genannt, welches durch seinen vasodilatatorischen Effekt zur verbesserten Durchblutung beiträgt. Im Tiermodell konnte als Antwort auf das IPC außerdem eine erhöhte Anzahl von geöffneten Kapillaren im Muskelgewebe nach Ischämie festgestellt werden (Jerome et al., 1995).

Caru et al. (2019) vermuten darüber hinaus, dass sich ein Effekt durch IPC eher bei der gesunden Bevölkerung als bei professionellen Athleten zeigt. Dies geht damit einher, dass es vermutlich individuelle Unterschiede hinsichtlich des Ansprechens auf eine Intervention wie dem IPC gibt. Bei allgemeiner körperlicher Aktivität bzw. bei Training ist bereits bekannt, dass es eine große interindividuelle Variabilität dahingehend gibt, wie sehr Probanden hiervon profitieren bzw. inwiefern sich ein Effekt einstellt. Aus diesem Grund wird vermutet, dass es auch bei der IPC-Intervention Individuen gibt, bei denen dieser Stimulus einen Effekt auslöst und solche bei denen dies nicht oder nur weniger der Fall ist. Hier spricht man von sog. respondern und non-respondern (Caru et al., 2019), wobei die Ansprechraten bei aeroben und anaerob-laktaziden Belastungen deutlich höher zu sein scheinen als bei anaerob-alaktaziden Belastungen (70 und 74 % gegenüber 44 %) (Incognito et al., 2016). Es ist bis heute jedoch noch nicht gelungen einen Biomarker zu identifizieren, der die Effektivität von IPC widerspiegelt und so responder von non-respondern unterscheiden könnte (Koch et al., 2014).

Neben den bereits erwähnten Veränderungen in der Genexpression im Rahmen des RIPC wurden solche auch im Muskelgewebe mittels Biopsien untersucht, um den lokalen Einfluss von IPC zu ermitteln. Murphy et al. (2010) untersuchten so den Einfluss einer IPC-Intervention vor einer endoprothetischen Operation am Knie unter Anlage einer Blutsperre (Okklusionszeit von 68-87 min). Sie konnten beobachten, dass bereits vor dem Eingriff 257 Gene im Vergleich zur Kontrollgruppe unterschiedlich (>1,5-facher Unterschied) reguliert waren, davon 162 hoch- und 95 runterreguliert. Nach einstündiger Ischämie zeigte eine weitere Biopsie, dass bereits 786 Gene, davon 519 hoch- und 267 runterreguliert, verändert waren. Bei näherer Betrachtung zeigte sich, dass Gene, die mit der frühen Immunantwort, der Abwehr gegen oxidativen Stress, z. B. für Antioxidantien oder Enzyme der Entgiftung wie der Catalase oder der Gluthation-S-Transferase sowie mit dem Zellüberleben, z. B. für HSPs, assoziiert sind, hochreguliert wurden. Eine geringere Expression zeigte sich hingegen bei Genen, die mit dem Zelltod assoziiert sind wie den Caspasen 7 und 8. Es lässt sich also festhalten, dass die lokalen und systemischen Veränderungen in der Genexpression insgesamt im Einklang miteinander stehen, da beide u.a. die Zellabwehr stärken und Mechanismen des Zelltods abschwächen. Nichtsdestotrotz weisen Murphy et al. (2010) darauf hin, dass lokales IPC und RIPC unterschiedliche Formen der Präkonditionierung sind, deren Mechanismen vermutlich nicht vollständig gleich sind.

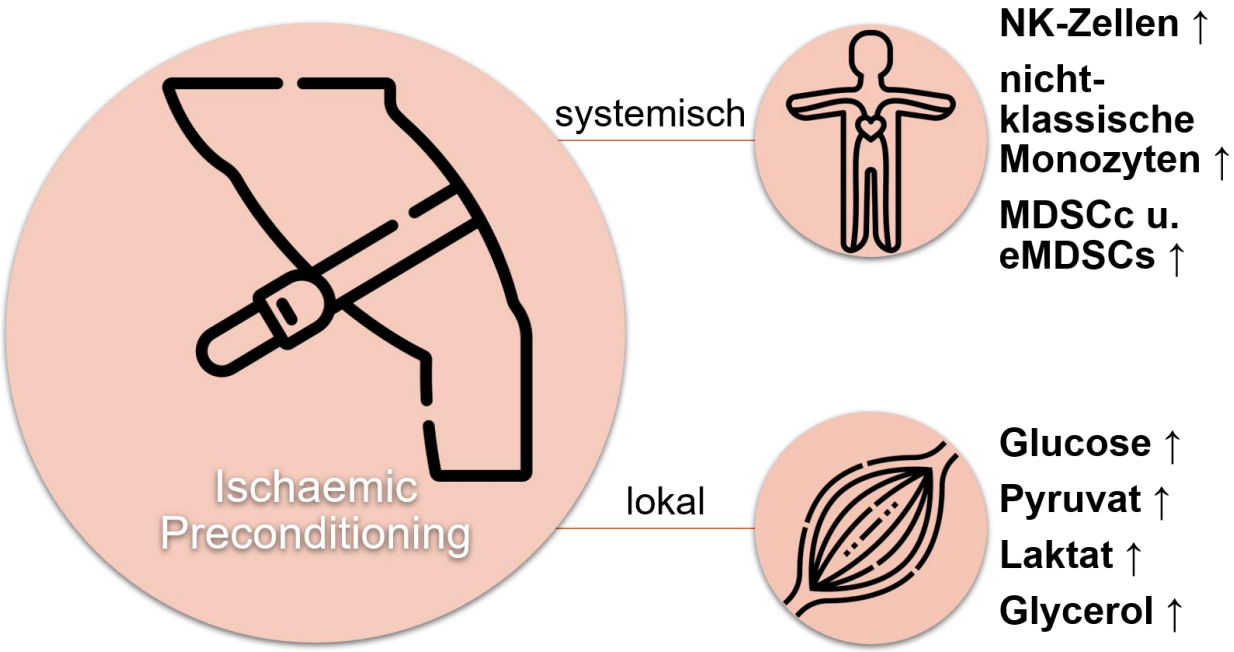

Abb. 30: Effekte des IPC auf systemischer und lokaler Ebene (eigene Darstellung, Icons von Freepik und Hajicon via www.flaticon.com, lizenziert unter CC BY 4.0)
Dargestellt ist eine Übersicht, der in der vorliegenden Arbeit beobachteten Effekte des IPC. Zum einen systemisch gemessen, mittels venöser Blutproben, und zum anderen lokal im intramuskulären Raum, mithilfe der Technik der Mikrodialyse. (e)MDSC = (early-stage) myeloid-derived suppressor cells, NK-Zellen = natürliche Killerzellen.

4.3 Immunologische Antwort auf das IPC

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurde die systemische Antwort auf die IPC-Intervention anhand verschiedener Immunzelltypen der angeborenen Immunantwort im Blut untersucht. Hierzu wurden den Probanden jeweils vor und nach der Intervention venöse Blutproben entnommen und anschließend die Anzahl bzw. der Anteil der untersuchten Immunzellen verglichen.

In der Literatur gibt es nach aktuellem Wissensstand nur eine Arbeit, die den Einfluss einer IPC-/RIPC-Intervention auf die Immunzellverteilung und deren Veränderungen beobachtet hat. Die Arbeitsgruppe um Mollet et al. (2022) untersuchte in ihrer als Pilotstudie postulierten Arbeit den Einfluss von RIPC mit vier Zyklen á fünf Minuten Okklusion/Reperfusion unilateral an der oberen Extremität auf verschiedene Zelltypen des Immunsystems. Sie verglichen die Anzahl dieser Immunzellen in venösen Blutproben, die

vor der Intervention, direkt im Anschluss sowie vier und 22 Stunden nach der Intervention abgenommen wurden. Die Autoren beobachteten in ihrer Arbeit keine Unterschiede zwischen den Zeitpunkten vor und direkt nach der Intervention bei den Zellen des angeborenen Immunsystems (Monozyten, dendritische Zellen, NK-Zellen). In der vorliegenden Arbeit konnten hingegen verschiedene Veränderungen zu vergleichbaren Messzeitpunkten festgestellt werden. Bei den Subtypen der Monozyten wurde ein Anstieg der nicht-klassischen Monozyten beobachtet ($p=0,0121$) sowie ein Anstieg bei allen Subtypen der NK-Zellen (frühe NK-Zellen: $p=0,0329$, reife NK-Zellen: $p=0,0097$, terminale NK-Zellen: $p=0,0159$). Bei direktem Vergleich der beiden Studien fallen methodische Unterschiede auf, die die unterschiedlichen Ergebnisse erklären könnten. Zum einen wurde das IPC in der Arbeit von Mollet et al. (2022) an der oberen und nicht wie in der vorliegenden Arbeit an der unteren Extremität durchgeführt. O'Brien & Jacobs (2021) vermuteten hinsichtlich der leistungssteigernden Effekte des IPC bereits, dass diese von der involvierten Muskelmasse abhängig sein könnten, da sie bei unilateraler Anwendung weniger ausgeprägt waren als bei bilateraler. Entsprechend wäre auch bei der unteren Extremität mehr Muskelmasse beteiligt als bei der oberen. Möglichweise gilt dieser Zusammenhang auch für die immunologische Reaktion. Zum anderen betrug die Okklusionszeit in der Arbeit von Mollet et al. (2022) mit fünf Minuten nur die Hälfte der Zeit der vorliegenden Arbeit. Auch dies könnte ein Grund für die Diskrepanz der Immunreaktion im Anschluss an die Intervention gewesen sein.

Die drei Subtypen der Monozyten (klassisch, nicht-klassisch und intermediär) weisen unterschiedliche Eigenschaften auf, wenngleich sich die genaue Differenzierung komplex gestaltet. So findet man in der Literatur uneindeutige und teils widersprüchliche Beschreibungen ihrer Funktionen. Manche Autoren machen Unterschiede in den Analyseverfahren der Zellen und der Zytokine für diese Diskrepanz verantwortlich (Mukherjee et al., 2015). Betrachtet man die Anzahl von Monozyten bei körperlicher Belastung, stellt man fest, dass sich die Anzahl der proinflammatorischen nicht-klassischen Monozyten stärker gegenüber der von klassischen Monozyten erhöht (Simpson, 2013). Ein solches Verhalten konnte in der vorliegenden Arbeit auch durch IPC hervorgerufen werden bzw. wurde lediglich bei den nicht-klassischen Monozyten ein Anstieg beobachtet. Diese physiologische Reaktion geht auch mit den Ergebnissen aus Tiermodellen einher, bei denen durch RIPC vermehrt solche Monozyten produziert

wurden (Liu et al., 2016), die mit den nicht-klassischen Monozyten des Menschen korrespondieren (Wolf et al., 2019). Gleiches gilt für die NK-Zellen, welche für den Großteil der trainingsinduzierten Lymphozytose verantwortlich sind. Hier wird v. a. der Subtyp der reifen NK-Zellen durch körperliche Belastung mobilisiert, der als stresssensibel und zytotoxisch gilt. Aber auch ein Anstieg der frühen NK-Zellen konnte beobachtet werden. Diese wiederum haben v. a. eine immunmodulatorische Funktion durch die Ausschüttung verschiedener Zytokine (Simpson, 2013). Auch in der vorliegenden Arbeit konnten Anstiege dieser beiden Subtypen beobachtet werden. Es scheint also, dass durch das IPC in diesem Kontext ein vergleichbarer Effekt wie bei körperlicher Belastung hervorgerufen werden konnte.

Petersen & Pedersen (2005) beschrieben bereits vor 20 Jahren den antiinflammatorischen Effekt von körperlicher Aktivität. Als wichtigen Mediator an dieser Stelle sahen die Autoren das Zytokin IL-6, welches u.a. durch die Muskelkontraktion von Muskelfasern produziert und ausgeschüttet wird. Es inhibiert u.a. die Ausschüttung von TNF-α und fördert die Zirkulation antiinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-1-Rezeptorantagonist (IL-1ra) und IL-10 sowie die Ausschüttung von Cortisol. So kann körperliche Aktivität vor niedriggradigen systemischen Inflammationen schützen (Gleeson, 2013a; Gleeson, 2013b; Pedersen und Febbraio, 2008). Außerdem beeinflusst IL-6 die Satellitenzellen im Muskelgewebe, wodurch es einen positiven Effekt auf die Muskelregeneration hat (Zhang et al., 2013). Auch dem RIPC wird eine antiinflammatorische Wirkung zugeschrieben. Viele Effekte sind jedoch bisher nur in Tiermodellen beschrieben. Hier wird vermutet, dass RIPC die Inflammation durch die Inhibition von Zytokinen und die Regulation anti-apoptotischer Signalwege beeinflusst, was u.a. zu reduzierten Infarktarealen im Hirngewebe bei Schlaganfällen geführt hat (Mollet et al., 2022; Pearce et al., 2021). Die Tatsache, dass auch durch IPC eine erhöhte Ausschüttung von IL-6 beobachtet werden konnte (Hausenloy und Yellon, 2010), könnte einen Teil zu der Erklärung dieser Effekte beitragen.

Ein wichtiger Aspekt des IPC ist der provozierte Zustand der Hypoxie während der Phasen der Okklusion. Betrachtet man den allgemeinen Effekt von Hypoxie auf einige Immunzellen ergibt sich möglicherweise ein Teil der Erklärung für den immunmodulatorischen Effekt des IPC. Neben der Veränderung der Zellzahl scheinen

viele Zellen unter Hypoxie auch ihren Phänotyp zu verändern. Sowohl bei Monozyten als auch bei NK-Zellen konnte beobachtet werden, dass sich deren Transkriptom verändert. Bei Monozyten führte dies zu Veränderungen hinsichtlich Metabolismus, Zellverhalten und Funktion, wodurch die Zellen u.a. eine vermehrte transendotheliale Migration, z. B. in inflammatorisches Gewebe, zeigten (Bosco et al., 2008). Hieran schließt sich eine Vermutung von Mollet et al. (2022) an, die 22 Stunden nach ihrer RIPC-Intervention einen Abfall der immunmodulatorischen nicht-klassischen Monozyten im Blut beobachteten. Sie führten dies entweder auf einen veränderten Differenzierungsprozess oder eine verstärkte Gewebsmigration dieser Zellen zurück. Auch bei NK-Zellen veränderte sich die Genexpression durch Hypoxie, sodass vermehrt Gene exprimiert wurden, die für metabolische Prozesse, Ionentransport, Apoptose, Stressantwort, Proliferation sowie Signalaktivität mitverantwortlich sind. Dies führte u.a. zu einer reduzierten Zytotoxizität der Zellen durch eine reduzierte Sekretion lytischer Faktoren und eine reduzierte Rezeptor/Ligand-Interaktion (Garcés-Lázaro et al., 2022). Ein wichtiger Mediator an dieser Stelle ist der bereits eingangs erläuterte Transkriptionsfaktor HIF, der v. a. unter Hypoxie stabilisiert und aktiviert wird. HIF hat diverse Effekte auf die verschiedenen Zellen des angeborenen Immunsystems (s. Abb. 31), die sowohl pro- als auch antiinflammatorische Wirkung haben können (Colgan et al., 2020). Auch hier schließt sich die Beobachtung an, dass eine IPC-Intervention durch die induzierte Hypoxie zur vermehrten Aktivierung des HIF führt (Gill et al., 2015; Hausenloy und Yellon, 2010; Koch et al., 2014; Pearce et al., 2021). Betrachtet man nun außerdem die Tatsache, dass während einer Inflammation im Gewebe ebenfalls ein Zustand der Hypoxie herrscht, der mit der aktiven Rekrutierung von Zelltypen des angeborenen Immunsystems korreliert (Colgan et al., 2020), entsteht die Vermutung, dass durch IPC ein Zustand der Gewebsinflammation simuliert wird, der zu den entsprechenden immunmodulatorischen Prozessen und Veränderungen der Immunantwort führt. Hieran schließt sich der beobachtete Anstieg der MDSCs und eMDSCs in der vorliegenden Arbeit an. Dieser Zelltyp ist ebenfalls mit einer immunsuppressiven Wirkung assoziiert (Gabrilovich und Nagaraj, 2009).

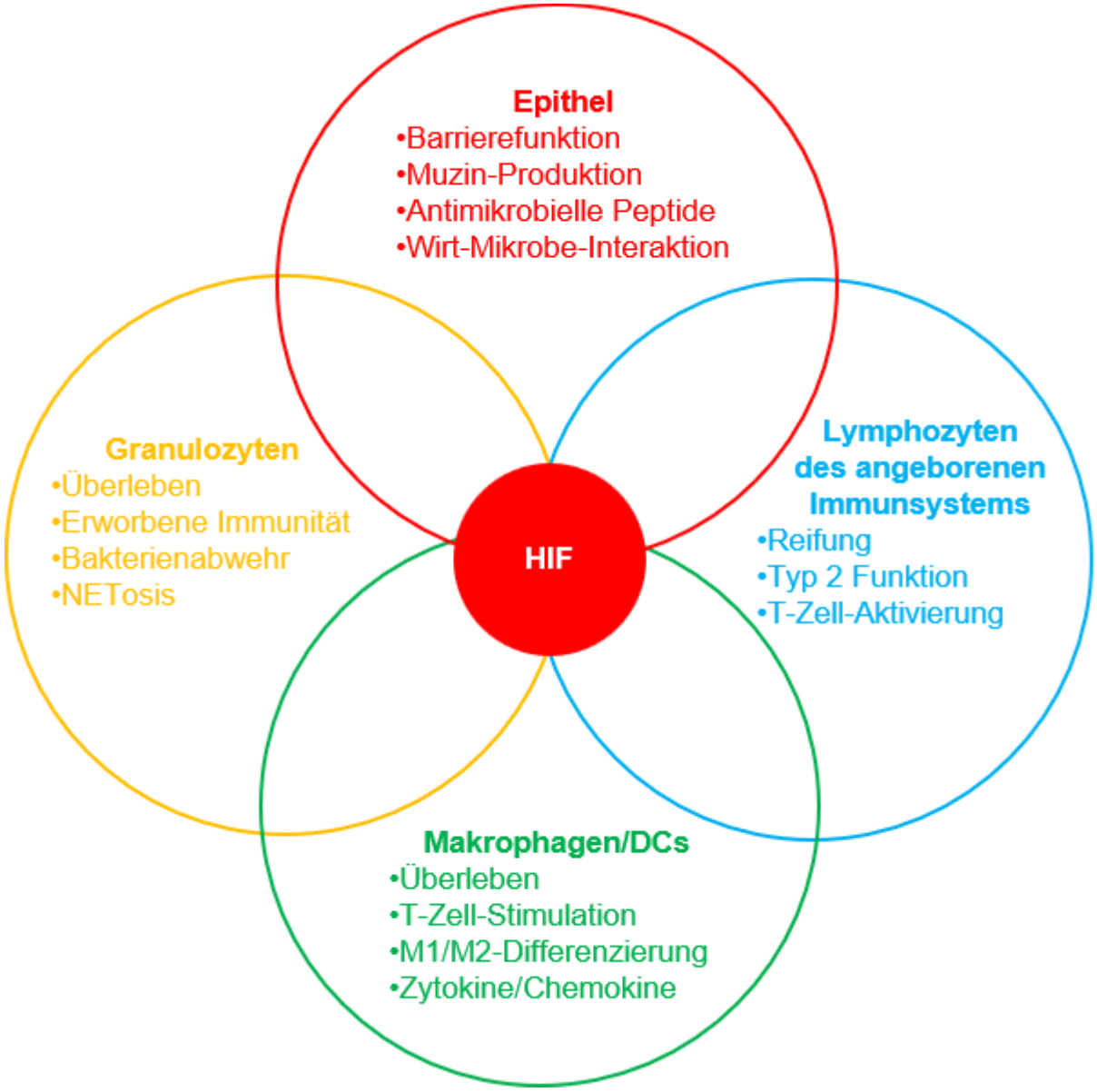

Abb. 31: Einfluss des hypoxia-inducible factors (HIF) auf Zellpopulationen des angeborenen Immunsystems (modifiziert nach Colgan et al., 2020)
NET = neutrophil extracellular traps, DCs = dendritic cells.

IPC kann also zum einen dafür sorgen, dass Ereignisse, die mit einer Inflammation einhergehen, z. B. Schlaganfälle, eine weniger starke Immunreaktion auslösen, was zu reduzierten Gewebsschäden führt. Zum anderen kann es die Zellen durch Veränderungen in ihrem Phänotyp widerstandsfähiger gegenüber erneuten hypoxischen Ereignissen machen.

Neben den positiven Effekten der immunmodulatorischen Wirkung, muss jedoch auch der eingangs erläuterte Zusammenhang zwischen Inflammation und Muskelregeneration betrachtet werden. Die immunsuppressive Wirkung von IPC könnte an dieser Stelle die muskuläre Anpassung beeinflussen, ähnlich wie es bei der Kaltwasserimmersion der Fall ist (Petersen und Fyfe, 2021). Beispielsweise wurde beobachtet, dass eine IPC-Intervention zu einer geringeren Ausschüttung der Kreatinkinase nach exzentrischer Muskelarbeit geführt hat, bei gleichzeitig geringerer Muskelschwellung und reduziertem Schmerzempfinden. Dies wurde als Zeichen reduzierter Inflammation gewertet (Franz et al., 2018). Bisher gibt es nur wenige Studien, die die Langzeiteffekte von wiederholten IPC-Interventionen auf die körperliche Leistungsfähigkeit untersucht haben. Zwei Arbeiten konnten bei täglicher IPC-Intervention über sieben Tage eine verbesserte endotheliale Funktion und Mikrozirkulation (Jones et al., 2014) sowie eine erhöhte muskuläre oxidative Kapazität, einen reduzierte Sauerstoffverbrauch im Muskel in Ruhe und eine beschleunigte Reoxygenierung nach Belastung feststellen (Jeffries et al., 2018). Bei der körperlichen Leistungsfähigkeit hingegen zeigten bisherige Untersuchungen keine Verbesserungen hinsichtlich der maximalen Sauerstoffaufnahme, der Kraftausdauer und der Maximalkraft nach zwei Wochen IPC-Intervention (Tanaka et al., 2021) sowie bei der Laufleistung von trainierten Ausdauerläufern nach acht Wochen IPC-Intervention zusätzlich zum regulären Training (Slysz und Burr, 2019), wenngleich auch keine negativen Effekte festgestellt wurden. Auf der anderen Seite ist auch bekannt, dass ein persistierendes entzündliches Milieu ebenfalls hinderlich für die Regeneration ist, wie es bspw. im Alter oder bei chronischen Entzündungen der Fall ist (Chazaud, 2020; Tidball, 2017). Möglicherweise hätte der immunmodulatorische Effekt von IPC in diesen Situationen wiederum einen positiven Effekt auf die muskuläre Anpassung. Es bedarf an dieser Stelle also weiterer Untersuchungen, die den langfristigen Effekt wiederholter IPC-Interventionen auf die muskuläre Anpassung und die körperliche Leistungsfähigkeit untersuchen. Hierbei wäre der Vergleich zwischen gesunden Probanden und solchen mit Vorerkrankungen oder in höherem Lebensalter sinnvoll, um herauszufinden, ob es eine ideale Zielgruppe für die IPC-Intervention gibt.

4.4 Limitationen

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit werden durch die geringe Stichprobengröße und die homogene Zusammensetzung der Stichprobe aus jungen, gesunden Männern limitiert. Daher sollten zukünftige Studien Vergleichsgruppen einschließen, um geschlechts- und altersspezifische Unterschiede auszumachen. Des Weiteren wurde die Nahrungsaufnahme während der Untersuchung nicht standardisiert und es gab keine Kontrolle der körperlichen Aktivität im Vorfeld der Untersuchung. Beides könnte potentiell Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben.

5. Zusammenfassung

Mithilfe der Technik der Mikrodialyse wurde in der vorliegenden Arbeit erfolgreich der metabolische Effekt einer Ischaemic Preconditioning (IPC)-Intervention im intramuskulären Raum untersucht. Diese Technik bietet ein großes Feld an Anwendungsmöglichkeiten, welches im Rahmen dieser Arbeit beleuchtet wurde. Bezogen auf das IPC bietet diese Technik eine gute Möglichkeit, Prozesse im intramuskulären Raum weiter zu untersuchen und so zugrundeliegende Mechanismen der muskulären Anpassung weiter zu verstehen. Zukünftige Studien sollten sich neben der Metabolik auch mit dem Proteom im intramuskulären Raum beschäftigen, da viele systemische und lokale Veränderungen auf genetischer Ebene und damit auch auf Ebene der Proteine beobachtet wurden. Die Technik der Mikrodialyse könnte auf muskulärer Ebene Langzeitanalysen bei geringer Invasivität ermöglichen und würde so einen entscheidenden Vorteil gegenüber Muskelbiospien bieten.

Das Ischaemic Preconditioning bzw. das Remote Ischaemic Preconditioning (RIPC) bietet durch seine einfache Anwendbarkeit eine Vielzahl von Einsatzmöglichkeiten. In vielen Arbeiten konnten bereits vielversprechende Effekte beobachtet werde, allen voran im Bereich der Kardioprotektion. Dennoch bedarf es weiterer Untersuchungen, um die zugrundeliegenden Mechanismen besser zu verstehen und die idealen Protokolle für die verschiedenen Anwendungsbereiche festzulegen. Darüber hinaus sollten zukünftige Studien den Langzeiteffekt wiederholt angewandter IPC-Interventionen und unterschiedlicher Protokolle weiter untersuchen, um bspw. die Diskrepanz zwischen den beobachteten akuten Effekten und den fehlenden Langzeiteffekten bei der körperlichen Leistungsfähigkeit besser beurteilen zu können. Die Erkenntnisse aus der Literatur geben außerdem Anlass sich der Empfehlung von O'Brien & Jacobs (2021) anzuschließen, dass in zukünftigen Studien bei der Anwendung von IPC individualisierte Verschlussdrücke eingesetzt werden sollten. So kann das Risiko für Gewebsschäden und für damit ggf. einhergehende Messfehler durch zu hohe Drücke geringgehalten werden. Schlussendlich sollte der Effekt von IPC auch im klinischen Kontext in weiteren Studien untersucht werden, um herauszufinden, ob und in welchem Bereich das IPC im klinischen Alltag Anwendung finden kann und ob es in der Lage ist, das Behandlungsergebnis von

Patienten zu verbessern. Auch hier bedarf es einer weiteren Exploration der angewendeten Protokolle sowie der Zielgruppe, um die ausgebliebenen Verbesserungen aus den bisherigen großen klinischen Studien (Hausenloy et al., 2016; Meybohm et al., 2015) besser einordnen zu können.

Im Rahmen dieser Studie konnte erstmalig eine akute Immunreaktion durch eine IPC-Intervention an der unteren Extremität ausgelöst und anhand verschiedener Zelltypen des angeborenen Immunsystems im venösen Blut gemessen werden. Es zeigten sich Parallelen zu der Immunreaktion bei körperlicher Belastung aus anderen Arbeiten, was den immunmodulatorischen Effekt des IPC unterstreicht. Hierdurch könnten sich Anwendungsmöglichkeiten ergeben, bei denen die Effektivität von körperlicher Aktivität, z. B. bei chronischen Entzündungen, unterstützt oder möglicherweise sogar ersetzt werden könnte, falls eine solche Belastung nicht oder nur eingeschränkt möglich ist. Für zukünftige Studien wäre es aufgrund der einfachen Anwendbarkeit und der fehlenden Invasivität des IPC denkbar, dieses Verfahren bei immobilen/bettlägerigen Patienten einzusetzen und bspw. den Einfluss auf Immunzellen, Entzündungsparameter oder den Erhalt von Muskelmasse zu untersuchen sowie das klinische Ergebnis mit einer Kontrollgruppe zu vergleichen.

6. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prinzip der Mikrodialyse 15

Abbildung 2: Schematische Darstellung der von Lönnroth et al. verwendeten Dialysesonde 16

Abbildung 3: Mithilfe der Mikrodialyse analysierte Organsysteme 17

Abbildung 4: Schematische Darstellung des konzentrischen Designs eines modernen Mikrodialysekatheters 18

Abbildung 5: Hierarchie der Skelettmuskulatur 24

Abbildung 6: Durch Muskelkontraktion induzierte Myokine und ihre Funktionen 25

Abbildung 7: Anteil der aeroben Energiebereitstellung in Abhängigkeit von der Belastungsdauer bei maximaler Belastung 28

Abbildung 8: Kontrolle der Glykogensynthese im Muskel 29

Abbildung 9: Immunantwort auf unterschiedliche Belastung 37

Abbildung 10: Immunologie und Regeneration im Skelettmuskel 41

Abbildung 11: Mikrodialysesystem 47

Abbildung 12: Mikrodialysepumpe 48

Abbildung 13: Mikrodialysesystem am Probanden 49

Abbildung 14: Personalized tourniquet system (PTS) am Probanden 50

Abbildung 15: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Glucose 60

Abbildung 16: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Laktat 62

Abbildung 17: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Pyruvat 64

Abbildung 18: Statistische Auswertung der Mikrodialysedaten für den Metaboliten Glycerol 66

Abbildung 19: Statistische Auswertung der klassischen Monozyten 69

Abbildung 20: Statistische Auswertung der nicht-klassischen Monozyten 70

Abbildung 21: Statistische Auswertung der intermediären Monozyten 70

Abbildung 22: Statistische Auswertung der myeloiden dendritischen Zellen (mDC) 71

Abbildung 23: Statistische Auswertung der plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDC) 71

Abbildung 24: Statistische Auswertung der frühen/unreifen NK-Zellen 72

Abbildung 25: Statistische Auswertung der reifen NK-Zellen 73

Abbildung 26: Statistische Auswertung der terminalen NK-Zellen 73

Abbildung 27: Statistische Auswertung der myeloid-derived suppressor cells (MDSC) 74

Abbildung 28: Statistische Auswertung der early-stage myeloid-derived suppressor cells (eMDSC) 75

Abbildung 29: Mechanismen des Remote Ischemic Preconditioning (RIPC) am Herzmuskel 85

Abbildung 30: Effekte des IPC auf systemischer und lokaler Ebene 92

Abbildung 31: Einfluss des hypoxia-inducible factors (HIF) auf Zellpopulationen des angeborenen Immunsystems 96

7. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Probandeninformationen 44

Tabelle 2: Messprotokoll der IPC-Intervention 51

Tabelle 3: Ergebnisse der Probandencharakterisierung 56

Tabelle 4: Ergebnisse der Dual-Röntgen-Absorptiometrie (DXA) 57

Tabelle 5: Exemplarische Auswertung der Mikrodialyseproben eines Probanden (P001) 59

Tabelle 6: Zusammenhänge zwischen der fettfreien Masse und den Ergebnissen der Mikrodialyse 68

8. Literaturverzeichnis

Allen DG, Lamb GD, Westerblad H. Skeletal Muscle Fatigue: Cellular Mechanisms. Physiol. Rev. American Physiological Society, 2008; 88: 287–332

Andreas M, Schmid AI, Keilani M, Doberer D, Bartko J, Crevenna R, Moser E, Wolzt M. Effect of ischemic preconditioning in skeletal muscle measured by functional magnetic resonance imaging and spectroscopy: a randomized crossover trial. J. Cardiovasc. Magn. Reson. 2011; 13: 32

Angleys H, Østergaard L. Modeling the measurement bias in interstitial glucose concentrations derived from microdialysis in skeletal muscle. Physiol. Rep. 2022; 10: e15252

Bergstrom J. MUSCLE ELECTROLYTES IN MAN DETERMINED BY NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS ON NEEDLE BIOPSY SPECIMENS. Scand. J. Clin. Lab. Investig. Engl. 1962; Vol: 14: Suppl. 68

Bilgin-Freiert A, Dusick JR, Stein NR, Etchepare M, Vespa P, Gonzalez NR. Muscle Microdialysis to Confirm Sublethal Ischemia in the Induction of Remote Ischemic Preconditioning. Transl. Stroke Res. 2012; 3: 266–272

Bito L, Davson H, Levin E, Murray M, Snider N. The Concentrations of Free Amino Acids and Other Electrolytes in Cerebrospinal Fluid, in Vivo Dialysate of Brain, and Blood Plasma of the Dog*. J. Neurochem. 1966; 13: 1057–1067

Boschmann M, Rosenbaum M, Leibel RL, Segal KR. Metabolic and Hemodynamic Responses to Exercise in Subcutaneous Adipose Tissue and Skeletal Muscle. Int. J. Sports Med. © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York, 2002; 23: 537–543

Bosco MC, Puppo M, Blengio F, Fraone T, Cappello P, Giovarelli M, Varesio L. Monocytes and dendritic cells in a hypoxic environment: Spotlights on chemotaxis and migration. Immunobiology. 2008; 213: 733–749

Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. Clin. Chem. Lab. Med. De Gruyter, 2010; 48: 757–767

Bronte V, Brandau S, Chen S-H, Colombo MP, Frey AB, Greten TF, Mandruzzato S, Murray PJ, Ochoa A, Ostrand-Rosenberg S, Rodriguez PC, Sica A, Umansky V, Vonderheide RH, Gabrilovich DI. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. Nat. Commun. 2016; 7: 12150

Brooks SV, Guzman SD, Ruiz LP. Chapter 1 - Skeletal muscle structure, physiology, and function. In: Younger DS, ed. Handb. Clin. Neurol. Elsevier, 2023: 3–16

Bushell AJ, Klenerman L, Taylor S, Davies H, Grierson I, Helliwell TR, Jackson MJ. Ischaemic preconditioning of skeletal muscle. 1. Protection against the structural changes induced by ischaemia/reperfusion injury. J. Bone Joint Surg. Br. 2002; 84: 1184–1188

Carson BP. The Potential Role of Contraction-Induced Myokines in the Regulation of Metabolic Function for the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes. Front. Endocrinol. 2017; 8: 97

Carson BP, McCormack WG, Conway C, Cooke J, Saunders J, O'Connor WT, Jakeman PM. An *in vivo* microdialysis characterization of the transient changes in the interstitial dialysate concentration of metabolites and cytokines in human skeletal muscle in response to insertion of a microdialysis probe. Cytokine. 2015; 71: 327–333

Caru M, Levesque A, Lalonde F, Curnier D. An overview of ischemic preconditioning in exercise performance: A systematic review. J. Sport Health Sci. 2019; 8: 355–369

Charrière M, Duchenne GB. Emporte pièce histologique. Bull Acad Med. 1865; 30: 1050–1051

Chazaud B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! Trends Immunol. 2020; 41: 481–492

Cocking S, Wilson MG, Nichols D, Cable NT, Green DJ, Thijssen DHJ, Jones H. Is There an Optimal Ischemic-Preconditioning Dose to Improve Cycling Performance? Int. J. Sports Physiol. Perform. 2018; 13: 274–282

Colgan SP, Furuta GT, Taylor CT. Hypoxia and Innate Immunity: Keeping Up with the HIFsters. Annu. Rev. Immunol. 2020; 38: 341–363

Cowled P, Fitridge R. Pathophysiology of Reperfusion Injury. In: Fitridge R, Thompson M, eds. Mech. Vasc. Dis. Ref. Book Vasc. Spec. Adelaide (AU): University of Adelaide Press, 2011: 18

Custers M-L, Nestor L, De Bundel D, Van Eeckhaut A, Smolders I. Current Approaches to Monitor Macromolecules Directly from the Cerebral Interstitial Fluid. Pharmaceutics. 2022; 14: 1051

Dalli J, Serhan CN. Pro-resolving mediators in regulating and conferring macrophage function. Front. Immunol. 2017; 8

De Lange ECM. Recovery and Calibration Techniques: Toward Quantitative Microdialysis. In: Müller M, ed. Microdialysis Drug Dev. New York, NY: Springer New York, 2013: 13–33

Delgado JM, DeFeudis FV, Roth RH, Ryugo DK, Mitruka BM. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1972; 198: 9–21

Dickson EW, Blehar DJ, Carraway RE, Heard SO, Steinberg G, Przyklenk K. Naloxone Blocks Transferred Preconditioning In Isolated Rabbit Hearts. J. Mol. Cell. Cardiol. 2001; 33: 1751–1756

Distefano G, Goodpaster BH. Effects of Exercise and Aging on Skeletal Muscle. Cold Spring Harb. Perspect. Med. 2018; 8: a029785

Domblides C, Lartigue L, Faustin B. Metabolic Stress in the Immune Function of T Cells, Macrophages and Dendritic Cells. Cells. 2018; 7: 68

Donato M, Bin EP, D´Annunzio V, Gelpi RJ. Myocardial remote ischemic preconditioning: from cell biology to clinical application. Mol. Cell. Biochem. 2021; 476: 3857–3867

Dunn J, Grider MH. Physiology, Adenosine Triphosphate. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023

Eckle T, Köhler D, Lehmann R, El Kasmi K, Eltzschig HK. Hypoxia-inducible factor-1 is central to cardioprotection: a new paradigm for ischemic preconditioning. Circulation. 2008; 118: 166–175

Ekblom B. The muscle biopsy technique. Historical and methodological considerations. Scand. J. Med. Sci. Sports. 2017; 27: 458–461

Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction-Induced Myokine Production and Release: Is Skeletal Muscle an Endocrine Organ? Exerc. Sport Sci. Rev. 2005; 33: 114

Fitts RH. Cellular mechanisms of muscle fatigue. Physiol. Rev. 1994; 74: 49–94

Flaticon. Kostenlose Icons und Sticker – Millionen von Ressourcen zum Herunterladen. https://www.flaticon.com/de/ (Zugriffsdatum: 09.05.2025)

Forconi CS, Oduor CI, Oluoch PO, Ong'echa JM, Münz C, Bailey JA, Moormann AM. A New Hope for CD56negCD16pos NK Cells as Unconventional Cytotoxic Mediators: An Adaptation to Chronic Diseases. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020; 10: 162

Fox C, Walsh P, Mulhall KJ, Fox C, Walsh P, Mulhall KJ. Molecular Mechanism of Ischaemic Preconditioning of Skeletal Muscle In Vitro. Cureus. Cureus, 2018; 10

Franz A, Behringer M, Harmsen J-F, Mayer C, Krauspe R, Zilkens C, Schumann M. Ischemic Preconditioning Blunts Muscle Damage Responses Induced by Eccentric Exercise. Med. Sci. Sports Exerc. 2018; 50: 109–115

Freud AG, Mundy-Bosse BL, Yu J, Caligiuri MA. The broad spectrum of human natural killer cell diversity. Immunity. 2017; 47: 820–833

Frontera WR, Ochala J. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. Calcif. Tissue Int. 2015; 96: 183–195

Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. Nat. Rev. Immunol. 2009; 9: 162–174

Garcés-Lázaro I, Kotzur R, Cerwenka A, Mandelboim O. NK Cells Under Hypoxia: The Two Faces of Vascularization in Tumor and Pregnancy. Front. Immunol. 2022; 13: 924775

Gastin PB. Energy System Interaction and Relative Contribution During Maximal Exercise. Sports Med. 2001; 31: 725–741

Gekle M, Wischmeyer E, Gründer S, Petersen M, Schwab A, Klöcker N, Markwardt F, Marti H, Pape H-C. Taschenlehrbuch Physiologie. 2., überarbeitete Edition. Stuttgart: Thieme, 2015

Gerdle B, Ghafouri B, Ernberg M, Larsson B. Chronic musculoskeletal pain: review of mechanisms and biochemical biomarkers as assessed by the microdialysis technique. J. Pain Res. 2014; 7: 313–326

Gill R, Kuriakose R, Gertz ZM, Salloum FN, Xi L, Kukreja RC. Remote ischemic preconditioning for myocardial protection: update on mechanisms and clinical relevance. Mol. Cell. Biochem. 2015; 402: 41–49

Gleeson M. Effects of exercise on innate immune function. Exerc. Immunol. Routledge, 2013a: 116-125

Gleeson M. Exercise and the prevention of chronic diseases: the role of cytokines and the anti-inflammatory effects of exercise. Exerc. Immunol. Routledge, 2013b: 286-317

de Groot PCE, Thijssen DHJ, Sanchez M, Ellenkamp R, Hopman MTE. Ischemic preconditioning improves maximal performance in humans. Eur. J. Appl. Physiol. 2010; 108: 141–146

Gudbjörnsdóttir S, Sjöstrand M, Strindberg L, Wahren J, Lönnroth P. Direct measurements of the permeability surface area for insulin and glucose in human skeletal muscle. J. Clin. Endocrinol. Metab. 2003; 88: 4559–4564

Gürke L, Mattei A, Chaloupka K, Marx A, Sutter PM, Stierli P, Harder F, Heberer M. Mechanisms of Ischemic Preconditioning in Skeletal Muscle. J. Surg. Res. 2000; 94: 18–27

Hagström-Toft E, Enoksson S, Moberg E, Bolinder J, Arner P. Absolute concentrations of glycerol and lactate in human skeletal muscle, adipose tissue, and blood. Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab. American Physiological Society, 1997; 273: E584

Haller N, Behringer M, Reichel T, Wahl P, Simon P, Krüger K, Zimmer P, Stöggl T. Blood-Based Biomarkers for Managing Workload in Athletes: Considerations and Recommendations for Evidence-Based Use of Established Biomarkers. Sports Med. Auckl. Nz. 2023; 53: 1315–1333

Hammarlund-Udenaes M. Microdialysis as an Important Technique in Systems Pharmacology—a Historical and Methodological Review. AAPS J. 2017; 19: 1294–1303

Hanberg P, Bue M, Kabel J, Jørgensen AR, Søballe K, Stilling M. Tourniquet-induced ischemia and reperfusion in subcutaneous tissue, skeletal muscle, and calcaneal cancellous bone. APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. 2021; 129: 225–231

Hansen DK, Davies MI, Lunte SM, Lunte CE. Pharmacokinetic and Metabolism Studies Using Microdialysis Sampling. J. Pharm. Sci. 1999; 88: 14–27

Hardie DG, Sakamoto K. AMPK: A Key Sensor of Fuel and Energy Status in Skeletal Muscle. Physiology. American Physiological Society, 2006; 21: 48–60

Hausenloy DJ, Candilio L, Evans R, Ariti C, Jenkins DP, Kolvekar S, Knight R, Kunst G, Laing C, Nicholas JM, Pepper J, Robertson S, Xenou M, Clayton T, Yellon DM. Effect of Remote Ischaemic preconditioning on Clinical outcomes in patients undergoing Coronary Artery bypass graft surgery (ERICCA study): a multicentre double-blind randomised controlled clinical trial. Southampton (UK): NIHR Journals Library, 2016; 37, 200-202

Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. Cardiovasc. Res. 2008; 79: 377–386

Hausenloy DJ, Yellon DM. The Second Window of Preconditioning (SWOP) Where Are We Now? Cardiovasc. Drugs Ther. 2010; 24: 235–254

Heusch G. Molecular Basis of Cardioprotection. Circ. Res. American Heart Association, 2015; 116: 674–699

Hickner RC, Bone D, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. Muscle blood flow during intermittent exercise: comparison of the microdialysis ethanol technique and 133Xe clearance. Clin. Sci. Lond. Engl. 1979. 1994; 86: 15–25

Horiuchi M. Ischemic preconditioning: Potential impact on exercise performance and underlying mechanisms. J. Phys. Fit. Sports Med. 2017; 6: 15–23

Hu PF, Hultin LE, Hultin P, Hausner MA, Hirji K, Jewett A, Bonavida B, Detels R, Giorgi JV. Natural killer cell immunodeficiency in HIV disease is manifest by profoundly decreased numbers of CD16+CD56+ cells and expansion of a population of CD16dimCD56- cells with low lytic activity. J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirology Off. Publ. Int. Retrovirology Assoc. 1995; 10: 331–340

Huxley AF, Niedergerke R. Structural Changes in Muscle During Contraction: Interference Microscopy of Living Muscle Fibres. Nature. Nature Publishing Group, 1954; 173: 971–973

Huxley H, Hanson J. Changes in the Cross-Striations of Muscle during Contraction and Stretch and their Structural Interpretation. Nature. Nature Publishing Group, 1954; 173: 973–976

Incognito AV, Burr JF, Millar PJ. The Effects of Ischemic Preconditioning on Human Exercise Performance. Sports Med. Auckl. NZ. 2016; 46: 531–544

Jacobson I, Sandberg M, Hamberger A. Mass transfer in brain dialysis devices--a new method for the estimation of extracellular amino acids concentration. J. Neurosci. Methods. 1985; 15: 263–268

Jeffries O, Waldron M, Pattison JR, Patterson SD. Enhanced Local Skeletal Muscle Oxidative Capacity and Microvascular Blood Flow Following 7-Day Ischemic Preconditioning in Healthy Humans. Front. Physiol. 2018; 9: 463

Jerome SN, Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ. Ischemic preconditioning attenuates capillary no-reflow induced by prolonged ischemia and reperfusion. Am. J. Physiol. 1995; 268: H2063-2067

Jessee MB, Buckner SL, Mouser JG, Mattocks KT, Dankel SJ, Abe T, Bell ZW, Bentley JP, Loenneke JP. Muscle Adaptations to High-Load Training and Very Low-Load Training With and Without Blood Flow Restriction. Front. Physiol. 2018; 9: 1448

Jones CJ, Rikli RE, Beam WC. A 30-s chair-stand test as a measure of lower body strength in community-residing older adults. Res. Q. Exerc. Sport. 1999; 70: 113–119

Jones H, Hopkins N, Bailey TG, Green DJ, Cable NT, Thijssen DHJ. Seven-day remote ischemic preconditioning improves local and systemic endothelial function and microcirculation in healthy humans. Am. J. Hypertens. 2014; 27: 918–925

Katz A, Sahlin K. Regulation of lactic acid production during exercise. J. Appl. Physiol. 1988; 65: 509–518

Kerendi F, Kin H, Halkos ME, Jiang R, Zatta AJ, Zhao Z-Q, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Remote postconditioning. Brief renal ischemia and reperfusion applied before coronary artery reperfusion reduces myocardial infarct size via endogenous activation of adenosine receptors. Basic Res. Cardiol. 2005; 100: 404–412

Kharbanda R k., Mortensen U m., White P a., Kristiansen S b., Schmidt M r., Hoschtitzky J a., Vogel M, Sorensen K, Redington A n., MacAllister R. Transient Limb Ischemia Induces Remote Ischemic Preconditioning In Vivo. Circulation. American Heart Association, 2002; 106: 2881–2883

Kho CM, Enche Ab Rahim SK, Ahmad ZA, Abdullah NS. A Review on Microdialysis Calibration Methods: the Theory and Current Related Efforts. Mol. Neurobiol. 2017; 54: 3506–3527

Koch S, Della-Morte D, Dave KR, Sacco RL, Perez-Pinzon MA. Biomarkers for ischemic preconditioning: finding the responders. J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab. 2014; 34: 933–941

Konstantinov IE, Arab S, Kharbanda RK, Li J, Cheung MMH, Cherepanov V, Downey GP, Liu PP, Cukerman E, Coles JG, Redington AN. The remote ischemic preconditioning

stimulus modifies inflammatory gene expression in humans. Physiol. Genomics. 2004; 19: 143–150

Konstantinov IE, Li J, Cheung MM, Shimizu M, Stokoe J, Kharbanda RK, Redington AN. Remote ischemic preconditioning of the recipient reduces myocardial ischemia-reperfusion injury of the denervated donor heart via a Katp channel-dependent mechanism. Transplantation. 2005; 79: 1691–1695

Korth U, Klein J. Methodik und Anwendung der Mikrodialyse. Anästhesiologie & Intensivmedizin. 2001; 42: 732-739

Korth U, Merkel G, Fernandez FF, Jandewerth O, Dogan G, Koch T, van Ackern K, Weichel O, Klein J. Tourniquet-induced changes of energy metabolism in human skeletal muscle monitored by microdialysis. Anesthesiology. 2000; 93: 1407–1412

Lee JH, Jun H-S. Role of Myokines in Regulating Skeletal Muscle Mass and Function. Front. Physiol. 2019; 10: 42

Liu Z-J, Chen C, Li X-R, Ran Y-Y, Xu T, Zhang Y, Geng X-K, Zhang Y, Du H-S, Leak RK, Ji X-M, Hu X-M. Remote Ischemic Preconditioning-Mediated Neuroprotection against Stroke is Associated with Significant Alterations in Peripheral Immune Responses. CNS Neurosci. Ther. 2016; 22: 43–52

Loenneke JP, Fahs CA, Rossow LM, Sherk VD, Thiebaud RS, Abe T, Bemben DA, Bemben MG. Effects of cuff width on arterial occlusion: implications for blood flow restricted exercise. Eur. J. Appl. Physiol. 2012; 112: 2903–2912

Lönnroth P, Jansson PA, Fredholm BB, Smith U. Microdialysis of intercellular adenosine concentration in subcutaneous tissue in humans. Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab. 1989; 256: E250–E255

Lönnroth P, Jansson PA, Smith U. A microdialysis method allowing characterization of intercellular water space in humans. Am. J. Physiol. 1987; 253: E228-231

Lüllmann-Rauch R, Asan E. Taschenlehrbuch Histologie. 5., vollständig überarbeitete Edition. Stuttgart New York: Thieme, 2015

Lundby C, Calbet J, Robach P. The response of skeletal muscle tissue to hypoxia. Cell. Mol. Life Sci. CMLS. 2009; 66: 3615–3623

MacLean DA, Bangsbo J, Saltin B. Muscle interstitial glucose and lactate levels during dynamic exercise in humans determined by microdialysis. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985. 1999; 87: 1483–1490

Maggs DG, Jacob R, Rife F, Lange R, Leone P, During MJ, Tamborlane WV, Sherwin RS. Interstitial fluid concentrations of glycerol, glucose, and amino acids in human quadricep muscle and adipose tissue. Evidence for significant lipolysis in skeletal muscle. J. Clin. Invest. 1995; 96: 370–377

Malm C, Nyberg P, Engström M, Sjödin B, Lenkei R, Ekblom B, Lundberg I. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. J. Physiol. 2000; 529: 243–262

McConell GK, Sjøberg KA, Ceutz F, Gliemann L, Nyberg M, Hellsten Y, Frøsig C, Kiens B, Wojtaszewski JFP, Richter EA. Insulin-induced membrane permeability to glucose in human muscles at rest and following exercise. J. Physiol. 2020; 598: 303–315

Meybohm P, Bein B, Brosteanu O, Cremer J, Gruenewald M, Stoppe C, et al. A Multicenter Trial of Remote Ischemic Preconditioning for Heart Surgery. N. Engl. J. Med. 2015; 373: 1397–1407

Mollet I, Martins C, Ângelo-Dias M, Carvalho AS, Aloria K, Matthiesen R, Viana-Baptista M, Borrego LM, Vieira HLA. Pilot study in human healthy volunteers on the mechanisms underlying remote ischemic conditioning (RIC) – Targeting circulating immune cells and immune-related proteins. J. Neuroimmunol. 2022; 367: 577847

Mukherjee R, Kanti Barman P, Kumar Thatoi P, Tripathy R, Kumar Das B, Ravindran B. Non-Classical monocytes display inflammatory features: Validation in Sepsis and Systemic Lupus Erythematous. Sci. Rep. Nature Publishing Group, 2015; 5: 13886

Müller M, Holmäng A, Andersson OK, Eichler HG, Lönnroth P. Measurement of interstitial muscle glucose and lactate concentrations during an oral glucose tolerance test. Am. J. Physiol. 1996; 271: E1003-1007

Murphy C, Winter D, Bouchier-Hayes D. Tourniquet injuries: Pathogenesis and modalities for attenuation. Acta Orthop. Belg. 2006; 71: 635–645

Murphy T, Walsh PM, Doran PP, Mulhall KJ. Transcriptional responses in the adaptation to ischaemia-reperfusion injury: a study of the effect of ischaemic preconditioning in total knee arthroplasty patients. J. Transl. Med. 2010; 8: 46

Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation. 1986; 74: 1124–1136

Nieman DC, Wentz LM. The compelling link between physical activity and the body's defense system. J. Sport Health Sci. 2019; 8: 201–217

O'Brien L, Jacobs I. Methodological Variations Contributing to Heterogenous Ergogenic Responses to Ischemic Preconditioning. Front. Physiol. 2021; 12: 656980

Östman B, Michaelsson K, Rahme H, Hillered L. Tourniquet-Induced Ischemia and Reperfusion in Human Skeletal Muscle. Clin. Orthop. Relat. Res. 2004; 418: 260

O'Sullivan TE, Sun JC, Lanier LL. Natural Killer Cell Memory. Immunity. 2015; 43: 634–645

Pang CY, Forrest CR. Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis. Biochem. Pharmacol. 1995; 49: 1023–1034

Patel H, Kerndt CC, Bhardwaj A. Physiology, Respiratory Quotient. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023

Pearce L, Davidson SM, Yellon DM. Does remote ischaemic conditioning reduce inflammation? A focus on innate immunity and cytokine response. Basic Res. Cardiol. 2021; 116: 12

Pedersen BK, Åkerström TCA, Nielsen AR, Fischer CP. Role of myokines in exercise and metabolism. J. Appl. Physiol. American Physiological Society, 2007; 103: 1093–1098

Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an Endocrine Organ: Focus on Muscle-Derived Interleukin-6. Physiol. Rev. American Physiological Society, 2008; 88: 1379–1406

Pedersen BK, Steensberg A, Fischer C, Keller C, Keller P, Plomgaard P, Febbraio M, Saltin B. Searching for the exercise factor: is IL-6 a candidate? J. Muscle Res. Cell Motil. 2003; 24: 113–119

Petersen AC, Fyfe JJ. Post-exercise Cold Water Immersion Effects on Physiological Adaptations to Resistance Training and the Underlying Mechanisms in Skeletal Muscle: A Narrative Review. Front. Sports Act. Living. 2021; 3: 660291

Petersen AMW, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. J. Appl. Physiol. American Physiological Society, 2005; 98: 1154–1162

Plock N, Kloft C. Microdialysis—theoretical background and recent implementation in applied life-sciences. Eur. J. Pharm. Sci. 2005; 25: 1–24

Poschke I, Kiessling R. On the armament and appearances of human myeloid-derived suppressor cells. Clin. Immunol. 2012; 144: 250–268

Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic ‘preconditioning’ protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. Circulation. American Heart Association, 1993; 87: 893–899

Rådegran G, Pilegaard H, Nielsen J, Bangsbo J. Microdialysis ethanol removal reflects probe recovery rather than local blood flow in skeletal muscle. J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985. 1998; 85: 751–757

Reimer KA, Murry CE, Yamasawa I, Hill ML, Jennings RB. Four brief periods of myocardial ischemia cause no cumulative ATP loss or necrosis. Am. J. Physiol.-Heart Circ. Physiol. American Physiological Society, 1986; 251: H1306–H1315

Ren G, Eiskjær S, Kaspersen J, Christensen FB, Rasmussen S. Microdialysis of paraspinal muscle in healthy volunteers and patients underwent posterior lumbar fusion surgery. Eur. Spine J. 2009; 18: 1604–1609

Roach PJ, Depaoli-Roach AA, Hurley TD, Tagliabracci VS. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. Biochem. J. 2012; 441: 763–787

Romee R, Schneider SE, Leong JW, Chase JM, Keppel CR, Sullivan RP, Cooper MA, Fehniger TA. Cytokine activation induces human memory-like NK cells. Blood. 2012; 120: 4751–4760

Rosdahl H, Hamrin K, Ungerstedt U, Henriksson J. Metabolite levels in human skeletal muscle and adipose tissue studied with microdialysis at low perfusion flow. Am. J. Physiol. 1998; 274: E936-945

Rosdahl H, Ungerstedt U, Henriksson J. Microdialysis in human skeletal muscle and adipose tissue at low flow rates is possible if dextran-70 is added to prevent loss of perfusion fluid. Acta Physiol. Scand. 1997; 159: 261–262

Rosdahl H, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henriksson J. Interstitial glucose and lactate balance in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis. J. Physiol. 1993; 471: 637–657

Rosendal L, Blangsted AK, Kristiansen J, Søgaard K, Langberg H, Sjøgaard G, Kjær M. Interstitial muscle lactate, pyruvate and potassium dynamics in the trapezius muscle during repetitive low-force arm movements, measured with microdialysis. Acta Physiol. Scand. 2004; 182: 379–388

Sahlin K, Harris RC, Nylind B, Hultman E. Lactate content and pH in muscle samples obtained after dynamic exercise. Pflüg. Arch. 1976; 367: 143–149

Sahlin K, Tonkonogi M, Söderlund K. Energy supply and muscle fatigue in humans. Acta Physiol. Scand. 1998; 162: 261–266

Sánchez López de Nava A, Raja A. Physiology, Metabolism. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2023

Savill JS, Wyllie AH, Henson JE, Walport MJ, Henson PM, Haslett C. Macrophage phagocytosis of aging neutrophils in inflammation. Programmed cell death in the neutrophil leads to its recognition by macrophages. J. Clin. Invest. 1989; 83: 865–875

Shippenberg TS, Thompson AC. Overview of Microdialysis. Curr. Protoc. Neurosci. Editor. Board Jacqueline N Crawley Al. 2001; CHAPTER: Unit7.1

Simpson RJ. The effects of exercise on blood leukocyte numbers. Exerc. Immunol. 2013: 64–105

Slysz JT, Burr JF. Impact of 8 weeks of repeated ischemic preconditioning on running performance. Eur. J. Appl. Physiol. 2019; 119: 1431–1437

Staat P, Rioufol G, Piot C, Cottin Y, Cung TT, L'Huillier I, Aupetit J-F, Bonnefoy E, Finet G, André-Fouët X, Ovize M. Postconditioning the human heart. Circulation. 2005; 112: 2143–2148

Stokfisz K, Ledakowicz-Polak A, Zagorski M, Zielinska M. Ischaemic preconditioning – Current knowledge and potential future applications after 30 years of experience. Adv. Med. Sci. 2017; 62: 307–316

Sun JC, Lanier LL. NK cell development, homeostasis and function: parallels with $CD8^+$ T cells. Nat. Rev. Immunol. 2011; 11: 645–657

Surendar J, Hackenberg RK, Schmitt-Sánchez F, Ossendorff R, Welle K, Stoffel-Wagner B, Sage PT, Burger C, Wirtz DC, Strauss AC, Schildberg FA. Osteomyelitis is associated with increased anti-inflammatory response and immune exhaustion. Front. Immunol. Frontiers, 2024; 15: 1396592

Tanaka D, Suga T, Shimoho K, Isaka T. Effect of 2-Weeks Ischemic Preconditioning on Exercise Performance: A Pilot Study. Front. Sports Act. Living. 2021; 3: 646369

Tidball J. Mechanisms of Muscle Injury, Repair, and Regeneration. Compr. Physiol. 2011; 1: 2029–2062

Tidball JG. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. Nat. Rev. Immunol. 2017; 17: 165–178

Ungerstedt U. Microdialysis—principles and applications for studies in animals and man. J. Intern. Med. 1991; 230: 365–373

Ungerstedt U, Pycock C. Functional correlates of dopamine neurotransmission. Schwabe & Co, 1974; 30: 44-55

Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. J. Biol. Chem. 1995; 270: 1230–1237

Wang X, Sathe AA, Smith GR, Ruf-Zamojski F, Nair V, Lavine KJ, Xing C, Sealfon SC, Zhou L. Heterogeneous origins and functions of mouse skeletal muscle-resident macrophages. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2020; 117: 20729–20740

Westerblad H, Bruton JD, Katz A. Skeletal muscle: Energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. Exp. Cell Res. 2010; 316: 3093–3099

Widegren U, Hickner RC, Jorfeldt L, Henriksson J. Muscle blood flow response to mental stress and adrenaline infusion in man: microdialysis ethanol technique compared to 133Xe clearance and venous occlusion plethysmography. Clin. Physiol. Funct. Imaging. 2010; 30: 152–161

Williams H, Mack C, Baraz R, Marimuthu R, Naralashetty S, Li S, Medbury H. Monocyte Differentiation and Heterogeneity: Inter-Subset and Interindividual Differences. Int. J. Mol. Sci. 2023; 24: 8757

Wolf AA, Yáñez A, Barman PK, Goodridge HS. The Ontogeny of Monocyte Subsets. Front. Immunol. 2019; 10: 1642

Yu J, Freud AG, Caligiuri MA. Location and cellular stages of NK cell development. Trends Immunol. 2013; 34: 10

Zatz M, Starling A. Calpains and Disease. N. Engl. J. Med. Massachusetts Medical Society, 2005; 352: 2413–2423

Zhang C, Li Y, Wu Y, Wang L, Wang X, Du J. Interleukin-6/signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) pathway is essential for macrophage infiltration and myoblast proliferation during muscle regeneration. J. Biol. Chem. 2013; 288: 1489–1499

Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, Leenen PJM, Liu Y-J, MacPherson G, Randolph GJ, Scherberich J, Schmitz J, Shortman K, Sozzani S, Strobl H, Zembala M, Austyn JM, Lutz MB. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood. 2010; 116: e74–e80

9. Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie des Universitätsklinikums Bonn unter der Betreuung von Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Frank Alexander Schildberg und Dr. Alexander Franz konzipiert und durchgeführt.

Die Analysen der Blutproben sowie deren statistische Auswertung wurden im Labor der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Unfallchirurgie durch Dr. Surendar Jayagopi durchgeführt.

Die Analysen der bei der Mikrodialyse generierten Proben wurden von Dr. Alexander Franz durchgeführt.

Die Generierung der Blutproben und der Proben aus der Mikrodialyse sowie die Messungen zur Probandencharakterisierung erfolgten eigenständig. Ebenso die statistische Auswertung aller übrigen Daten. Die Interpretation aller Ergebnisse erfolgte ebenfalls eigenständig.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.