

Aus der Klinik für Anästhesiologie
mit Schwerpunkt operative Intensivmedizin,
Campus Charité Virchow Klinikum und Campus Charité Mitte
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Die systemische und muskuläre Insulinsensitivität
von Intensivpatienten mit Critical Illness Myopathie**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Nicole Rehfeldt
aus Wilhelm-Pieck-Stadt Guben

Datum der Promotion: 12.09.2014

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungen	IV
0. Abstract	VI
1. Einleitung	1
1.1 DIE ERWORBENE MUSKELSCHWÄCHE BEI INTENSIVPATIENTEN	1
1.1.1 Systematik	1
1.1.2 Diagnostik	2
1.1.2.1 Klinische Untersuchung	2
1.1.2.2 Elektrophysiologie	3
1.1.2.3 Histologie	4
1.1.3 Risikofaktoren	5
1.1.4 Pathophysiologie	6
1.2. DER SYSTEMISCHE GLUKOSESTOFFWECHSEL BEI AKUTER KRITISCHER ERKRANKUNG	9
1.2.1 Quantifizierung der systemischen Insulinsensitivität	10
1.2.2 Die metabolische Insulinclearance	10
1.2.3 Der Glukosestoffwechsel im Skelettmuskel	11
1.2.4 Der Insulinsignalweg im Skelettmuskel des Gesunden	13
1.2.5 Störungen des muskulären Insulinsignalwegs bei akuter kritischer Erkrankung	17
1.3 ZIELSETZUNG DER ARBEIT	19
2. Methoden	21
2.1 STUDIENDESIGN / STUDIENPROTOKOLL	21
2.1.1 Erfasste klinische Parameter	22
2.1.1.1 Sepsisklassifikation	23
2.1.1.2 Renale Dysfunktion	24
2.1.1.2 Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score	25
2.1.1.3 Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS)	26
2.1.1.4 Medical Research Council (MRC)-Score	27
2.2 INTENSIVMEDIZINISCHES BEHANDLUNGSKONZEPT	27
2.3 DIREKTE MUSKELSTIMULATION	28
2.4 HYPERINSULINÄMER EUGLYKÄMER CLAMP	29
2.5 MIKRODIALYSE	32
2.5.1 Glukose	34
2.5.2 Laktat	34
2.5.3 Pyruvat	35

Inhaltsverzeichnis

2.5.4 Glycerol.....	35
2.6 MUSKELBIOPSIE.....	36
2.7 GENEXPRESSIONSANALYSE.....	36
2.7.1 Real-Time PCR.....	37
2.7.2 Relative Quantifizierung.....	38
2.9 STATISTISCHE ANALYSE.....	40
2.10 RICHTLINIEN	40
3. Ergebnisse	41
3.1 PATIENTENCHARAKTERISTIK BEI ITS-AUFNAHME.....	42
3.2 HYPERINSULINÄMER EUGLYKÄMER CLAMP (HE-CLAMP)	44
3.2.1 Baseline Charakteristika der Intensivpatienten.....	45
3.2.2 Systemische Insulinsensitivität	47
3.2.4 Glukoseinfusionsrate	49
3.2.5 Glukosekonzentration im Plasma	50
3.2.6 Metabolische Insulinclearance-Rate.....	50
3.3 DER MUSKULÄRE SUBSTRATSTOFFWECHSEL	52
3.3.1 Glukose.....	52
3.3.2 Pyruvat.....	53
3.3.3 Laktat.....	55
3.3.4 Laktat/Pyruvat-Ratio	56
3.3.5 Glycerol.....	58
3.4 EXPRESSION DER GENE DES INSULINSIGNALWEGS IM M. VASTUS LATERALIS.....	60
3.4.1 Erste Schritte im Insulinsignalweg: Insulinrezeptor, IGF-1-Rezeptor, IRS-1, IRS-2	60
3.4.2 Die zentralen Stellglieder: p110 α , Akt2	62
3.4.3 Die Akt-Zielstrukturen: GSK3 β , mTOR, FOXO1, FOXO3	63
3.4.4 Die Glukosetransporter GLUT1 und GLUT4.....	65
4. Diskussion	66
4.1 HERABGESETZTE SYSTEMISCHE INSULINSENSITIVITÄT WÄHREND DER ERSTEN WOCHEN AUF DER INTENSIVSTATION.....	67
4.1.1 Gravierendere Einschränkung der systemischen Insulinsensitivität bei Intensivpatienten mit CIM.....	68
4.1.2 Stärkerer Anstieg der Insulinserumkonzentration bei Intensivpatienten mit CIM	70
4.1.3 Reduzierte Insulinclearance bei Intensivpatienten mit CIM	71
4.1.4 Reduzierte Insulinclearance bei Einschränkung der Nierenfunktion	72
4.2 METABOLISCHE INFLEXIBILITÄT DER SKELETTMUSKULATUR VON INTENSIVPATIENTEN	73

4.2.1 Der blutzuckersenkende Insulineffekt - bei kritischer Erkrankung eine Insulinwirkung an extramuskulären Geweben.....	77
4.3 VERÄNDERUNGEN DES MUSKULÄREN EXPRESSIONSMUSTER VON GENEN DES METABOLISCHEN INSULINSIGNALWEGS.....	80
5. Ausblick	85
Literaturverzeichnis	87
Eidesstattliche Versicherung	94
Lebenslauf	95
Publikationsliste	96
Danksagung	97

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AKIN	Acute Kidney Injury Network
AMPK	Adenosinmonophosphat-aktivierte Proteinkinase
ATP	Adenosintriphosphat
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body Mass Index
BZ	Blutzucker
Bzw.	Beziehungsweise
CIM	Critical Illness Myopathy
CIP	Critical Illness Polyneuropathy
CIPNM	Critical Illness Polyneuromyopathy
CMAP	Compound Muscle Action Potential
CT	Cycle of Treshold
DAG	Diacylglycerol
dmCMAP	Direct Muscle Stimulated Compound Muscle Action Potential
DMS	Direct Muscle Stimulation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EMG	Elektromyographie
ERK	Extracellular-Signal Regulated Kinase
EZR	Extrazellulärraum
f	Femininum
fc	fold change
FOXO	Forkhead Box O
GLUT	Glukosetransporter
GSK3 β	Glykogensynthasekinase 3 β
HE-Clamp	Hyperinsulinämer Euglykämier Clamp
i.v.	Intravenös
ICUAW	Intensive Care Unit Aquired Weakness
IGF	Insulin-like growth factor
IIT	Intensivierte Insulintherapie
IL-6	Interleukin-6
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxid Synthase
IR	Insulinrezeptor
IRS	Insulinrezeptorsubstrat
ISI	Insulinsensitivitätsindex
ITS	Intensivstation
KG	Körpergewicht
KOF	Körperoberfläche
m	Maskulinum
M.	Musculus
MAD	Mittlerer arterieller Blutdruck
Max.	Maximum
MCR _I	Metabolische Clearance Rate von Insulin

Min.	Minimum
MRC	Medical Research Council
mRNA	Messenger-Ribonukleinsäure
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
n	Anzahl (lat. numerus)
NaCl	Natriumchlorid
Na ⁺ /K ⁺ -ATPase	Natrium-Kalium-Adenosintriphosphatase
neCMAP	Nerve Stimulated Compound Muscle Action Potential
NI	Niereninsuffizienz
NO	Stickstoffmonoxid
phospho	Phosphoryliert
PI3K	Phosphatidylinositol-3-Kinase
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat
PIP3	Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphat
RASS	Richmond Agitation and Sedation Scale
RT-PCR	Real Time Polymerasekettenreaktion
S6K1	Ribosomale Protein S6 Kinase 1
SH2	Src-homology-2
SNAP	Sensory Nerve Action Potential
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment
Tgl.	Täglich
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
UE	Untereinheit
Zw.	Zwischen

Verwendete Einheiten

cm	Zentimeter	mA	Milliampere
d	Tag (lat. dies)	mg	Milligramm
dl	Deziliter	min	Minute
h	Stunde (lat. hora)	mIU	Milli-International Unit
IU	International Unit	ml	Milliliter
kcal	Kilokalorie	mm	Millimeter
kg	Kilogramm	mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
l	Liter	mmol	Millimol
m ²	Quadratmeter	ms	Millisekunde
μ g	Mikrogramm	mV	Millivolt
μ l	Mikroliter	pg	Pikogramm
μ mol	Mikromol	s	Sekunde
μ V	Mikrovolt		

0. Abstract

Hintergrund: Die Manifestation einer Critical Illness Myopathie (CIM) sowie einer systemischen metabolischen Insulinresistenz mit konsekutiver Hyperglykämie sind häufige und ernst zu nehmende Komplikationen kritisch kranker Patienten, welche mit einer Erhöhung der Mortalität, Morbidität und der Aufenthaltsdauer im Krankenhaus assoziiert sind.

Fragestellung: Es gilt, die Gesamtkörperinsulinsensitivität von Intensivpatienten und gesunden Probanden zu vergleichen. Dabei soll gleichzeitig der Substratstoffwechsel im Skelettmuskel unter Insulinstimulation auf Veränderungen untersucht werden. Da vielfach ein post-Rezeptordefekt als Ursache für eine herabgesetzte Insulinsensitivität im Rahmen kritischer Erkrankung postuliert wurde, wird zusätzlich die muskuläre Expression von Genen des Insulinsignalwegs analysiert. Im Speziellen werden die Untersuchungsergebnisse von CIM- und NonCIM-Patienten gegenüber gestellt und Veränderungen im zeitlichen Verlauf der kritischen Erkrankung beurteilt.

Methodik: Es wurde eine prospektive klinische Observationsstudie konzipiert. Eine CIM-Diagnostik fand mittels der Methode der direkten Muskelstimulation statt. Intensivpatienten mit intakter Muskelmembranerregbarkeit wurden als NonCIM-Patienten gruppiert. An Tag 7 sowie an Tag 17 nach ITS-Aufnahme wurde bei den Intensivpatienten ein hyperinsulinämer euglykämischer Clamp (HE-Clamp) mit simultaner Mikrodialyse im M. vastus lateralis durchgeführt. Als Maß für die Gesamtkörperinsulinsensitivität wurde der Insulinsensitivitätsindex (ISI) berechnet. Mittels Mikrodialyse wurden die muskulären Konzentrationen von Glukose, Laktat, Pyruvat und Glycerol im HE-Clampverlauf bestimmt. Um die Expression von am metabolischen Insulinsignalweg beteiligten Genen zu analysieren, wurden an zwei Zeitpunkten Muskelbiopsieproben aus dem M. vastus lateralis entnommen. Zur Generierung von Referenzwerten wurden metabolisch gesunde Probanden rekrutiert.

Ergebnisse: 30 Intensivpatienten gingen in die finale Analyse ein. Bei 60 % dieser Patienten wurde eine CIM diagnostiziert (CIM-Patienten). Die Intensivpatienten waren an beiden HE-Clampzeitpunkten durch eine massive Reduktion des ISIs gegenüber gesunden Probanden gekennzeichnet. CIM-Patienten wiesen insbesondere während des ersten HE-Clamps einen noch stärker reduzierten ISI auf als NonCIM-Patienten. Im Verlauf vom ersten zum zweiten HE-Clamp konnte eine leichte Regeneration des ISIs dokumentiert werden, wobei das Niveau weiterhin signifikant unterhalb von dem gesunder Probanden lag. Durch die Applikation von Glukose und Insulin konnten bei den Intensivpatienten während beider HE-Clamps unabhängig vom Vorliegen einer CIM keine Stoffwechseleränderungen im Muskelinterstitium induziert werden. In der Muskelbiopsie zeichneten sich die Intensivpatienten zu beiden Zeitpunkten

0. Abstract

durch ein gegenüber den Kontrollprobanden deutlich verändertes Expressionsmuster aus, wobei CIM-Patienten im Allgemeinen stärkere Abweichungen zeigten als NonCIM-Patienten.

Diskussion: Es wurde erstmals dokumentiert, dass Intensivpatienten durch eine massive Einschränkung der metabolischen Flexibilität der Skelettmuskulatur charakterisiert sind, wobei CIM- und NonCIM-Patienten gleichermaßen betroffen waren. Entgegen bisheriger Annahmen, die Insulinsensitivität der Skelettmuskulatur bei kritischer Erkrankung sei verhältnismäßig suffizient und die Senkung des Blutglukosespiegels nach Insulinstimulus beruhe vornehmlich auf erhöhter Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur, zeigt die vorliegende Arbeit, dass der Energieumsatz in der Skelettmuskulatur kritisch kranker Patienten durch Hyperinsulinämie nicht beeinflusst wird. Die Zunahme des ISIs scheint daher auf einer Steigerung der Insulinresponsivität extramuskulärer Gewebe zu beruhen. Die Genexpressionsergebnisse unterstützen die Hypothesen zum Vorliegen eines post-Rezeptordefekts. Durch die vorliegende Arbeit wurden Einblicke in die komplexen Mechanismen der Insulinresistenz bei Intensivpatienten mit bzw. ohne CIM gewonnen, welche die Grundlage für weitere Untersuchungen zu den pathophysiologischen Hintergründen und möglichen Präventions- und Therapiestrategien bilden.

0. Abstract

Background: Manifestation of critical illness myopathy (CIM) as well as systemic metabolic insulin resistance with subsequent hyperglycaemia are frequent and serious complications in critically ill patients, that increase morbidity, mortality and length of stay in hospital.

Objectives: Whole-body insulin sensitivity of patients from the intensive care unit (ICU) should be compared to that of healthy subjects. Simultaneously substrate metabolism in skeletal muscle under the condition of insulin stimulation will be examined for changes. Since post-receptor defects have been postulated as a cause of decreased insulin sensitivity in the context of critical illness, muscular expression of genes involved in the metabolic insulin signalling pathway will be analysed. In particular findings from ICU-patients with and without CIM should be compared and results will be evaluated in the time course of critical illness.

Methods: In this prospective observational study diagnosis of CIM was established by direct muscle stimulation. ICU-patients with intact skeletal muscle membrane excitability were grouped as NonCIM-patients. Hyperinsulinaemic euglycaemic clamp (HE-clamp) with simultaneous microdialysis in vastus lateralis muscle was performed on day 7 as well as on day 17 after ICU-admission. As a measure of whole-body insulin sensitivity the insulin sensitivity index (ISI) was calculated. Via microdialysis interstitial concentrations of glucose, lactate, pyruvate and glycerol were determined. To analyse the expression of genes involved in metabolic insulin signalling pathway biopsies were taken from vastus lateralis muscle in ICU-patients twice. For generation of reference values metabolically healthy volunteers were recruited.

Results: 30 ICU-patients were enrolled in the final analysis. In 60 % of these patients CIM was diagnosed. At both time points of the HE-clamps ICU-patients were characterised by a massive diminution of ISI compared to healthy subjects. Particularly during the first HE-clamp the reduction of ISI was even more pronounced in CIM-patients than in NonCIM-patients. In the time course from first to second HE-clamp a slight regeneration of ISI could be documented, but the level was still significantly lower than that in healthy controls. The application of glucose and insulin did not induce any metabolic changes in interstitial muscle tissue of ICU-patients during both HE-clamps, independent of the presence of CIM. Muscle biopsies of ICU patients were characterised by significantly altered gene expression patterns compared to healthy controls at both biopsy time points and CIM-patients showed even greater deviations than NonCIM-patients.

Discussion: It was documented for the first time that ICU-patients are characterised by a massive restriction of metabolic flexibility of skeletal muscle. Skeletal muscle of CIM- and NonCIM-patients was similarly affected by metabolic insulin resistance. Contrary to previous

0. Abstract

assumptions that in context of critical illness, insulin sensitivity of skeletal muscle is quite sufficient and lowering of blood glucose is primarily based upon increased glucose uptake into skeletal muscle, the present work demonstrates that energy turnover in skeletal muscle of critically ill patients is not affected by hyperinsulinemia. Consequently, the increase in systemic insulin sensitivity appears to result from an increase in insulin sensitivity of extra-muscular tissues. The gene expression results support theories on the existence of post-receptor defects. With the help of the present work insights into the complex mechanisms of systemic and muscular insulin resistance in critically ill patients were obtained. The fundament for future investigations concerning the pathophysiological background and proper preventive as well as therapeutic strategies was established.

1. Einleitung

1.1 DIE ERWORBENE MUSKELSCHWÄCHE BEI INTENSIVPATIENTEN

Die auf der Intensivstation erworbene Muskelschwäche ist eine schwere Komplikation kritisch kranker Patienten. Im folgenden Abschnitt wird dieses Krankheitsbild hinsichtlich der Themen Krankheitssystematik, Diagnostik, Risikofaktoren und Pathophysiologie umfassend vorgestellt.

1.1.1 Systematik

Die Critical Illness Myopathie (CIM) ist auf Intensivstationen (ITS) gemeinsam mit der Critical Illness Polyneuropathie (CIP) eine schwerwiegende neuromuskuläre Komplikation kritisch kranker Patienten. Die Bezeichnungen kritisch kranker Patient und Intensivpatient werden synonym verwendet. CIM und CIP präsentieren sich im Wesentlichen als generalisierte Schwäche der Skelett- und Atemmuskulatur, welche sich definitionsgemäß akut im Rahmen der kritischen Erkrankung entwickelt.¹ Aufgrund der Beteiligung des Diaphragmas und der Atemhilfsmuskulatur bereitet insbesondere die Entwöhnung vom Beatmungsgerät große Schwierigkeiten. Ein komplettes Entwöhnungsversagen mit dauerhafter Abhängigkeit von maschineller Beatmung kann die Folge sein.² Die Mobilisation der Patienten während und nach dem Klinikaufenthalt ist meist nur mit Einschränkungen möglich, was den Genesungsprozess entscheidend verzögern kann. Es droht die Gefahr einer erheblichen Verlängerung des Krankenhausaufenthalts mit steigendem Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko sowie einer nach Entlassung anhaltenden Muskeldysfunktion mit maßgeblicher Einschränkung der weiteren Lebensqualität.³⁻⁵

In der Literatur existieren verschiedene Termini für das heterogene Krankheitsbild dieser auf der ITS erworbenen Muskelschwäche. Für die rein klinische Beschreibung des Symptomkomplexes wurden in der Literatur die Begriffe Intensive Care Unit Acquired Weakness (ICUAW)⁶ oder Intensive Care Unit Acquired Paresis (ICUAP)⁷ geprägt. Anhand von elektrophysiologischen oder histologischen Kriterien lässt sich differenzieren, ob primär eine nervale oder eine muskuläre Dysfunktion für den klinischen Aspekt der Muskelschwäche verantwortlich ist. Beruht die muskuläre Schwäche auf einer distalen sensomotorischen Polyneuropathie, so spricht man von einer CIP.⁸ Findet sich als zugrunde liegende Pathologie für die Muskelschwäche eine primäre Myopathie, variieren die Bezeichnungen je nach vermuteter Pathogenese von acute corticosteroid myopathy, acute hydrocortisone myopathy, acute quadriplegic myopathy, acute myopathy in severe asthma, acute corticosteroid and pancuronium-associated myopathy bis zu thick filament myopathy.¹ Analog zum Terminus CIP werden die genannten Entitäten unter dem Begriff CIM zusammengefasst.^{1,9} Im Verlauf des

1. Einleitung

Aufenthalts auf der ITS liegt häufig eine Koexistenz von CIM und CIP, vor was in der Literatur als Critical Illness Polyneuromyopathie (CIPNM) beschrieben wird.¹⁰

Es wurde gezeigt, dass die CIM bei Intensivpatienten mit Sepsis oder Multiorganversagen eine höhere Prävalenz aufweist als die CIP.^{11–13} Außerdem manifestiert sich die CIM zu einem früheren Zeitpunkt als die CIP.^{13,14}

Die Erfassung der Inzidenz von CIM bzw. CIP gestaltet sich aufgrund eines heterogenen Patientenkollektivs, uneinheitlicher Krankheitsbezeichnungen, Diagnosekriterien und Diagnosezeitpunkte schwierig.

Die klinische Evaluation der Muskelkraft bei adäquater Wachheit von 95 Intensivpatienten, welche für mindestens sieben Tage beatmungspflichtig waren, hat eine Inzidenz von 25 % für die auf ICUAW aufgezeigt.⁷ Stevens et al. haben in ihrer 2007 veröffentlichten systematischen Übersichtsarbeit 24 Populationen kritisch kranker Patienten analysiert, bei denen mittels elektrophysiologischer Untersuchungen nach neuromuskulären Veränderungen gefahndet wurde. Dabei zeigte sich, dass 46 % aller untersuchten kritisch kranken Patienten neuromuskuläre Störungen aufwiesen. In sechs der 24 Studienpopulationen wurde zwischen CIM, CIP und kombinierter CIPNM differenziert: Für die CIM ergab sich eine Prävalenz von 20 %, während die Prävalenz der CIP 13 % und die der CIPNM 9 % betrug.¹¹

1.1.2 Diagnostik

Die Stellung der Diagnose CIM bzw. CIP basiert auf drei diagnostischen Komponenten:

- Klinischer Nachweis einer Muskelschwäche
- Elektrophysiologischer Nachweis einer CIM und/oder CIP
- Histologischer Nachweis einer CIM und/oder CIP

1.1.2.1 Klinische Untersuchung

Das klinische Erscheinungsbild von CIM und CIP zeigt viele Gemeinsamkeiten und Überschneidungen. Allein durch die klinische Untersuchung ist es nicht möglich, sicher zwischen CIM und CIP zu differenzieren, weshalb für die rein klinische Diagnose der Muskelschwäche die Bezeichnung ICUAW gewählt wird.

Das Vorliegen einer CIM und/oder CIP muss insbesondere bei erschwerter Entwöhnung vom Respirator oder bei Entwöhnungsversagen als Ausdruck einer Schwäche des Zwerchfells sowie der Atemhilfsmuskulatur in Betracht gezogen werden. An wachen und kooperativen Patienten kann die Kraft der Atemmuskulatur mittels einer Lungenfunktionsprüfung anhand der inspiratorischen und expiratorischen Drücke sowie der Vitalkapazität evaluiert werden.

1. Einleitung

Die Beteiligung der Skelettmuskulatur ist in beiden Krankheitsentitäten symmetrisch. Im Rahmen einer CIM ist vor allem die proximale Muskulatur von der Schwäche betroffen, während die distale Muskulatur vor allem beim Vorliegen einer CIP von einem Kraftverlust affektiert ist.¹⁵

An wachen und kooperativen Patienten kann die Muskelkraft mittels des Medical Research Council (MRC)-Scores quantifiziert werden. Dabei wird bilateral die Kraft von drei Muskelgruppen der oberen und drei Muskelgruppen der unteren Extremitäten evaluiert. Je Muskelgruppe werden vom Untersucher 0 Punkte für ein Fehlen der Muskelkontraktion bis maximal 5 Punkte bei normaler Muskelkraft vergeben. Ein Proband mit normaler Muskelkraft in allen Extremitäten kann in Summe bei Evaluation von zwölf Muskelgruppen maximal 60 Punkte erreichen. Sowohl CIM als auch CIP gehen mit einer Reduktion des MRC-Gesamtscores einher. Beträgt der MRC-Gesamtscore weniger als 48 Punkte, kann bei Intensivpatienten eine ICUAW diagnostiziert werden.⁷ Diese ist mit einer verlängerten Abhängigkeit von maschineller Beatmung, einer erhöhten Mortalität, einer prolongierten Aufenthaltsdauer auf der ITS, und verminderter Lebensqualität nach dem Überleben der kritischen Erkrankung verbunden.^{14,16}

Eine weitere Möglichkeit ist die Evaluation der Muskelkraft mittels eines Handdynamometers. Durch einen Faustschluss wird das Gerät komprimiert und die Handkraft in Kilogramm quantifiziert. Auch diese Untersuchung erfordert einen wachen und kooperativen Patienten. Hermans et al. haben in einer aktuellen Studie die Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit des MRC-Scores und des Handdynamometers für kritisch kranke Patienten validiert.¹⁷

Die Untersuchung der tiefen Sehnenreflexe kann normale Ergebnisse liefern oder eine abgeschwächte Reflexantwort aufzeigen.

Die klinische Symptompräsentation unterscheidet sich zwischen CIP und CIM dahingehend, dass bei der Existenz einer CIP neben einer Kraftreduktion von Skelett- und Atemmuskulatur zusätzlich das Berührungs-, Schmerz-, Temperatur- und Vibrationsempfinden gestört ist.¹ Mit Ausnahme der Nozizeption imponieren diese Einschränkungen jedoch erst, wenn der Patient sein Bewusstsein wiedererlangt, da die Sensorik bei sedierten Intensivpatienten nicht verlässlich überprüft werden kann.

1.1.2.2 Elektrophysiologie

Mit Hilfe elektrophysiologischer Methoden können auch analgosedierte Patienten auf das Vorliegen einer CIM oder CIP untersucht werden. Es existieren vielfältige Untersuchungsmethoden, anhand derer die Funktionalität von Nerven und Muskeln analysiert werden kann: So können motorische und sensible Nervenleitgeschwindigkeiten gemessen werden, um die funktionelle Integrität des Nervs zu untersuchen. Zur Evaluation der funktionellen Integrität des Muskels existiert die Möglichkeit, eine Elektromyographie (EMG)

1. Einleitung

durchzuführen, wobei nach Zeichen pathologischer elektrischer Spontanaktivität wie positiven scharfen Wellen und Fibrillationen gefahndet wird (Abb. 1).

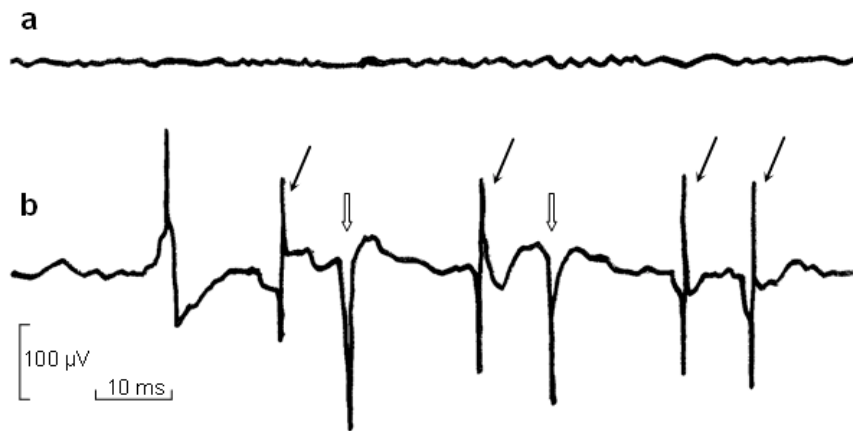


Abb. 1 a-b EMG eines relaxierten Patienten. **a** Normalbefund: elektrische Stille. **b** pathologische Spontanaktivität bei funktioneller Denervierung oder bei Muskelerkrankungen: Fibrillationen (dünne Pfeile) und positive scharfe Wellen (Blockpfeile). Fibrillationen haben eine relativ niedrige Amplitude und sind von kurzer Dauer. Positive scharfe Wellen zeigen zu Beginn eine starke positive Amplitude (Ausschlag nach unten) gefolgt von einer langsamen Rückbildung mit negativer Nachschwankung.

Außerdem kann die Amplitude des muskulären Summenaktionspotentials (compound muscle action potential, CMAP) nach nervaler Reizung (neCMAP) oder nach direkter Muskelstimulation (dmCMAP) beurteilt werden.^{13,14} Summenaktionspotentiale sensibler Nerven (sensory nerve action potential, SNAP) werden gemessen, indem proximal des Orts einer nervalen Reizung ein nervales Aktionspotential abgeleitet wird. Die Ableitung von SNAPs wird durch die Existenz von Ödemen beeinträchtigt, weshalb die gewonnenen Ergebnisse für kritisch kranke Patienten mit Vorbehalt betrachtet werden sollten.¹⁸ Anhand elektrophysiologischer Kriterien kann zwischen dem Vorliegen einer CIM und einer CIP differenziert werden (Tabelle 1).

Tabelle 1 Übersicht über die elektrophysiologischen Diagnosekriterien einer CIM bzw. CIP^{1,14,18,19}

	CIM	CIP
neCMAP-Amplitude		reduziert
neCMAP-Dauer	verlängert	normal
dmCMAP-Amplitude	reduziert	normal
SNAP-Amplitude	normal	reduziert
Nervenleitgeschwindigkeit	normal	normal oder leicht reduziert
EMG	pathologische Spontanaktivität mit Fibrillationen und positiven scharfen Wellen möglich	

1.1.2.3 Histologie

1. Einleitung

Die histologische Untersuchung von Muskel- bzw. Nervenbiopsien gilt als Goldstandard zur Diagnose einer CIM oder einer CIP, insbesondere zur Abgrenzung gegen andere Myopathien und Myositiden. Aufgrund der Invasivität einer Muskel- bzw. Nervenbiopsie werden diese Untersuchungen primär zu Forschungszwecken durchgeführt und gehören nicht zu den Standardmethoden des klinischen Alltags.

1.1.2.3.1 CIM

Charakteristisch für die CIM ist eine Atrophie der schnellen Typ 2 Muskelfasern schon in der Frühphase der Erkrankung.²⁰ Gleichmaßen kommt es zu einem selektiven Verlust des dicken kontraktiven Muskelfilaments Myosin. Dies geht mit einer Verringerung des Muskelquerschnitts einher. Histologisch auffallend ist außerdem ein Verlust des polygonalen Faserquerschnitts hin zu einem abgerundeten Faserquerschnitt mit zentral liegenden Zellkernen. Darüber hinaus können Nekrosen, Vakuolen sowie eine Zunahme von Binde- und Fettgewebe nachweisbar sein.¹

Je nach Ausprägungsgrad der histopathologischen Veränderungen lassen sich drei morphologische Erscheinungsbilder differenzieren:²¹

- „thick filament“ Myopathie
- diffuse, nicht-nekrotisierende Myopathie
- akute nekrotisierende Myopathie

Die Nervenbiopsie zeigt bei dem alleinigen Vorliegen einer CIM keine histopathologischen Veränderungen.

1.1.2.3.2 CIP

In der Nervenbiopsie lassen sich beim Vorliegen einer CIP Zeichen der axonalen Degenerationen vor allem im distalen Bereich motorischer und sensibler Nervenfasern nachweisen. Dabei sind allein die Axone ohne Beteiligung der Myelinscheiden pathologisch verändert. Entzündungszeichen sind nicht nachweisbar.

Das zur Neuropathie morphologische Korrelat in der Muskelbiopsie ist eine Denervierungsatrophie sowohl von Typ 1 als auch Typ 2 Fasern.^{1,16}

1.1.3 Risikofaktoren

In der Literatur sind zahlreiche Risikofaktoren für die Entwicklung einer ICUAW beschrieben. Insbesondere Patienten mit systemischer Inflammation, Sepsis oder Multiorganversagen zeigen ein erhöhtes Risiko für die Ausbildung einer ICUAW.^{7,12,22–24} Folglich ist eine Risikoabschätzung unter Zuhilfenahme von intensivmedizinischen Score-Systemen zur Quantifizierung der

1. Einleitung

Krankheitsschwere möglich.^{12,22,25} Des Weiteren wird die Immobilisation während des intensivmedizinischen Aufenthalts als negativer Einflussfaktor auf die Entwicklung einer ICUAW diskutiert. Als indirektes Maß zur Quantifizierung der Immobilität kann die Beatmungsdauer herangezogen werden. Diese korreliert unabhängig von anderen Risikofaktoren mit der klinischen Diagnose ICUAW und der elektrophysiologischen Diagnose einer CIPNM.^{7,26}

Der Effekt der Applikation von Glukokortikoiden im Rahmen der intensivmedizinischen Therapie auf die Muskelmembranerregbarkeit wird kontrovers diskutiert. Es konnten negative Auswirkungen einer Kortikosteroidtherapie auf das neuromuskuläre System nachgewiesen werden.^{4,7,27} Dagegen wurden in anderen Untersuchungen neutrale^{22,23,28-30} oder gar protektive³¹ Effekte einer Kortikosteroidtherapie im Hinblick auf die Entwicklung einer ICUAW beobachtet. Ähnlich verhält sich die Studienlage bezüglich des Einfluss von Muskelrelaxantien und Aminoglykosid-Antibiotika.^{22,23,28,31,32}

Darüber hinaus ist berichtet, dass auch die Parameter weibliches Geschlecht,⁷ höheres Lebensalter,³¹ Hyperosmolarität im Plasma,²⁸ zentralnervöse Störungen²⁸ sowie parenterale Ernährung²⁸ unabhängig von anderen Faktoren mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko für ICUAW assoziiert sind.

Ein relativ neuer Aspekt in der Diskussion um Risikofaktoren für die Entwicklung einer CIPNM ist eine schwankende Plasmacalciumkonzentration. Anastasopoulos et al. haben gezeigt, dass sowohl Hypocalciämie als auch Hypercalciämie mit einer Zunahme der Erkrankungswahrscheinlichkeit für eine CIPNM einher gehen.³³

Ein weiterer viel untersuchter und kontrovers diskutierter Risikofaktor ist eine erhöhte Blutzuckerkonzentration. Bereits im Jahr 1991 haben Witt et al. aufgezeigt, dass die funktionelle Integrität peripherer Nerven negativ mit der Blutglukosekonzentration korreliert.² In den folgenden Jahren haben insbesondere Untersuchungen hinsichtlich der Effekte einer intensivierten Insulintherapie (IIT) nahe gelegt, dass eine Vermeidung von Hyperglykämie die Inzidenz von CIPNM verringert.^{30,31,34,35} Nanas et al. haben in einer statistischen Analyse von 185 interdisziplinären Intensivpatienten die Theorie eines potentiell toxischen Effekts erhöhter Blutglukosespiegel auf neuromuskuläre Strukturen bestätigt.³² Auf Grundlage dieser Untersuchungen wurde die Hyperglykämie als ein wichtiger unabhängiger Risikofaktor für CIP und CIM etabliert.¹⁶

Aus den genannten Risikofaktoren ergeben sich mögliche Präventionsstrategien, die das Auftreten einer CIM vermindern können. Dazu zählen eine frühzeitige passive und wenn möglich aktive Mobilisation, eine strikte Einhaltung von Normoglykämie, ein zurückhaltender Umgang bei der Applikation von Glukokortikoiden sowie eine Sedierung und Muskelrelaxation auf möglichst niedrigem Niveau.

1.1.4 Pathophysiologie

1. Einleitung

Der Entwicklung einer ICUAW liegt ein komplexer multifaktorieller Pathomechanismus zugrunde, welcher Gegenstand aktueller Forschung ist.

Ein Hauptansatzpunkt zur Klärung der Pathogenese der ICUAW ist die systemische Inflammation bzw. Sepsis, welche das dominierende gemeinsame Merkmal von Intensivpatienten darstellt.³⁶ So wird insbesondere die gesteigerte Expression proinflammatorischer Zytokine mit der Entwicklung einer ICUAW in Verbindung gebracht. Es wurde gezeigt, dass erhöhte Interleukin-6- und TNF- α -Spiegel mit einer Reduktion der Muskelkraft einher gehen.^{12,37,38}

Die Erklärungsansätze für die inflammationsassoziierte Pathogenese der CIP und der CIM unterscheiden sich in den pathophysiologischen Ansatzpunkten:

Patienten mit CIP exprimieren im Gefäßendothel peripherer Nerven verstärkt E-Selektin. Dieses Adhäsionsmolekül induziert die Aktivierung von Leukozyten und führt lokal zu einer vermehrten Zytokinproduktion mit konsekutiver Steigerung der Kapillarpermeabilität. Sowohl potentiell neurotoxische Substanzen (Zytokine, Pharmaka, Glukose) als auch Flüssigkeit können dadurch aus dem Blutgefäßsystem in das neurale Interstitium übertreten.³⁹ Es entwickelt sich ein progredientes endoneurales Ödem, welches durch Hyperglykämie aggraviert wird. Über Ischämie, Energie- und Substratmangel resultiert eine primäre Degeneration der Axone (CIP).

Die Muskulatur von Patienten mit CIM ist durch eine Einschränkung der Mikrozirkulation mit nachfolgender Hypoxie der Myozyten gekennzeichnet. Diese ischämische Hypoxie wird potenziert durch eine zytopathische Hypoxie, die sich aus einem substratmangelbedingtem ATP-Defizit ergibt. Der ATP-Mangel wird begünstigt durch die zytokinabhängige Aktivierung des ATP-verbrauchenden Ubiquitin-Proteasomen-Systems. Darüber hinaus führen Zytokine zur Induktion der NO-Synthetase mit nachfolgender Steigerung der NO-Produktion. Stickstoffmonoxid blockiert insbesondere die Komplexe I und IV der mitochondrialen Atmungskette und hemmt dadurch die ATP-Produktion. Intrazellulärer Energiemangel und eine vermehrte Bildung reaktiver Sauerstoffradikale sind das Ergebnis dysfunktionaler Mitochondrien. Es resultiert ein enormer Zellstress mit einer Störung der funktionellen Integrität der Muskelzelle. Schließlich wird aus den defekten Mitochondrien das im Zytoplasma proapoptotisch wirkende Cytochrom C freigesetzt mit der Folge des Zelluntergangs.⁴⁰

Des Weiteren wurde gezeigt, dass Patienten mit CIM vermehrt Calcium aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freisetzen. Im Zytoplasma werden dadurch Calcium-abhängige Proteasen wie Calpain aktiviert, die initial zu einer Proteolyse führen. Unterstützt wird der muskuläre Proteinabbau durch die zytokinbedingte Aktivierung des Ubiquitin-Proteasomen-Systems. Dieses baut insbesondere die schweren Ketten des kontraktiven Proteins Myosin ab. Zugleich hemmen die Zytokine TNF- α und Interferon- γ die Genexpression von MyoD, welches eine wichtige Rolle für die Ausdifferenzierung von Myotuben spielt.³⁸ Zytokine fördern demnach

1. Einleitung

den Untergang vorhandener Muskelzellen und inhibieren gleichzeitig die Reifung neuer Muskelzellen. Die Folgen sind eine Reduktion der Muskelmasse sowie ein Kraftverlust der vorhandenen Muskulatur. Dies wird per se durch die Immobilisation während der kritischen Erkrankung aggraviert.

Die mit einer CIM einhergehende verminderte oder gänzlich aufgehobene Muskelmembranerregbarkeit beruht unter anderem auf Defekten der schnellen Natrium-Kanäle. Denervierung und Dexamethasonbehandlung führen bei Ratten zu charakteristischen Veränderungen der Muskelmembranerregbarkeit. Die Arbeitsgruppe um Rich hat an diesem Tiermodell für CIM gezeigt, dass sowohl im Sarkolemm als auch im sarkoplasmatischen Retikulum Natrium-Kanäle vermehrt inaktiviert sind. Sie fanden eine verstärkte Depolarisierung des Ruhemembranpotentials, einen erniedrigten spezifischen Membranwiderstand, eine verminderte Anzahl an Natrium-Kanälen, eine Reduktion der Aktionspotentialamplitude sowie eine verstärkte Hyperpolarisation bei der schnellen Inaktivierung der Natrium-Kanäle.⁴¹⁻⁴³ All diese Veränderungen können zur Herabsetzung der Muskelmembranerregbarkeit beitragen.

Hyperglykämie und eine verminderte Insulinsensitivität sind häufig zu beobachtende Phänomene bei Intensivpatienten, welche sich bereits in der frühen Phase einer kritischen Erkrankung manifestieren. Die Arbeitsgruppe um Van den Berghe hat im Rahmen von Untersuchungen zu den Effekten einer IIT bei Intensivpatienten festgestellt, dass die Inzidenz neuromuskulärer Komplikationen durch die IIT signifikant gesenkt wird.^{30,31,34,35} Es ist nicht eindeutig geklärt, ob die positiven Effekte der IIT auf die neuromuskuläre Integrität sekundär durch die Vermeidung von Hyperglykämie oder primär durch die anabole und antiinflammatorische Insulinwirkung bedingt sind. Eine Regressionsanalyse hat angedeutet, dass die Prävention neuromuskulärer Komplikationen durch IIT insbesondere auf der Reduktion des Blutzuckerspiegels, weniger auf der Applikation von Insulin beruht.⁴⁴ In den Untersuchungen zur IIT wurde nicht zwischen dem Vorliegen einer CIM und einer CIP differenziert. Diese Unterscheidung ist jedoch von großer Relevanz, wenn man die negativen Auswirkungen von Hyperglykämie näher betrachten möchte. Neurone nehmen insulinunabhängig Glukose auf und können daher durch Hyperglykämie direkt geschädigt werden. Im Gegensatz dazu erfolgt die Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur primär insulinabhängig, weshalb der Muskel nicht zwingend von den toxischen Effekten einer Hyperglykämie bedroht sein muss. Vor diesem Hintergrund ist anzunehmen, dass die durch Hyperglykämie hervorgerufene Dysfunktion von Nerven und Muskeln auf unterschiedlichen Mechanismen beruht. Die zugrunde liegenden pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen Hyperglykämie, Insulinresistenz und CIM bzw. CIP sind bis heute nicht verstanden.

1.2. DER SYSTEMISCHE GLUKOSESTOFFWECHSEL BEI AKUTER KRITISCHER ERKRANKUNG

Der Blutglukosespiegel wird beim Menschen unter normalen Bedingungen in einem Bereich von 80–140 mg/dl konstant gehalten. An dieser Homöostase sind komplexe neuroendokrine Regulationsmechanismen beteiligt. Katecholamine, Glukagon und Wachstumshormon sind die wichtigsten Hormone, die über eine Stimulation der Glukoneogenese und Glykogenolyse den Blutzuckerspiegels anheben. Im Gegensatz dazu führt Insulin über eine Hemmung der Glukoneogenese und Glykogenolyse sowie über eine Steigerung der peripheren Glukoseaufnahme zu einer Absenkung des Blutglukosespiegels.

Eine akute kritische Erkrankung geht häufig mit Veränderungen der Glukosehomöostase einher. Patienten, bei denen zuvor keine Störung der Glukosetoleranz bekannt war, fallen auf der ITS mit der Manifestation einer Hyperglykämie auf.^{34,45} Ursächlich für die Hyperglykämie bei Intensivpatienten ist die Kombination von Veränderungen des Glukosestoffwechsels und einer sich entwickelnden Insulinresistenz im Rahmen der physiologischen Stressantwort des Körpers. Diese Alterationen sind prinzipiell reversibel, sodass eine erfolgreiche Behandlung der zur Intensivpflichtigkeit führenden Erkrankung mit einer dauerhaften Normalisierung des Blutglukosespiegels und der systemischen Insulinsensitivität einhergeht.⁴⁶

Der im Rahmen von Trauma oder Sepsis erhöhte sympatho-adrenerge Tonus ruft eine Steigerung der hepatischen Glykogenolyse und Glukoneogenese hervor, um eine suffiziente Versorgung der obligat glukoseabhängigen Zellen des Nervensystems und der Inflammationskaskade zu garantieren. Da die Glukosebereitstellung den tatsächlichen Glukoseverbrauch übersteigt, führen diese Vorgänge zu einer Anhebung der Blutzuckerkonzentration. Hohe Serumspiegel der insulin-antagonistischen Hormone Glukagon, Cortisol und Wachstumshormon potenzieren die Stimulation der Glykogenolyse und Glukoneogenese sowie die Entwicklung einer Insulinresistenz. Die systemische Glukosehomöostase wird zusätzlich durch Entzündungsmediatoren wie TNF- α , Interferon- α oder Interleukin-1 α beeinflusst. Die Zytokine können eine Hyperglykämie einerseits direkt durch Steigerung der Glukoneogenese und Förderung einer Insulinresistenz verursachen. Andererseits wird die Hyperglykämie durch eine zytokininduzierte Sekretionssteigerung der insulinantagonistischen Hormone Adrenalin, Glukagon, Cortisol und Wachstumshormon sowie eine Hemmung der Insulinsekretion aggraviert.⁴⁶

Die Veränderungen des hormonellen Milieus sowie die gesteigerte Produktion von Zytokinen sind mit der Ausbildung einer zentralen und peripheren Insulinresistenz assoziiert. Der Begriff „zentrale Insulinresistenz“ beschreibt das Phänomen, dass die hepatische Glukoneogenese durch physiologische Insulinplasmaspiegel nicht supprimierbar ist. Der Terminus „periphere Insulinresistenz“ bezieht sich auf das Ausbleiben einer Insulinwirkung in der Skelettmuskulatur und im Fettgewebe.⁴⁶

1. Einleitung

1.2.1 Quantifizierung der systemischen Insulinsensitivität

Zur Bestimmung der Gesamtkörperinsulinsensitivität eignet sich die Methode des hyperinsulinämischen euglykämischen Clamps (HE-Clamp). Dieses Verfahren wurde 1979 von DeFronzo et al.⁴⁷ erstmals beschrieben und gilt als Goldstandard zur Evaluation der systemischen Insulinsensitivität. Der HE-Clamp beruht auf der Annahme, dass die kontinuierliche Applikation einer supraphysiologischen Insulinmenge zur Suppression der hepatischen Glukoneogenese führt. Während des HE-Clamps wird exogene Glukose appliziert, um den Blutzucker im normoglykämischen Bereich zu halten. Zum Ende des HE-Clamps, wenn ein konstanter Insulinplasmaspiegel erreicht ist, entsteht ein Gleichgewichtszustand, während dem die exogene Glukoseinfusionsrate der Menge Glukose entspricht, die insulinabhängig aus dem Blut entfernt wird. Aus dem Verhältnis zwischen der Glukoseinfusionsrate und dem Plasmainsulinspiegel während des Gleichgewichtszustands kann der Insulinsensitivitätsindex (ISI) als Maß für die Gesamtkörperinsulinsensitivität berechnet werden.

Die Arbeitsgruppe um Zauner et al. hat mit Hilfe von Clamp-Studien an 40 kritisch kranken Patienten zeigen können, dass deren systemische Insulinsensitivität gegenüber einem gesunden Referenzkollektiv um bis zu 70 % reduziert ist.⁴⁸

1.2.2 Die metabolische Insulinclearance

Insulin wird primär hepatisch und renal eliminiert. Prinzipiell können jedoch alle Gewebe, welche den Insulinrezeptor exprimieren zum Insulinabbau beitragen. Nach Bindung von Insulin an den Insulinrezeptor kommt es zu einer Rezeptorinternalisierung mit Bildung eines Endosoms. Ein intraendosomaler pH-Abfall führt zur Lösung der Bindung zwischen Rezeptor und Insulin. Das Insulin wird durch Proteasen abgebaut, während der Insulinrezeptor zur Zelloberfläche recyceln kann.⁴⁹

Im Rahmen von HE-Clamp-Untersuchungen kann die Insulin-Eliminationskapazität des Körpers als metabolische Insulinclearance-Rate (MCR_i) quantifiziert werden. Bereits 1982 haben Black et al. an nicht-septischen polytraumatisierten Patienten festgestellt, dass dieses Patientenkollektiv durch eine erhöhte Eliminationskapazität für Insulin charakterisiert ist.⁵⁰ Weitere Untersuchungen ergaben, dass die MCR_i auch bei Patienten mit internistischer kritischer Erkrankung erhöht ist.^{48,51} Diese Entdeckung wurde durch die im Zustand einer Sepsis gesteigerten Leberperfusion mit daraus resultierender Steigerung der hepatischen Insulinextraktion erklärt.⁴⁸

Lange Zeit wurde vermutet, dass die beschriebenen Alterationen der Glukosehomöostase Teil eines physiologisch sinnvollen Adaptationsvorgangs an den Umstand der kritischen Erkrankung

1. Einleitung

sind. Untersuchungen zu den Auswirkungen einer IIT kamen jedoch zu dem Schluss, dass Hyperglykämie und Insulinresistenz bei Intensivpatienten mit einer Steigerung der Mortalität assoziiert sind.⁵² In Anbetracht der Kenntnis einer zentralen und peripheren Insulinresistenz bei kritisch kranken Patienten wurde im Zuge der Untersuchungen zur IIT die Frage aufgeworfen, wie die Applikation von Insulin eine Senkung des Blutzuckerspiegels bewirkt. Die postmortale Analyse von Muskel- und Leberbiopsien kritisch kranker Patienten, hat ergeben, dass durch eine IIT Schlüsselmoleküle des metabolischen Insulinsignalwegs in der Skelettmuskulatur vermehrt exprimiert werden. In der Leber waren solche Veränderungen nicht detektierbar.⁵³ Auf Grundlage dieser Entdeckung kam die Vermutung auf, dass der blutzuckersenkende Effekt von Insulin bei kritischer Erkrankung auf einer Insulinwirkung an der Skelettmuskulatur beruht.^{53,54} Diese Hypothese impliziert, dass die muskuläre Insulinresistenz durch die Applikation entsprechender Mengen Insulin überwunden werden kann.

1.2.3 Der Glukosestoffwechsel im Skelettmuskel

Zur Deckung des Energiebedarfs können Skelettmuskelzellen sowohl Glukose als auch Lipide oxidieren. Welches Substrat bevorzugt wird, hängt unter Ruhebedingungen von der Substratverfügbarkeit und dem Insulinplasma Spiegel ab. Bei Nahrungskarenz verstoffwechselt die Muskulatur primär Fettsäuren, wohingegen nach Nahrungsaufnahme steigende Glukose- und Insulinplasma Spiegel eine Umstellung auf die Oxidation von Glukose als primäre Energiequelle hervorrufen. Die Fähigkeit der Muskulatur in Abhängigkeit vom Substratangebot zwischen Fettsäure- und Glukoseoxidation zu variieren, wird mit dem Begriff „metabolische Flexibilität“ charakterisiert (Abb. 2).^{55,56}

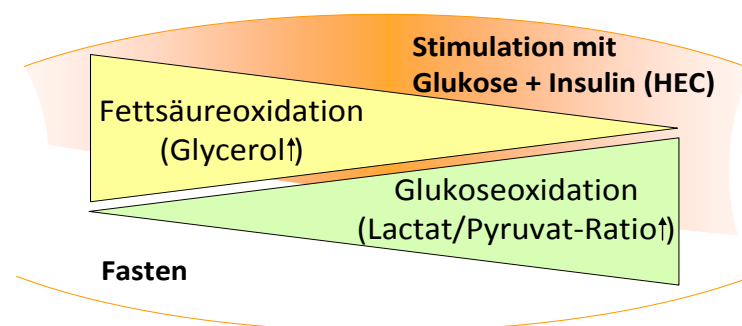


Abb. 2 Die metabolische Flexibilität im gesunden Skelettmuskel. Der Muskel ist in der Lage die zur Energiegewinnung genutzten Substrate an das entsprechende Substratangebot anzupassen.

1. Einleitung

Im Zustand einer Sepsis ist die systemische Glukoseverwertung kritisch kranker Patienten gegenüber gesunden Probanden signifikant erhöht, wobei die gesteigerte Glukoseaufnahme vor allem in Skelettmuskelzellen, Erythrozyten und Zellen des zentralen Nervensystems vermehrt über insulinunabhängige Mechanismen via Glukosetransporter 1 (GLUT1) erfolgt.⁵⁷ Lang und Kollegen setzten Ratten einer kontinuierlichen TNF- α -Infusion aus, um herauszufinden, welche Gewebe an der gesteigerten Glukoseaufnahme im Rahmen einer Sepsis beteiligt sind.⁵⁸ Sie stellten fest, dass TNF- α die Glukoseaufnahme in der Skelettmuskulatur aber auch in der Muskulatur von Herz und Diaphragma sowie in anderen Organen wie Leber, Haut oder Intestinaltrakt steigert. Zusätzlich wurde die insulininduzierte Glukoseaufnahme quantifiziert. Die muskuläre Glukoseaufnahme der mit TNF- α behandelten Ratten lag unter Insulinstimulation um 73 % unterhalb des Niveaus von Kontrollratten. Shangraw et al. bestätigten das Vorliegen einer muskulären Insulinresistenz an septischen Patienten.⁵¹ Sie konnten außerdem zeigen, dass die Fähigkeit der Skelettmuskulatur Glukose zu oxidieren intakt war. Eine unbeeinträchtigte Glukoseoxidation bei septischen Patienten wurde mehrfach bestätigt, während gleichzeitig Hinweise für eine defizitäre Glukosespeicherung gefunden wurden.^{59,60} Die Beobachtungen von Lang et al. sowie Shangraw et al. legten nahe, dass die Skelettmuskulatur im Rahmen einer Sepsis das Hauptorgan der sich entwickelnden peripheren Insulinresistenz zu sein scheint.^{58,61}

Weitere Untersuchungen an Tiermodellen deuteten das Vorliegen eines post-Rezeptordefekts als Ursache der reduzierten Insulinresponsivität der Muskulatur an.^{51,58} Nur wenige Arbeitsgruppen haben die Mechanismen, welche einer Insulinresistenz bei kritischer Erkrankung zugrunde liegen, an Patienten untersucht.⁶²⁻⁶⁵ Doch konnten auch in diesen Arbeiten Veränderungen des Insulinsignalwegs in der Skelettmuskulatur und eine Störung der GLUT4-Translokation nachgewiesen werden.

Um die Pathologie des post-Rezeptordefekts in der Skelettmuskulatur im Folgenden genauer betrachten zu können, soll zunächst der unter physiologischen Bedingungen ablaufende muskuläre Insulinsignalweg erläutert werden.

1.2.4 Der Insulinsignalweg im Skelettmuskel des Gesunden

Insulin ist ein Proteohormon, welches in den β -Zellen des Pankreas gebildet und gespeichert wird. Es besteht aus einer A- und einer B-Kette, welche über zwei Disulfidbrücken kovalent miteinander verbunden sind. Gespeichert werden die Insulinmoleküle in Vesikeln des Golgi-Apparats, wo sie mit Zink-Ionen stabilisierte Komplexe bilden. Die Insulinsekretion ist komplex reguliert. Insbesondere orale Glukoseaufnahme führt zu einem Anstieg der Insulinplasmakonzentration. Der zugrunde liegende Mechanismus ist bis heute noch nicht vollständig verstanden. Im Allgemeinen akzeptiert ist die Annahme folgender Kaskade: enterale Glukoseresorption, Anstieg des Blutglukosespiegels, erleichterte Diffusion von Glukose via Glukosetransporter 2 (GLUT2) in die β -Zellen des Pankreas, Verstoffwechslung der Glukose über aerobe Glykolyse, Anstieg der ATP-Konzentration, Schließen ATP-abhängiger Kalium-Kanäle, Depolarisation der Zellmembran, Öffnung spannungsabhängiger Calcium-Kanäle, Calcium-Einstrom, Aktivierung des Calcium-abhängigen Exozytosewegs, Insulinsekretion.⁶⁶ Die Wirkung von Insulin an Zielgeweben lässt sich in zwei Haupteffekte unterteilen: Einerseits stimuliert Insulin über den mitogenen Ras/ERK (extracellular-signal regulated kinase)-Signalweg Zellproliferation und -differenzierung, andererseits entfaltet Insulin über den PI3K/Akt Signalweg metabolische Effekte. Da die vorliegende Arbeit die insulinabhängige Regulation des Energiestoffwechsels thematisiert, fokussiert der folgende Abschnitt den metabolischen Weg der Insulinsignalkaskade (Abb. 3).

1. Einleitung

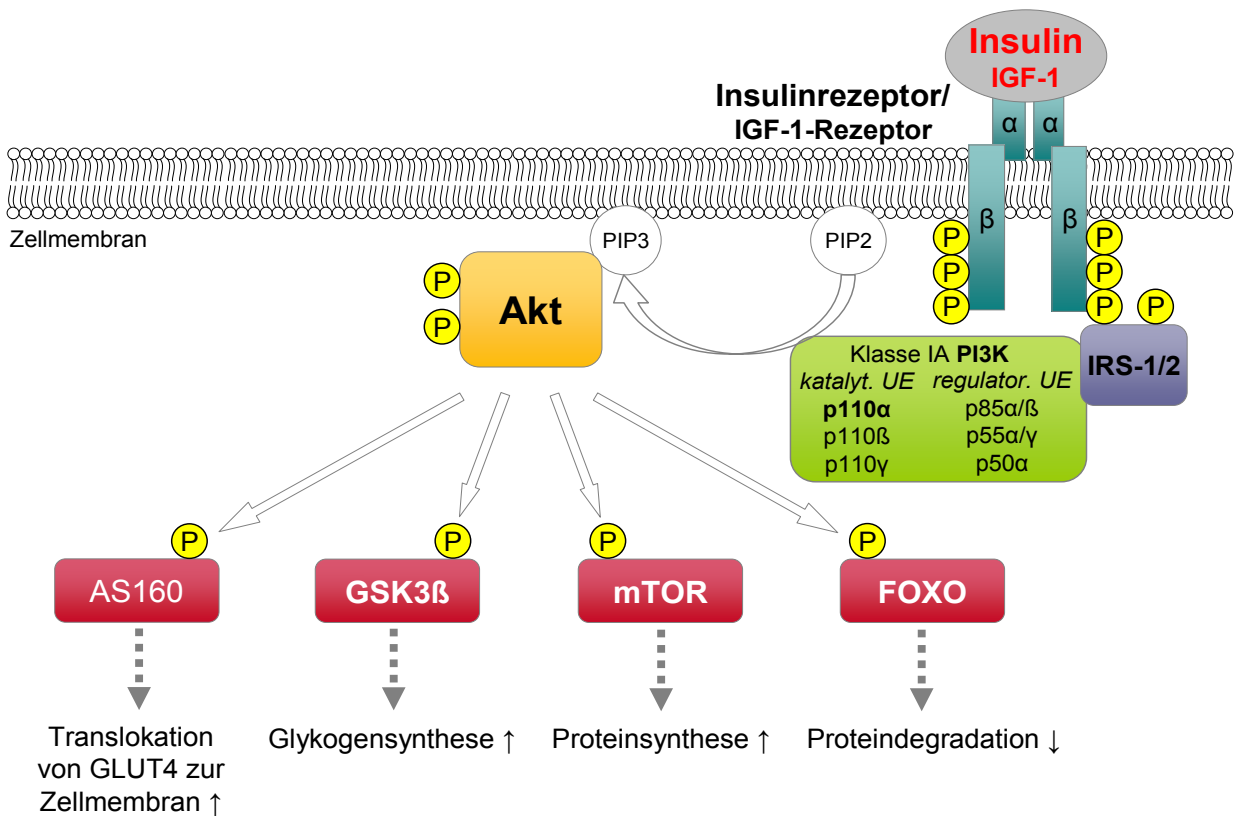


Abb. 3 Schematischer Ablauf des metabolischen Weges der Insulinsignalkaskade. Der Insulinrezeptor gehört ebenso wie der Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) -Rezeptor zur Familie der Tyrosinkinase-Rezeptoren. Aufgrund einer hohen Strukturhomologie können beide Rezeptoren konzentrationsabhängig sowohl von Insulin als auch von IGF-1 und IGF-2 aktiviert werden.⁶⁷ Die Bindung dieser Substrate führt über eine Autophosphorylierung (P) des Rezeptors zur Rekrutierung und Phosphorylierung von Insulinrezeptorsubstraten (IRS). An aktivierte IRS kann die regulatorische Untereinheit (UE) der Klasse IA Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) andocken. Dies führt über eine Konformationsänderung zur Aktivierung der katalytischen UE der PI3K mit nachfolgender Phosphorylierung von Phosphatidylinositol (4,5)-bisphosphat (PIP2) zu Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphat (PIP3). Der second messenger PIP3 kann die Serin/Threonin-Kinase Akt zur Zellmembran rekrutieren. Akt phosphoryliert multiple Effektoren und moduliert darüber unter anderem den zellulären Energiestoffwechsel. Die Phosphorylierung des Akt Substrat von 160 kDa (AS160) stimuliert die zelluläre Glukoseaufnahme über vermehrten Einbau der Glukosetransporters 4 (GLUT4) in die Plasmamembran, während die Phosphorylierung der Glykogensynthase-Kinase 3β (GSK3β) zu einer Steigerung der Glykogensynthese führt. Die anabolen Effekte auf den Proteinstoffwechsel werden über Phosphorylierung von mammalian target of rapamycin (mTOR) sowie Forkhead Box O (FOXO) vermittelt. Einzelheiten siehe Text. Fett hervorgehoben sind die in der vorliegenden Arbeit analysierten Mediatoren des Insulinsignalwegs.

1. Einleitung

Die Insulineffekte werden durch die Bindung von Insulin an den Insulinrezeptor, welcher in nahezu allen Körpergeweben exprimiert ist, vermittelt.⁶⁸ Der Insulinrezeptor gehört zur Gruppe der Rezeptortyrosinkinasen. Er besteht aus zwei extrazellulären α -Untereinheiten und zwei transmembranären β -Untereinheiten, welche mit je einer α -Untereinheit verknüpft sind. Der intrazelluläre Bereich der β -Untereinheiten enthält das katalytische Zentrum der Rezeptortyrosinkinase.⁶⁹ Die Bindung von Insulin an die extrazelluläre α -Domäne führt zu einer Änderung der Konformation innerhalb des Rezeptors, wodurch sich die β -Untereinheiten annähern und es zur Autophosphorylierung von Tyrosinresten am intrazellulären Bereich der β -Untereinheit kommt. Diese Phosphorylierung verstärkt die intrinsische Rezeptortyrosinkinaseaktivität und schafft eine neue Bindungsstelle am Insulinrezeptor, wodurch Insulin-Rezeptor-Substrate (IRS) mit dem Insulinrezeptor interagieren können.

Gegenwärtig sind 6 Insulin-Rezeptor-Substrate (IRS-1–6) beschrieben, die gewebeabhängig unterschiedlich stark exprimiert werden und die metabolischen sowie mitogenen Effekte von Insulin vermitteln.⁷⁰ In der Skelettmuskulatur werden die bisher am umfangreichsten untersuchten Vertreter IRS-1 und IRS-2 exprimiert. Die insulinabhängige GLUT4-Translokation zur Plasmamembran wird vor allem durch IRS-1 vermittelt, während IRS-2 über Aktivierung der Mitogen-aktivierten Kinase ERK eine Funktion in der Regulation von Zellproliferation und -differenzierung zu übernimmt.⁷¹ IRS werden von der intrinsischen Rezeptortyrosinkinase phosphoryliert, wodurch weitere Enzyme binden und aktiviert werden können.

Im Rahmen der metabolischen Insulinwirkung spielt die Rekrutierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) an IRS-1 eine besondere Rolle. Die PI3K ist eine heterodimere Lipidkinase, welche sich aus einer katalytischen und einer regulatorischen Untereinheit zusammensetzt. Es wurden für jede Untereinheit mehrere Isoformen identifiziert, weshalb abhängig von der Zusammensetzung verschiedene PI3K-Klassen existieren. Gegenwärtig sind 3 verschiedene PI3K-Klassen (I–III) mit unterschiedlicher Substratspezifität beschrieben.⁷² Die Klasse I PI3K phosphoryliert in erster Linie Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat (PIP₂) zu Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphat (PIP₃). Die Klasse I PI3K lässt sich wiederum in 2 Gruppen unterteilen (IA PI3K und IB PI3K), wobei die IA PI3K primär im Signalweg des Insulinrezeptor involviert ist. Die IA PI3K setzt sich aus der regulatorischen Untereinheit p85 α / β , p55 α / γ oder p50 α und der katalytischen Untereinheit p110 α / β oder γ zusammen. Untersuchungen an Zellkulturen und transgenen Mäusen haben gezeigt, dass die Isoform p110 α die relevante katalytische Isoform im Rahmen des Insulinsignalwegs ist.^{73,74} Nach Aktivierung der PI3K durch Bindung an IRS kann das Enzym zur Zellmembran zum Zielmolekül PIP₂ translozieren und dieses zum second messenger PIP₃ aktivieren.⁷⁵

Über Bindung an PIP₃ wird die Serin-/Threoninkinase Akt (auch bezeichnet als Proteinkinase B) an die Zellmembran rekrutiert. Gegenwärtig sind 3 Akt-Isoformen beschrieben (Akt1–3). Akt1

1. Einleitung

und 2 werden ubiquitär exprimiert, übernehmen jedoch verschiedene Funktionen. Akt2-knockout-Mäuse sind insbesondere durch Störungen im insulinabhängigen Glukosestoffwechsel charakterisiert.⁷⁶

Durch die Bindung von Akt an die Plasmamembran, kann es von der membranständigen PIP3-abhängigen Kinase 1 an einem Threoninrest phosphoryliert werden. Phosphoryliertes Akt (phospho-Akt) vermag zahlreiche intrazelluläre Substrate zu phosphorylieren und damit deren Aktivität zu modulieren. So wird die Glykogensynthasekinase 3 β (GSK3 β) Akt-abhängig phosphoryliert, wodurch die Kinase-Aktivität des Enzyms gehemmt wird. Dadurch unterbleibt die GSK3 β -abhängige Phosphorylierung von Serinresten der Glykogensynthase, was in einer Steigerung der Glykogensynthese resultiert. Analog führt das Unterbleiben der GSK3 β -abhängigen Phosphorylierung des eukaryotischen Translationsinitiationsfaktors 2B zu einer Stimulation der Proteinsynthese.⁷⁷

Ein anderes bedeutsames Protein downstream des Akt-Signalwegs ist mammalian target of rapamycin (mTOR). mTOR stimuliert die intrazelluläre Proteinsynthese und ist ein Schlüsselmolekül für die Regulation von Zellwachstum und -proliferation. Phospho-Akt ist in der Lage, mTOR durch Phosphorylierung zu aktivieren.⁷⁰

Weitere Zielmoleküle von phospho-Akt sind die Forkhead Box O (FOXO)-Transkriptionsfaktoren. Sie gehören zu einer Gruppe evolutionär hochkonservierter Regulatoren des Zellzyklus. In Säugetierzellen sind die Isoformen FOXO1, 3, 4 und 6 zu finden, welche sich in ihrer Proteinstruktur, ihrer Funktion und Regulation sehr ähneln. FOXO befindet sich im Zellkern und kann mittels der forkhead-Domäne an die DNA binden und die Transkription von Genen induzieren. FOXO-Transkriptionsfaktoren spielen in der Muskulatur eine wichtige Rolle bei der zellulären Differenzierung sowie bei der Regulation des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels. So begünstigen sie die Umstellung der Energiegewinnung vom oxidativen Glukosestoffwechsel hin zur Oxidation von Fettsäuren.⁷⁸ Außerdem induzieren sie die Transkription von Genen des Ubiquitin-Proteasomen-Systems sowie der Autophagie-/Lysosomen-Kaskade. Über diese Systeme fördern FOXO-Transkriptionsfaktoren die Proteindegradation und rufen eine Atrophie der Muskulatur hervor.¹⁹

Phospho-Akt stimuliert außerdem die GLUT4-abhängige Glukoseaufnahme über das so genannte Akt Substrat von 160 kDa (AS160). AS160 und seine Bedeutung für die Insulin-abhängige GLUT4-Translokation wurde von der Arbeitsgruppe um Kane et al zuerst in Adipozyten entdeckt^{79,80} und ist mittlerweile für die Skelettmuskulatur bestätigt.⁸¹

Es bleibt zu erwähnen, dass Insulin die muskuläre Glukoseaufnahme nicht nur über eine vermehrte Translokation von GLUT4 in die Plasmamembran stimuliert, sondern auch durch eine Steigerung der Durchblutung sowie durch mikrovaskuläres Recruitment und Dilatation von Widerstandsgefäßen.⁸²

1.2.5 Störungen des muskulären Insulinsignalwegs bei akuter kritischer Erkrankung

Es existieren nur wenige Publikationen, welche den Insulinsignalweg in der Skelettmuskulatur auf Gen- oder Proteinebene im Rahmen akuter kritischer Erkrankung analysiert haben. Das bisherige Wissen basiert überwiegend auf Erkenntnissen aus Tiermodellen. Es ist nicht leicht, die Ergebnisse der verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen in einen Zusammenhang zu bringen, da sich die Studien bezüglich der Imitation kritischer Erkrankung, des Ernährungs-, Sedierungs- und Therapieregimes, der Muskelbiopsielokalisation und des Biopsiezeitpunkts deutlich voneinander unterscheiden. Ähnliches gilt für die wenigen klinischen Untersuchungen an Kollektiven kritisch kranker Patienten.

Shangraw et al. fanden bereits 1989 mittels hyperinsulinämer euglykämischer Clamps an septischen Intensivpatienten Hinweise für das Vorliegen eines post-Rezeptor-Defekts, welcher der sich entwickelnden Insulinresistenz zugrunde liegen könnte: So führte die Infusion von Insulin bei septischen Intensivpatienten durch die insulinabhängige Stimulation der Na^+/K^+ -ATPase zu einem erwartungsgemäßen Abfall der Kaliumkonzentration im Plasma. Im Gegensatz dazu war das Ausmaß der insulinabhängigen Glukoseaufnahme dezimiert.⁵¹ Die Aktivierung der Na^+/K^+ -ATPase erfordert ebenso wie die insulinabhängige Steigerung der Glukoseaufnahme über die Translokation von GLUT4 in die Plasmamembran den Ablauf intrazellulärer Signalkaskaden nachdem Insulin an seinen Rezeptor gebunden hat.⁸³ Die bei den septischen Patienten intakte insulinabhängige Aktivierung der Na^+/K^+ -ATPase bei gleichzeitiger Einschränkung der insulinabhängigen Induktion der Glukoseaufnahme lassen einen Defekt auf dem intrazellulären Weg von der Aktivierung des Insulinrezeptors bis zur Translokation von GLUT4 in die Zellmembran vermuten.

Fan et al. haben 1996 in Ratten durch Infusion von Lipopolysacchariden eine gram-negative Sepsis simuliert und anschließend einen hyperinsulinämen euglykämischen Clamp durchgeführt. Der Phosphorylierungsstatus von Insulinrezeptor und IRS-1 im Skelettmuskel war unter baseline-Bedingungen identisch zu dem von Kontroll-Ratten. Allerdings blieb bei den septischen Ratten die im Rahmen von Hyperinsulinämie erwartete Steigerung der Phosphorylierung des Insulinrezeptors und des IRS-1 aus.⁸⁴

Im Jahr 2001 haben McCowen et al. Ratten über 72 Stunden kontinuierlich Endotoxine infundiert, um dann einen Insulinbolus zu applizieren und anschließend die Proteinexpression der Insulinsignalkaskade in der Skelettmuskulatur zu analysieren.⁸⁵ Der Insulinrezeptorgehalt sowie der Phosphorylierungsstatus des Insulinrezeptors waren identisch zu den Ergebnissen von Ratten, die statt der Endotoxin- eine NaCl-Infusion erhalten haben. Gegenteilig hierzu waren der Gehalt und der Phosphorylierungsstatus von IRS-1 bei den Endotoxin-Ratten signifikant reduziert. Darüber hinaus konnte nach Endotoxin-Infusion eine verminderte

1. Einleitung

insulinabhängige IRS-1 - PI3K-Assoziation nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse konnten im selben Jahr durch Untersuchungen der Arbeitsgruppe um Nunes et al. an einem Rattenmodell, bei dem die Sepsis durch Zökum-Punktion mit konsekutiver Peritonitis ausgelöst wurde,⁸⁶ bestätigt werden.

Zwei Arbeitsgruppen untersuchten den Insulinsignalweg in der Skelettmuskulatur von Ferkeln, welchen intravenös Lipopolysaccharide bzw. *E. coli* Endotoxin appliziert worden sind. Aare et al. dokumentierten, dass septische Ferkel gegenüber einer Kontrollkohorte vermehrt IRS-1 mRNA und weniger GSK3 β mRNA exprimieren.⁸⁷ Orellana et al. analysierten den Phosphorylierungsstatus von Insulinrezeptor, IRS-1 und Akt in septischen Ferkeln und konnten dabei keinerlei Alterationen im Vergleich zu nicht-septischen Tieren feststellen.⁸⁸ Die Ergebnisse von Orellana et al. konnten 2012 von Mulligan et al. an einem Mausmodell sowohl unter basalen Bedingungen als auch unter Insulinstimulation bestätigt werden.⁸⁹

Thompson et al. entwickelten ein Rattenmodell, in dem der Zustand kritischer Erkrankung durch ein chirurgisches Trauma und Blutverlust hervorgerufen wurde. Dies führte im *M. biceps brachii* bereits nach 60 Minuten zu einer herabgesetzten insulininduzierbaren Phosphorylierung von Insulinrezeptor, IRS-1 und Akt im Vergleich zu Ratten, die eine chirurgische Intervention ohne Hämorrhagie erlitten haben.⁹⁰

Gegenwärtig existieren 4 Publikationen, in denen der muskuläre Insulinsignalweg von Intensivpatienten auf mRNA oder auf Proteinebene beschrieben wird.⁶²⁻⁶⁵ Die gewonnenen Gen- und Proteinexpressionsergebnisse sind heterogen. Es lassen sich daraus keine validen Schlussfolgerungen zum molekularen Pathomechanismus der gestörten systemischen Insulinsensitivität bei kritischer Erkrankung ziehen. Allerdings unterstützen diese Untersuchungen die von Shangraw et al. aufgestellte Hypothese hinsichtlich des Vorliegens eines post-Rezeptordefekts.

1.3 ZIELSETZUNG DER ARBEIT

Die Entwicklung einer metabolischen Insulinresistenz und einer Hyperglykämie sind typische Komplikationen eines intensivmedizinischen Aufenthalts, welche mit einer Steigerung der Mortalität einhergehen.^{34,91} Gleiches gilt für die Manifestation einer CIM.⁷ Nachdem Hyperglykämie als unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung neuromuskulärer Komplikationen identifiziert wurde,^{16,32} stellt sich die Frage nach einem möglichen Zusammenhang zwischen der Ausbildung einer Insulinresistenz und der Entwicklung einer CIM. Beide Komplikationen können auf gemeinsamen auslösenden Mechanismen, wie systemischer Inflammation, Immobilisation oder der Applikation von Medikamenten beruhen. Allerdings könnten sich Insulinresistenz und CIM auch gegenseitig bedingen. Da die Skelettmuskulatur neben der Leber und dem Fettgewebe das Hauptorgan der Insulinwirkung ist, liegt die Vermutung nahe, dass Insulinresistenz und CIM in einer engen Wechselbeziehung zueinander stehen. Ein solcher Zusammenhang ist bisher nicht näher untersucht worden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die pathophysiologischen Mechanismen sowie den zeitlichen Verlauf der akut einsetzenden Insulinresistenz im Rahmen einer kritischer Erkrankung allgemein und einer CIM im Speziellen zu untersuchen. Die bisherige Forschung hat zahlreiche Hinweise dafür geliefert, dass die Skelettmuskulatur das zentrale Organ der gestörten Insulinwirkung bei kritischer Erkrankung ist.^{61,84,90,92} Aus diesem Grund fokussiert die vorliegende Arbeit auf die metabolische Skelettmuskelhomöostase sowie den metabolischen Abschnitt der Insulinsignalkaskade in der Skelettmuskulatur.

Folgende Fragestellungen gilt es zu beantworten:

1. Unterscheidet sich die Gesamtkörperinsulinsensitivität von kritisch kranken Patienten mit bzw. ohne CIM und gesunden Probanden?
2. Wie entwickelt sich die Gesamtkörperinsulinsensitivität im zeitlichen Verlauf des ITS-Aufenthalts von Patienten mit bzw. ohne CIM?
3. Finden sich bei kritisch kranken Patienten mit bzw. ohne CIM Veränderungen des insulinabhängigen Substratstoffwechsels in der Skelettmuskulatur?
4. Wie stellt sich das Expressionsmuster von Genen des metabolischen Insulinsignalwegs in der Skelettmuskulatur kritisch kranker Patienten mit bzw. ohne CIM gegenüber gesunden Kontrollen dar?

1. Einleitung

5. Verändert sich das Expressionsniveau von Genen des metabolischen Insulinsignalwegs in der Skelettmuskulatur kritisch kranker Patienten mit bzw. ohne CIM im Verlauf des ITS-Aufenthalts?

2. Methoden

2.1 STUDIENDESIGN / STUDIENPROTOKOLL

Die prospektive klinische Observationsstudie wurde im Rahmen des Teilprojekts P3 „Der Skelettmuskelstoffwechsel und die Critical Illness Myopathie während des frühen Verlaufs systemischer Entzündung“ der von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten klinischen Forschergruppe 192 durchgeführt. Die Ethikkommission der Charité - Universitätsmedizin Berlin genehmigte die Durchführung der Studie mit einem positiven Votum (Charité EA2/061/06).

Voraussetzung für den Einschluss eines Patienten war die Erfüllung der im Folgenden genannten **Einschlusskriterien**:

- Sequential Organ Failure Assessment Score von ≥ 8 an mindestens drei von fünf aufeinander folgenden Tagen
- erwartete Beatmungsdauer > 72 h

sowie die Abwesenheit der im Folgenden genannten **Ausschlusskriterien**:

- fehlende Einverständniserklärung durch einen amtlich bestellten Betreuer
- Alter < 18 Jahre
- Schwangerschaft
- BMI > 35 kg/m²
- präexistenter Diabetes mellitus
- präexistente neuromuskuläre Erkrankung
- vorhergehender Aufenthalt > 5 d auf einer anderen ITS
- infauste Prognose (zu erwartender Todeseintritt innerhalb weniger Stunden oder Tage trotz Maximaltherapie)
- therapierefraktäre Blutgerinnungsstörung

Täglich fand ein Screening nach geeigneten Patienten auf zwei interdisziplinären Intensivstationen der Klinik für Anästhesie und operative Intensivmedizin, Charité Berlin Campus Virchow Klinikum statt. Erfüllte ein Patient die Einschlusskriterien und lag kein Ausschlusskriterium vor, so wurde ein Betreuungsverfahren für diesen Patienten eingeleitet. Der amtlich bestellte Betreuer wurde daraufhin sowohl mündlich als auch schriftlich über die Zielsetzung, die geplanten Maßnahmen und die möglichen Risiken einer Studienteilnahme

2. Methoden

aufgeklärt. Unterschrieb der Betreuer die Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie, so fand der Einschluss des Patienten statt.

Fortan wurden bei allen eingeschlossenen Patienten täglich Blutentnahmen sowie eine neurologische Statusuntersuchung durchgeführt. Des Weiteren wurden intensivmedizinische Scores zur Bewertung der Sedierungstiefe und der Krankheitsschwere erfasst. Hämodynamische Parameter wie die Herzfrequenz und der arterielle Mitteldruck wurden viermal täglich erhoben (6:00 Uhr, 12:00 Uhr, 18:00 Uhr, 24:00 Uhr). Auch der Blutglukosespiegel wurde zu diesen vier Zeitpunkten dokumentiert. Zusätzlich wurde die täglich applizierte Menge von Noradrenalin, Insulin und Hydrokortison aufgezeichnet.

Der Ablauf der Studieninterventionen ist in Abb. 4 dargestellt und wird in den sich anschließenden Unterkapiteln näher erläutert.

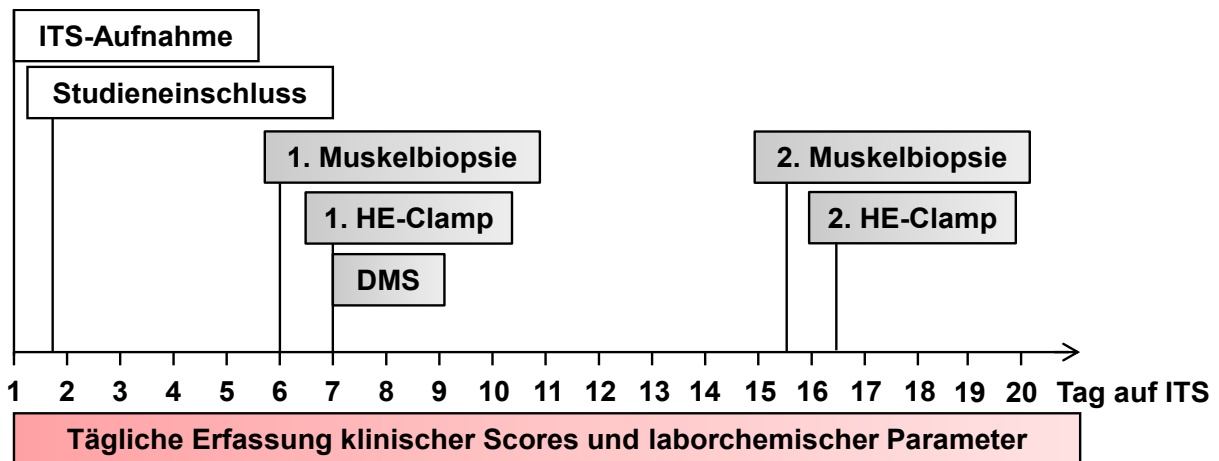


Abb. 4 Flussdiagramm Studienprotokoll. ITS: Intensivstation; HE-Clamp: Hyperinsulinämer euglykämischer Clamp; DMS: Direkte Muskelstimulation. Die durchgeführten Untersuchungen werden in den folgenden Unterkapiteln näher erläutert.

2.1.1 Erfasste klinische Parameter

Einmalig während des intensivmedizinischen Aufenthalts wurden bei den Patienten das Körpergewicht in kg, die Körpergröße in cm, der Body Mass Index (BMI) in kg/m^2 und die Körperoberfläche (KOF) in m^2 bestimmt. Die Berechnung der Körperoberfläche erfolgte mit Hilfe der seit 1916 etablierten Formel von Du Bois und Du Bois:⁹³

$$\text{KOF (m}^2\text{)} = 0.007184 \times \text{Körpergröße (cm)}^{0.725} \times \text{Körpergewicht (kg)}^{0.425}$$

2. Methoden

Außerdem wurde das Idealgewicht abhängig vom Geschlecht unter Zuhilfenahme einer der zwei folgenden Formeln⁹⁴ berechnet:

$$\text{Idealgewicht}_{\text{Männer}} \text{ (kg)} = [\text{Körpergröße (cm)} - 152.4] \times 0.91 + 50$$

$$\text{Idealgewicht}_{\text{Frauen}} \text{ (kg)} = [\text{Körpergröße (cm)} - 152.4] \times 0.91 + 45.5$$

Um die Krankheitsschwere, die Sedierungstiefe und die Muskelkraft der Patienten zu bewerten und zu vergleichen wurden die im Folgenden erläuterten Scores erfasst.

2.1.1.1 Sepsisklassifikation

Sepsis spielt im intensivmedizinischen Kontext eine relevante Rolle. Sie ist einerseits eine Diagnose, die typischerweise die Indikation zur Aufnahme auf eine ITS stellt, andererseits kann sie als Komplikation im Rahmen eines intensivmedizinischen Aufenthalts auftreten. Da Sepsis auf Intensivstationen mit einer hohen Prävalenz und Mortalität assoziiert ist,⁹⁵ wurden bei den Patienten der vorliegenden Studie während der ersten 14 Tage auf der ITS täglich die Diagnosekriterien der Sepsis geprüft und das Ergebnis dokumentiert. Die Sepsisdefinition erfolgte auf Grundlage der S2-Leitlinie der Deutschen Sepsis-Gesellschaft und der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin.⁹⁶ Es werden die Entitäten Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS), Sepsis, schwere Sepsis und septischer Schock anhand der in Tabelle 2 dargestellten Diagnosekriterien unterschieden.

Tabelle 2 Diagnosekriterien für Sepsis, schwere Sepsis und septischem Schock⁹⁶

I Infektion	<ul style="list-style-type: none">• mikrobiologischer Nachweis oder klinischer Anhalt für eine Infektion
II Systemic Inflammatory Response Syndrom (SIRS) mind. 2 Kriterien	<ul style="list-style-type: none">• Fieber ($\geq 38,0$ °C) oder Hypothermie ($\leq 36,0$ °C) validiert durch eine rektale, intravasale oder intravesikale Messung• Tachykardie: Herzfrequenz ≥ 90 /min• Tachypnoe (Atemfrequenz ≥ 20 /min) oder Hyperventilation ($P_a\text{CO}_2 \leq 33$ mmHg)• Leukozytose (≥ 12000 /μl) oder Leukopenie (≤ 4000 /μl) oder ≥ 10 % unreife Neutrophile im Differentialblutbild

2. Methoden

III Organkomplikation mind. 1 Kriterium	<ul style="list-style-type: none"> • Akute Enzephalopathie: eingeschränkte Vigilanz, Desorientiertheit, Unruhe, Delirium • Thrombozytopenie: Thrombozytenzahl $\leq 100.000 /\mu\text{l}$ oder Thrombozytenabfall $> 30\%$ innerhalb von 24 h (unter Ausschluss einer Thrombozytopenie durch akute Blutung oder immunologische Ursachen) • Arterielle Hypoxämie ($P_a\text{O}_2 \leq 75 \text{ mmHg}$) unter Raumluft, $P_a\text{O}_2/\text{FiO}_2 \leq 250 \text{ mmHg}$ unter Sauerstofftherapie (unter Ausschluss einer manifesten pulmonalen oder kardiale Erkrankung) • Renale Dysfunktion (Urinausscheidung $\leq 0,5 \text{ ml/kg/h}$ über $\geq 2 \text{ h}$ trotz ausreichender Volumensubstitution und/oder Anstieg des Serum-Kreatinins $> 2\text{x}$ über den Referenzbereich des lokalen Labors) • Metabolische Azidose: Base Excess $\leq -5 \text{ mmol/l}$ oder eine Laktatkonzentration $> 1,5\text{x}$ oberhalb des lokal üblichen Referenzbereichs
Sepsis	Kriterien I (Infektion) und II (SIRS)
schwere Sepsis	Kriterien I (Infektion), II (SIRS) und III (akute Organdysfunktion)
septischer Schock	Kriterien I (Infektion), II (SIRS) und für $\geq 1 \text{ h}$ systolischer arterieller Blutdruck $\leq 90 \text{ mmHg}$ bzw. ein MAD $\leq 65 \text{ mmHg}$ oder Einsatz von Vasopressoren erforderlich, um den systolischen arteriellen Blutdruck $\geq 90 \text{ mmHg}$ oder den MAD $\geq 65 \text{ mmHg}$ zu halten. Die Hypotonie besteht trotz adäquater Volumengabe und ist nicht durch andere Ursachen zu erklären.

2.1.1.2 Renale Dysfunktion

An Tagen der Durchführung eines hyperinsulinämen euglykämien Clamps wurde die renale Funktion der Patienten anhand der Definition des Acute Kidney Injury Networks (AKIN)⁹⁷ auf das Vorliegen eines akuten Nierenversagens sowie anhand der Kriterien der Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI)⁹⁸ auf die Existenz einer terminalen Niereninsuffizienz geprüft. Das Vorliegen einer chronischen terminalen Niereninsuffizienz wurde diagnostiziert, wenn bereits vor ITS-Aufnahme eine chronische Dialysepflichtigkeit bei den Patienten bestand. Die Stadien-Einteilung des akuten Nierenversagens nach den AKIN-Kriterien ist in Tabelle 3 dargelegt.

Tabelle 3 Stadieneinteilung des akuten Nierenversagens entsprechend der AKIN-Kriterien.⁹⁷ Die Einteilung in ein Stadium erfolgt, sobald ein Kriterium (Kreatinin_{Serum} oder Urinausscheidung) erfüllt ist.

Stadium	Kreatinin _{Serum}	Urinausscheidung
1	Kreatininanstieg $\geq 0.3 \text{ mg/dl}$ oder 1.5- bis 2-facher Kreatininanstieg über den Ausgangswert	$< 0.5 \text{ ml/kgKG/h}$ für mehr als 6 h
2	$> 2-$ bis 3-facher Kreatininanstieg über den Ausgangswert	$< 0.5 \text{ ml/kgKG/h}$ für mehr als 12 h

2. Methoden

3	> 3-facher Kreatininanstieg über den Ausgangswert oder Notwendigkeit eines renales Ersatzverfahrens	< 0.3 ml/kg/h für mehr als 24 h oder Anurie für mehr als 12 h
----------	--	--

2.1.1.2 Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score

Der SOFA Score wurde als Messinstrument zur Beschreibung und Quantifizierung von Organdysfunktionen bei septischen Intensivpatienten entwickelt.⁹⁹ Es hat sich gezeigt, dass die serielle Erhebung des SOFA Scores vor allem in der Frühphase des Aufenthalts auf einer ITS eine Abschätzung der Prognose des Patienten erlaubt und auch für Intensivpatienten ohne Sepsis anwendbar ist.^{100–102} Er eignet sich als Maß zur Objektivierung der Krankheitsschwere von Intensivpatienten. Bei der Erhebung des SOFA Scores wird die Funktion von sechs Organsystemen mit jeweils einem Punktwert von 0 (normale Organfunktion) bis 4 (stärkste Organdysfunktion) bewertet (Tabelle 4). Die sechs erhobenen Punktwerte werden schließlich addiert, sodass ein Patient ohne Organdysfunktion durch einen SOFA Score von 0, während ein Patient mit mehrfachem Organversagen durch einen maximalen SOFA Score von 24 charakterisiert ist. In der vorliegenden Arbeit wurde der SOFA-Score bei allen eingeschlossenen Patienten einmal täglich dokumentiert.

Tabelle 4 Der Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score

Punktwert	0	1	2	3	4
bewertetes Organsystem					
respiratorische Funktion					
P _a O ₂ /FiO ₂ , (mmHG)	> 400	≤ 400	≤ 300	≤ 200	≤ 100
				maschinelle Beatmung	
Blutgerinnung					
Thrombozyten (×10 ³ /μl)	> 150	≤ 150	≤ 100	≤ 50	≤ 20
Leberfunktion					
Bilirubin (mg/dl)	< 1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 5,9	6,0 - 11,9	> 12,0
Nierenfunktion					
Kreatinin (mg/dl)	< 1,2	1,2 - 1,9	2,0 - 3,4	3,5 - 4,9	> 5,0
Urinproduktion (ml/d)	> 500	> 500	> 500	< 500	< 200
ZNS-Funktion					
Glasgow Coma Scale	15	13 - 14	10 - 12	6 - 9	< 6
Herz-Kreislauf-Funktion					
MAD (mmHg)	≥ 70	< 70			
Katecholamine (μg/kg/min) über mehr als eine Stunde	keine	keine	Dopamin ≤ 5 /Dobutamin (jede Dosis)	Dopamin > 5 /Adrenalin ≤ 0,1 /Noradrenalin ≤ 0,1	Dopamin > 5 /Adrenalin ≤ 0,1 /Noradrenalin ≤ 0,1

2. Methoden

2.1.1.3 Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS)

Täglich wurde die Sedierungstiefe anhand der Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS) quantifiziert. Dieser Score gilt entsprechend der S3-Leitlinie der deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin als Goldstandard zum Monitoring der Sedierungstiefe in der Intensivmedizin.¹⁰³ Mehrere Untersuchungen an Intensivpatienten konnten eine hohe Validität und Reliabilität für die RASS bestätigen. Die zehnstufige RASS beurteilt das Ausmaß der Sedierung (-1 bis -5) bzw. den Grad der Agitiertheit (+1 bis +4) eines Intensivpatienten (Tabelle 5).

Tabelle 5 Richmond Agitation and Sedation Scale (RASS)

Score	Ausdruck	klinischer Untersuchungsbefund
+4	sehr streitlustig	offene Streitlust, gewalttätig, unmittelbare Gefahr für das Personal
+3	sehr agitiert	zieht oder entfernt Schläuche oder Katheter; aggressiv
+2	agitiert	häufig ungezielte Bewegung, Atmung gegen das Beatmungsgerät
+1	unruhig	ängstlich, aber Bewegungen nicht aggressiv oder lebhaft
0	aufmerksam, ruhig	
-1	schläfrig	nicht ganz aufmerksam, anhaltendes Erwachen durch Stimme (> 10 s)
-2	leichte Sedierung	kurzes Erwachen mit Augenkontakt durch Stimme (< 10 s)
-3	mäßige Sedierung	Bewegung oder Augenöffnung durch Stimme (kein Augenkontakt)
-4	tiefe Sedierung	keine Reaktion auf Stimme, Bewegung oder Augenöffnung auf körperlichen Reiz
-5	nicht erweckbar	keine Reaktion auf Stimme oder körperlichen Reiz

2. Methoden

2.1.1.4 Medical Research Council (MRC)-Score

An Tagen, an denen die Patienten fähig waren, Aufforderungen zu befolgen, wurde einmalig pro Tag die Muskelkraft mit Hilfe des Medical Research Council (MRC)-Scores quantifiziert. Bei der Erhebung dieses Scores wird die Muskelkraft von jeweils drei Muskelgruppen an allen vier Extremitäten mit einem Punktwert von 0 bis 5 beurteilt (Tabelle 6). Anschließend werden alle Werte addiert, sodass bei maximaler Muskelkraft ein MRC-Summenscore von 60 erreicht werden kann.

Tabelle 6 MRC-Score. Die Evaluation des Kraftgrads erfolgt je nach Muskelgruppe im Sitzen oder im Liegen.

untersuchte Muskelgruppe	Kraftgrad
Abduktoren des Schultergelenks	0 = keine sicht- oder fühlbare Kontraktion
Flexoren des Ellenbogengelenks	1 = sicht- oder fühlbare Kontraktion
Extensoren des Handgelenks	2 = Bewegung ohne Einfluss der Schwerkraft
Flexoren des Hüftgelenks	3 = Bewegung gegen die Schwerkraft
Extensoren des Kniegelenks	4 = Bewegung gegen Schwerkraft und Widerstand
Dorsalextensoren des Fußgelenks	5 = normale Muskelkraft

2.2 INTENSIVMEDIZINISCHES BEHANDLUNGSKONZEPT

Alle Patienten wurden auf einer von zwei interdisziplinären Intensivstationen entsprechend klinikintern festgelegter Behandlungsstandards behandelt.¹⁰⁴ Die maschinelle Beatmung erfolgte druckkontrolliert mit der Möglichkeit zur Spontanatmung im Modus BIPAP/ASB (biphasic positive airway pressure ventilation allowing assisted spontaneous breathing) mit Tidalvolumina von 6 ml/kg_{idealgewicht}. Die Behandlung der Patienten umfasste zur lungenprotektiven Beatmung auch eine permissive Hyperkapnie, intermittierende Bauchlage sowie einen an die Oxygenierung angepassten positiven endexpiratorischen Druck. Die Blutglukosekonzentration wurde anhand eines standardisierten Protokolls mittels intravenöser Insulinapplikation auf den Zielbereich zwischen 80–150 mg/dl eingestellt. Muskelrelaxantien wurden nur in speziellen Situationen wie zur Bronchoskopie oder zur Drehung in Bauchlage bolusweise appliziert. Für Patienten mit schwerer Sepsis oder septischem Schock wurden zusätzlich die Richtlinien der Surviving Sepsis Campaign 2008 angewandt.¹⁰⁵ Patienten mit septischem Schock erhielten über eine kontinuierliche Infusion 200 mg Hydrokortison pro Tag. Im Rahmen der hämodynamischen Therapie wurde frühzeitig ein Volumenersatz gegeben. Die Sedierung wurde täglich anhand des RASS- Scores an ein definiertes Protokoll adaptiert. Die angestrebte enterale Ernährung betrug 25 kcal/kg/d.

2.3 DIREKTE MUSKELSTIMULATION

Ein wichtiger Aspekt der Studie war es, zu untersuchen, ob bei den Intensivpatienten eine CIM vorlag. Da die Mehrzahl der Patienten analgosediert und daher nicht zu willkürlicher Muskelkontraktion fähig war, wurde auf die Methode der direkten Muskelstimulation (DMS) zurückgegriffen (Abb. 5). Diese elektrophysiologische Untersuchung erlaubt den Nachweis einer Beeinträchtigung der Muskelmembranerregbarkeit ohne eine aktive Beteiligung des Patienten und ist im intensivmedizinischen Kontext zum Nachweis einer CIM etabliert.^{13,14,18,25,106,107} Es lässt sich zwischen CIM und CIP differenzieren, da bei der DMS selektiv die Erregbarkeit der Muskelfaser überprüft wird, ohne dass daran eine nervale Erregung oder die motorische Endplatte beteiligt sind. Bei Existenz einer isolierten CIP wird erwartet, dass die Amplitude des Summenaktionspotentials aller stimulierten Muskelfasern („Compound Muscle Action Potential“, CMAP) nach DMS (dmCMAP) normal groß ist, da die Erregbarkeit der Muskelfaser intakt ist. Hingegen ist beim Vorliegen einer reinen CIM die dmCMAP-Amplitude reduziert, weil die funktionelle Integrität der Muskelzellen gestört ist.

Die elektrophysiologische Untersuchung wurde zeitnah nach Studieneinschluss auf der ITS mittels eines transportablen 2-Punkt-Elektromyo- und Elektroneurographs der Firma Medtronic (Skovlunde, Dänemark) von einer erfahrenen Fachärztin für Neurologie durchgeführt. Proximal des distalen Sehnenansatz des M. tibialis anterior wurden Oberflächenelektroden zur Stimulation des Muskels angebracht. Die Lokalisation der Elektroden im distalen Bereich des Muskels garantiert eine ausreichende Entfernung zum Endplattenbereich. Bei der Existenz von Ödemen kamen subdermale Elektroden zur Anwendung. Über diese Elektroden wurde der Muskel langsam mit steigender Intensität von 10 bis 100 mA erregt, bis eine Muskelzuckung sichtbar wurde. Die Impulsfrequenz betrug 1 Hz und die Impulsdauer 0,1 ms. Im Bereich der sichtbaren Muskelkontraktion wurde 1,5–5 cm proximal der Stimulationselektroden eine konzentrische Nadelelektrode (Länge: 25 mm oder 37 mm, Durchmesser: 0,46 mm) implantiert. Über diese Nadelelektrode wurde die Amplitude des Summenaktionspotentials aller stimulierten Muskelfasern nach DMS (dmCMAP) abgeleitet. Analog zu Untersuchungen von Trojaborg et al.¹⁸ wurde eine dmCMAP-Amplitude < 3 mV als pathologisch angesehen und diente als Grenzwert zur Diagnostizierung des Vorliegens einer CIM.

War keine Muskelkontraktion sichtbar, wurde die konzentrische Nadelelektrode in vier verschiedene Muskelbereiche in der Nähe der Stimulationselektroden platziert, damit keine kleinen Amplituden übersehen wurden. Konnte somit keine Antwortamplitude registriert werden, wurde der Muskel als unerregbar eingestuft.

2. Methoden

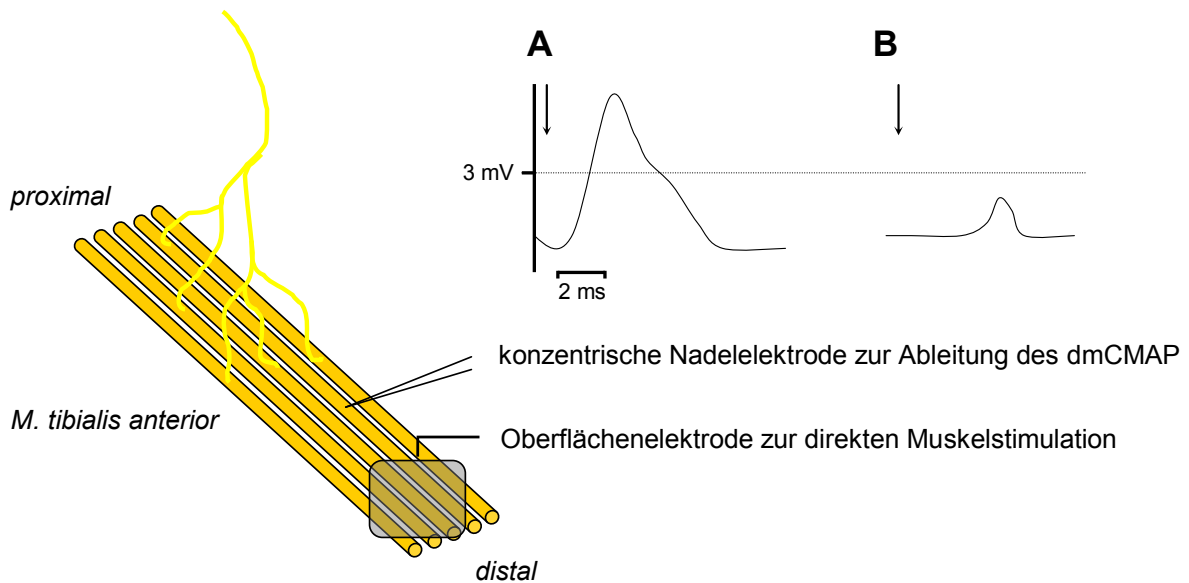


Abb. 5 Direkte Muskelstimulation (DMS) im M. tibialis anterior. Die Stimulationselektrode wird im distalen Drittel des Muskels angebracht. Proximal davon wird im Bereich der sichtbaren Muskelkontraktion die konzentrische Nadelelektrode zur Ableitung des Muskelsummenaktionspotentials nach DMS (dmCMAP) platziert. **A** Antwortpotential auf DMS (↓) bei normaler Muskeleerregbarkeit. **B** Antwortpotential auf DMS(↓) bei eingeschränkter Muskeleerregbarkeit (CIM), dmCMAP < 3 mV.

2.4 HYPERINSULINÄMER EUGLYKÄMER CLAMP

Zur Bestimmung der Gesamtkörperinsulinsensitivität kam die Goldstandard-Methode des hyperinsulinämen euglykäm Clamps (HE-Clamp) zur Anwendung. Bei diesem Verfahren wird untersucht, wie viel Glukose appliziert werden muss, um bei einem künstlich gesteigerten Insulinspiegel, den Blutglukosespiegel im physiologischen Bereich zu halten. Dabei ist es wichtig, dass die applizierte Insulindosis die hepatische Glukoneogenese vollständig supprimiert, denn dann kann aus dem Verhältnis zwischen exogen verabreichter Glukose und dem Plasmainsulinspiegel der Grad der systemischen Insulinsensitivität berechnet werden.

Da die Skelettmuskulatur unter hyperinsulinämen euglykäm Bedingungen zu 80–90 % an der insulinabhängigen Glukoseaufnahme beteiligt ist, reflektiert der Clamp insbesondere die muskuläre Insulinsensitivität.¹⁰⁸

In Vorbereitung auf den HE-Clamp wird üblicherweise eine Nüchternheitsphase von 12 Stunden eingehalten.⁴⁷ Um für die Intensivpatienten im Zustand einer kritischen Erkrankung eine minimale Energieversorgung zu garantieren, wurden sie 12 Stunden vor Versuchsbeginn ausschließlich mit Glukose parenteral ernährt, wobei die verabreichte Menge an das Körpergewicht angepasst wurde. Es wurde kontinuierlich eine 10 %-ige Glukoseinfusion mit einer körperlsgewichtsadaptierten Menge von 2 mg/kg/min über einen zentralvenösen Zugang appliziert. Die Überwachung des Blutzuckerspiegels erfolgte in regelmäßigen Abständen durch

2. Methoden

arterielle Blutgasanalysen (BGA). Zur Einstellung des Blutzuckerspiegels 80–150 mg/dl wurde nach Bedarf Insulin (Actrapid, Novo Nordisk, Bagsværd, Dänemark) über einen zentralvenösen Zugang verabreicht.

Die Infusion großer Mengen Insulin und Glukose kann eine Hypokaliämie hervorrufen. Um dies zu vermeiden wurde mittels arterieller BGA die Kaliumkonzentration regelmäßig überwacht und gegebenenfalls Kaliumphosphat i.v. substituiert.

Zu Beginn des HE-Clamps wurde während der so genannten baseline-Phase die Insulininfusionsrate über 3 Stunden so abgestimmt, dass der Blutglukosespiegel in einem engeren Bereich von 100–130 mg/dl lag. Im Anschluss daran erfolgte über 30 Minuten die Gabe eines Insulinbolus von 180 mIU/m²KOF/min. Mittels BGA wurde in einem Intervall von 5 Minuten die Glukosekonzentration im arteriellen Blut quantifiziert. Die Glukosegabe wurde so adjustiert, dass der Blutglukosespiegel zwischen 80–110 mg/dl lag. Nach der 30-minütigen Gabe des Insulinbolus wurde die Insulinlauftrate für die restliche Versuchszeit auf 125 mIU/m²KOF/min gesenkt. Ab diesem Zeitpunkt wurde die Blutglukosekonzentration im Abstand von 10 Minuten mittels arterieller BGA bestimmt. Die Glukoseinfusionsrate wurde weiterhin so angepasst, dass der Blutzuckerspiegel in einem Bereich von 80–110 mg/dl gehalten wurde. Lag der Blutglukosespiegel an drei aufeinander folgenden Messungen bei konstanter Glukoseinfusionsrate im Zielbereich und betrug die Differenz zwischen den drei Messwerten weniger als 10 %, so war die steady state-Phase erreicht. Diese wurde anschließend über eine Stunde lang aufrecht gehalten, ohne dass die Glukoseinfusionsrate verändert wurde. In dieser Phase wurden alle 20 Minuten Blutgasanalysen zur Kontrolle des Glukosespiegels durchgeführt (Abb. 6).

2. Methoden

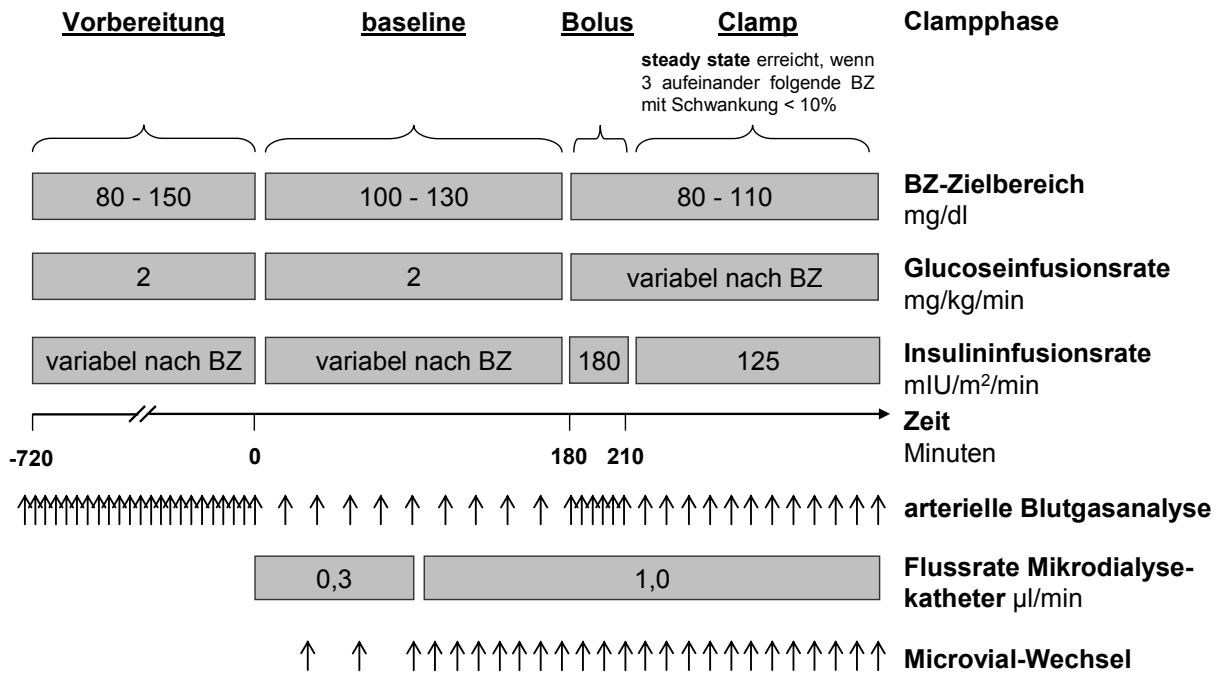


Abb. 6 Flussdiagramm zum Ablauf des HE-Clamps mit simultaner Mikrodialyse. Einzelheiten siehe Text. BZ = Blutzucker

Da die supraphysiologische Insulinkonzentration im Blut zur Suppression der hepatischen Glukoseproduktion führt, wird im Zustand der steady state-Phase ausschließlich die exogen zugeführte Glukose insulinabhängig sowie insulinunabhängig metabolisiert.⁴⁷ So lässt sich die Insulinsensitivität des Patienten ableiten: Je mehr Glukose appliziert werden muss, desto empfindlicher reagiert der Körper auf Insulin. Als Ausdruck der Glukoseutilisationsrate wird der so genannte M-Wert berechnet, indem die Glukoseinfusionsrate (mg/min) während der steady state-Clampphase durch das Körpergewicht (kg) dividiert wurde. Aus dem Verhältnis des M-Werts zur Insulinkonzentration im Plasma (mIU/l) resultiert der Insulinsensitivitätsindex (ISI) als Maß für die Gesamtkörperinsulinsensitivität.

$$ISI = \frac{\text{M - Wert}_{\text{steady state}} \text{ (mg/kg/min)}}{\text{Seruminsulin}_{\text{steady state}} \text{ (mIU/l)}}$$

Des Weiteren wurde in der steady state-Phase die metabolische Insulinclearance-Rate (MCR_I) mit Hilfe der folgenden Formel berechnet:

$$MCR_I = \frac{\text{Insulininfusionsrate}_{\text{steady state}} \text{ (mIU/m}^2\text{/min)}}{\text{Seruminsulin}_{\text{steady state}} \text{ (mIU/l)} - \text{Seruminsulin}_{\text{baseline}} \text{ (mIU/l)}}$$

2. Methoden

Die Berechnung der MCR_I beruht auf der Annahme, dass die basale endogene Insulinproduktion durch die exogene Insulininfusion nicht verändert wird.⁵⁰

Um die Insulinsensitivität der Intensivpatienten umfassend interpretieren zu können, wurden HE-Clamps bei gesunden Probanden, bei denen keine Erkrankungen bekannt waren, durchgeführt. Der HE-Clamp fand bei dem gesunden Vergleichskollektiv unter standardisierten Bedingungen statt. Vor Beginn des Versuchs waren die Patienten für mindestens 12 Stunden nüchtern. Den Probanden wurde zur Infusion von Insulin und Glukose ein peripherer Venenkatheter in eine Ellenbeugenvene platziert. Zur Kontrolle des Blutzuckerspiegels wurde Kapillarblut am Ohrläppchen der Probanden entnommen.

Die Insulininfusionsrate betrug bei den gesunden Probanden $40 \text{ mIU/m}^2\text{KOF/min}$. Die Glukosekonzentration wurde alle 5 bis 10 Minuten in Kapillarblut kontrolliert und mittels variabler Glukoseinfusionsrate im Zielbereich zwischen 68–90 mg/dl gehalten.

2.5 MIKRODIALYSE

Um den lokalen Stoffwechsel im Muskelgewebe unter HE-Clampbedingungen zu beurteilen, wurde bei den Intensivpatienten sowie bei dem gesunden Vergleichskollektiv zeitgleich zum HE-Clamp eine Mikrodialyse im linken oder rechten M. vastus lateralis durchgeführt (kontralateral zur Seite der Muskelbiopsie). Dazu wurde der Muskel nach oberflächlicher Lokalanästhesie der Haut mit Lidocain unter sterilen Bedingungen mit einer Hohlnadel punktiert. In dieser Hohlnadel befand sich der Mikrodialysekatheter. Nach erfolgreicher Punktion wurde die Hohlnadel vorsichtig zurückgezogen und der Mikrodialysekatheter verblieb für die Dauer der Untersuchung an der vorgesehenen Stelle im Muskelgewebe.

Die Mikrodialyse ist ein Verfahren zur kontinuierlichen Messung von Substanzkonzentrationen im Extrazellulärraum (EZR) unterschiedlicher Gewebe. In der vorliegenden Studie wurden die Metabolite Glukose, Pyruvat, Laktat und Glycerol im M. vastus lateralis analysiert. Das Prinzip der Mikrodialyse beruht auf der Diffusion von Molekülen durch eine semipermeable Membran entlang eines Konzentrationsgradienten zwischen zwei Kompartimenten. Als Flüssigkeitskompartimente stehen sich hierbei der EZR des Muskels und das mit Perfusionslösung durchspülte Lumen des Mikrodialysekatheters gegenüber.

Der verwendete Mikrodialysekatheter vom Typ 63 der Firma *CMA Microdialysis AB, Solna, Sweden* besteht aus einem 600 mm langen zuführenden Schenkel, an dessen Spitze sich eine semipermeable Membran aus Polyarylethersulfon befindet. Diese ist für Substanzen mit einer Molekülmasse $< 20\,000$ Dalton durchlässig und grenzt mit einer Seite an den muskulären EZR, mit der anderen Seite an das Katheterlumen, welches mittels einer Hochpräzisionspumpe (CMA

2. Methoden

107 MD pump) von laktatfreier Ringerlösung perfundiert wird. Diese Perfusionsflüssigkeit ist eine plasmaitone Elektrolytlösung, welche frei von den zu untersuchenden Metaboliten ist. Die Applikation der Ringerlösung erfolgt kontinuierlich, um den Konzentrationsgradienten zwischen EZR und Perfusionslösung aufrecht zu erhalten. An der Membran kommt es entsprechend des Konzentrationsgefälles zwischen EZR und Perfusionsflüssigkeit zur Diffusion der Stoffwechselmetabolite vom EZR in das Katheterlumen. Das Dialysat (= Perfusionslösung + diffundierte Moleküle) wird über einen 220 mm langen abführenden Schenkel in einem Microvial gesammelt.

Aufgrund der kontinuierlichen Perfusion der Membran kommt es nicht zur vollständigen Angleichung der Molekülkonzentrationen zwischen EZR und Perfusionslösung. Daher ist die Konzentration einer Substanz im Dialysat stets geringer als deren tatsächliche Konzentration im EZR. Um von der Konzentration im Dialysat auf die Substanzkonzentration im Interstitium zu schließen, benötigt man die relative Recovery der Substanz. Die relative Recovery beschreibt das Verhältnis zwischen der Substanzkonzentration im Dialysat und der Substanzkonzentration im EZR. Um die relative Recovery zu bestimmen, wurde vor Beginn des HE-Clamps eine in vivo-Kalibrierung durchgeführt: Die Flussrate der Perfusionslösung betrug zunächst 0.3 µl/min, wobei das Microvial in einem Intervall von 30 Minuten gewechselt wurde. Bei dieser niedrigen Flussrate kann davon ausgegangen werden, dass die Angleichung der Molekülkonzentrationen vollständig erfolgt.¹⁰⁹ Die Recovery beträgt also 100 %. Um während des HE-Clamps in kürzeren Abständen eine ausreichende Probenmenge entnehmen zu können, wurde die Flussrate nach 90 Minuten auf 1 µl/min erhöht. Das Microvial wurde in den folgenden 80 Minuten im Abstand von 20 Minuten ausgetauscht. Die erste Microvialprobe mit einer Flussrate von 1 µl/min wurde verworfen, da davon ausgegangen wird, dass die Äquilibration nach Umstellung der Flussrate nicht sofort suffizient ist. Die relative Recovery wurde anschließend aus dem Verhältnis zwischen dem Mittelwert der Substanzkonzentration bei einer Flussrate von 0.3 µl/min und dem Mittelwert der Substanzkonzentration bei einer Flussrate von 1 µl/min berechnet:

$$\text{Relative Recovery} = \frac{\text{Substanzkonzentration bei 0.3 } \mu\text{l/min}}{\text{Substanzkonzentration bei 1.0 } \mu\text{l/min}}$$

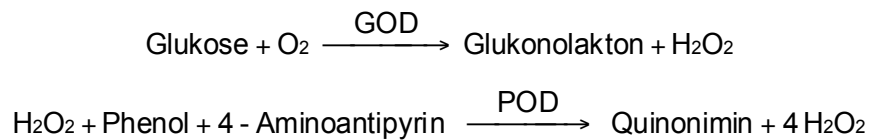
Während des HE-Clamps betrug die Durchflussrate der Perfusionslösung gleichbleibend 1 µl/min, wobei der Microvialwechsel in einem 20-minütigen Intervall erfolgte (Abb. 6).

Das im Microvial gesammelte Dialysat wurde nach Abschluss des Versuchs im Analysator vom Typ ISICUSflex microdialysis analyzer (CMA Microdialysis AB, Solna, Schweden) enzymphotometrisch auf die Metabolite Glukose, Laktat, Pyruvat und Glycerol untersucht.

2. Methoden

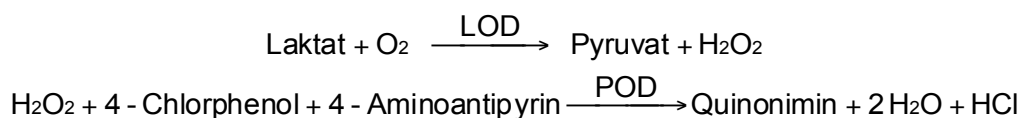
2.5.1 Glukose

Glukose wird durch des Enzyms Glukoseoxidase (GOD) zu Glukonolacton und Wasserstoffperoxid oxidiert. Eine Peroxidase (POD) katalysiert anschließend die Reaktion des gebildeten Wasserstoffperoxids (H_2O_2) mit den Reagenzien Phenol und 4-Aminoantipyrin zu Quinonimin und Wasser (H_2O). Quinonimin ist ein rot-violetter Farbstoff, dessen Bildungsrate bei einer Wellenlänge von 530 nm gemessen wird. Die Menge des entstehenden Farbstoffs ist proportional zur Glukosekonzentration im Dialysat. Die Methode ist linear im Bereich von Glukosekonzentrationen zwischen 1.8–450 mg/dl.



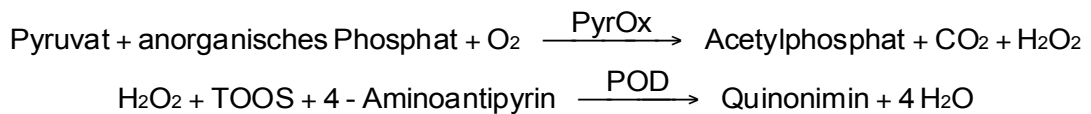
2.5.2 Laktat

Laktat wird durch das Enzym Laktatoxidas (LOD) zu Pyruvat und Wasserstoffperoxid oxidiert. Eine Peroxidase (POD) katalysiert anschließend die Reaktion des gebildeten Wasserstoffperoxids mit den Reagenzien 4-Chlorphenol und 4-Aminoantipyrin zu Quinonimin, Wasser und Chlorwasserstoffsäure. Der Gehalt an entstehendem Quinonimin wird bei 530 nm gemessen und ist proportional zur Laktatkonzentration im Dialysat. Die Methode ist linear im Bereich von Laktatkonzentrationen zwischen 0.1–12 mmol/dl.



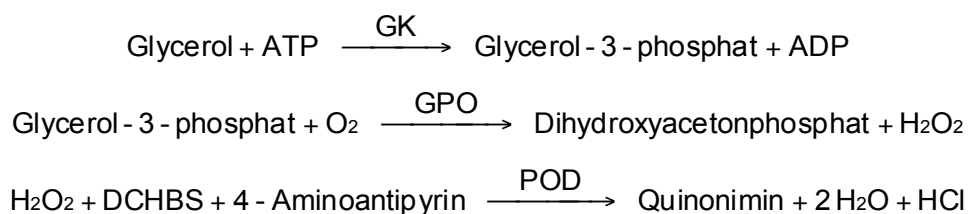
2.5.3 Pyruvat

Pyruvat wird durch das Enzym Pyruvatoxidase (PyrOx) zu Wasserstoffperoxid (H₂O₂) oxidiert. Eine Peroxidase katalysiert anschließend die Reaktion des gebildeten Wasserstoffperoxids mit den Reagenzien N-Ethyl-N-(2-Hydroxy-3-Sulfopropyl)-m-Toluidine (TOOS) und 4-Aminoantipyrin zu Quinonimin und Wasser (H₂O). Die Menge des entstandenen Quinonimin wird bei 530 nm gemessen und ist proportional zur Pyruvatkonzentration im Dialysat. Die Methode ist linear im Bereich von Pyruvatkonzentrationen zwischen 10–1500 µmol/l.



2.5.4 Glycerol

Glycerol wird mit Hilfe von Adenosintriphosphat (ATP) durch das Enzym Glycerolkinase (GK) zum Zwischenprodukt Glycerol-3-Phosphat phosphoryliert, welches anschließend durch die Glycerol-3-Phosphatoxidase (GPO) zu Dihydroxyacetonphosphat oxidiert wird. Das dabei entstehende Wasserstoffperoxids (H₂O₂) reagiert enzymatisch durch eine Peroxidase (POD) mit 3,5-Dichloro-2-Hydroxybenzen Sulfonsäure (DCHBS) und 4-Aminoantipyrin zu Quinonimin. Dieses kann fotometrisch bei 530nm bestimmt werden und ist proportional zur Glycerolkonzentration. Die Methode ist linear im Bereich von 10–1500 µmol/l.



Die gemessenen Substanzkonzentrationen wurden schließlich mit der relativen Recovery multipliziert, um die tatsächliche Konzentration zu bestimmen.

Die Metabolitkonzentration im Mikroviaal ist von verschiedenen Faktoren abhängig: Länge, Durchmesser, Membraneigenschaften und Perfusionsrate des Mikrodialyse-Katheters, lokaler Blutfluss, lokale Stoffwechselaktivität und Diffusionsrate. Die Membrancharakteristika sind bis auf die Perfusionsrate während der baseline- und der steady state-Phase identisch. Die unterschiedlichen Perfusionsraten haben durch die Korrektur mit der relativen Recovery keine

2. Methoden

Auswirkung auf die gemessene Substanzkonzentration. Unterschiede in der Metabolitkonzentration zwischen der baseline- und der steady state-Phase bedingen sich also durch die Kombination von Veränderungen des lokalen Stoffwechsels, des lokalen Blutflusses sowie der Diffusionsrate.¹⁰⁹

Während jeder HE-Clampphase wurden mehrere Mikrovials gesammelt und analysiert (Abb. 6). Anschließend wurde aus den gewonnenen Ergebnissen für jeden Patienten ein Mittelwert für den Zeitpunkt der baseline- und der steady state-Clampphase berechnet. Zusätzlich wurde die jeweilige steady state-Konzentration ins Verhältnis zur baseline-Konzentration gesetzt (steady state-/baseline-Konzentrations-Ratio), um die relative Konzentrationsveränderung im HE-Clampverlauf zu veranschaulichen.

2.6 MUSKELBIOPSIE

Um aus der Skelettmuskulatur RNA zu extrahieren, wurde im Verlauf der Studie bei den Patienten an zwei Zeitpunkten eine chirurgische Muskelbiopsie aus dem M. vastus lateralis entnommen. Die Auswahl der Biopsieseite erfolgte randomisiert. Die Muskelbiopsie wurde unter sterilen Operationsbedingungen von einem erfahrenen Chirurgen entnommen. Nach oberflächlicher Lokalanästhesie mittels Lidocain wurde eine offene Muskelbiopsie durchgeführt, wobei ein etwa erbsengroßes Stück Muskelgewebe entnommen wurde. Dieses wurde unmittelbar nach der Entnahme unter sterilen Bedingungen in drei ca. 2 x 2 mm große Proben aufgeteilt, welche sofort in Kryoröhrchen transferiert wurden, um sie in flüssigem Stickstoff schockzufrieren und anschließend bei -80 °C aufzubewahren.

Um die gewonnenen RNA-Ergebnisse umfassender interpretieren zu können wurden altersgematchte orthopädische Probanden rekrutiert, bei denen keine Störung der Glukosetoleranz bekannt war. Nach schriftlichem Einverständnis, wurde bei ihnen im Rahmen eines elektiven orthopädischen Eingriffs intraoperativ eine Muskelbiopsie aus dem M. vastus lateralis entnommen, welche anschließend in gleicher Art und Weise wie die Biopsate der Intensivpatienten aufbereitet und analysiert wurde.

2.7 GENEXPRESSIONSANALYSE

Um die Expression von am Insulinsignalweg und an der Regulation der Glukosehomöostase beteiligten Gene im Skelettmuskel zu bestimmen, wurden die Muskelbiopsate der Intensivpatienten und der gesunden Probanden in einem kooperierenden Labor zur Genexpressionsanalyse aufbereitet und mittels semiquantitativer Real-Time PCR analysiert.

2. Methoden

Zunächst wurden die Muskelgewebeprouben zur RNA-Isolierung mit TRIzol® (Invitrogen) homogenisiert und RNA wurde entsprechend des Herstellerprotokolls isoliert. Anschließend erfolgte durch eine reverse Transkription die Umschreibung der instabilen RNA in eine stabile und abbauresistentere komplementäre cDNA mittels des High Capacity cDNA Reverse Transcription Kits (Applied Biosystems) nach Anleitung des Herstellers. Die cDNA enthält im Gegensatz zu genomischer DNA ausschließlich kodierende Sequenzen und diente als Matrize für die semiquantitative Real-Time PCR-Amplifikation.

2.7.1 Real-Time PCR

Die Real-Time PCR (RT-PCR) ist eine gängige Methode, um die Expression von Genen zu quantifizieren. Dieses Verfahren beruht wie die klassische PCR auf der zyklischen Amplifikation von DNA durch eine thermostabile DNA-Polymerase. Die doppelsträngige DNA wird dabei zuerst durch Hitze denaturiert, sodass Einzelstränge vorliegen. Anschließend kommt es zur Anlagerung von hinzugegebenen spezifischen Primern (Oligonukleotide), die homolog zu den beiden Enden der Zielsequenz sind. Dieser Vorgang wird als Annealing bezeichnet. Der sogenannte forward-Primer ist komplementär zum Anfangsabschnitt der Zielsequenz, während der reverse-Primer dem Ende der Zielsequenz komplementär ist. Das Primerdesign erfolgte mit Hilfe der Software „Primer3“ (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>). Die verwendeten Primer sind in (Tabelle 7) dargestellt. Der dritte Schritt besteht darin, dass nach Zugabe eines Mastermix die hitzebeständige Taq-DNA-Polymerase im Bereich des Primers an die DNA bindet und durch den Anbau von freien dNTPs einen komplementären DNA-Strang synthetisiert. Die beschriebenen 3 Schritte Denaturierung, Annealing und Amplifikation wiederholen sich in mehreren Zyklen, sodass sich die Matrizen-DNA exponentiell amplifiziert. Die Besonderheit der durchgeführten SYBR® Green I RT-PCR besteht darin, dass zusätzlich zu den Primern ein Farbstoff (SYBR® Green I) im Mastermix enthalten ist. SYBR® Green I interkaliert mit doppelsträngiger DNA und sendet bei Anregung mit UV-Licht Lichtquanten aus, die bei einer Wellenlänge von 530nm detektiert werden können. Das Fluoreszenzsignal wird am Ende der Amplifikationsphase in Echtzeit gemessen und ist direkt proportional zur Anzahl der neusynthetisierten DNA-Stränge. Dadurch ist ein Rückschluss auf die DNA-Ausgangsmenge möglich.

2. Methoden

Tabelle 7 Übersicht über die untersuchten Gene und die verwendeten Primerpaare

	Primer Sequenz (5' → 3')	
	forward	reverse
Cyclophilin	TGTGAAGTCACCACCCTGACACAT	AGACAAGGTCCCAAAGACAGCAGA
Insulinrezeptor	GGCAACATCACCCACTACCT	GGCCGAATCCTCATACTCAC
IGF-1-Rezeptor	CCAAAAGTGAAGCCGAGAAG	GGTCGGTGATGTTGTAGGTG
IRS-1	TCACAGCAGAATGAAGACCTAAATG	TGAGTTAGAAGAGGATTTGCTGAGG
IRS-2	TGACTTCTTGTCCCACCACTT	CAGTGCTGAGCGTCTTCTTTT
p110α	CGTGCATGTGGGATGTATTT	TGGTCGCCTCATTTGCTC
Akt2	TTTGGCAAAGTCATCCTGGT	CTCTCGGTGACTGTGTGAGC
GSK3β	ACTGGTCGCCATCAAGAAAG	GGAACATAGTCCAGCACCAGA
mTOR	TCGGGCCTCATTGGCTGGGT	GTCCGGAGCCATCCGCAACA
FOXO1	TCGGCGGGCTGGAAGAATTCAA	GCAGCTCGGCTTCGGCTCTT
FOXO3	GGGGAACCTTCACTGGTGCTA	TTGGCAAAGGGTTTTCTCTG
GLUT4	AGGATCGGTTCTTTCATCTTC	CCCCAATGTTGTACCCAAAC
GLUT1	GTCGGAGTCAGAGTCGCAGT	TCCCACAGCCAGCATGAG

2.7.2 Relative Quantifizierung

Am Ende jedes RT-PCR-Zyklus wird das Fluoreszenzsignal gemessen und aufgezeichnet. Dabei entsteht eine Kurve, die während der ersten Zyklen nur eine basale Hintergrundfluoreszenz aufzeigt. Nach einer gewissen Anzahl von Zyklen übersteigt das Fluoreszenzsignal signifikant die Hintergrundfluoreszenz. Die Anzahl der Zyklen, nachdem dieser Schwellenwert überschritten wird, wird als CT-Wert (threshold cycle) bezeichnet. Der CT-Wert liegt in der PCR-Phase, während derer die DNA-Amplifikation exponentiell erfolgt, da die PCR Bedingungen optimal sind und kaum limitierende Faktoren (nachlassende Enzymaktivität, Primer- oder Nukleotidmangel, Bildung reaktiver Produkte) vorliegen. Zusätzlich hat sich durch wiederholte Messungen gezeigt, dass insbesondere zu Beginn der exponentiellen Phase die Ergebnisse sehr gut reproduzierbar sind. Je früher der Schwellenwert erreicht wird, je kleiner also der CT-Wert ist, umso mehr Start-Kopien müssen in der Ursprungprobe vorhanden gewesen sein. Alle Proben wurden dreifach gemessen. Aus den Ergebnissen der drei Analysen wurde ein Mittelwert bestimmt, welcher zur weiteren Berechnung verwendet wurde.

Um die RNA-Mengen zwischen zwei Gruppen zu vergleichen, erfolgte eine relative Quantifizierung der in der PCR entstandenen DNA-Kopien (als indirektes Maß für den ursprünglichen RNA-Gehalt) entsprechend der Delta-Delta-CT-Methode. Hierzu ist die

2. Methoden

zusätzliche RT-PCR-Messung der Zielgene in einer Kontrollprobe sowie die Bestimmung des Expressionsmusters eines konstant exprimierten, nicht regulierten Referenzgens erforderlich. In der vorliegenden Arbeit wurde Cyclophylin als Haushaltsgen verwendet. Es wurde zunächst der CT-Wert des Referenzgens vom CT-Wert des Zielgens subtrahiert ($=\Delta\text{CT}$). Diese Normalisierung des Zielgens mit einem Haushaltsgen führt zu einer Verminderung der Ergebnisvarianz, da Störfaktoren auf dem Weg von der Gewebeentnahme bis zur finalen RT-PCR gleichermaßen das zu untersuchende Gen und das Referenzgen betreffen. Dadurch lassen sich die Genexpressionsmuster verschiedener Zielgene verlässlicher miteinander vergleichen. Aus den ΔCT -Werten der orthopädischen Kontrollprobanden wurde für die weiteren Berechnungen für jedes Gen ein Mittelwert gebildet. Anschließend wird vom ΔCT -Wert der Patientenprobe der ΔCT -Wert der Kontrollprobe subtrahiert, wodurch man den so genannten delta-delta CT-Wert ($\Delta\Delta\text{CT}$) erhält. Um den relativen Expressionsunterschied zwischen der Patientenprobe und der Kontrollprobe zu erhalten berechnet man eine Ratio entsprechend folgender Formel: $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$. Die Ergebnisse werden schließlich ausgedrückt als das Vielfache (n-fold change) der Kontrollprobe.

2.8 PERSÖNLICHE AUFGABENBEREICHE INNERHALB DES PROJEKTS

Die vorliegende Arbeit entstand im Rahmen des Gemeinschaftsprojekts P3 „Der Skelettmuskelstoffwechsel und die Critical Illness Myopathie während des frühen Verlaufs systemischer Entzündung“ der von der Deutschen Forschungsgemeinschaft geförderten klinischen Forschergruppe 192. Im Folgenden sind meine persönlichen Aufgaben innerhalb dieses Projekts ausgewiesen:

- Tägliche Erhebung der klinischen Parameter und Dokumentation in einer elektronischen Datenbank, Durchführung der täglichen Blutentnahmen
- Durchführung der HE-Clamps und der Mikrodialyse unter ärztlicher Aufsicht: Bereitstellung der Materialien, Vorbereitung der Patienten (Lagerung, Desinfektion der Insertionsstelle des Mikrodialysekatheters), BGA-Analysen, Wechsel der Microvials, Analyse der Dialysatproben, Dokumentation des Ablaufs im HE-Clampprotokoll
- Assistenz bei der Durchführung der Muskelbiopsien: Bereitstellung der Materialien, Vorbereitung der Patienten, Entgegennahme der Muskelbiopsien vom Chirurgen und Weiterverarbeitung zur anschließenden kryoprotektiven Lagerung
- Aufbereitung der Rohdaten (klinische Parameter, HE-Clamp-, Mikrodialyse- und PCR-Ergebnisse) und weitere Analyse dieser Daten, statistische Auswertung, Erstellen von Tabellen und Grafiken

2.9 STATISTISCHE ANALYSE

Die Patienten wurden zur statistischen Analyse in zwei Gruppen aufgeteilt:

Akut kritisch kranke Patienten ohne Anhaltspunkte für das Vorliegen einer CIM

= „**NonCIM-Patienten**“: Patienten mit einem dmCMAP $\geq 3\text{mV}$

Akut kritisch kranke Patienten mit Anhaltspunkten für das Vorliegen einer CIM

= „**CIM-Patienten**“: Patienten mit einem dmCMAP $< 3\text{mV}$

Die gewonnenen Ergebnisse wurden zunächst auf Normalverteilung untersucht. Aufgrund der Stichprobengröße von $n=30$ wurde auf den Shapiro-Wilk-Test zurückgegriffen. Für die große Mehrheit der Ergebnisse ließ sich eine Normalverteilung widerlegen. Nur vereinzelte Ergebnisse zeigten eine Normalverteilung. Es werden durchgehend non-parametrische Tests für nicht normalverteilte Werte verwendet.

Die deskriptive Darstellung der Parameter erfolgt anhand der Mediane und der 25./75. Perzentile. Unabhängige Stichproben wurden mit dem U-Test nach Mann-Whitney auf statistische Zusammenhänge untersucht. Für die Untersuchung verbundener Stichproben kam der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test zur Anwendung. Bei der Analyse dichotomer Ergebnisse wurde ein Chi-Quadrat Test durchgeführt und die Werte wurden mit Hilfe des exakten Tests nach Fisher auf Signifikanz geprüft.

Die Untersuchung auf Signifikanz erfolgte für alle Ergebnisse zweiseitig. Unterschiede wurden ab einem zweiseitigen $p\text{-Wert} \leq 0.05$ als signifikant angesehen.

Zur Darstellung der Ergebnisverteilung werden Boxplots verwendet, wobei Ausreißer (1,5–3-facher Abstand der Boxhöhe) durch kleine Kreise und Extremwerte (> 3 -facher Abstand der Boxhöhe) durch kleine Sternchen dargestellt werden.

Die statistische Analyse erfolgte mit dem Programm SPSS für Windows (Version 19.0.0.1, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

2.10 RICHTLINIEN

Die Durchführung der Arbeit erfolgte entsprechend der Grundsätze der Charité - Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis.

3. Ergebnisse

Im Studienzeitraum von 37 Monaten wurden 33 Patienten in die Studie eingeschlossen.

Abb. 7 gibt einen Überblick über den Prozess der Patientenrekrutierung. Bei 30 Intensivpatienten konnte an Tag 7 (5/13) nach ITS-Aufnahme eine elektrophysiologische Untersuchung der Muskelfibrillen-erregbarkeit durchgeführt werden. Diese 30 Patienten gingen in die finale Analyse ein. Mit der Methode der direkten Muskelstimulation im M. tibialis anterior wurden bei 18 (60 %) der untersuchten kritisch kranken Patienten Anhaltspunkte für das Vorliegen einer CIM gefunden (= CIM-Patienten). 12 Patienten (40 %) wiesen eine normale Muskelfibrillen-erregbarkeit auf und wurden als NonCIM-Patienten klassifiziert.

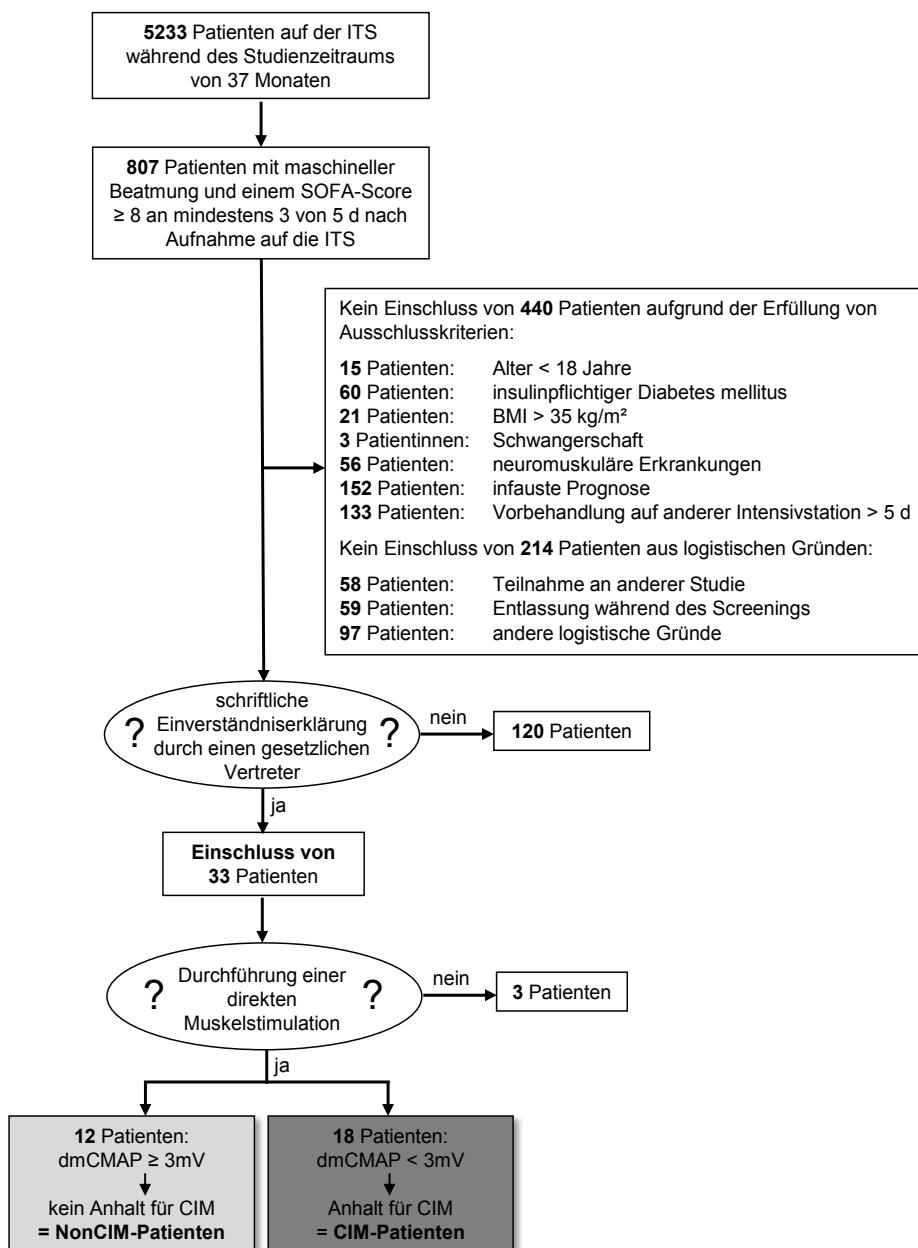


Abb. 7 Flussdiagramm zur Patientenrekrutierung während des Studienzeitraums von 37 Monaten.

3.1 PATIENTENCHARAKTERISTIK BEI ITS-AUFNAHME

Die Patientencharakteristika zum Zeitpunkt der ITS-Aufnahme sind im Gruppenvergleich NonCIM-Patienten vs. CIM-Patienten in Tabelle 8 gegenübergestellt. Hinsichtlich der deskriptiven Parameter Geschlecht, Alter, BMI und Krankheitsschwere zum Aufnahmezeitpunkt bestanden keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Bei der Betrachtung der Gründe für die Aufnahme auf die ITS fällt auf, dass in der Gruppe der CIM-Patienten besonders häufig ein Lungenversagen (ALI bzw. ARDS) oder eine Sepsis als ITS-Aufnahmegrund vorlag. Demgegenüber gehörten die Patienten beim Vorliegen eines Traumas oder einer intrakraniellen Blutung als ITS-Aufnahmegrund häufiger der Gruppe der NonCIM-Patienten an.

Hinsichtlich der Outcome-Parameter MRC-Score, Überleben des ITS-Aufenthalts und ITS-Verweildauer fanden sich markante Unterschiede zwischen NonCIM- und CIM-Patienten: Der erste erhobene MRC-Score nach Beendigung der Sedierung war bei CIM-Patienten signifikant niedriger als bei NonCIM-Patienten. Alle NonCIM-Patienten überlebten den Aufenthalt auf der ITS, wohingegen sechs der insgesamt 18 CIM-Patienten starben, was einer Mortalitätsrate von 33,3 % entspricht. Außerdem verlängerte sich der Aufenthalt auf der ITS bei CIM-Patienten um mehr als eine Woche gegenüber NonCIM-Patienten.

Tabelle 8 Patientencharakteristik bei ITS-Aufnahme und relevante Outcomeparameter. Geschlecht und Anzahl der Überlebenden werden als absolute und relative Werte angegeben, restliche Angaben werden ausgedrückt als Mediane (25./75. Perzentile). Das Signifikanzniveau p zwischen CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. ^a exakte Signifikanz (2-seitig) nach exaktem Fisher Test. BMI: Body Mass Index; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; ALI: Acute Lung Injury; ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome; MRC: Medical Research Council.

Parameter	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	p
Anzahl n	12	18	
Geschlecht m/f (%)	7/5 (58.3%/41.7 %)	15/3 (83.3%/16.7 %)	.210 ^a
Alter Jahre	43 (33/58)	66 (41/76)	.095
BMI kg/m ²	26.0 (23.2/32.5)	27.9 (24.9/31.4)	.787
Körperoberfläche m ²	2.04 (1.85/2.13)	2.03 (1.95/2.12)	.777
Aufnahmegrund n (%)	ALI/ARDS: 3 (25.0 %) Sepsis: 0 (0.0 %) Trauma: 4 (33.3 %) intrakranielle Blutung: 5 (41.7 %)	ALI/ARDS: 8 (44.4 %) Sepsis: 7 (38.9 %) Trauma: 2 (11.1 %) intrakranielle Blutung: 1 (5.6 %)	
SOFA-Score bei ITS-Aufnahme	11.0 (9.0/14.0)	11.5 (10.0/14.0)	.884
Sepsis/ Schwere Sepsis/ Septischer Schock am Aufnahmetag n (%)	5 (42 %)	16 (89 %)	.013 ^a

3. Ergebnisse

MRC-Score am ersten Tag adäquater Wachheit	4.3 (3.5/4.8)	3.0 (2.9/3.3)	.003
Überlebende n (%)	12 (100%)	12 (66.7%)	.134
Verweildauer der Überlebenden auf ITS Tage	22.5 (18.5/30.0)	30.5 (25.5/40.0)	.038

Bei Aufnahme auf die ITS waren 70 % aller Patienten von einer Sepsis unterschiedlichen Ausmaß betroffen (Tabelle 8). Dabei befanden sich die CIM-Patienten häufiger im Zustand einer schweren Sepsis oder eines septischen Schocks, als die Patienten, bei denen sich keine CIM manifestierte. Im Verlauf des intensivmedizinischen Aufenthalts, besserte sich das septische Zustandsbild in beiden Patientengruppen, wobei NonCIM-Patienten stets weniger schwer betroffen waren, als CIM-Patienten (Abb. 8).

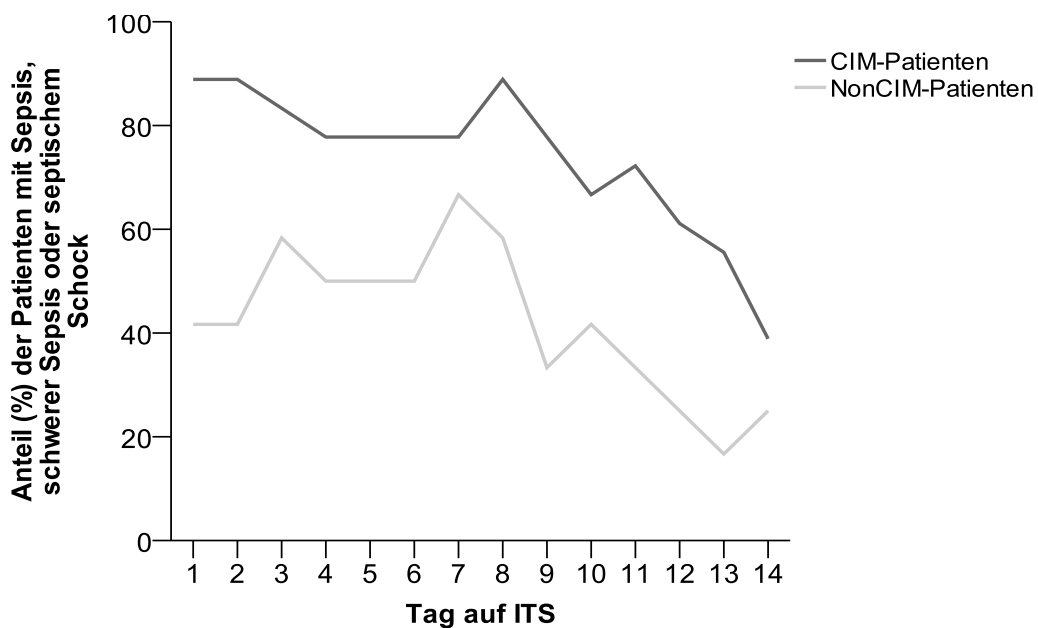


Abb. 8 Sepsisverlauf während der ersten 14 Tage auf ITS. Dargestellt ist der tägliche prozentuale Anteil der CIM- und NonCIM-Patienten, welche die Kriterien für das Vorliegen einer Sepsis, einer schweren Sepsis oder eines septischen Schocks erfüllten. Tag 1: Aufnahmetag auf die ITS.

Die Kontrollkohorte der vorliegenden Studie setzte sich aus zwei verschiedenen Probandengruppen zusammen: den gesunden Probanden, bei denen ein HE-Clamp mit einer simultanen Mikrodialyse durchgeführt wurde, und den metabolisch gesunden orthopädischen Probanden, welchen zur Genexpressionsanalyse eine Muskelbiopsie entnommen wurde. Diese Auswahl wurde gewählt, um die Ergebnisse der untersuchten kritisch kranken Patienten in

3. Ergebnisse

Bezug zu nicht-intensivpflichtigen Kontrollen setzen zu können und damit die Parameter differenzierter interpretieren zu können.

Die deskriptiven Charakteristika der Vergleichsgruppen sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9 Charakteristik des Vergleichskollektivs. Anzahl und Geschlecht werden als absolute Werte angegeben, das Alter wird ausgedrückt als Median (25./75. Perzentile).

	gesunde Probanden	orthopädische Probanden
Anzahl n	4	5
Geschlecht m/f	2/2	3/2
Alter Jahre	37 (30/45)	58 (57/67)
durchgeführte Untersuchung	HE-Clamp + Mikrodialyse	Muskelbiopsie

3.2 HYPERINSULINÄMER EUGLYKÄMER CLAMP (HE-CLAMP)

Der erste HE-Clamp wurde bei den Intensivpatienten an Tag 7 (5/8) nach ITS-Aufnahme durchgeführt. Der zweite HE-Clamp folgte an Tag 17 (15/19) nach ITS-Aufnahme. Im Zeitraum zwischen ITS-Aufnahme und Durchführung der HE-Clamps bestand zwischen CIM- und NonCIM-Patienten kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des täglich erhobenen SOFA-Scores. Anhand der RASS ergab sich für den Zeitraum bis zum ersten HE-Clamp eine geringere Sedierungstiefe bei CIM-Patienten im Vergleich zu NonCIM-Patienten. Im Zeitraum zwischen erstem und zweitem HE-Clamp waren keine signifikanten Unterschiede der Sedierungstiefe zwischen CIM- und NonCIM-Patienten mehr nachweisbar. In beiden betrachteten Zeiträumen entsprachen sich CIM- und NonCIM-Patienten bezüglich der täglich enteral sowie parenteral zugeführten kcal pro kg Idealgewicht und der täglich applizierten Insulingesamtdosis. Gleiches galt für die kumulativ applizierte Menge an Hydrocortison sowie für den täglichen Noradrenalinbedarf (Tabelle 10).

CIM-Patienten waren im Zeitraum zwischen erstem und zweitem HE-Clamp deutlich häufiger durch hyperglykämie Phasen charakterisiert als NonCIM-Patienten (Tabelle 10).

3. Ergebnisse

Tabelle 10 Patientencharakteristik vom Zeitpunkt der ITS-Aufnahme bis einschließlich zum 1. HE-Clamptag bzw. im Zeitraum zwischen dem 1. HE-Clamptag bis einschließlich zum 2. HE-Clamptag. Aus den täglich erhobenen Parametern wurde für die entsprechenden Zeiträume für jeden Patienten ein Medianwert gebildet. Alle Angaben werden ausgedrückt als Mediane (25./75. Perzentile). Das Signifikanzniveau p zwischen CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. † $p < .05$ vs. Zeitraum bis zum ersten HE-Clamp, Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test. SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; RASS: Richmond Agitation and Sedation Scale; BZ: Blutzucker

Patientencharakteristik						
Parameter	bis Tag 7 (1. HE-Clamp)			zw. Tag 7 und Tag 17 (2. HE-Clamp)		
	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	p	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	p
n	12	17		5	14	
Sedierung [RASS]	-4.0 (-4.25/-3.75)	-3.0 (-4.0/-3.0)	.043	-1.0 (-3.0/-0.5)	-1.0 [†] (-2.0/0)	.559
Krankheitsschwere [SOFA]	10.0 (9.0/11.0)	10.5 (9.0/11.5)	.419	8.5 [†] (8.0/9.0)	9.0 [†] (5.5/10.0)	.775
Hydrocortison (mg) kumulativ	788.4 (680.0/933.7)	638.3 (481.7/870.3)	.261	135.6 (19.9/251.3)	774.2 (345.3/1001.6)	.267
Noradrenalin $\mu\text{g}/\text{kg}_{\text{Idealgewicht}}/\text{min}$.063 (.028/.121)	.075 (.038/.099)	1.000	.000 (.000/.000)	.001 [†] (.000/.061)	.257
Ernährung $\text{kcal}/\text{kg}_{\text{Idealgewicht}}/\text{d}$ (parenteral+enteral)	18.2 (13.0/18.6)	18.4 (15.6/18.4)	.394	24.6 (21.8/30.4)	23.1 (15.1/27.1)	.298
Insulin IU/d	53.1 (37.1/57.1)	66.6 (20.6/73.0)	.347	37.6 (23.99/45.6)	36.5 (14.4/62.97)	1.000
tgl. BZ (mg/dl)	128.0 (119.3/136.2)	131.0 (122.0/143.8)	.757	122.1 (117.5/123.3)	120.4 (118.0/131.8)	.405
tgl. BZ-Variation Max.-Min. (mg/dl)	41.5 (27.8/52.0)	53.0 (34.0/59.5)	.330	31.5 (30.0/43.0)	46.0 (31.5/62.0)	.151
% der Tage mit hyperglykämischer Episode (> 150 mg/dl)	45.0 (25.9/60.7)	57.1 (33.3/75.0)	.594	25.0 (.0/30.8)	42.2 (25.0/61.5)	.046
% der Tage mit hypoglykämischer Episode (< 80 mg/dl)	.0 (.0/5.6)	8.3 (.0/20.0)	.144	.0 (.0/12.5)	11.8 (.0/22.2)	.183

3.2.1 Baseline Charakteristika der Intensivpatienten

Während der baseline-Phase des ersten HE-Clamps waren CIM-Patienten durch einen signifikant niedrigeren mittleren arteriellen Blutdruck und einen höheren Schockindex im Vergleich zu NonCIM-Patienten charakterisiert. Sowohl am Tag des ersten HE-Clamps als auch

3. Ergebnisse

am Tag des zweiten HE-Clamps waren mehr CIM-Patienten von einer akuten renalen Dysfunktion entsprechend der AKIN-Kriterien bzw. von einer chronischen Nierenfunktionseinschränkung entsprechend der KDOQI-Kriterien betroffen als NonCIM-Patienten. Allerdings erreichte dieser Trend zu keinem Zeitpunkt das Signifikanzniveau. Gleiches gilt für den häufigeren Einsatz von Nierenersatzverfahren bei CIM-Patienten am Tag des ersten HE-Clamps. Bezüglich der weiteren erhobenen klinischen sowie laborchemischen Parameter wiesen die Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede auf (Tabelle 11).

Tabelle 11 Hämodynamische und laborchemische Charakteristika während der baseline-Phase des 1. HE-Clamps bzw. des 2. HE-Clamps. Alle Angaben werden ausgedrückt als Mediane (25./75. Perzentile). Das Signifikanzniveau p zwischen CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. ^a exakte Signifikanz (2-seitig) nach Fisher's exact test. MAD: Mittlerer Arterieller Druck; AKIN: Acute Kidney Injury Network; NI: Niereninsuffizienz; BGA: Blutgasanalyse.

Parameter	baseline an Tag 7 (1. HE-Clamp)			baseline an Tag 17 (2. HE-Clamp)		
	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	p	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	p
n	12	17		5	14	
Herzfrequenz	70 (65/95)	92 (81/104)	.053	80 (80/118)	87 (78/104)	.893
MAD mmHg	87 (81/94)	74 (70/83)	.030	90 (74/114)	84 (81/85)	.633
Schockindex (HF/RR_{sys})	0.66 (0.56/0.78)	0.80 (0.73/0.93)	.029	0.81 (0.47/1.04)	0.76 (0.65/0.91)	.733
Noradrenalin-Bedarf µg/kg/min	.00 (.00/.01)	.01 (.00/.08)	.370	.00 (.00/.00)	.00 (.00/.02)	.195
Renale Dysfunktion (AKIN 1-3 oder chronische terminale NI)	7 (58 %)	15 (88 %)	.092 ^a	2 (40 %)	10 (71 %)	.305 ^a
Nierenersatzverfahren	1 (8%)	6 (35%)	.187 ^a	1 (20%)	2 (14%)	1.000 ^a
Insulin im Serum mIU/l	37.3 (25.2/92.7)	30.8 (21.2/67.5)	.347	27.7 (11.8/31.8)	23.9 (12.1/39.3)	1.000
IL-6 im Plasma pg/ml	43.1 (18.8/87.4)	74.7 (49.8/122.5)	.128	34.9 (34.2/80.9)	37.9 (16.9/58.4)	.559
Glukose BGA mg/dl	119.0 (116.2/139.0)	119.0 (103.0/126.0)	.419	106.0 (105.5/129.0)	129.0 (110.0/144.0)	.298
Hb BGA mg/dl	9.6 (8.9/10.7)	11.1 (10.2/11.6)	.066	9.3 (8.4/9.5)	9.7 (8.9/10.6)	.257
Laktat BGA mmol/l	0.8 (0.7/1.0)	1.3 (0.8/1.7)	.053	0.5 (0.5/0.8)	1.0 (0.8/1.7)	.070
pH BGA	7.45 (7.41/7.47)	7.43 (7.39/7.45)	.325	7.40 (7.35/7.43)	7.40 (7.36/7.43)	.500

3. Ergebnisse

3.2.2 Systemische Insulinsensitivität

Der Insulinsensitivitätsindex (ISI) dient zur Quantifizierung der blutzuckersenkenden Wirkung von Insulin und ist ein Maß für die Insulinsensitivität aller insulinresponsiven Körpergewebe. Kritisch kranke Patienten waren im Vergleich zu gesunden Probanden zu beiden HE-Clampzeitpunkten durch eine deutlich reduzierte systemische Insulinsensitivität gekennzeichnet. NonCIM-Patienten wiesen zum Zeitpunkt des ersten HE-Clamps einen um 73 % verminderten ISI im Vergleich zu dem gesunden Vergleichskollektiv auf. Der ISI kritisch kranker Patienten mit CIM war zum Zeitpunkt der ersten HE-Clamps sogar um 82 % gegenüber gesunden Probanden reduziert. Zehn Tage später - zum Zeitpunkt des zweiten HE-Clamps hat sich der ISI von CIM- und NonCIM-Patienten leicht gebessert. Bei NonCIM-Patienten war der ISI im Vergleich zum ersten HE-Clamp um 91 % gestiegen, während der ISI der CIM-Patienten um 38 % zugenommen hat. Im Vergleich zu gesunden Probanden war die Insulinsensitivität von NonCIM- bzw. CIM-Patienten zum Zeitpunkt des zweiten HE-Clamps jedoch weiterhin um 49 % bzw. 75 % vermindert (Abb. 9).

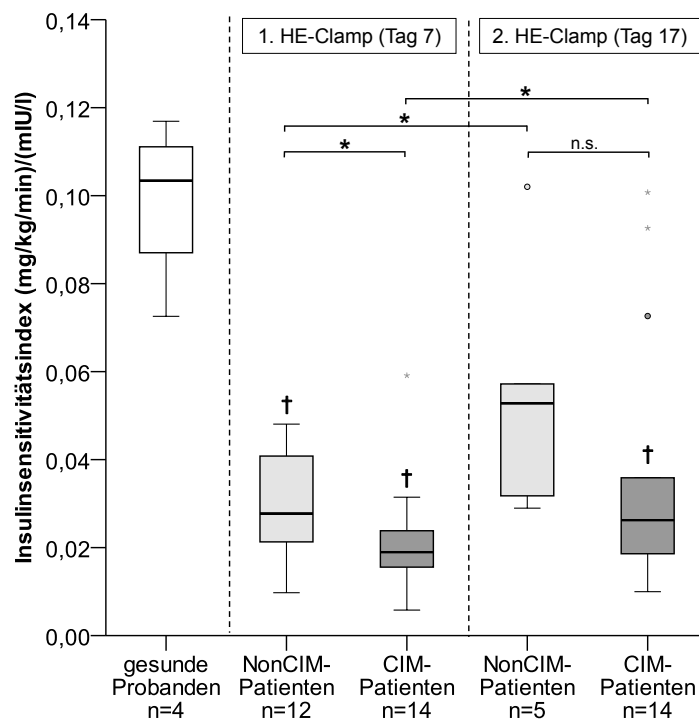


Abb. 9 Insulinsensitivitätsindex (ISI) als Maß für die Gesamtkörperinsulinsensitivität. Zur Berechnung des ISIs wurde die steady state-Glukoseinfusionsrate (mg/kg/min) ins Verhältnis zur steady state-Insulinkonzentration im Serum (mU/l) gesetzt. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau p zwischen 1. und 2. HE-Clamp jeweils für CIM- bzw. NonCIM-Patienten wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .05$; † $p < .01$ vs. ISI der gesunden Probanden.

3. Ergebnisse

3.2.3 Insulinkonzentration im Serum

Intensivpatienten wiesen während beider HE-Clamps sowohl während der baseline- als auch während der steady state-Phase signifikant höhere Serum-Insulinkonzentrationen im Vergleich zu gesunden Probanden auf.

In der baseline-Phase des ersten HE-Clamps war die Insulinkonzentration im Serum der Intensivpatienten zehnfach höher als die der gesunden Probanden. In der steady state-Phase lag die Serum-Insulinkonzentration der Intensivpatienten 3,6-fach höher als bei den gesunden Probanden. Auch während der baseline- und steady state-Phase des zweiten HE-Clamps war die Insulinkonzentration gegenüber gesunden Probanden signifikant erhöht. Obgleich einer äquivalenten baseline-Seruminsulinkonzentration waren die CIM-Patienten im steady state des ersten HE-Clamps durch eine signifikant höhere Seruminsulinkonzentration im Vergleich zu NonCIM-Patienten charakterisiert. Während des zweiten HE-Clamps war diese Tendenz weiterhin ersichtlich, verfehlte jedoch das statistische Signifikanzniveau (Abb. 10).

Es ist zu beachten, dass die Insulininfusionsrate in der steady state-Phase bei den gesunden Probanden 40 mIU/m²/min betrug, wohingegen sie bei den Intensivpatienten während des steady states des ersten und des zweiten HE-Clamps auf 125 mIU/m²/min eingestellt wurde.

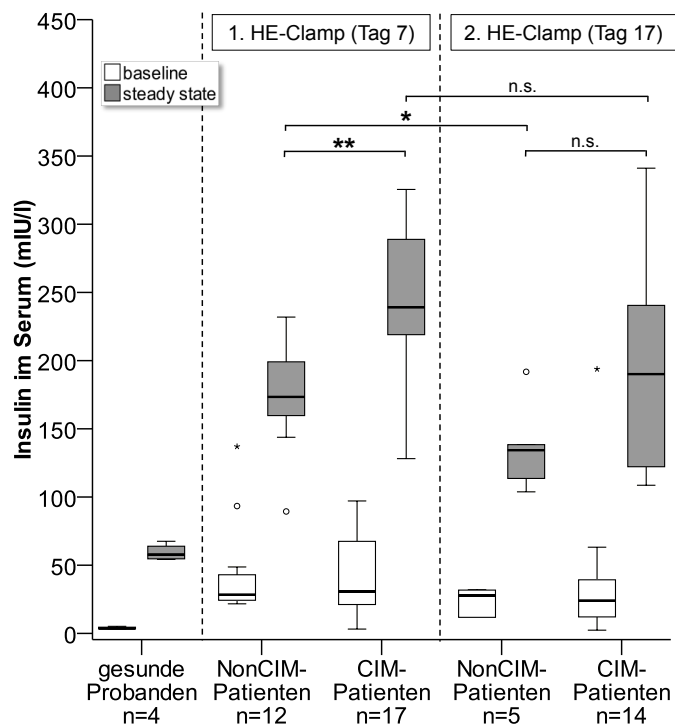


Abb. 10 Insulinkonzentration im Serum (mIU/l) während der baseline- und der steady state-Phase der HE-Clamps. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten während der jeweiligen HE-Clampphase wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau p

3. Ergebnisse

1. und 2. HE-Clamp jeweils für CIM- bzw- NonCIM-Patienten wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. *p < .05; **p < .01; ***p < .001

3.2.4 Glukoseinfusionsrate

CIM- und NonCIM-Patienten erhielten im Rahmen des intensivmedizinischen Behandlungskonzepts bereits während der baseline-Phase beider HE-Clamps eine kontinuierliche Glukoseinfusion von 2 mg/kg/min. Die gesunden Probanden hielten in Vorbereitung auf den HE-Clamp 12-stündige Fastenzeit ein (Abb. 11).

Die intravenöse Applikation von Insulin erforderte sowohl bei den gesunden Probanden als auch bei den Intensivpatienten an beiden HE-Clampzeitpunkten eine äquivalente Steigerung der Glukoseinfusionsrate mit dem Ziel der Aufrechterhaltung des Blutzuckerspiegels im Bereich von 80–110 mg/dl (Abb. 11). Auch hierbei ist zu beachten, dass die Insulininfusionsrate in der steady state-Phase bei den gesunden Probanden 40 mIU/m²/min betrug, wohingegen sie bei den Intensivpatienten während des steady states des ersten und des zweiten HE-Clamps auf 125 mIU/m²/min eingestellt wurde.

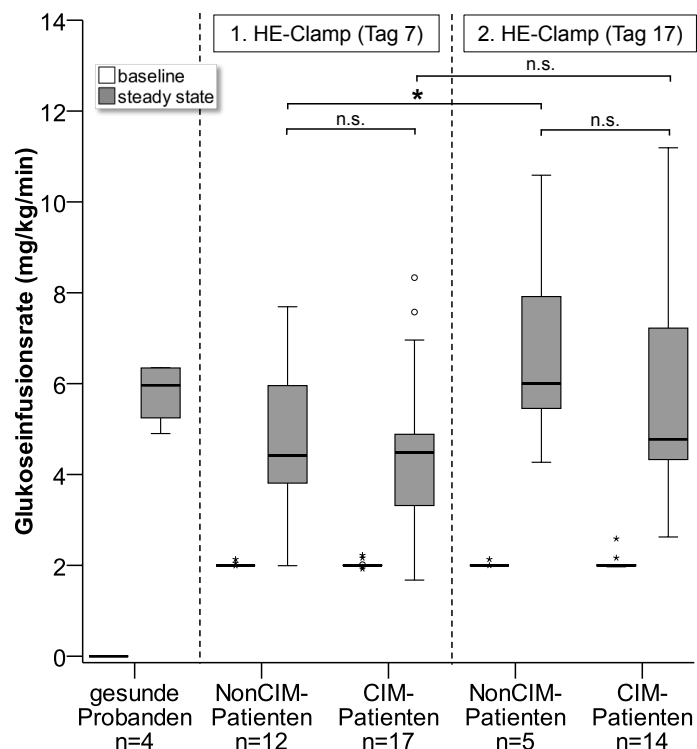


Abb. 11 Glukoseinfusionsrate (mg/kg/min) während der baseline- und der steady state-Phase der HE-Clamps. Das Signifikanzniveau p zwischen CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau p zwischen 1. und 2. HE-Clamp jeweils für CIM- bzw- NonCIM-Patienten wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. *p < .05; **p < .01; ***p < .001

3. Ergebnisse

3.2.5 Glukosekonzentration im Plasma

Während des Clamps wurde bei allen gesunden Probanden und bei allen Patienten ein stabiler steady state erreicht. Im Verlauf des HE-Clamps blieb die Glukosekonzentration im Plasma der gesunden Probanden stabil. Da bei den ITS-Patienten in der baseline ein Blutzucker von 100-130 mg/dl und im steady state ein Blutzucker von 80-110 mg/dl angestrebt wurde, kam es im Verlauf beider Clamps bei CIM- und NonCIM-Patienten erwartungsgemäß zu einer signifikanten Reduktion des Blutzuckerspiegels (Tabelle 12).

Tabelle 12 Glukosekonzentration im Plasma im HE-Clampverlauf. Alle Angaben werden ausgedrückt als Mediane (25./75. Perzentile). Das Signifikanzniveau p zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit Hilfe des Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. BZ: Blutzucker. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$

	gesunde Probanden	1. HE-Clamp		2. HE-Clamp	
		NonCIM-Patienten	CIM-Patienten	NonCIM-Patienten	CIM-Patienten
BZ baseline (mg/dl)	84.0 (83.5/89.5)	119.0 (116.2/139.0)	119.0 (103.0/126.0)	106.0 (105.5/129.0)	129.0 (110.0/144.0)
BZ steady state (mg/dl)	84.3 (75.5/90.5)	90.3** (80.8/98.3)	84.3*** (77.0/96.5)	84.3* (75.5/90.5)	84.9** (81.3/96.5)

3.2.6 Metabolische Insulinclearance-Rate

Zur Evaluierung der Eliminationskapazität für Insulin wurde bei den Intensivpatienten die metabolische Insulinclearance-Rate (MCR_I) als Verhältnis der Insulininfusionsrate im steady state zur Differenz der Seruminsulinkonzentration (steady state - baseline) berechnet. Bei dieser Betrachtung ist zu beachten, dass die Insulininfusionsrate in der steady state-Phase der gesunden Probanden $40 \text{ mIU/m}^2/\text{min}$ betrug, wohingegen sie bei den Intensivpatienten auf $125 \text{ mIU/m}^2/\text{min}$ eingestellt wurde. Die MCR_I der NonCIM-Patienten während des ersten HE-Clamps war signifikant höher als die MCR_I der gesunden Probanden und der CIM-Patienten. Während des zweiten HE-Clamps war diese Tendenz weiterhin erkennbar, jedoch erreichte der Unterschied keine statistische Signifikanz. Im Verlauf vom ersten zum zweiten Clamp blieb die MCR_I der CIM-Patienten annähernd konstant, während bei den NonCIM-Patienten eine weitere Zunahme der Eliminationskapazität für Insulin beobachtet wurde (Abb. 12).

3. Ergebnisse

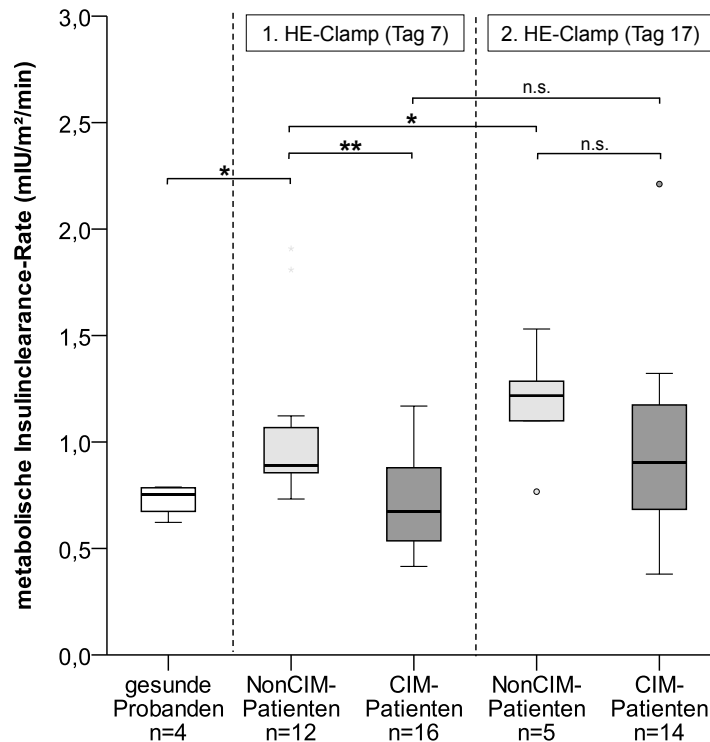


Abb. 12 Die metabolische Insulin-clearance-Rate (MCR_i), NonCIM- vs. CIM-Patienten. Die Berechnung der MCR_i erfolgte durch Division der steady state-Insulininfusionsrate mit der Differenz der Seruminsulinkonzentration (steady state - baseline). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau p zwischen 1. und 2. HE-Clamp jeweils für CIM- bzw. NonCIM-Patienten wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .05$, ** $p < .01$

Die Gruppierung der Intensivpatienten nach der Nierenfunktion am Tag des HE-Clamps verdeutlichte insbesondere für den Zeitpunkt des ersten HE-Clamps, dass kritisch kranke Patienten mit einer Einschränkung der Nierenfunktion durch akute oder chronische Niereninsuffizienz durch eine reduzierte MCR_i im Vergleich zu Intensivpatienten mit intakter Nierenfunktion gekennzeichnet waren (Abb. 13).

3. Ergebnisse

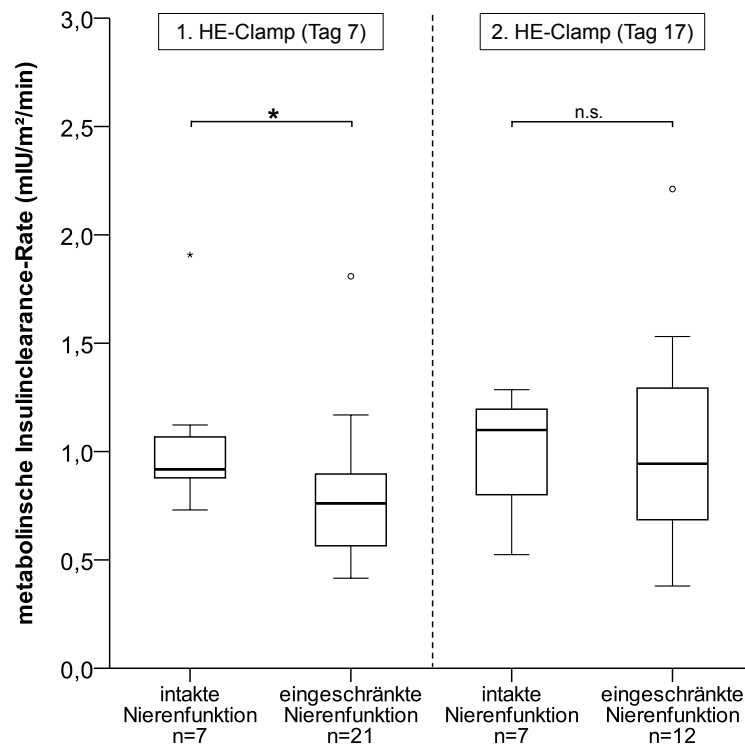


Abb. 13 Die metabolische Insulin-clearance-Rate (MCR_i) der ITS-Patienten in Abhängigkeit von der Nierenfunktion am ersten und zweiten HE-Clamptag. Eine Einschränkung der Nierenfunktion wurde beim Vorliegen eines akuten Nierenversagens (AKIN 1-3) oder im Falle einer chronischen Niereninsuffizienz klassifiziert. Die Berechnung der MCR_i erfolgte durch Division der steady state-Insulininfusionsrate mit der Differenz der Seruminsulinkonzentration (steady state - baseline). Das Signifikanzniveau p zwischen Patienten mit intakter bzw. eingeschränkter Nierenfunktion zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. * $p < .05$

3.3 DER MUSKULÄRE SUBSTRATSTOFFWECHSEL

Zeitgleich zur Durchführung der HE-Clamps wurde bei den Intensivpatienten sowie bei den gesunden Probanden eine Mikrodialyse im M. vastus lateralis durchgeführt, um den muskulären Substratmetabolismus während der Stimulation des Körpers mit Insulin und Glukose zu beobachten.

3.3.1 Glukose

Bei den gesunden Probanden blieb die interstitielle Glukosekonzentration im Verlauf des HE-Clamps konstant. Im Gegensatz dazu ließ sich bei den Intensivpatienten während beider HE-Clamps ein deutlicher Abfall der Glukosekonzentration im M. vastus lateralis von der baseline- zur steady state-Phase beobachten (Abb. 14A-B).

3. Ergebnisse

Kritisch kranke Patienten waren während der baseline-Phase beider HE-Clamps durch eine signifikant höhere muskuläre Glukosekonzentration im Vergleich zu dem gesunden Kontrollkollektiv charakterisiert. In der steady state-Phase fanden sich keine signifikanten Unterschiede der interstitiellen Glukosekonzentration zwischen gesunden Probanden und CIM- bzw. NonCIM-Patienten (Abb. 14A). Bei der Betrachtung von NonCIM-Patienten gegen CIM-Patienten ließen sich während beider HE-Clamps weder Unterschiede im Ausgangsniveau der Glukosekonzentration noch in der relativen Veränderung der Glukosekonzentration im Verlauf von der baseline- zur steady state-Phase feststellen (Abb. 14A-B).

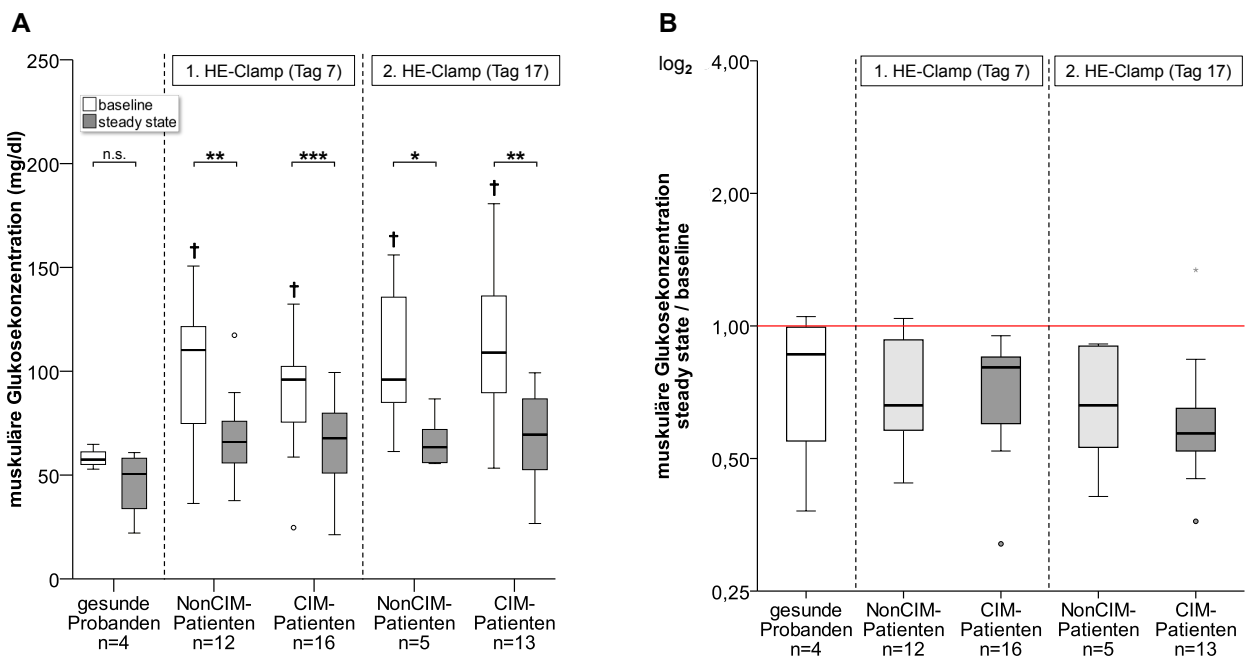


Abb. 14 A-B Glukosekonzentration im M. vastus lateralis unter HE-Clamp-Bedingungen bei gesunden Probanden sowie CIM- und NonCIM-Patienten. **A:** interstitielle Glukosekonzentration in mg/dl während der baseline- und der steady state-Clampphase. **B:** Relative Änderung der interstitiellen Glukosekonzentration im HE-Clampverlauf. Roter Strich: steady state-/baseline-Konzentration = 1 (keine Änderung im HE-Clampverlauf). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$; † $p < .05$ vs. baseline-Phase der gesunden Probanden.

3.3.2 Pyruvat

Pyruvat ist ein wichtiges Zwischenprodukt der aeroben Glukosemetabolisierung. Es ist Endprodukt der aeroben Glykolyse und kann im Citratzyklus zur weiteren Energiegewinnung abgebaut werden. Je nach Stoffwechsellage kann Pyruvat auch als Ausgangsmetabolit für die

3. Ergebnisse

Glukoneogenese fungieren. Darüber hinaus stellt Pyruvat durch Transaminierung eine Verbindung zum Aminosäurestoffwechsel her.

Die Stimulation mit Insulin und Glukose im HE-Clampverlauf rief bei den gesunden Probanden einen deutlichen Anstieg der muskulären Pyruvatkonzentration ($p = .068$) hervor. Bei den Intensivpatienten waren durch diese Bedingungen keine Veränderungen der Pyruvatkonzentration induzierbar (Abb. 15A-B). Die Intensivpatienten wiesen während der baseline-Phase beider HE-Clamps eine signifikant höhere muskuläre Pyruvatkonzentration als gesunde Probanden auf. In der steady state-Phase war die muskuläre Pyruvatkonzentration von gesunden Probanden vergleichbar mit der von CIM- und NonCIM-Patienten zu beiden HE-Clamps (Abb. 15A).

Bei einem Vergleich der Ausgangswerte sowie der relativen Veränderungen der Pyruvatkonzentration im Verlauf beider HE-Clamps von CIM- und NonCIM-Patienten ließen sich keinerlei Unterschiede zwischen den beiden Gruppen erkennen (Abb. 15A-B).

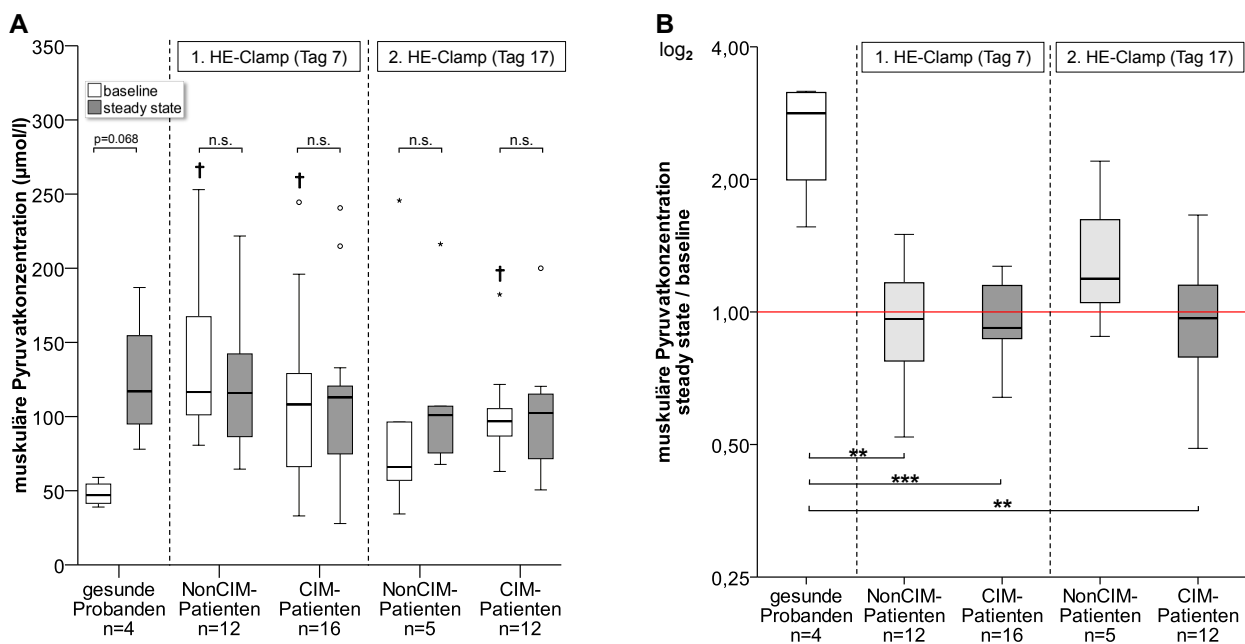


Abb. 15 A-B Pyruvatkonzentration im M. vastus lateralis unter HE-Clamp-Bedingungen von CIM- und NonCIM-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. **A:** interstitielle Pyruvatkonzentration in $\mu\text{mol/l}$ während der baseline- und der steady state-Clampphase. **B:** Relative Änderung der interstitiellen Pyruvatkonzentration im HE-Clampverlauf. Roter Strich: steady state-/baseline-Konzentration = 1 (keine Änderung im HE-Clampverlauf). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .01$; *** $p < .001$; † $p < .05$ vs. baseline-Phase der gesunden Probanden

3.3.3 Laktat

In der Skelettmuskulatur wird Pyruvat unter anaeroben Bedingungen nicht in den Citratzyklus eingeschleust, sondern zu Laktat reduziert. Laktat ist das Endprodukt des anaeroben Glukosestoffwechsels. Sobald in der Muskulatur wieder aerobe Bedingungen herrschen, kann Laktat zu Pyruvat rückoxidiert werden. Darüber hinaus wird das von der Muskulatur gebildete Laktat in den Blutkreislauf freigesetzt und kann in der Leber zur Glukoneogenese verwendet werden oder im Herzmuskel zu Pyruvat umgewandelt werden.

Die Stimulation der gesunden Probanden mit Insulin und Glukose im Rahmen des HE-Clamps, führte zu einem Anstieg der Laktatkonzentration im Muskel ($p = .068$). Bei den Intensivpatienten waren im Verlauf beider HE-Clamps keine signifikanten Veränderungen der muskulären Laktatkonzentration registrierbar (Abb. 16A-B).

Bei der Betrachtung der lokalen Laktatkonzentration im M. vastus lateralis fallen zunächst ähnliche Tendenzen auf wie bei der Analyse der Pyruvatkonzentration. So war das Ausgangsniveau an Laktat bei NonCIM-Patienten während des ersten HE-Clamps signifikant höher als bei dem gesunden Kontrollkollektiv. Während des zweiten HE-Clamps wiesen CIM-Patienten gegenüber dem gesunden Referenzkollektiv eine höhere baseline-Laktatkonzentration auf. Im steady state des ersten HE-Clamps wurde bei CIM- und NonCIM-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden eine signifikant höhere interstitielle Laktatkonzentration gemessen. Während des zweiten HE-Clamps war dieser Unterschied nur noch in der Gruppe der CIM-Patienten signifikant (Abb. 16A).

Beim Vergleich der Ausgangswerte sowie die relativen Veränderungen der Laktatkonzentration im Verlauf beider HE-Clamps von CIM- und NonCIM-Patienten ließen sich keinerlei Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen (Abb. 16A-B).

3. Ergebnisse

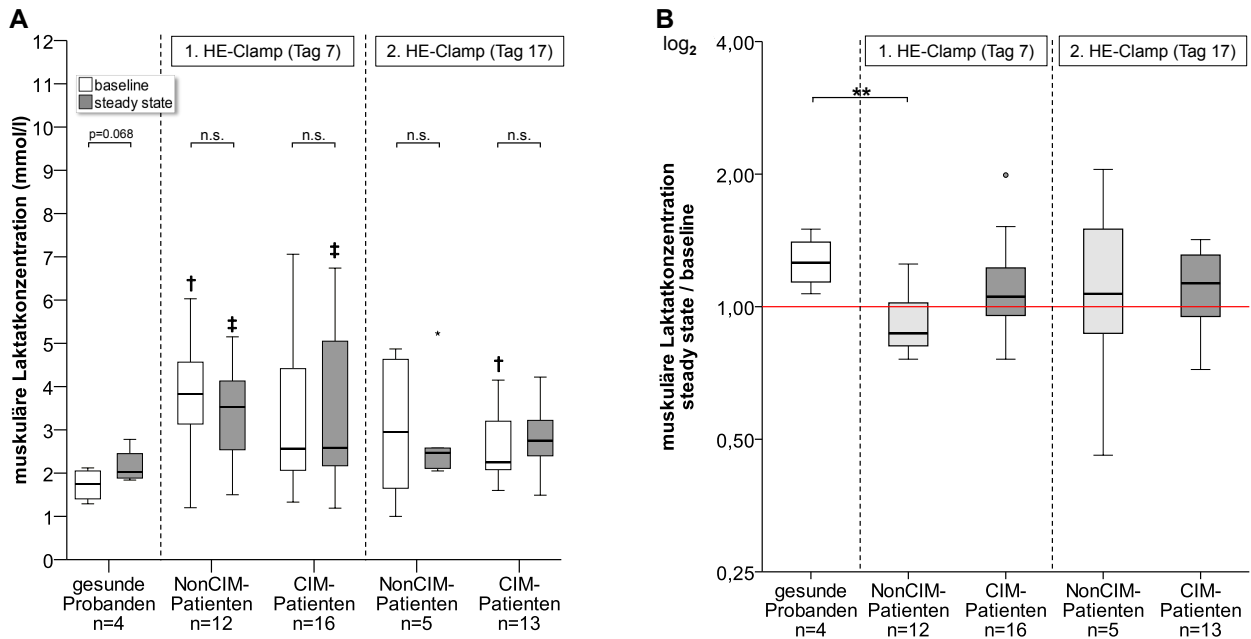


Abb. 16 A-B Laktatkonzentration im M. vastus lateralis unter HE-Clamp-Bedingungen von CIM- und NonCIM-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. **A:** interstitielle Laktatkonzentration in mmol/l während der baseline- und der steady state-Clampphase. **B:** Relative Änderung der interstitiellen Laktatkonzentration im HE-Clampverlauf. Roter Strich: steady state-/baseline-Konzentration = 1 (keine Änderung im HE-Clampverlauf). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. $**p < .01$; $†p < .05$ vs. baseline-Phase der gesunden Probanden; $‡p < .05$ vs. steady state-Phase der gesunden Probanden.

3.3.4 Laktat/Pyruvat-Ratio

Anhand der Laktat/Pyruvat-Ratio lässt sich der lokale Glukosestoffwechsel differenzierter nach aerobem bzw. anaerobem Stoffwechsel betrachten. Eine Zunahme der Laktat/Pyruvat-Ratio spricht für eine relative Zunahme der anaeroben Glukoseverwertung. Umgekehrt ist eine Abnahme der Laktat/Pyruvat-Ratio das Resultat eines relativen Anstiegs der aeroben Glukosemetabolisierung.

Während das Kontrollkollektiv im Verlauf des HE-Clamps eine klare Veränderung hin zu vermehrt aeroben Stoffwechsel zeigte, was sich in einer deutlichen Reduktion der Laktat/Pyruvat-Ratio widerspiegelte ($p = .068$), war bei CIM- und NonCIM-Patienten im Verlauf beider HE-Clamps keine bedeutende Stoffwechseleränderung anhand der Laktat/Pyruvat-Ratio zu beobachten (Abb. 17A-B).

Es fiel auf, dass bei den Intensivpatienten das Verhältnis von Laktat zu Pyruvat während der baseline-Phase beider Clamps äquivalent zur Laktat/Pyruvat-Ratio der gesunden Probanden

3. Ergebnisse

war. Im steady state beider HE-Clamps wiesen NonCIM-Patienten eine den gesunden Probanden vergleichbare Laktat/Pyruvat-Ratio auf, wohingegen CIM-Patienten durch eine signifikant höhere Laktat/Pyruvat-Ratio charakterisiert waren (Abb. 17A).

Ein Vergleich der Ausgangswerte der Laktat/Pyruvat-Ratio im Verlauf beider HE-Clamps von CIM- und NonCIM-Patienten erbrachte keinerlei signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen (Abb. 17A-B). Allerdings zeigte sich während des zweiten HE-Clamps, dass sich die relative Veränderung der Laktat/Pyruvat-Ratio im HE-Clampverlauf zwischen CIM- und NonCIM-Patienten signifikant unterschied, wobei CIM-Patienten durch eine leichte Zunahme und NonCIM-Patienten durch eine leichte Abnahme der Laktat/Pyruvat-Ratio gekennzeichnet waren (Abb. 17B).

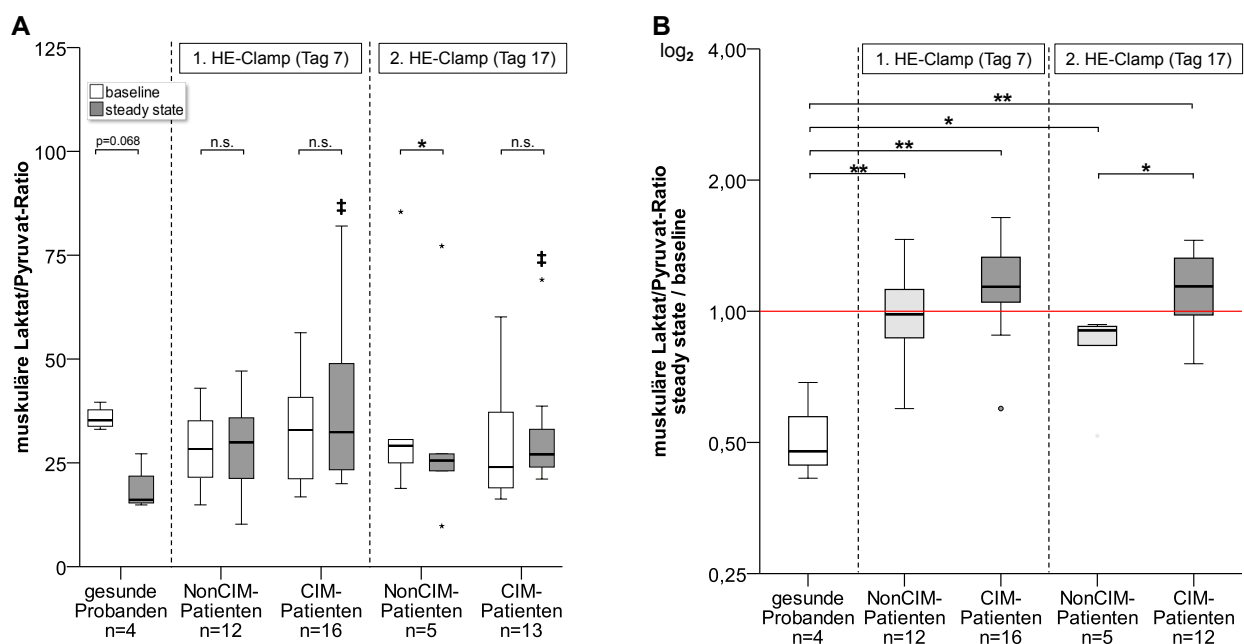


Abb. 17 A-B Laktat/Pyruvat-Ratio im M. vastus lateralis unter HE-Clamp-Bedingungen von CIM- und NonCIM-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. **A:** interstitielle Laktat/Pyruvat-Ratio während der baseline- und der steady state-Clampphase. **B:** Relative Änderung der interstitiellen Laktat/Pyruvat-Ratio im HE-Clampverlauf. Roter Strich: steady state-/baseline-Konzentrations-Ratio = 1 (keine Änderung im HE-Clampverlauf). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$; ‡ $p < .05$ vs. steady state-Phase der gesunden Probanden.

3.3.5 Glycerol

Der dreiwertige Alkohol Glycerol bildet nach Veresterung mit drei Fettsäuren ein Triacylglycerid. Ist statt der dritten Fettsäure ein Phosphorsäureester mit Glycerol verknüpft, so spricht man von einem Phospholipid, welches insbesondere am Aufbau von Plasmamembranen beteiligt ist. Durch enzymatische Abspaltung der freien Fettsäuren durch Lipasen kann Glycerol freigesetzt werden. Glycerol ist somit ein Marker einerseits für Lipolyse im Rahmen der Energiegewinnung, andererseits für Membranschädigung und Zelluntergang.

Die Applikation von Insulin und Glukose führte bei gesunden Probanden zu einer Reduktion der interstitiellen Glycerolkonzentration um 74 %. CIM-Patienten zeigten ebenfalls eine leichte aber signifikante Abnahme der muskulären Glycerolkonzentration im Verlauf beider HE-Clamps (Abb. 18A-B). Bei NonCIM-Patienten waren solche Veränderungen nicht registrierbar. Intensivpatienten wiesen sowohl während der baseline-Phase des frühen als auch während des späten HE-Clamps eine mit den gesunden Probanden vergleichbare muskuläre Glycerolkonzentration auf. Im steady state des ersten HE-Clamps fand sich bei den kritisch kranken Patienten eine gegenüber den gesunden Probanden signifikant höhere interstitielle Glycerolkonzentration. Während des zweiten HE-Clamps war dieser Unterschied nur noch für CIM-Patienten gültig (Abb. 18A).

Die Gruppierung der Intensivpatienten in CIM- und NonCIM-Patienten erbrachte für den ersten HE-Clamp keine Unterschiede bezüglich der baseline-Konzentration von Glycerol und der relativen Glycerolveränderung im HE-Clampverlauf (Abb. 18A-B). Im zweiten HE-Clamps fiel jedoch auf, dass die muskuläre Glycerolkonzentration der NonCIM-Patienten sowohl während der baseline- als auch während der steady state-Phase signifikant geringer war als bei CIM-Patienten (Abb. 18A).

3. Ergebnisse

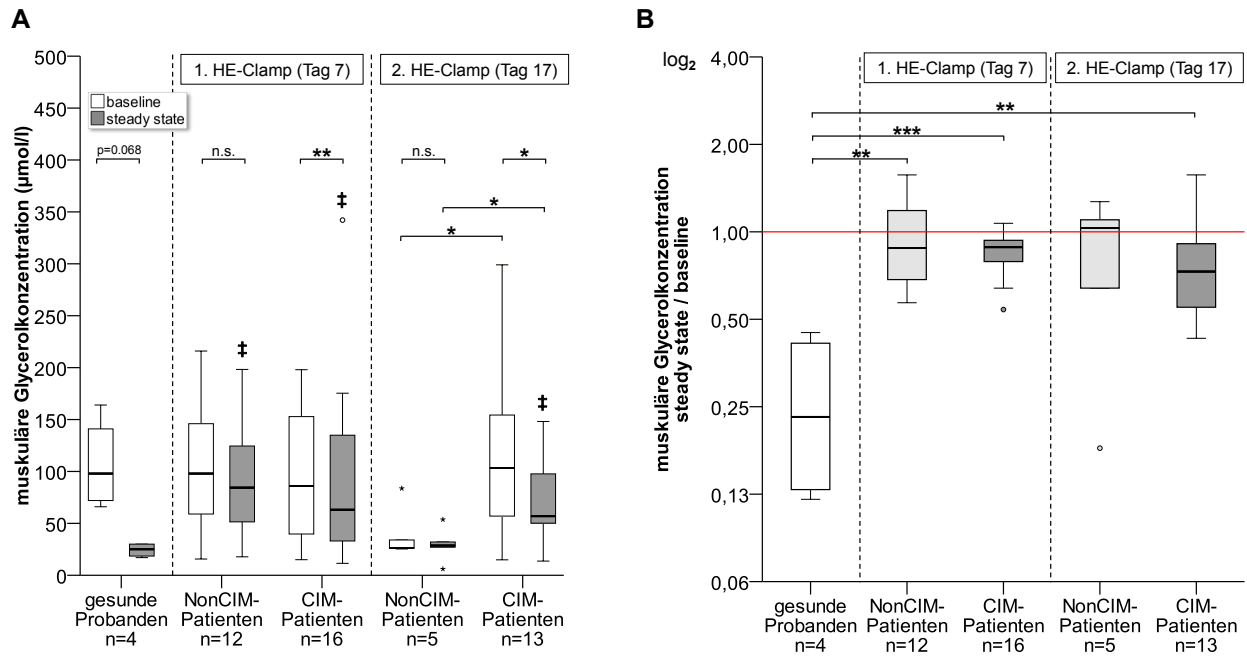


Abb. 18 A-B Glycerolkonzentration im M. vastus lateralis unter HE-Clamp-Bedingungen von CIM- und NonCIM-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. **A:** interstitielle Glycerolkonzentration in µmol/l während der baseline- und der steady state-Clampphase. **B:** Relative Änderung der interstitiellen Glycerolkonzentration im HE-Clampverlauf. Roter Strich: steady state-/baseline-Konzentration = 1 (keine Änderung im HE-Clampverlauf). Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten zum jeweiligen HE-Clamp wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen der baseline- und der steady state-Phase wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$; † $p < .05$ vs. steady state-Phase der gesunden Probanden.

3.4 EXPRESSION DER GENE DES INSULINSIGNALWEGS IM M. VASTUS LATERALIS

Bei den Intensivpatienten wurde jeweils an Tag 6 (4/8) und an Tag 15 (14/19) nach ITS-Aufnahme eine chirurgische Muskelbiopsie im M. vastus lateralis durchgeführt. Die gewonnenen Muskelproben wurden anschließend zur Expressionsanalyse von am Insulinsignalweg und an der Regulation der Glukosehomöostase beteiligten Gene mittels semiquantitaiver Real-Time PCR verwendet. Auf die gleiche Art und Weise wurden die Muskelbiopsate der orthopädischen Referenzprobanden untersucht.

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der Genexpressionsanalyse dargestellt.

3.4.1 Erste Schritte im Insulinsignalweg: Insulinrezeptor, IGF-1-Rezeptor, IRS-1, IRS-2

Während NonCIM-Patienten zu beiden Biopsiezeitpunkten einen den orthopädischen Kontrollprobanden vergleichbaren mRNA-Gehalt für den Insulinrezeptor aufwiesen, war die Insulinrezeptor-mRNA-Expression der CIM-Patienten zu beiden Biopsiezeitpunkten etwa um die Hälfte reduziert [$f_{c_{\text{Biopsie1}}} = .52 (.44/.79)$, $f_{c_{\text{Biopsie2}}} = .46 (.31/.61)$] (Abb. 19A). Ein ähnliches Verhalten ließ sich bezüglich der mRNA-Expression des IGF-1-Rezeptors beobachten, wobei zum Zeitpunkt der zweiten Muskelbiopsie auch NonCIM-Patienten ebenso wie CIM-Patienten weniger IGF-1-Rezeptor-mRNA exprimierten als die orthopädischen Referenzprobanden (Abb. 19B). Die IRS-1-Expression zeigte sich während beider Biopsiezeitpunkte sowohl bei NonCIM- als auch bei CIM-Patienten reduziert (Abb. 19C). In der ersten Muskelbiopsie exprimierten CIM-Patienten im Vergleich zu NonCIM-Patienten signifikant weniger mRNA für den Insulinrezeptor, den IGF-1-Rezeptor- und für IRS-1. In der zweiten Muskelbiopsie ließen sich solche Veränderungen nicht mehr nachweisen.

Die IRS-2-mRNA-Expression von CIM- und NonCIM-Patienten unterschied sich zu keinem Biopsiezeitpunkt von dem IRS-2-mRNA-Expressionsniveau der orthopädischen Probanden. Allerdings zeigte sich, dass CIM- und NonCIM-Patienten in der zweiten Muskelbiopsie signifikant weniger IRS-2-mRNA exprimierten als noch in der ersten Biopsie (Abb. 19D).

3. Ergebnisse

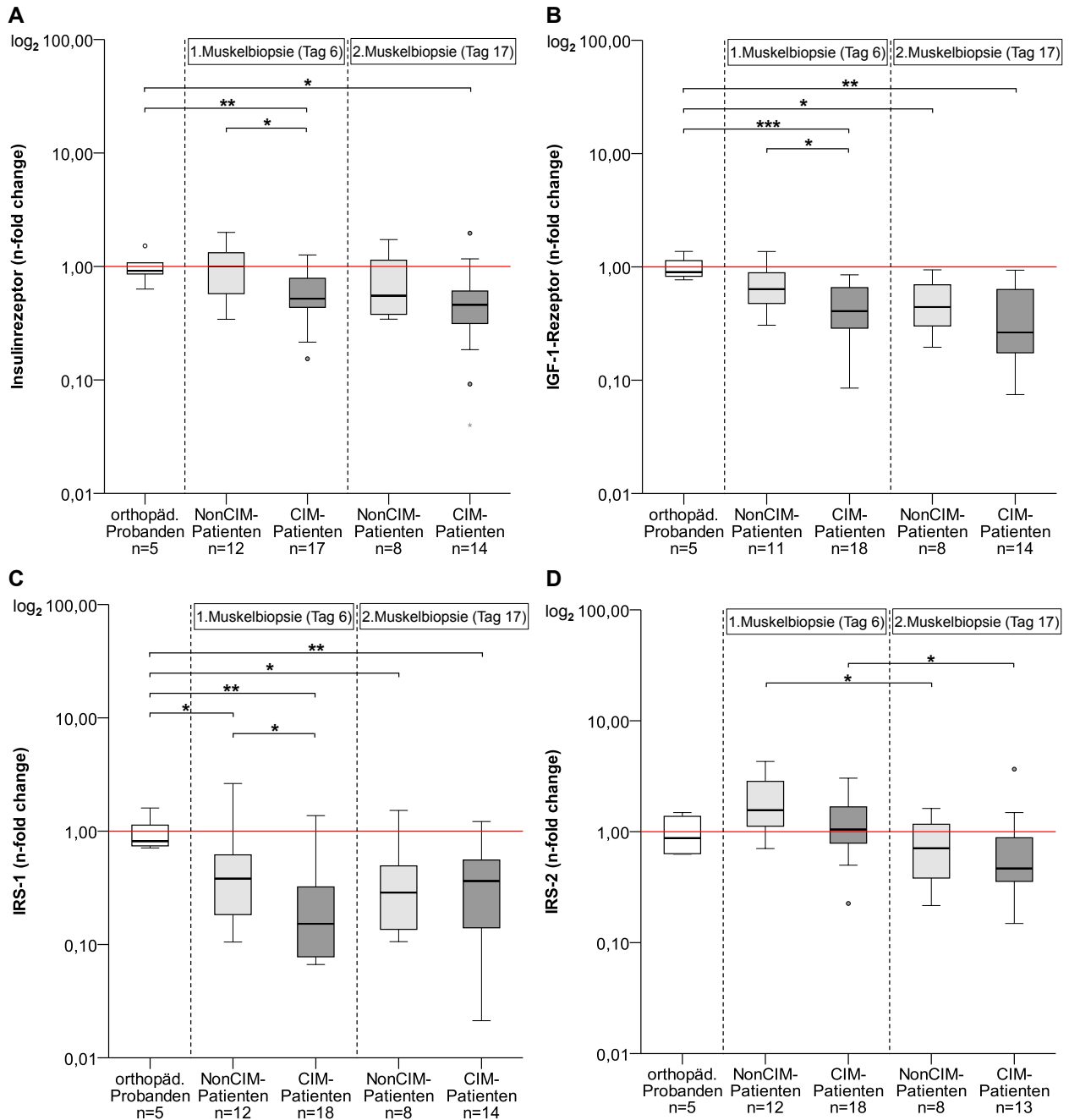


Abb. 19 A-D Relative mRNA-Expression im M. vastus lateralis, ausgedrückt als das Vielfache (n-fold change) der Genexpression in der Muskulatur orthopädischer Probanden, welche auf 1 normiert wurde (roter Strich), logarithmische Auftragung. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen dem Expressionsniveau der ersten und der zweiten Muskelbiopsie wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. **A:** Insulinrezeptor, **B:** Insulin-like growth factor-1-Rezeptor, **C:** Insulinrezeptor-Substrat-1, **D:** Insulinrezeptor-Substrat-2. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$

3. Ergebnisse

3.4.2 Die zentralen Stellglieder: p110 α , Akt2

Die katalytische Untereinheit p110 α der PI3K wurde bei kritisch kranken Patienten zu beiden Biopsiezeitpunkten auf mRNA-Ebene bedeutend geringer exprimiert als bei den metabolisch gesunden orthopädischen Kontrollen. In der ersten Muskelbiopsie war bei NonCIM-Patienten nur etwa halb so viel p110 α -mRNA wie bei den orthopädischen Probanden detektierbar [fc = .46 (.30/.54)]. Zum Zeitpunkt der zweiten Biopsie war die p110 α -mRNA-Expression der NonCIM-Patienten gegenüber der ersten Biopsie noch weiter supprimiert [fc = .31 (.14/.37)]. Bei den CIM-Patienten war bereits in der ersten Muskelbiopsie nur ein Viertel der p110 α -mRNA-Menge von gesunden Probanden nachweisbar [fc = .25 (.14/.34)]. In der zweiten Biopsie fiel die p110 α -mRNA-Expression gegenüber der ersten Biopsie weiter [fc = .17 (.09/.24)] (Abb. 20A)

Gegensätzlich verhielt sich die Expression von Akt2-mRNA. CIM- und NonCIM-Patienten waren im Vergleich zu den orthopädischen Referenzprobanden während beider Biopsiezeitpunkte durch eine gesteigerte Akt2-mRNA-Expression gekennzeichnet. NonCIM-Patienten exprimierten in der ersten Biopsie dreimal so viel Akt2-mRNA wie gesunde Probanden [fc = 3.09 (2.02/3.68)], während der Akt2-mRNA-Gehalt bei CIM-Patienten in der ersten Biopsie um zwei Drittel der Menge gesunder Kontrollen gesteigert war [fc = 1.67 (1.40/2.62)]. Während des zweiten Biopsiezeitpunktes war die Akt-2-mRNA-Expression bei NonCIM- und CIM-Patienten weiterhin signifikant höher als die der gesunden Probanden (Abb. 20B).

3. Ergebnisse

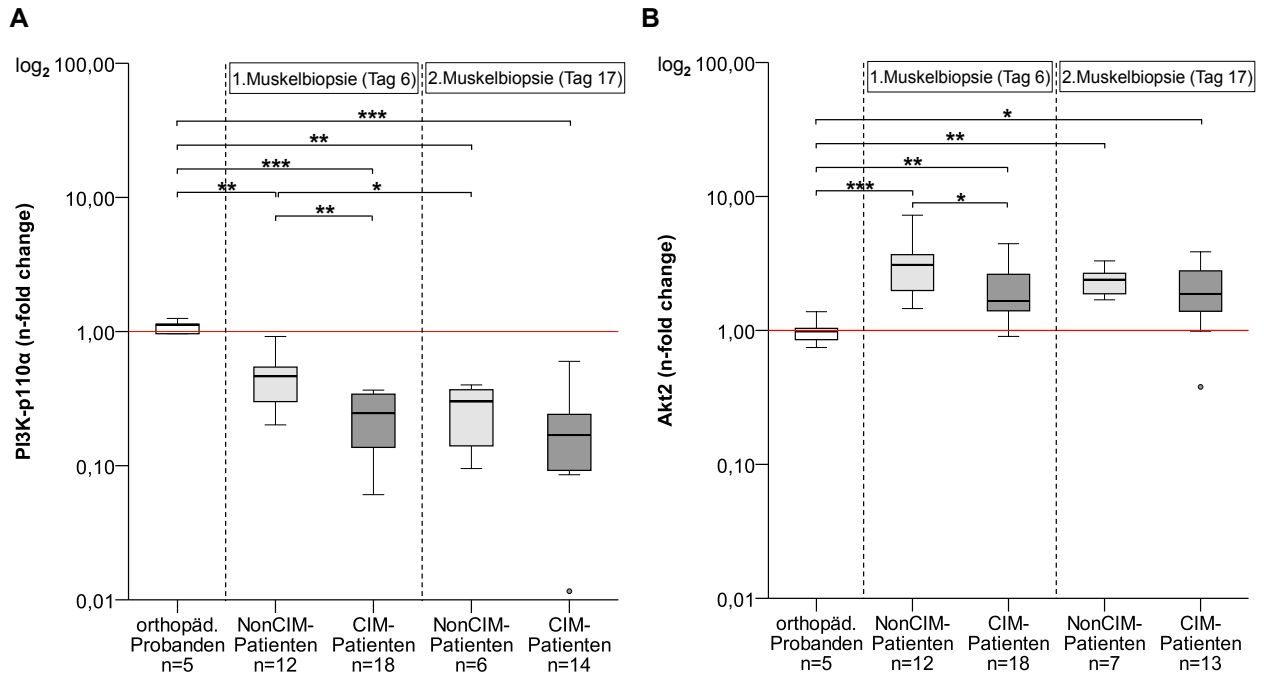


Abb. 20 A-B Relative mRNA-Expression im M. vastus lateralis, ausgedrückt als das Vielfache (n-fold change) der Genexpression in der Muskulatur orthopädischer Probanden, welche auf 1 normiert wurde (roter Strich), logarithmische Auftragung. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen dem Expressionsniveau der ersten und der zweiten Muskelbiopsie wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. **A:** p110 α -Untereinheit der Phosphatidylinositol-3-Kinase, **B:** Akt2. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$

3.4.3 Die Akt-Zielstrukturen: GSK3 β , mTOR, FOXO1, FOXO3

Das GSK3 β -Genexpressionsmuster der NonCIM-Patienten zeigte sich in beiden Muskelbiopsien äquivalent zu dem der orthopädischen Kontrollen. Im Gegensatz dazu ließ sich in den Muskelbiopsaten der CIM-Patienten zu beiden Zeitpunkten signifikant weniger GSK3 β -mRNA detektieren als bei den orthopädischen Kontrollen und NonCIM-Patienten (Abb. 21A).

NonCIM-Patienten exprimierten in der ersten Muskelbiopsie signifikant mehr mTOR-mRNA als gesunde Kontrollen [fc = 1.71 (1.33/2.42)]. In der zweiten Muskelbiopsie war ein solcher Unterschied nicht mehr nachweisbar. Die mTOR-Transkription der CIM-Patienten stellte sich gegenüber den orthopädischen Probanden zu beiden Biopsiezeitpunkten äquivalent dar (Abb. 21B).

NonCIM- und CIM-Patienten waren in der ersten Muskelbiopsie durch eine gegenüber den orthopädischen Probanden etwa dreifach erhöhte FOXO1-Genexpression gekennzeichnet [fc_{NonCIM} = 3.02 (2.00/4.41); fc_{CIM} = 2.64 (1.74/4.71)]. In der zweiten Muskelbiopsie ließ sich ein solcher signifikanter Expressionsunterschied nicht mehr detektieren (Abb. 21C)

3. Ergebnisse

Das FOXO3-mRNA-Expressionsmuster der Intensivpatienten ähnelte der Genexpression von FOXO1, wobei auch in der zweiten Biopsie der NonCIM-Patienten signifikant mehr FOXO3-mRNA nachweisbar war als bei den orthopädischen Kontrollen [$fc = 2.73 (1.67/3.76)$] (Abb. 21D).

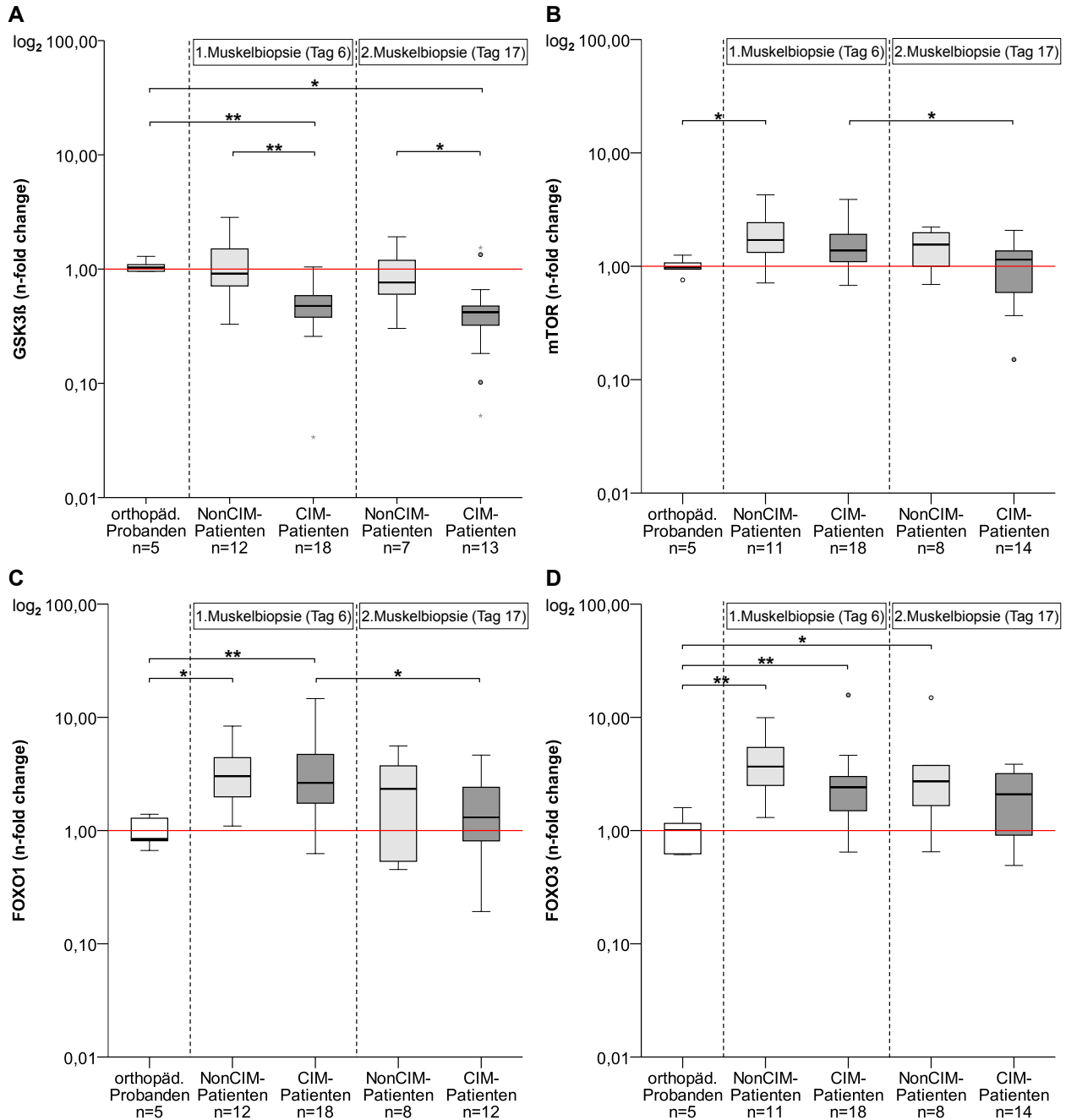


Abb. 21 A-D Relative mRNA-Expression im M. vastus lateralis, ausgedrückt als das Vielfache (n-fold change) der Genexpression in der Muskulatur orthopädischer Probanden, welche auf 1,00 normiert wurde (roter Strich), logarithmische Auftragung. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen dem Expressionsniveau der ersten und der zweiten Muskelbiopsie wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. **A:** GSK3 β , **B:** mTOR, **C:** FOXO1, **D:** FOXO3. * $p < .05$; ** $p < 0.01$

3. Ergebnisse

3.4.4 Die Glukosetransporter GLUT1 und GLUT4

Die GLUT1-mRNA-Expression von Intensivpatienten unterschied sich zu keinem Biopsiezeitpunkt vom Expressionsniveau der orthopädischen Probanden. Auch im Verlauf des intensivmedizinischen Aufenthalts fanden sich keine signifikanten Veränderungen der GLUT1-Genexpression bei CIM- und NonCIM-Patienten (Abb. 22 A).

Im Gegensatz dazu war die GLUT4-mRNA-Expression von CIM- und NonCIM-Patienten zu beiden Biopsiezeitpunkten signifikant geringer als bei den orthopädischen Probanden. Dabei ließ sich bei CIM-Patienten in der ersten Biopsie nochmals weniger GLUT4-mRNA nachweisen als bei NonCIM-Patienten. Nur etwa 20 % der GLUT4-mRNA-Menge orthopädischer Probanden konnten in der ersten Muskelbiopsie der CIM-Patienten detektiert werden [fc = .20 (.09/29)], während bei NonCIM-Patienten noch die Hälfte des GLUT4-mRNA-Gehalts orthopädischer Probanden nachweisbar war [fc = .51 (.26/ .63)] (Abb. 22 B).

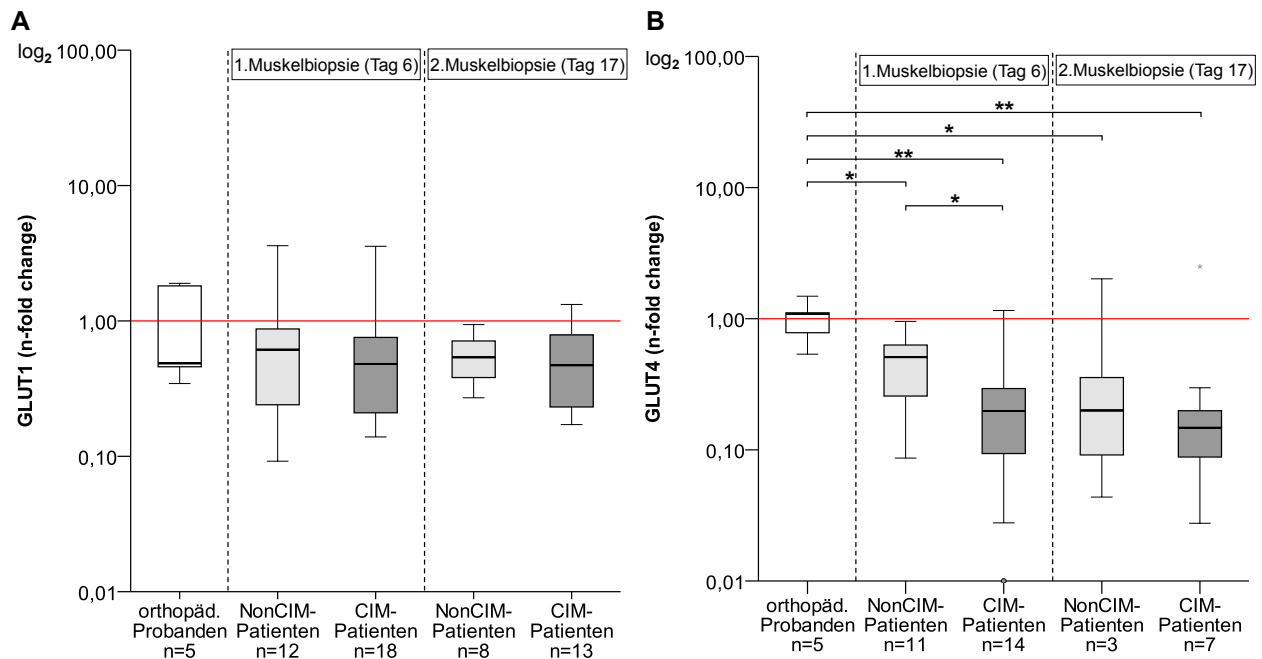


Abb. 22 A-B Relative mRNA-Expression im M. vastus lateralis, ausgedrückt als das Vielfache (n-fold change) der Genexpression in der Muskulatur orthopädischer Probanden, welche auf 1 normiert wurde (roter Strich), logarithmische Auftragung. Das Signifikanzniveau p zwischen gesunden Probanden, CIM- und NonCIM-Patienten wurde mit dem Mann-Whitney-U-Test berechnet. Das Signifikanzniveau zwischen dem Expressionsniveau der ersten und der zweiten Muskelbiopsie wurde mit dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test berechnet. **A:** GLUT1, **B:** GLUT4. * $p < .05$; ** $p < 0.01$

4. Diskussion

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, pathophysiologische Aspekte der Insulinresistenz bei Intensivpatienten mit und ohne CIM im zeitlichen Verlauf einer kritischen Erkrankung zu untersuchen. Wir untersuchten bei 30 kritisch kranken Patienten einerseits die Gesamtkörperinsulinsensitivität, andererseits den Glukosemetabolismus und die Expression von Genen des metabolischen Insulinsignalwegs in der Skelettmuskulatur.

Es konnte ein Kollektiv von 30 kritisch kranken Patienten rekrutiert werden. Um eine umfassende Interpretation der Untersuchungsergebnisse zu ermöglichen, wurden zusätzlich zwei Vergleichskollektive nicht kritisch kranker Patienten akquiriert.

Folgende Ergebnisse werden im Anschluss diskutiert:

- Kritisch kranke Patienten waren durch eine massive Reduktion der systemischen Insulinsensitivität gegenüber gesunden Probanden gekennzeichnet. Bei CIM-Patienten war die systemische Insulinsensitivität noch stärker reduziert als bei NonCIM-Patienten. Diese Veränderung wurde besonders in der Frühphase des intensivmedizinischen Aufenthalts, im ersten HE-Clamp, deutlich (Abb. 9).
- Die metabolische Insulinclearance war sowohl bei Intensivpatienten mit CIM als auch bei Intensivpatienten mit eingeschränkter Nierenfunktion gegenüber gesunden Probanden reduziert (Abb. 12-13).
- Die metabolische Flexibilität der Skelettmuskulatur von Intensivpatienten war unabhängig vom Vorliegen einer CIM sowohl an Tag 7 als auch an Tag 17 nach ITS-Aufnahme gegenüber gesunden Probanden massiv eingeschränkt (Abb. 14-18).
- Der blutzuckersenkende Effekt von Insulin scheint bei kritischer Erkrankung auf einer Insulinwirkung an extramuskulären Geweben zu beruhen.
- Die Intensivpatienten zeichneten sich für die Mehrheit der Gene, die an der insulinabhängigen Regulation der muskulären Glukosehomöostase beteiligt sind, durch ein gegenüber den orthopädischen Probanden deutlich verändertes Expressionsmuster aus. CIM-Patienten wiesen dabei im Allgemeinen stärkere Abweichungen auf als NonCIM-Patienten. Unterschiede der Genexpression zwischen NonCIM- und CIM-Patienten ließen sich insbesondere in der ersten Muskelbiopsie nachweisen (Abb. 19-22).

4.1 HERABGESETZTE SYSTEMISCHE INSULINSENSITIVITÄT WÄHREND DER ERSTEN WOCHEN AUF DER INTENSIVSTATION

In der vorliegenden Arbeit wurde die systemische Insulinsensitivität mittels der Goldstandardmethode des HE-Clamps erstmals an Tag 7 nach Aufnahme auf die ITS bestimmt. Der berechnete ISI quantifiziert die Menge an Glukose, die pro Einheit Seruminsulin aus dem zirkulierenden Blut entfernt wird und ist somit ein geeignetes Maß zur Bestimmung der Gesamtkörperinsulinsensitivität. Die systemische Insulinsensitivität kritisch kranker Patienten am siebten Tag nach ITS-Aufnahme war gegenüber dem gesunden Referenzkollektiv um 79 % herabgesetzt. Zauner et al. haben die Insulinsensitivität von Intensivpatienten am zweiten Aufenthaltstag auf der ITS quantifiziert, wobei sie einen um 70 % reduzierten ISI im Vergleich zu gesunden Kontrollen ermittelten. Die Arbeitsgruppe um Pretty et al. lieferte sogar Hinweise dafür, dass die systemische Insulinsensitivität von Intensivpatienten am ersten Tag auf der ITS noch niedriger ist als am zweiten Tag des intensivmedizinischen Aufenthalts.¹¹⁰ Jedoch gab es in dieser Untersuchung kein metabolisch gesundes Referenzkollektiv, sodass die Insulinsensitivität nur intraindividuell verglichen werden konnte. Die vorliegende Arbeit demonstriert, dass auch noch nach einer Woche Aufenthalt auf einer ITS eine massive Insulinresistenz bei kritisch kranken Patienten nachweisbar ist. Es ist hervorzuheben, dass in der vorliegenden Arbeit Intensivpatienten mit einem sehr schweren Krankheitsverlauf (SOFA ≥ 8) selektiert wurden. Dadurch ist zusätzlich die hohe Prävalenz der CIM von 60 % in dem vorliegenden Patientenkollektiv im Vergleich zu bisher veröffentlichten Werten zu erklären.^{7,11}

Zehn Tage nach dem ersten HE-Clamp war der ISI der Intensivpatienten signifikant gestiegen. Dieser Anstieg war allerdings nur sehr gering ausgeprägt. Gegenüber dem Niveau der gesunden Probanden zeigte sich der ISI der untersuchten Intensivpatienten am Tag des zweiten HE-Clamps weiterhin um 72 % reduziert (Abb. 9). Die Insulinsensitivität der kritisch kranken Patienten war also sowohl an Tag 7 als auch an Tag 17 nach Aufnahme auf die ITS massiv herabgesetzt.

Es ist anzunehmen, dass die geringe Zunahme der Insulinsensitivität im Zeitraum zwischen dem ersten und dem zweiten HE-Clamp auf einer Verbesserung des klinischen Zustands der Patienten im Rahmen der intensivmedizinischen Therapie beruht. Sowohl bei CIM-Patienten als auch bei NonCIM-Patienten war der Grad der Krankheitsschwere, quantifiziert mit Hilfe des SOFA-Scores, im Zeitraum zwischen ersten und zweiten HE-Clamp niedriger als im Zeitraum zwischen ITS-Aufnahme bis zum ersten HE-Clamp (Tabelle 10). Dies deutet eine Stabilisierung des Krankheitszustands der Patienten an. Auch bei der Betrachtung der Kurve des Sepsis-Verlaufs fiel auf, dass der Anteil der Patienten, welche Sepsiskriterien erfüllen, in beiden Patientengruppen während der ersten 14 Tage auf der ITS sank (Abb. 8). Dass das Ausmaß

4. Diskussion

der systemischen Insulinresistenz mit der Krankheitsschwere von Intensivpatienten korreliert, wurde bereits durch die Clampstudien von Zauner et al. postuliert.⁴⁸ Dieser Zusammenhang wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit gefestigt.

4.1.1 Gravierendere Einschränkung der systemischen Insulinsensitivität bei Intensivpatienten mit CIM

CIM-Patienten zeichneten sich während des ersten HE-Clamps durch eine stärkere Einschränkung der Insulinsensitivität aus als NonCIM-Patienten (Abb. 9). Ob sich die Entwicklung einer CIM und die Manifestation einer massiven systemischen Insulinresistenz gegenseitig bedingen oder auf gemeinsamen pathophysiologischen oder therapeutischen Faktoren beruhen, ist bisher nicht geklärt. Zwei große belgische Studien haben gezeigt, dass durch die Einhaltung einer strikten Normoglykämie im Bereich von 80–110 mg/dl mittels IIT im Vergleich zur liberalen Blutzuckereinstellung im Bereich < 215 mg/dl die Inzidenz neuromuskulärer Erkrankungen bei kritisch kranken Patienten reduziert wird.^{30,31} Die Frage, ob die protektive Wirkung der IIT auf der Prävention potentiell toxischer hyperglykämischer Episoden oder auf der vermehrten Stimulation des Körpers mit Insulin beruht, ist nicht eindeutig beantwortet. Natürlich ist auch eine Kombination beider Wirkmechanismen denkbar. Eine Regressionsanalyse hat angedeutet, dass die Einhaltung der Normoglykämie im Bereich von 80–110 mg/dl unabhängig von der applizierten Insulinmenge die ausschlaggebende Variable für die Prävention neuromuskulärer Komplikationen durch eine IIT zu sein scheint.⁴⁴

In der vorliegenden Arbeit wurde der Blutzucker während des gesamten intensivmedizinischen Aufenthalts bei allen Patienten anhand eines standardisierten Protokolls entsprechend der Empfehlung der Surviving Sepsis Campaign 2008¹⁰⁵ mittels intravenöser Insulingabe auf den Zielbereich zwischen 80–150 mg/dl eingestellt. CIM- und NonCIM-Patienten benötigten äquivalente tägliche Insulinmengen um den Blutzucker in dem vorgegebenen Zielbereich zu halten. Auch bezüglich der Häufigkeit des Auftretens hypo- bzw. hyperglykämischer Episoden im Rahmen der Therapie fanden sich bis zum ersten HE-Clamp keine signifikanten Unterschiede zwischen CIM- und NonCIM-Patienten (Tabelle 10). Trotz der vergleichbaren Bedingungen der Insulintherapie ist die Prävalenz der CIM an Tag 7 nach Aufnahme auf die ITS bei dem vorliegenden Patientenkollektiv mit 60 % erstaunlich hoch. Dies widerspricht der Hypothese, dass die Vermeidung hyperglykämischer Phasen und/oder die Applikation von Insulin das Risiko für die Manifestation einer CIM senkt. Allerdings war der Blutglukosezielbereich in der vorliegenden Studie moderater begrenzt als in den beiden belgischen Untersuchungen zur IIT. Es wäre denkbar, dass die beschriebenen positiven Auswirkungen der IIT erst bei Einhaltung des sehr engen Blutzuckerrahmens von 80–110 mg/dl zum Tragen kommen.

4. Diskussion

Der Blutzucker ließ sich bei CIM-Patienten im Zeitraum zwischen dem ersten und zweiten HE-Clamp schwieriger im Zielbereich einstellen als bei NonCIM-Patienten, weshalb CIM-Patienten signifikant häufiger von hyperglykämischen Episoden betroffen waren (Tabelle 10). Die hyperglykämischen Phasen scheinen eine Folge und nicht die Ursache der CIM zu sein, da die Diagnose der CIM bereits vor dem ersten HE-Clamp gestellt wurde und bis zu diesem Zeitpunkt kein Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens hypo- und hyperglykämischer Phasen nachweisbar war (Tabelle 10). Vorstellbar ist daher auch, dass die IIT erst im späteren Verlauf der kritischen Erkrankung durch Vermeidung von Hyperglykämien und Verringerung der Blutzuckervariabilität positive Auswirkungen zeigt.

Allerdings existieren eine Reihe von Studien, in denen es nicht gelang, die positiven Effekte einer IIT zu reproduzieren. Eine 2008 veröffentlichte Metaanalyse hat 29 randomisierte kontrollierte Studien zur IIT bei Intensivpatienten analysiert und kam zu dem eindeutigen Ergebnis, dass eine strikte Normoglykämie keinen Einfluss auf die Mortalität hat.¹¹¹ Vielmehr traten bei den Patienten mit IIT signifikant häufiger gefährliche hypoglykämische Episoden auf. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse wird vermehrt über einen potentiellen Nutzen des physiologischen Anpassungsvorgangs der Stresshyperglykämie nachgedacht.⁴⁵

Während des zweiten HE-Clamps war kein Unterschied der Insulinsensitivität zwischen CIM- und NonCIM-Patienten mehr nachweisbar (Abb. 9). Diese Tatsache lässt sich ebenso wie die leichte Steigerung des ISIs im Verlauf vom ersten zum zweiten HE-Clamp durch eine Verbesserung der klinischen Situation der Patienten erklären. Insbesondere CIM-Patienten benötigten im Zeitraum zwischen ersten und zweiten HE-Clamp weniger Noradrenalin als in der Zeit bis zum ersten HE-Clamp (Tabelle 10), was als Ausdruck der hämodynamischen Stabilisierung der CIM-Patienten gewertet werden kann. Außerdem reduzierte sich die Anzahl der Patienten, bei denen ein zweiter HE-Clamp durchgeführt werden konnte. In der Kohorte der NonCIM-Patienten konnte bei sieben Patienten kein zweiter HE-Clamp stattfinden, da die Patienten soweit genesen waren, dass sie auf eine Normalstation verlegt werden konnten. Im Gegensatz dazu konnte in der Gruppe der CIM-Patienten bei drei Patienten kein zweiter HE-Clamp durchgeführt werden, weil eine instabile klinische Situation der Patienten die Durchführung eines HE-Clamps nicht zuließ oder die Patienten verstorben waren (Tabelle 11). Der Wegfall von Patienten mit besonders positiven Verläufen in der Gruppe der NonCIM-Patienten und von Patienten mit besonders negativen Verläufen in der Gruppe der CIM-Patienten kann die Angleichung des ISIs von CIM- und NonCIM-Patienten während des zweiten HE-Clamps bedingen. Ob der niedrige ISI des ersten HE-Clamps der CIM-Patienten ursächlich für die erhöhte Mortalität dieser Kohorte ist, oder ob er Ausdruck der Krankheitsschwere ist, lässt sich anhand der vorliegenden Daten nicht differenzieren.

4.1.2 Stärkerer Anstieg der Insulinserumkonzentration bei Intensivpatienten mit CIM

Beide HE-Clamps wurden bei den Intensivpatienten mit deutlich höheren Insulininfusionsraten durchgeführt als bei den gesunden Probanden ($125 \text{ mU/m}^2/\text{min}$ vs. $40 \text{ mU/m}^2/\text{min}$), da bei den Intensivpatienten bereits vor Versuchsbeginn von dem Vorliegen einer herabgesetzten Insulinsensitivität ausgegangen wurde. Außerdem wurde bei den Intensivpatienten in Vorbereitung auf den HE-Clamp keine 12stündige Nüchternheitsphase eingehalten, sondern zur Garantie einer minimalen Energiezufuhr eine Glukoseernährung mit variabler Insulingabe eingeleitet. Hätte man den HE-Clamp bei den Intensivpatienten mit nur $40 \text{ mU/m}^2/\text{min}$ durchgeführt, wären Veränderungen der Glukoseutilisationsrate, die erst durch höhere Insulindosen hervorgerufen werden nicht erfasst worden. Gegenteilig hierzu wurde bei den gesunden und nüchternen Probanden eine intakte Insulinsensitivität erwartet. Unter dieser Annahme war eine niedrigere Insulininfusionsrate angebracht, um Veränderungen der Glukoseutilisationsrate zu detektieren.¹¹²

Die hohe Insulininfusionsrate führte bei den Intensivpatienten während beider HE-Clamps zu einem starken Anstieg der Insulinserumkonzentration, wobei die Glukoseinfusionsrate nur vergleichsweise wenig erhöht werden musste, um eine Normoglykämie aufrechtzuerhalten (Abb. 10-11). Die Glukoseinfusionsrate der Intensivpatienten während der steady state-Phase war zu beiden HE-Clampzeitpunkten äquivalent zur steady state-Glukoseinfusionsrate der gesunden Probanden, obwohl die Intensivpatienten eine vielfach höhere Insulinserumkonzentration aufwiesen. Diese Tatsache veranschaulicht die massive Einschränkung der blutzuckersenkenden Wirkung von Insulin bei kritisch kranken Patienten.

Während der baseline-Phase beider HE-Clamps wiesen CIM- und NonCIM-Patienten eine vergleichbare Insulinkonzentration im Serum auf, welche jedoch signifikant höher lag als die der gesunden Kontrollen. Dieser Unterschied begründet sich auf der Tatsache, dass den Intensivpatienten bereits während der baseline-Phase beider HE-Clamps kontinuierlich Glukose intravenös appliziert wurde und zur Aufrechterhaltung des Blutglukosespiegels im Bereich von $100\text{--}130 \text{ mg/dl}$ bedarfsgerecht Insulin intravenös verabreicht wurde. Im Gegensatz dazu ist die niedrige baseline-Insulinkonzentration der gesunden Probanden das Ergebnis einer 12-stündigen Nahrungskarenz.

Bei den CIM-Patienten war während der steady state-Phase des ersten HE-Clamps eine höhere Insulinkonzentration im Serum detektierbar als bei NonCIM-Patienten, obwohl beide Patientengruppen eine äquivalente an die Körperoberfläche adaptierte Insulinmenge erhielten. Die Körperoberfläche unterschied sich nicht zwischen CIM- und NonCIM-Patienten. Während des zweiten HE-Clamps war die Tendenz zu einer höheren Insulinserumkonzentration bei CIM-Patienten weiterhin sichtbar, jedoch war der Unterschied statistisch nicht mehr signifikant. Bei gleichzeitiger Betrachtung der Glukoseinfusionsrate und der Insulinserumkonzentration in der

4. Diskussion

steady state-Phase von CIM und NonCIM-Patienten wurde ersichtlich, dass der verminderte ISI der CIM-Patienten nicht aus einer niedrigeren Glukoseinfusionsrate sondern aus der höheren Insulinkonzentration im Serum resultiert. Es stellt sich die Frage nach der Ursache der erhöhten Insulinserumkonzentration der CIM-Patienten.

Während der baseline-Phase fand sich bei äquivalenter Insulininfusionsrate kein Unterschied der Insulinserumkonzentration zwischen CIM- und NonCIM-Patienten. Dieser Umstand deutet an, dass erst durch die Applikation sehr hoher Insulindosen Unterschiede in der Insulinserumkonzentrationen von CIM- und NonCIM-Patienten sichtbar werden. Einerseits kann die höhere steady state-Insulinkonzentration im Serum der CIM-Patienten Ausdruck einer gegenüber NonCIM-Patienten stärkeren endogenen Insulinsekretion sein, andererseits kann eine verminderte Insulinclearance zu einer höheren Insulinserumkonzentration bei CIM-Patienten führen.

Der Frage, ob die Zufuhr von exogenem Insulin die endogene Insulinsekretion moduliert, wurde in verschiedenen Studien am Menschen nachgegangen. Die gewonnenen Erkenntnisse sind inkonsistent. Einige Untersuchungen konnten nach Applikation von Insulin keine Veränderungen der endogenen Insulinsekretion nachweisen, während in anderen Untersuchungen eine Steigerung oder eine Suppression der endogenen Insulinsekretion beobachtet werden konnte.¹¹³ Über den Anteil der endogenen Insulinsekretion an der hohen steady state-Insulinserumkonzentration der CIM-Patienten lässt sich anhand der vorliegenden Studie und der gegenwärtigen Literatur keine Aussage treffen.

4.1.3 Reduzierte Insulinclearance bei Intensivpatienten mit CIM

In der vorliegenden Arbeit ergaben sich für die berechnete metabolische Insulinclearance der CIM-Patienten während des ersten HE-Clamps signifikant niedrigere Werte als bei NonCIM-Patienten (Abb. 12). Durch diesen Umstand kann die bei CIM-Patienten erhöhte Insulinserumkonzentration in der steady state-Phase erklärt werden.

Die Skelettmuskulatur kann durch rezeptorvermittelte Insulinendozytose und anschließender Verschmelzung mit einem Lysosomen zur Insulinelimination beitragen.⁴⁹ Um an Rezeptoren der Skelettmuskulatur binden zu können, muss Insulin über das Gefäßendothel vom Plasma ins Muskelinterstitium transportiert werden. Aktuelle Untersuchungen haben gezeigt, dass es sich dabei um einen sättigbaren rezeptorvermittelten Transportprozess handelt.¹¹⁴ Daher ist die Kapazität des Muskels zur systemischen Insulinclearance beizutragen bei Hyperinsulinämie reduziert. Die vorliegende Arbeit lässt vermuten, dass der transendotheliale Insulintransport beim Vorliegen einer CIM schon bei einer niedrigeren Insulinkonzentration gesättigt ist als bei

4. Diskussion

NonCIM-Patienten. Dieser Umstand kann auf einer verminderten Anzahl von Insulinrezeptoren im muskulären Gefäßendothel oder auf einem Rezeptor- bzw. post-Rezeptordefekt beruhen. Bisher ist die systemische Insulinclearance bei Intensivpatienten mit CIM nicht näher untersucht worden. Aus diesem Grund können zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine genaueren Aussagen über mögliche pathophysiologische Aspekte einer verminderten Insulinclearance bei CIM getroffen werden.

Eine Unterteilung der Patienten nicht nach der Muskelmembranerregbarkeit sondern nach der Nierenfunktion am Tag des HE-Clamps machte ersichtlich, dass Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion während des ersten HE-Clamps eine verringerte Insulinclearance im Vergleich zu Intensivpatienten mit intakter Nierenfunktion aufwiesen (Abb. 13). Insbesondere CIM-Patienten waren während des ersten HE-Clamps von einer Nierenfunktionseinschränkung betroffen. Dieser Unterschied war definitionsgemäß nicht signifikant. Trotzdem sollte in Betracht gezogen werden, dass die reduzierte systemische Insulinelimination der CIM-Patienten nicht nur das Ergebnis einer gestörten muskulären Insulinclearance ist, sondern auch eine Einschränkung der renalen Funktion dazu beitragen kann.

4.1.4 Reduzierte Insulinclearance bei Einschränkung der Nierenfunktion

Die Niere eliminiert Insulin über glomeruläre Filtration mit partieller Rückresorption und anschließender Degradation in den Tubuluszellen. Anhand eines mathematischen Modells konnte demonstriert werden, dass Leber und Niere abhängig von der Insulinkonzentration im Plasma einen unterschiedlichen relativen Beitrag zur Insulindegradation leisten. Dieser Aspekt beruht auf der Tatsache, dass es sich bei der hepatischen Insulindegradation um einen sättigbaren rezeptorabhängigen Prozess handelt, wohingegen die glomeruläre Filtration in der Niere der Kinetik erster Ordnung folgt. Daher erfolgt der Insulinabbau bei niedrigen Insulinplasmaspiegeln zum überwiegenden Teil hepatisch, während bei einer hohen Insulinplasmakonzentration die Niere den dominierenden Beitrag zu Insulinelimination leistet. Bei einer supraphysiologischen Insulinplasmakonzentration kann der relative Anteil der Niere an der Insulindegradation auf bis zu 100 % steigen.⁴⁹ Außerdem nimmt die Bedeutung der renalen Insulinclearance bei der Elimination von exogen appliziertem Insulin zu.¹¹⁵

Untersuchungen an Patienten mit insulinabhängigem Diabetes mellitus haben gezeigt, dass die Entwicklung einer Niereninsuffizienz mit einer Reduktion der metabolischen Insulinclearance einhergeht. Dies ist der Grund, weshalb die Patienten bei Manifestation einer renalen Funktionseinschränkung einen verminderten Insulinbedarf registrieren.¹¹⁵ Es scheint plausibel,

4. Diskussion

dass die renale Insulinclearance auch bei einem akutem Nierenversagen im Rahmen einer kritischen Erkrankung herabgesetzt ist.

Bei sechs der 17 CIM-Patienten lief während des ersten HE-Clamps ein Nierenersatzverfahren, wohingegen nur einer der 12 NonCIM-Patienten während des ersten HE-Clamps dialysiert wurde (Tabelle 11). Auch wenn dieser Unterschied nicht das statistische Signifikanzniveau erreichte, könnte man postulieren, dass die metabolische Insulinclearance durch die Durchführung einer Hämodialyse beeinflusst wird. Allerdings wäre zu erwarten, dass eine Dialyse zu einer Steigerung der systemischen Insulinclearance führt.¹¹⁶ Unter dieser Annahme wäre die metabolische Insulinclearancerate der CIM-Patienten in der vorliegenden Arbeit falsch hoch berechnet, sodass die tatsächliche Insulinclearance noch stärker reduziert wäre.

Die Neigung zu einer Reduktion der Insulinclearance bei CIM-Patienten und bei kritisch kranken Patienten mit einer Nierenfunktionseinschränkung, erlangt im Rahmen der Insulintherapie während des intensivmedizinischen Aufenthalts eine besondere klinische Relevanz. Abhängig von der Ausprägung der Insulinresistenz ist bei diesen Patienten mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten gefährlicher hypoglykämischer Episoden zu rechnen. Dies erklärt möglicherweise warum eine IIT mit strenger Einstellung des Blutzuckers im Bereich von 80–110 mg/dl das Outcome kritisch kranker Patienten mit CIM und/oder Nierenfunktionseinschränkung eher negativ beeinflussen kann.

4.2 METABOLISCHE INFLEXIBILITÄT DER SKELETTMUSKULATUR VON INTENSIVPATIENTEN

Anhand von Untersuchungen an Tiermodellen kritischer Erkrankung⁹² sowie an septischen Patienten^{51,117} wurde bereits mehrfach das Vorliegen eines post-Rezeptordefekts als Pathologie der gestörten systemischen Insulinsensitivität bei kritischer Erkrankung postuliert. Ebenso wurde angedeutet, dass die Skelettmuskulatur im Rahmen einer Sepsis das Hauptorgan der sich entwickelnden peripheren Insulinresistenz zu sein scheint.^{58,61}

Um die Antwort des muskulären Glukosestoffwechsels auf eine systemische Stimulation mit Insulin und Glukose zu analysieren, wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals ein HE-Clamp mit der Methode der Mikrodialyse im Skelettmuskel kritisch kranker Patienten kombiniert.

Zur Evaluierung, wie der Skelettmuskel physiologischerweise auf ein erhöhtes Angebot von Glukose und Insulin reagiert, wurde eine Mikrodialyse im M. vastus lateralis gesunder Probanden unter HE-Clampbedingungen durchgeführt. Anhand der Glycerolkonzentration im Muskelinterstitium ist anzunehmen, dass bei den gesunden Probanden in der Phase der Nahrungskarenz primär Lipolyse und Fettsäureoxidation zur Deckung des basalen muskulären Energieumsatzes beitragen (Abb. 18A). Unter steady state-Bedingungen des HE-Clamps kam es zu einer Suppression der Lipolyse und zu einer Zunahme der Glukoseoxidation, was sich in

4. Diskussion

einer Reduktion der muskulären Glycerolkonzentration sowie in einem Anstieg der Metabolite Pyruvat und Laktat widerspiegelte (Abb. 15A-17A). Die Veränderungen der Glukose-, Laktat-, Pyruvat- und Glycerolkonzentration sowie der Laktat/Pyruvat-Ratio von der baseline- zur steady state-Phase können trotz der fehlenden Signifikanz ($p = 0.068$) als richtungsweisend gewertet werden. Das Signifikanzniveau von < 0.050 wird insbesondere aufgrund der geringen Gruppengröße ($n = 4$) verfehlt, wobei die Tendenzen jedoch klar erkennbar sind und die zu erwartende physiologische Antwort der Skelettmuskulatur auf die Stimulation mit Glukose und Insulin widerspiegeln.^{55,56} Der gesunde Skelettmuskel ist in der Lage in Abhängigkeit vom Substratangebot zwischen Fettsäure- und Glukoseoxidation zur Energiegewinnung zu variieren. Bei den kritisch kranken Patienten war diese metabolische Flexibilität sowohl während des ersten HE-Clamps als auch während des zweiten HE-Clamps unabhängig vom Vorliegen einer CIM gestört. Der muskuläre Glukosestoffwechsel ließ sich bei Intensivpatienten durch die Gabe von Insulin und Glukose nicht modulieren. Zwar kam es im Verlauf der HE-Clamps im Skelettmuskel der Intensivpatienten zu einer Abnahme der interstitiellen Glukosekonzentration, allerdings waren parallel keine Veränderungen der muskulären Pyruvat- und Laktatkonzentration zu registrieren. Die durch Insulin induzierbaren antilipolytischen Effekte waren nur bei CIM-Patienten minimal ausgeprägt, wobei die muskuläre Glycerolkonzentration in der steady state-Phase deutlich oberhalb des Niveaus der gesunden Probanden lag (Abb. 18A-B). Diese Ergebnisse deuten auf eine ausgesprochene metabolische Insulinresistenz mit resultierender metabolischer Inflexibilität auf Ebene der Skelettmuskulatur hin (Abb. 23).

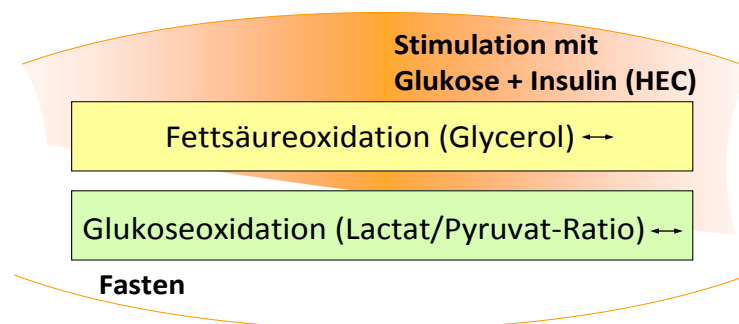


Abb. 23 Metabolische Inflexibilität der Skelettmuskulatur kritisch kranker Patienten. Der muskuläre Substratstoffwechsel war durch eine Stimulation mit Insulin und Glukose nicht modulierbar.

4. Diskussion

Es fiel auf, dass die baseline-Konzentrationen von Glukose, Pyruvat und Laktat bei den Intensivpatienten bedeutend höher waren, als bei dem gesunden Referenzkollektiv (Abb. 14-Abb. 16).

Die Konzentration eines Metabolits im Muskelinterstitium wird vom arterio-interstitiellen Konzentrationsgradienten des Stoffes bestimmt. Dieser wiederum ist abhängig von der Gewebedurchblutung, der transkapillären Transport- bzw. Diffusionskapazität sowie von der zellulären Aufnahme und Degradation des Stoffes.^{118,119} Ist die Konzentration einer Substanz im Interstitium höher als im arteriellen Plasma, spricht dies für eine Produktion der Substanz im Interstitium. Im Gegensatz dazu ist von einem lokalen Verbrauch der Substanz auszugehen, wenn die Substratkonzentration im Interstitium geringer ist als im arteriellen Plasma. Für Glukose gilt, dass die interstitielle Konzentration im Muskel niedriger ist als die Konzentration im Plasma, da der Muskel Glukose aus dem Blut aufnimmt und zur Energiegewinnung oxidiert oder als Glykogen speichert.¹²⁰ In der vorliegenden Arbeit wiesen die Intensivpatienten während der baseline-Phase beider HE-Clamps eine höhere Plasmaglukosekonzentration auf als die gesunden Kontrollen (Tabelle 12). Der höhere Blutzuckerspiegel der Intensivpatienten erklärt sich durch die kontinuierliche Glukoseinfusion während der baseline-Phase und durch eine im Rahmen von Sepsis gesteigerten hepatischen Glukoseproduktion.⁴⁶ Die Abhängigkeit der muskulären Glukosekonzentration von der Plasma-Glukosekonzentration begründet die gegenüber den gesunden Probanden höhere Glukosekonzentration im Muskelinterstitium der Intensivpatienten während der baseline-Phase beider HE-Clamps.

Die bei einer Sepsis erhöhte AdrenalinKonzentration im Plasma stimuliert im Skelettmuskel die Aktivität der Na⁺/K⁺-ATPase und führt darüber zu einer Steigerung der Glykolyse mit konsekutiver Erhöhung der interstitiellen Laktat- und Pyruvatkonzentration.¹²¹ Dieser Mechanismus kann der im Vergleich zur nüchternen Kontrollkohorte höheren baseline-Laktat- und Pyruvatkonzentration im Muskel der Intensivpatienten der vorliegenden Arbeit zugrunde liegen. Die hohe interstitielle Konzentration von Laktat und Pyruvat während der baseline-Phase beweist außerdem das Vorliegen einer intakten muskulären Glukoseoxidation und widerlegt Vermutungen, die das Ausbleiben des Konzentrationsanstiegs von Laktat und Pyruvat in der steady state-Phase mit einer defizitären Glukoseoxidation begründen. Eine intakte Glukoseoxidation im Rahmen der Sepsis-assoziierten Insulinresistenz konnte außerdem in Untersuchungen an kritisch kranken Patienten durch die Kombination eines Insulinclamps mit einer indirekten Kalorimetrie mehrfach belegt werden.^{59,60} In diesen Untersuchungen wurden stattdessen Hinweise für das Vorliegen eines Glukosespeicherdefekts gefunden.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Intensivpatienten schon während der baseline-Phase eine niedrigdosierte Glukose- und Insulininfusion erhielten und Insulin bereits in niedriger Dosierung eine Suppression der Lipolyse in der Skelettmuskulatur hervorruft, wäre bei den

4. Diskussion

Intensivpatienten verglichen mit den nüchternen Kontrollprobanden eine niedrigere Glycerolkonzentration während der baseline-Phase zu erwarten.¹²² Allerdings ist auch bekannt, dass bei septischen Patienten im Vergleich zu Gesunden eine höhere Insulinmenge erforderlich ist, um systemisch einen antilipolytischen Effekt nachzuweisen.^{123,124} Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die muskuläre Lipolyse bei kritisch kranken Patienten durch die moderat erhöhte Insulinsерumkonzentration während der baseline-Phase nicht suffizient unterdrückt wird. Erst die supraphysiologische Insulinsерumkonzentration in der steady state-Phase führte zumindest bei CIM-Patienten zu einem geringen Abfall der muskulären Glycerolkonzentration als Ausdruck einer minimalen Hemmung der Lipolyse im Skelettmuskel. Anhand der vorliegenden Ergebnisse kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die Senkung der muskulären Glycerolkonzentration das Ergebnis eines systemischen antilipolytischen Effekts ist. So könnte eine insulinabhängige Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe, sekundär über eine Senkung der Serumglycerolkonzentration zu einer verringerten interstitiellen Glycerolkonzentration im Muskel beitragen.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass der Skelettmuskel von Intensivpatienten refraktär gegenüber der antilipolytischen Insulinwirkung ist, weshalb trotz eines kontinuierlichen Glukose- und Insulinangebots Lipolyse betrieben wird (Abb. 18A-B). Diese Erkenntnis ist im Einklang mit Ergebnissen von Untersuchungen an adipösen Patienten mit Typ 2 Diabetes mellitus.¹²⁵ Auch dieses Patientenkollektiv ist durch eine herabgesetzte insulinabhängige Hemmung der Lipolyse charakterisiert. In dieser Untersuchung konnte außerdem gezeigt werden, dass das Lipolyse-Zwischenprodukt Diacylglycerol (DAG) im Skelettmuskel akkumuliert. DAG ist nicht nur ein Stoffwechszwischenprodukt sondern auch ein second messenger in der intrazellulären Signaltransduktion. Es wird vermutet, dass DAG über die Aktivierung verschiedener Isoformen der Proteinkinase C zu einer Phosphorylierung von IRS-1 mit nachfolgender Hemmung des metabolischen Insulinsignalwegs zur muskulären Insulinresistenz beiträgt. Des Weiteren stehen weitere Zwischen- und Nebenprodukte der Lipolyse im Verdacht die Entwicklung einer lokalen Insulinresistenz zu fördern.^{125,126} Daher ist es denkbar, dass die mangelhafte Suppression der muskulären Lipolyse bei Intensivpatienten die bestehende Insulinresistenz weiter vorantreibt oder sogar der Insulinresistenz primär zugrunde liegt.

Aufgrund der bereits erwähnten Glukose- und Insulinstimulation während der baseline-Phase, könnte man mutmaßen, dass der maximal mögliche Insulineffekt bereits zu diesem Zeitpunkt erreicht war. Dadurch ließen sich außerdem sowohl die höheren Pyruvat- und Laktat-baseline-Konzentrationen der Intensivpatienten als auch der fehlende Anstieg der Pyruvat- und Laktat-Konzentrationen in der steady state-Phase erklären (Abb. 15A, Abb. 16A, Abb. 17A-B). Bei der Betrachtung der Glycerolkonzentration stellt man jedoch fest, dass die Intensivpatienten eine den nüchternen Probanden vergleichbar hohe Glycerol-baseline-Konzentration aufwiesen

4. Diskussion

(Abb. 18). Der Annahme, dass die Intensivpatienten bereits maximal insulinstimuliert gewesen sein könnten, wird damit widersprochen. Vielmehr deutet das Ausbleiben eines adäquaten antilipolytischen Insulineffekts in Kombination mit der mangelhaften Stimulation der Glykolyse im Verlauf des HE-Clamps auf eine defizitäre Transduktion des Insulinsignals in der Muskelzelle hin.

4.2.1 Der blutzuckersenkende Insulineffekt - bei kritischer Erkrankung eine Insulinwirkung an extramuskulären Geweben

Entgegen von Annahmen, dass die Insulinsensitivität der Skelettmuskulatur bei kritischer Erkrankung verhältnismäßig suffizient sei und die Senkung des Blutglukosespiegels im Rahmen der IIT vornehmlich auf einer vermehrten Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur beruht,^{53,54} dokumentiert die vorliegende Untersuchung ein Fehlen der Modulierbarkeit der muskulären metabolische Flexibilität durch Hyperinsulinämie.

Die Hypothese, dass der Skelettmuskel während einer kritischen Erkrankung in der Lage ist, insulinabhängig Glukose aufzunehmen, begründet sich auf der Beobachtung einer durch IIT vermehrten GLUT4 und Hexokinase mRNA Expression im Skelettmuskel. Im Gegensatz dazu ist die mRNA-Expression der Glukokinase, dem geschwindigkeitsbestimmenden Enzym der insulinabhängigen Glukoseaufnahme und der Glykogenolyse in der Leber, durch IIT nicht beeinflussbar. Gleiches gilt für das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der hepatischen Glukoneogenese, der Phosphoenolpyruvat-Carboxykinase, und für das IGF-Bindungsprotein-1. Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass die insulinabhängige Regulation des Blutglukosespiegels nicht auf einer Inhibierung der hepatischen Glukoseproduktion beruht, sondern das Ergebnis einer vermehrten Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur ist.⁵⁴ Bisher sind keinerlei Untersuchungen zur muskulären Glukosekinetik bei Intensivpatienten durchgeführt worden, sodass die Annahme einer im Gegensatz zur Leber verhältnismäßig suffizienten Insulinsensitivität der Skelettmuskulatur rein spekulativ blieb.

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der lokale Glukosestoffwechsel im Skelettmuskel kritisch kranker Patienten unter hyperinsulinämen Bedingungen analysiert, wobei eine massive Beeinträchtigung der metabolischen Flexibilität der Muskulatur bei kritischer Erkrankung festgestellt wurde (Abb. 23). Obwohl die systemische Insulinsensitivität im Verlauf des ITS-Aufenthalts signifikant zunimmt, wurde parallel keine verbesserte metabolische Ansprechbarkeit des Muskels auf Insulin beobachtet (Abb. 9, Abb. 14-18). Folglich muss der Anstieg der systemischen Insulinsensitivität auf einer Verbesserung der Insulinsensitivität in extramuskulären Geweben beruhen.

4. Diskussion

Im Verlauf von der baseline- zur steady state-Phase beider HE-Clamps kam es bei den Intensivpatienten gleichermaßen zu einem Abfall der Glukosekonzentration im Plasma als auch im Muskel (Abb. 14A). Aufgrund der beobachteten massiven Einschränkung der muskulären metabolischen Flexibilität, ist anzunehmen, dass der Abfall der Glukosekonzentration im Plasma nicht auf einer erhöhten Glukoseaufnahme in die Skelettmuskulatur beruht. Es ist wahrscheinlicher, dass der Abfall der Plasmaglukosekonzentration durch insulinabhängige Glukoseaufnahme in extramuskuläre Gewebe bedingt ist und sekundär einen Abfall der Glukosekonzentration im Muskel bewirkt.

Neben der Skelettmuskulatur sind die Leber und das Fettgewebe die wichtigsten Organe, die an der insulinabhängigen Regulation der Blutglukosekonzentration beteiligt sind. An der Leber vermittelt Insulin insbesondere durch Hemmung der Glukoneogenese eine Senkung der Glukosekonzentration im Blut. Zwar deuten die Studien zur IIT eine starke Beeinträchtigung der hepatischen Insulinsensitivität bei kritisch kranken Patienten an, allerdings konnte auch nachgewiesen werden, dass die Einhaltung einer strikten Normoglykämie in einem Erhalt der ultrastrukturellen und funktionellen Integrität hepatischer Mitochondrien resultiert.¹²⁷ Da der Blutzucker der Patienten der vorliegenden Arbeit während des gesamten ITS-Aufenthalts im Bereich zwischen 80–150 mg/dl eingestellt wurde, kann angenommen werden, dass durch die stetige Normoglykämie die hepatische Insulinsensitivität zumindest partiell erhalten blieb. So kann die insulinabhängige Senkung des Blutzuckerspiegels durchaus auf die Unterdrückung der hepatischen Glukoneogenese zurückgeführt werden. Diese Hypothese wird durch Ergebnisse von Untersuchungen an chirurgischen Intensivpatienten unterstützt: In der Studie Thorell et al. basierte der blutzuckersenkende Effekt einer Insulininfusion vor allem auf einer Hemmung der endogenen Glukoseproduktion und weniger auf einer Steigerung der Glukoseaufnahme in periphere Gewebe.¹²⁸

Es bleibt das Fettgewebe als mögliches insulinresponsives Organ zu betrachten. Im Rahmen kritischer Erkrankung kommt es zu einer Abnahme der Körpermasse insbesondere durch Abbau von Muskelgewebe. Interessanterweise bleibt die Fettgewebsmasse konstant. Außerdem scheint ein erhöhter BMI bei einer kritischen Erkrankung sogar protektiv zu wirken.¹²⁹ Die postmortale Analyse von subkutanem und omentalem Fettgewebe kritischer Patienten lieferte Evidenz für eine größtenteils intakte strukturelle und funktionelle Integrität des Fettgewebes.¹³⁰ In der histologischen Untersuchung der Fettgewebeproben wurden vermehrt neu gebildete kleine Adipozyten entdeckt, was mit einer Vergrößerung der gesamten Fettgewebsoberfläche, einer vermehrten Glukoseaufnahme und einer erhöhten Speicherkapazität für Triacylglyceride einhergeht. Der Glukosegehalt im Fettgewebe war gegenüber gesunden Kontrollen erhöht, wobei die Glukosekonzentration im Fettgewebe von Patienten, die mit einer IIT therapiert wurden, niedriger war als bei den Patienten mit liberaler Blutzuckereinstellung. Die Fähigkeit des Fettgewebes während einer kritischen Erkrankung

4. Diskussion

vermehrt Glukose aufzunehmen beruht auf zwei Mechanismen: Einerseits werden vermehrt GLUT1 und GLUT3 exprimiert, wodurch die Kapazität zur Insulin-unabhängigen Glukoseaufnahme steigt, andererseits weisen kleinere Adipozyten eine erhöhte Insulinsensitivität auf.¹³⁰ Zusätzlich scheint die Infiltration mit spezifischen Makrophagen, die Insulinsensitivität des Fettgewebes zu verbessern.¹³¹ Daher kann vermutet werden, dass die Insulinwirkung am Fettgewebe im Gegensatz zur Insulinwirkung in der Skelettmuskulatur bei kritischer Erkrankung suffizient sein könnte. In Anbetracht dieser Erkenntnisse kann die Reduktion der muskulären Glukosekonzentration im Verlauf der HE-Clamps der vorliegenden Studie als Ausdruck einer Senkung des Blutzuckers durch insulinabhängige und -unabhängige Glukoseaufnahme in Adipozyten gewertet werden.

Es stellt sich erneut die Frage, ob ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer Insulinresistenz und der Manifestation einer CIM existiert. Die Ergebnisse der Mikrodialyse lieferten keine Hinweise für eine unterschiedliche Pathophysiologie der Insulinresistenz auf Ebene der Skelettmuskulatur zwischen Patienten mit CIM und NonCIM-Patienten. Das deutet ein unabhängiges Vorliegen der Entitäten Insulinresistenz und CIM bei Intensivpatienten an. Eine Koinzidenz von Insulinresistenz und CIM im intensivmedizinischen Kontext aufgrund des Vorliegens gemeinsamer Risikofaktoren scheint wahrscheinlich. Dazu zählen insbesondere der Grad der systemischen Inflammation sowie die Immobilität im Kontext einer kritischen Erkrankung. Die Insulinresistenz manifestiert sich bereits innerhalb von Stunden nach Beginn einer kritischen Erkrankung, wobei in diesem Zeitraum die Immobilisation noch keine relevante pathogenetische Rolle spielen kann. Jedoch erscheinen eine Aggravierung der Insulinresistenz im Verlauf des intensivmedizinischen Aufenthalts sowie eine Verlängerung der Zeit bis zur Reversibilität der Insulinresistenz durch Bettlägerigkeit wahrscheinlich. Strikte Immobilität reduziert bereits nach einer Woche die muskuläre Glukoseaufnahmekapazität bei gesunden Probanden durch einen verminderten Gehalt von GLUT4-Protein.¹³²

4.3 VERÄNDERUNGEN DES MUSKULÄREN EXPRESSIONSMUSTER VON GENEN DES METABOLISCHEN INSULINSIGNALWEGS

Die Ergebnisse der Mikrodialyse haben gezeigt, dass die mittels HE-Clamp detektierte systemische Insulinresistenz der Intensivpatienten unabhängig vom Vorliegen einer CIM mit einer ausgeprägten metabolischen Inflexibilität der Skelettmuskulatur einhergeht. Die pathophysiologischen Aspekte der muskulären Insulinresistenz kritisch kranker Patienten sind bisher nicht verstanden. Untersuchungen an septischen Rattenmodellen lassen das Vorliegen eines post-Rezeptordefekts vermuten.^{51,84,92} Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit die Genexpression von am Insulinsignalweg sowie an der Regulation der Glukosehomöostase beteiligten Gene im Skelettmuskel von Intensivpatienten im Verlauf einer kritischen Erkrankung analysiert (Abb. 19-22).

Die gewonnenen Ergebnisse wurden mit dem Genexpressionsmuster orthopädischer Kontrollprobanden verglichen. Dabei fanden sich für die Mehrzahl der untersuchten Gene insbesondere in der ersten Muskelbiopsie am sechsten Tag nach ITS-Aufnahme gravierende Expressionsunterschiede zwischen Intensivpatienten und orthopädischen Kontrollprobanden. Die Subgruppierung der Intensivpatienten in CIM- und NonCIM-Patienten wies insbesondere in der ersten Muskelbiopsie signifikante Veränderungen des Expressionsmusters auf. Die Tatsache, dass in der ersten Muskelbiopsie mehr signifikante Unterschiede dokumentiert werden konnten als in der zweiten Muskelbiopsie, basiert aller Wahrscheinlichkeit nach auf der Verbesserung der klinischen Situation der Patienten im Verlauf des intensivmedizinischen Aufenthalts sowie auf dem Wegfall besonders positiver und negativer Krankheitsverläufe.

In der zweiten Muskelbiopsie waren beide Patientengruppen durch vergleichbare Genexpressionsmuster gekennzeichnet, welche sich jedoch weiterhin für die Mehrheit der Gene vom Expressionsprofil der orthopädischen Probanden unterschieden.

Das Interesse an der Aufklärung der molekularen Veränderungen, welche der systemischen Insulinresistenz bei akuter kritischer Erkrankung zugrunde liegen, ist in den vergangenen Jahrzehnten gestiegen. Die bisherige Forschung fokussierte sich dabei auf den Skelettmuskel als zentrales Organ der sich entwickelnden peripheren Insulinresistenz. Während der muskuläre Insulinsignalweg zunächst in Tiermodellen kritischer Erkrankung untersucht wurde,^{84-89,133,134} sind in jüngster Zeit einzelne Arbeiten zur Insulinsignaltransduktion an Kohorten kritisch kranker Patienten publiziert worden.⁶²⁻⁶⁵

4. Diskussion

Die existierenden Untersuchungen unterscheiden sich markant hinsichtlich des Studiendesigns sowie der Methodik, weshalb die gewonnenen Ergebnisse nicht ohne weiteres in Bezug zu einander gesetzt werden können. Insbesondere die Tiermodelle variieren in der Methode der Imitation einer kritischen Erkrankung, während das Ernährungs-, Sedierungs- und Therapieregime, die Muskelbiopsielokalisation und der Biopsiezeitpunkt sowohl in den Tiermodellen als auch in den wenigen Studien an Intensivpatienten stark divergieren. Aus diesem Grund sind die Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungen heterogen (Tabelle 13).

Tabelle 13 Darstellung der Ergebnisse ausgewählter Arbeiten zum Insulinsignalweg im Skelettmuskel bei kritischer Erkrankung. Selektiert wurden Studien an septischen Tiermodellen oder Intensivpatienten, in denen die Ergebnisse mit einem nicht-septischen Kontrollkollektiv verglichen wurden. Die tierexperimentellen Studien unterscheiden sich insbesondere in der Methode der Simulation einer Sepsis, dem Zeitpunkt der Muskelbiopsie nach Induktion der Sepsis, der Gabe eines Insulinbolus vor der Muskelbiopsie, dem prä-interventionellem Ernährungsregime sowie der Tierhaltung (mit oder ohne Immobilisation). Die Untersuchungen an kritisch kranken Patienten unterscheiden sich vor allem bezüglich der ITS-Aufnahmediagnose, der Krankheitsschwere der Patienten, des Biopsiezeitpunkts nach ITS-Aufnahme und des allgemeinen Therapieregimes auf ITS (medikamentöse und physikalische Therapie). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse wird zusätzlich durch unterschiedliche Verfahren der Expressionsanalyse (Western Blots mit unterschiedlichem Phosphorylierungsstatus, RT-PCRs, Microarray Analysen) erschwert.

IR = Insulinrezeptor, IRS-1 = Insulinrezeptorsubstrat-1, GSK3 β = Glykogensynthasekinase 3 β , GLUT4 = Glukosetransporter 4. \leftrightarrow unveränderte Expression im Vergleich zu nicht-septischen Kontrollen; \downarrow verringerte Expression im Vergleich zu nicht-septischen Kontrollen; \uparrow gesteigerte Expression im Vergleich zu nicht-septischen Kontrollen. LPS = Lipopolysaccharide. Angaben zum Biopsiezeitpunkt in den Untersuchungen an ITS-Patienten beziehen sich auf den Zeitraum ab ITS-Aufnahme.

4. Diskussion

Tabelle 13

Ausgewählte Untersuchungen			IR			IRS-1			Akt			GSK3β			GLUT4		
			mRNA	Protein		mRNA	Protein		mRNA	Protein		mRNA	Protein		mRNA	Protein	
gesamt	phospho	gesamt		phospho	gesamt		phospho	gesamt		phospho	gesamt		phospho	gesamt		phospho	
<i>Vary et al. 1995</i> ¹³³ Rattenmodell, chronische Sepsis				↔										↔	↔		
<i>Fan et al. 1996</i> ⁸⁴ Rattenmodell, Sepsis durch LPS- Infusion	basal			↔	↔		↔	↔									
	nach Insulinbolus			↔	↓		↔	↓									
<i>McCowen et al. 2001</i> ⁸⁵ Rattenmodell, 24h kontinuierliche Endotoxininfusion				↔	↔		↓	↔									
<i>Nunes et al. 2001</i> ⁸⁶ Rattenmodell, Sepsis durch Zökumpunktion, Insulinbolus				↔			↓	↓									
<i>Crossland et al. 2008</i> ¹³⁴ Rattenmodell, 24h kontinuierliche LPS-Infusion							↓	↔	↑	↓	↓						
<i>Orellana et al. 2008</i> ⁸⁸ neugeborene Ferkel, 8h kontinuierliche LPS-Infusion					↔			↔			↔						
<i>Mulligan et al. 2012</i> ⁸⁹ Mausmodell	4h LPS-Infusion							↔			↔						
	6h LPS-Infusion + HE-Clamp										↔		↔				
<i>Aare et al. 2012</i> ⁸⁷ Ferkelmodell kritischer Erkrankung (Beatmung, Sedierung, Sepsis durch kontinuierliche Endotoxin-Infusion)							↑					↓					
<i>Fredriksson et al. 2008</i> ⁶² 13 ITS-Patienten, Biopsie ~ Tag 7			↔				↓		↔					↔			
<i>Jespersen et al. 2011</i> ⁶³ 12 ITS-Patienten, Biopsie ~ Tag 6										↑	↑		↑	↑			
<i>Constantin et al. 2011</i> ⁶⁴ 10 ITS-Patienten, Biopsie ~ 6-8h										↑		↓	↑		↓		
<i>Weber-Carstens et al. 2013</i> ⁶⁵ 30 ITS-Patienten, Biopsie ~ Tag 6			↔				↓		↑		↑			↓	↔		
aktuelle Arbeit, 30 ITS-Patienten	Biopsie ~ Tag 6	CIM	↓				↓		↑			↓		↓			
		NonCIM	↔				↓		↑			↔		↓			
	Biopsie ~ Tag 17	CIM	↓				↓		↑			↓		↓			
		NonCIM	↔				↓		↑			↔		↓			

4. Diskussion

Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Ergebnisse erheben nicht den Anspruch, eine valide Kausalkette zu den Veränderungen des muskulären Insulinsignalwegs bei kritischer Erkrankung zu entwickeln. Sie dienen vielmehr dazu, die Hypothese des Vorliegens eines muskulären post-Rezeptordefekts der Insulinsignaltransduktion als Ursache für die metabolische Inflexibilität der Skelettmuskulatur sowie für die systemische Insulinresistenz bei Intensivpatienten mit und ohne CIM im Verlauf einer kritischen Erkrankung zu validieren. Dabei konnte demonstriert werden, dass die systemische Insulinresistenz kritisch kranker Patienten mit deutlichen Veränderungen der Transkriptionsprofile von am Insulinsignalweg beteiligten Genen einhergeht, wobei CIM-Patienten im Allgemeinen stärkere Alterationen aufwiesen als NonCIM-Patienten.

Die Transkription der am Insulinsignalweg involvierten Gene unterliegt komplexen Regulationsmechanismen, weshalb zum gegenwärtigen Zeitpunkt keine sicheren Aussagen zur Ätiologie der Genexpressionsveränderungen getroffen werden können.

Ein möglicher Erklärungsansatz für die veränderte Genexpression im Skelettmuskel von Intensivpatienten kann in der kontinuierlich stattfindenden Lipolyse gefunden werden. Aus Untersuchungen an adipösen Patienten ist bekannt, dass Zwischen- und Nebenprodukte der Lipolyse die Transduktion des Insulinsignalwegs beeinträchtigen können.¹²⁵ So aktiviert der im Rahmen der Lipolyse entstehende second messenger DAG verschiedene Isoformen der Proteinkinase C, welche durch Phosphorylierung von IRS-1 negativ mit dem Insulinsignalweg interferieren. Lipolyse findet statt, um die dabei frei werdenden Fettsäuren zur Energiegewinnung der Betaoxidation im Mitochondrium zu zuführen. Dabei entstehen reaktive Sauerstoffspezies, welche durch Aktivierung von Serinkinasen den Insulinsignalweg inhibieren können. Für die zur Gruppe der Sphingolipide gehörenden Ceramide konnte gezeigt werden, dass sie eine Schlüsselrolle als Mediator in der Ausbildung einer muskulären Insulinresistenz einnehmen. Ceramide stören die Signaltransduktion über Akt und hemmen unabhängig von der inhibitorischen Wirkung auf den Insulinsignalweg die Translokation von GLUT4 an die Plasmamembran.^{125,126} Es scheint plausibel, dass Zwischen- und Nebenprodukte der Lipolyse auch bei kritisch kranken Patienten zur Entwicklung und/oder zum Fortbestehen einer peripheren Insulinresistenz beitragen.

Außerdem ist bei den Patienten der vorliegenden Studie eine Beeinflussung der muskulären Genexpression durch die gegenüber den gesunden Probanden unterschiedliche Ernährungs- und Insulintherapie denkbar. An einem Rattenmodell konnte gezeigt werden, dass eine Reduktion der Kalorienzufuhr die muskuläre mRNA-Expression des Insulinrezeptors, des IGF1-Rezeptors sowie von IRS-1, IRS-2, und GLUT4 supprimiert.¹³⁵ Außerdem beeinflusst die Insulinapplikation das muskuläre Transkriptionsprofil von IRS-1, IRS-2 und GLUT4, wobei neutrale, stimulatorische sowie suppressive Effekte auf die mRNA-Expression beobachtet werden konnten.¹³⁶⁻¹⁴⁰

4. Diskussion

Eine weitere relevante Divergenz zwischen den gesunden Probanden und den Intensivpatienten betrifft die Mobilisation. Untersuchungen an Tieren sowie an Probanden haben demonstriert, dass die durch Immobilisation hervorgerufene periphere Insulinresistenz mit Veränderungen der muskulären Insulinsignaltransduktion assoziiert ist. Die Alterationen sind auf mRNA- sowie auf Proteinebene detektierbar und implizieren eine verminderte insulinabhängige Stimulierbarkeit des Insulinrezeptor-PI3K-Akt-Signalwegs, während proteolytische Signalkaskaden vermehrt aktiviert werden.^{141,142}

Nicht zuletzt sind die Intensivpatienten der vorliegenden Arbeit im Gegensatz zu den gesunden Probanden durch eine systemische Inflammation charakterisiert. Endotoxine und Inflammediatoren wie TNF α oder IL-6 beeinflussen die Expression von am Insulinsignalweg sowie an proteolytischen Signalwegen beteiligten Genen.^{64,89}

Ein Nebenprojekt der vorliegenden Arbeit hat anhand der immunhistochemischen Darstellung von GLUT4 erstmals zeigen können, dass GLUT4 bei kritisch kranken Patienten in Speichervesikeln im perinukleären Raum akkumuliert und die Translokation zur Plasmamembran massiv beeinträchtigt ist.⁶⁵ Die in der vorliegenden Arbeit dokumentierte Dysregulation der Expression von am Insulinsignalweg beteiligten Genen kann der im Zustand der Sepsis verminderten Translokation von GLUT4 zur Plasmamembran zugrunde liegen.

Die GLUT4-Translokation kann einerseits insulinabhängig über Akt, andererseits durch Kontraktion über Aktivierung der AMPK induziert werden. Folglich lassen sich Ursachen für die fehlende GLUT4-Translokation bei kritisch kranken Patienten einerseits in Defekten im Insulinsignalweg oder in fehlender Muskelkontraktion suchen. Eine kombinierte Störung der Stimulation der GLUT4-Translokation scheint wahrscheinlich.

5. Ausblick

Die vorliegende Arbeit untersuchte die systemische Insulinresistenz, die Ansprechbarkeit der Skelettmuskulatur auf die Stimulation mit Insulin und Glukose sowie die Expression von am Insulinsignalweg beteiligten Genen in der Skelettmuskulatur bei Intensivpatienten mit bzw. ohne CIM im zeitlichen Verlauf kritischer Erkrankung.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lieferten Hinweise für eine massive Reduktion der systemischen Insulinsensitivität während des intensivmedizinischen Aufenthalts. Es handelte sich nicht um eine absolute Insulinresistenz, da durch die Applikation hoher exogener Insulindosen doch eine Senkung des Blutzuckerspiegels hervorgerufen werden konnte. Aufgrund der beobachteten massiven Beeinträchtigung der metabolischen Flexibilität der Skelettmuskulatur, wurde die Hypothese aufgestellt, dass der blutzuckersenkende Insulineffekt auf einer Insulinwirkung an extramuskulären Geweben beruht. Deshalb sollte bei Intensivpatienten ein HE-Clamp mit einer simultanen Mikrodialyse im Fettgewebe kombiniert werden, um die Ansprechbarkeit des Fettgewebes auf Insulin zu evaluieren. Die inhibitorische Wirkung von Insulin auf die hepatische Glukosebereitstellung könnte durch die Durchführung eines HE-Clamps mit markierter Glukose untersucht werden. Diese Methode ermöglicht es, bei der Betrachtung der Blutglukosekonzentration nach endogenem und exogenem Ursprung der Glukose zu differenzieren.

Die Genexpressionsanalyse des Insulinsignalwegs im Skelettmuskel kritisch kranker Patienten ergab Hinweise für eine ausgeprägte Dysregulation des Transkriptionsmusters. Um Aussagen zu den Ursachen und den funktionellen Auswirkungen dieser Alterationen treffen zu können, erscheint eine Ausweitung der Expressionsanalyse auf Proteinebene sinnvoll. Dabei sollte nicht nur der absolute Proteingehalt untersucht werden, sondern auch der Phosphorylierungsstatus berücksichtigt werden. Ebenso sollte die Gen- und Proteinexpression des metabolischen Insulinsignalwegs im Fettgewebe kritisch kranker Patienten analysiert werden.

Weiterhin wäre es interessant zu untersuchen, ob die beobachteten Alterationen des metabolischen Insulinsignalwegs von Veränderungen im mitogenen Insulinsignalweg in der Skelettmuskulatur und im Fettgewebe begleitet werden.

Ein in der vorliegenden Arbeit unberücksichtigter Aspekt ist die Wirkung von Insulin auf die Durchblutung der Muskulatur. Insulin ruft an der Skelettmuskulatur eine Vasodilatation hervor.¹⁴³ Die insulinabhängige Modulation des Blutflusses durch Vasodilatation ist relevant für die nahrungsabhängige Versorgung der insulinensiblen Gewebe mit Nährstoffen und Insulin. Ob dieser Mechanismus bei kritischer Erkrankung intakt ist, wurde bisher nicht detailliert untersucht.

Neben einer Modulation der Muskeldurchblutung wird die Versorgung der Skelettmuskulatur mit Insulin durch die transendotheliale Insulintransportkapazität bestimmt. Dabei handelt es sich um

einen sättigbaren Rezeptor-vermittelten Transportprozess.¹¹⁴ Anhand der Insulinclearance-Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurde die Hypothese aufgestellt, dass der transendotheliale Transportprozess beim Vorliegen einer CIM schon bei einer niedrigeren Insulinkonzentration gesättigt wäre als bei intakter Muskelmembranerregbarkeit. Diesem Aspekt kann eine verminderte Anzahl von Insulinrezeptoren im muskulären Gefäßendothel oder ein Rezeptor- bzw. post-Rezeptordefekt zugrunde liegen. Um die Hypothese zu prüfen, erscheint es aufschlussreich, die Insulinkonzentration im Muskelinterstitium sowie die lokale Muskelperfusion unter HE-Clampbedingungen zu evaluieren.

Literaturverzeichnis

1. Bolton CF. Neuromuscular manifestations of critical illness. *Muscle Nerve*. 2005;32(2):140–163.
2. Witt NJ, Zochodne DW, Bolton CF, et al. Peripheral nerve function in sepsis and multiple organ failure. *Chest*. 1991;99(1):176–184.
3. Herridge MS. Legacy of intensive care unit-acquired weakness. *Crit Care Med*. 2009;37:S457–S461.
4. Herridge MS, Cheung AM, Tansey CM, et al. One-year outcomes in survivors of the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2003;348(8):683–693.
5. Chambers MA, Moylan JS, Reid MB. Physical inactivity and muscle weakness in the critically ill. *Crit Care Med*. 2009;37:S337–S346.
6. Stevens RD, Marshall SA, Cornblath DR, et al. A framework for diagnosing and classifying intensive care unit-acquired weakness. *Crit Care Med*. 2009;37:S299–S308.
7. De Jonghe B, Sharshar T, Lefaucheur J-P, et al. Paresis Acquired in the Intensive Care Unit A Prospective Multicenter Study. *JAMA*. 2002;288(22):2859–2867.
8. Bolton CF, Laverty DA, Brown JD, Witt NJ, Hahn AF, Sibbald WJ. Critically ill polyneuropathy: electrophysiological studies and differentiation from Guillain-Barré syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1986;49(5):563–573.
9. Lacomis D, Zochodne DW, Bird SJ. Critical illness myopathy. *Muscle Nerve*. 2000;23(12):1785–1788.
10. Op de Coul AA, Verheul GA, Leyten AC, Schellens RL, Teepe JL. Critical illness polyneuromyopathy after artificial respiration. *Clin Neurol Neurosurg*. 1991;93(1):27–33.
11. Stevens RD, Dowdy DW, Michaels RK, Mendez-Tellez PA, Pronovost PJ, Needham DM. Neuromuscular dysfunction acquired in critical illness: a systematic review. *Intensive Care Med*. 2007;33(11):1876–1891.
12. Weber-Carstens S, Deja M, Koch S, et al. Risk factors in critical illness myopathy during the early course of critical illness: a prospective observational study. *Crit Care*. 2010;14(3):R119.
13. Koch S, Spuler S, Deja M, et al. Critical illness myopathy is frequent: accompanying neuropathy protracts ICU discharge. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82(3):287–293.
14. Weber-Carstens S, Koch S, Spuler S, et al. Nonexcitable muscle membrane predicts intensive care unit-acquired paresis in mechanically ventilated, sedated patients. *Crit Care Med*. 2009;37(9):2632–2637.
15. Khan J, Burnham EL, Moss M. Acquired weakness in the ICU: critical illness myopathy and polyneuropathy. *Minerva Anestesiol*. 2006;72(6):401–406.
16. Latronico N, Bolton CF. Critical illness polyneuropathy and myopathy: a major cause of muscle weakness and paralysis. *Lancet Neurol*. 2011;10(10):931–941.
17. Hermans G, Clerckx B, Vanhullebusch T, et al. Interobserver agreement of medical research council sum-score and handgrip strength in the intensive care unit. *Muscle Nerve*. 2012;45(1):18–25.
18. Trojaborg W, Weimer LH, Hays AP. Electrophysiologic studies in critical illness associated weakness: myopathy or neuropathy – a reappraisal. *Clin Neurophysiol*. 2001;112(9):1586–1593.
19. Goodman CA, Mayhew DL, Hornberger TA. Recent progress toward understanding the molecular mechanisms that regulate skeletal muscle mass. *Cell Signal*. 2011;23(12):1896–1906.
20. Bierbrauer J, Koch S, Olbricht C, et al. Early type II fiber atrophy in intensive care unit patients with nonexcitable muscle membrane. *Crit Care Med*. 2012;40(2):647–650.
21. Judemann K, Lunz D, Zausig YA, Graf BM, Zink W. Erworbene Muskelschwäche beim kritisch Kranken. *Anaesthesist*. 2011;60(10):887–901.

Literaturverzeichnis

22. De Letter MA, Schmitz PI, Visser LH, et al. Risk factors for the development of polyneuropathy and myopathy in critically ill patients. *Crit Care Med.* 2001;29(12):2281–2286.
23. Bednarík J, Vondracek P, Dusek L, Moravcova E, Cundrle I. Risk factors for critical illness polyneuromyopathy. *J Neurol.* 2005;252(3):343–351.
24. Latronico N, Bertolini G, Guarneri B, et al. Simplified electrophysiological evaluation of peripheral nerves in critically ill patients: the Italian multi-centre CRIMYNE study. *Crit Care.* 2007;11(1):R11.
25. Bednarik J, Lukas Z, Vondracek P. Critical illness polyneuromyopathy: the electrophysiological components of a complex entity. *Intensive Care Med.* 2003;29(9):1505–1514.
26. De Jonghe B, Lacherade J-C, Sharshar T, Outin H. Intensive care unit-acquired weakness: risk factors and prevention. *Crit Care Med.* 2009;37(10 Suppl):S309–315.
27. Campellone JV, Lacomis D, Kramer DJ, Van Cott AC, Giuliani MJ. Acute myopathy after liver transplantation. *Neurology.* 1998;50(1):46–53.
28. Garnacho-Montero J, Madrazo-Osuna J, García-Garmendia JL, et al. Critical illness polyneuropathy: risk factors and clinical consequences. A cohort study in septic patients. *Intensive Care Med.* 2001;27(8):1288–1296.
29. Bercker S, Weber-Carstens S, Deja M, et al. Critical illness polyneuropathy and myopathy in patients with acute respiratory distress syndrome*. *Crit Care Med.* 2005;33(4):711–715.
30. Van Den Berghe G, Schoonheydt K, Bex P, Bruyninckx F, Wouters PJ. Insulin Therapy Protects the Central and Peripheral Nervous System of Intensive Care Patients. *Neurology.* 2005;64(8):1348–1353.
31. Hermans G, Wilmer A, Meersseman W, et al. Impact of Intensive Insulin Therapy on Neuromuscular Complications and Ventilator Dependency in the Medical Intensive Care Unit. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007;175(5):480–489.
32. Nanas S, Kritikos K, Angelopoulos E, et al. Predisposing factors for critical illness polyneuromyopathy in a multidisciplinary intensive care unit, Predisposing factors for critical illness polyneuromyopathy in a multidisciplinary intensive care unit. *Acta Neurol Scand Acta Neurol Scand.* 2008;118, 118(3, 3):175, 175–181, 181.
33. Anastasopoulos D, Kefaliakos A, Michalopoulos A. Is plasma calcium concentration implicated in the development of critical illness polyneuropathy and myopathy? *Crit Care.* 2011;15(5):1–6.
34. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive Insulin Therapy in Critically Ill Patients. *N Engl J Med.* 2001;345(19):1359–1367.
35. Hermans G, Schrooten M, Damme PV, et al. Benefits of intensive insulin therapy on neuromuscular complications in routine daily critical care practice: a retrospective study. *Crit Care.* 2009;13(1):R5.
36. Callahan LA, Supinski GS. Sepsis-induced myopathy. *Crit Care Med.* 2009;37(10 Suppl):S354–367.
37. Li YP, Reid MB. Effect of tumor necrosis factor-alpha on skeletal muscle metabolism. *Curr Opin Rheumatol.* 2001;13(6):483–487.
38. Acharyya S, Ladner KJ, Nelsen LL, et al. Cancer cachexia is regulated by selective targeting of skeletal muscle gene products. *J Clin Invest.* 2004;114(3):370–378.
39. Fenzi F, Latronico N, Refatti N, Rizzuto N. Enhanced expression of E-selectin on the vascular endothelium of peripheral nerve in critically ill patients with neuromuscular disorders. *Acta Neuropathol (Berl).* 2003;106(1):75–82.
40. Friedrich O. Critical illness myopathy: what is happening? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2006;9(4):403–409.
41. Rich MM, Pinter MJ, Rich MM, Pinter MJ. Sodium channel inactivation in an animal model of acute quadriplegic myopathy, Sodium channel inactivation in an animal model of acute quadriplegic myopathy. *Ann Neurol Ann Neurol.* 2001;50, 50(1, 1):26, 26–33, 33.
42. Filatov GN, Rich MM. Hyperpolarized Shifts in the Voltage Dependence of Fast Inactivation of Nav1.4 and Nav1.5 in a Rat Model of Critical Illness Myopathy. *J Physiol.* 2004;559(3):813–820.

Literaturverzeichnis

43. Rich MM, Pinter MJ. Crucial Role of Sodium Channel Fast Inactivation in Muscle Fibre Inexcitability in a Rat Model of Critical Illness Myopathy. *J Physiol*. 2003;547(2):555–566.
44. Van den Berghe G, Wouters PJ, Bouillon R, et al. Outcome benefit of intensive insulin therapy in the critically ill: Insulin dose versus glycemic control*. *Crit Care Med*. 2003;31(2):359–366.
45. Marik PE, Bellomo R. Stress hyperglycemia: an essential survival response! *Crit Care*. 2013;17(2):305.
46. Van Cromphaut SJ. Hyperglycaemia as part of the stress response: the underlying mechanisms. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2009;23(4):375–386.
47. DeFronzo R, Tobin J, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 1979;237(3):E214 –E223.
48. Zauner A, Nimmerrichter P, Anderwald C, et al. Severity of insulin resistance in critically ill medical patients. *Metabolism*. 2007;56(1):1–5.
49. Koschorreck M, Gilles ED. Mathematical modeling and analysis of insulin clearance in vivo. *BMC Syst Biol*. 2008;2:43.
50. Black PR, Brooks DC, Bessey PQ, Wolfe RR, Wilmore DW. Mechanisms of insulin resistance following injury. *Ann Surg*. 1982;196(4):420–435.
51. Shangraw RE, Jahoor F, Miyoshi H, et al. Differentiation between septic and postburn insulin resistance. *Metabolism*. 1989;38(10):983–989.
52. Brealey D, Singer M. Hyperglycemia in Critical Illness: A Review. *J Diabetes Sci Technol*. 2009;3(6):1250–1260.
53. Langouche L, Perre SV, Wouters PJ, D'Hoore A, Hansen TK, Berghe GV den. Effect of Intensive Insulin Therapy on Insulin Sensitivity in the Critically Ill. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(10):3890–3897.
54. Van den Berghe G. How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care? *J Clin Invest*. 2004;114(9):1187–1195.
55. Galgani JE, Moro C, Ravussin E. Metabolic flexibility and insulin resistance. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2008;295(5):E1009–E1017.
56. Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Pathogenesis of Insulin Resistance in Skeletal Muscle. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010.
57. Andersen SK, Gjedsted J, Christiansen C, Tønnesen E. The roles of insulin and hyperglycemia in sepsis pathogenesis. *J Leukoc Biol*. 2004;75(3):413–421.
58. Lang CH, Dobrescu C, Bagby GJ. Tumor necrosis factor impairs insulin action on peripheral glucose disposal and hepatic glucose output. *Endocrinology*. 1992;130(1):43–52.
59. Green CJ, Campbell IT, O'Sullivan E, et al. Septic patients in multiple organ failure can oxidize infused glucose, but non-oxidative disposal (storage) is impaired. *Clin Sci Lond Engl* 1979. 1995;89(6):601–609.
60. Saeed M, Carlson GL, Little RA, Irving MH. Selective impairment of glucose storage in human sepsis. *Br J Surg*. 1999;86(6):813–821.
61. Shangraw RE, Jahoor F, Wolfe RR, Lang CH. Pyruvate dehydrogenase inactivity is not responsible for sepsis-induced insulin resistance. *Crit Care Med*. 1996;24(4):566–574.
62. Fredriksson K, Tjäder I, Keller P, et al. Dysregulation of Mitochondrial Dynamics and the Muscle Transcriptome in ICU Patients Suffering from Sepsis Induced Multiple Organ Failure. *PLoS ONE*. 2008;3(11):e3686.
63. Jespersen JG, Nedergaard A, Reitelseder S, et al. Activated Protein Synthesis and Suppressed Protein Breakdown Signaling in Skeletal Muscle of Critically Ill Patients. *PLoS ONE*. 2011;6(3):e18090.
64. Constantin D, McCullough J, Mahajan RP, Greenhaff PL. Novel events in the molecular regulation of muscle mass in critically ill patients. *J Physiol*. 2011;589(15):3883–3895.
65. Weber-Carstens S, Schneider J, Wollersheim T, et al. Critical Illness Myopathy and GLUT4 Significance of Insulin and Muscle Contraction. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(4):387–396.

Literaturverzeichnis

66. Henquin JC. Triggering and Amplifying Pathways of Regulation of Insulin Secretion by Glucose. *Diabetes*. 2000;49(11):1751–1760.
67. Clemmons DR. The relative roles of growth hormone and IGF-1 in controlling insulin sensitivity. *J Clin Invest*. 2004;113(1):25–27.
68. White MF. The insulin signalling system and the IRS proteins. *Diabetologia*. 1997;40 Suppl 2:S2–17.
69. Kahn CR, White MF. The insulin receptor and the molecular mechanism of insulin action. *J Clin Invest*. 1988;82(4):1151–1156.
70. Taniguchi CM, Emanuelli B, Kahn CR. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7(2):85–96.
71. Huang C, Thirone ACP, Huang X, Klip A. Differential Contribution of Insulin Receptor Substrates 1 Versus 2 to Insulin Signaling and Glucose Uptake in L6 Myotubes. *J Biol Chem*. 2005;280(19):19426–19435.
72. Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet*. 2006;7(8):606–619.
73. Knight ZA, Gonzalez B, Feldman ME, et al. A pharmacological map of the PI3-K family defines a role for p110 α in insulin signaling. *Cell*. 2006;125(4):733–747.
74. Foukas LC, Claret M, Pearce W, et al. Critical role for the p110[α] phosphoinositide-3-OH kinase in growth and metabolic regulation. *Nature*. 2006;441(7091):366–370.
75. Yu J, Zhang Y, McIlroy J, Rordorf-Nikolic T, Orr GA, Backer JM. Regulation of the p85/p110 Phosphatidylinositol 3'-Kinase: Stabilization and Inhibition of the p110 α Catalytic Subunit by the p85 Regulatory Subunit. *Mol Cell Biol*. 1998;18(3):1379–1387.
76. Cho H, Mu J, Kim JK, et al. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB β). *Science*. 2001;292(5522):1728–1731.
77. Rayasam GV, Tulasi VK, Sodhi R, Davis JA, Ray A. Glycogen synthase kinase 3: more than a namesake. *Br J Pharmacol*. 2009;156(6):885–898.
78. Kousteni S. FoxO1, the transcriptional chief of staff of energy metabolism. *Bone*. 2012;50(2):437–443.
79. Kane S, Sano H, Liu SCH, et al. A Method to Identify Serine Kinase Substrates. *J Biol Chem*. 2002;277(25):22115–22118.
80. Sano H, Kane S, Sano E, et al. Insulin-Stimulated Phosphorylation of a Rab GTPase-Activating Protein Regulates GLUT4 Translocation. *J Biol Chem*. 2003;278(17):14599–14602.
81. Bruss MD, Arias EB, Lienhard GE, Cartee GD. Increased Phosphorylation of Akt Substrate of 160 kDa (AS160) in Rat Skeletal Muscle in Response to Insulin or Contractile Activity. *Diabetes*. 2005;54(1):41–50.
82. Muniyappa R, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Cardiovascular Actions of Insulin. *Endocr Rev*. 2007;28(5):463–491.
83. Al-Khalili L, Kotova O, Tsuchida H, et al. ERK1/2 Mediates Insulin Stimulation of Na,K-ATPase by Phosphorylation of the α -Subunit in Human Skeletal Muscle Cells. *J Biol Chem*. 2004;279(24):25211–25218.
84. Fan J, Li YH, Wojnar MM, Lang CH. Endotoxin-induced alterations in insulin-stimulated phosphorylation of insulin receptor, IRS-1, and MAP kinase in skeletal muscle. *Shock Augusta Ga*. 1996;6(3):164–170.
85. McCowen KC, Ling PR, Ciccarone A, et al. Sustained endotoxemia leads to marked down-regulation of early steps in the insulin-signaling cascade. *Crit Care Med*. 2001;29(4):839–846.
86. Nunes AL, Carvalheira JB, Carvalho CR, Brenelli SL, Saad MJ. Tissue-specific regulation of early steps in insulin action in septic rats. *Life Sci*. 2001;69(18):2103–2112.
87. Aare S, Radell P, Eriksson LI, Chen Y-W, Hoffman EP, Larsson L. Role of sepsis in the development of limb muscle weakness in a porcine intensive care unit model. *Physiol Genomics*. 2012;44(18):865–877.

Literaturverzeichnis

88. Orellana RA, Suryawan A, Kimball SR, et al. Insulin Signaling in Skeletal Muscle and Liver of Neonatal Pigs During Endotoxemia. *Pediatr Res.* 2008;64(5):505–510.
89. Mulligan KX, Morris RT, Otero YF, Wasserman DH, McGuinness OP. Disassociation of muscle insulin signaling and insulin-stimulated glucose uptake during endotoxemia. *PLoS One.* 2012;7(1):e30160.
90. Thompson LH, Kim HT, Ma Y, Kokorina NA, Messina JL. Acute, Muscle-Type Specific Insulin Resistance Following Injury. *Mol Med.* 2008;14(11-12):715–723.
91. Mowery NT, May AK, Collier BC, et al. Glucose metabolism, not obesity, predicts mortality in critically ill surgical patients. *Am Surg.* 2010;76(12):1377–1383.
92. Lang CH, Dobrescu C, Mészáros K. Insulin-mediated glucose uptake by individual tissues during sepsis. *Metabolism.* 1990;39(10):1096–1107.
93. Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Intern Med.* 1916.
94. Phillips CR, Chesnutt MS, Smith SM. Extravascular lung water in sepsis-associated acute respiratory distress syndrome: Indexing with predicted body weight improves correlation with severity of illness and survival. *Crit Care Med.* 2008;36(1):69–73.
95. Mann EA, Baun MM, Meininger JC, Wade CE. Comparison of mortality associated with sepsis in the burn, trauma, and general intensive care unit patient: a systematic review of the literature. *Shock Augusta Ga.* 2012;37(1):4–16.
96. Stüber F, Weiler N, Weimann A, Werdan K, Welte T. Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge der Sepsis.
97. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care.* 2007;11(2):R31.
98. Eckardt K-U, Berns JS, Rocco MV, Kasiske BL. Definition and Classification of CKD: The Debate Should Be About Patient Prognosis—A Position Statement From KDOQI and KDIGO. *Am J Kidney Dis.* 2009;53(6):915–920.
99. Vincent J-L, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Intensive Care Med.* 1996;22(7):707–710.
100. Ferreira FL, Bota DP, Bross A, Mélot C, Vincent J-L. Serial Evaluation of the SOFA Score to Predict Outcome in Critically Ill Patients. *JAMA.* 2001;286(14):1754–1758.
101. Janssens U, Graf C, Graf J, et al. Evaluation of the SOFA score: a single-center experience of a medical intensive care unit in 303 consecutive patients with predominantly cardiovascular disorders. Sequential Organ Failure Assessment. *Intensive Care Med.* 2000;26(8):1037–1045.
102. Geerse DA, Span LFR, Pinto-Sietsma S, van Mook WNKA. Prognosis of patients with haematological malignancies admitted to the intensive care unit: Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) trend is a powerful predictor of mortality. *Eur J Intern Med.* 2011;22(1):57–61.
103. Deutsche Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin und Deutsche Interdisziplinäre Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin. S3-Leitlinie: Analgesie, Sedierung und Delirmanagement in der Intensivmedizin. 2010.
104. Deja M, Hommel M, Weber-Carstens S, et al. Evidence-based Therapy of Severe Acute Respiratory Distress Syndrome: an Algorithm-guided Approach. *J Int Med Res.* 2008;36(2):211–221.
105. Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Intensive Care Med.* 2008;34(1):17–60.
106. Rich MM, Bird SJ, Raps EC, McCluskey LF, Teener JW. Direct muscle stimulation in acute quadriplegic myopathy. *Muscle Nerve.* 1997;20(6):665–673.
107. Lefaucheur J, Nordine T, Rodriguez P, Brochard L. Origin of ICU acquired paresis determined by direct muscle stimulation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2006;77(4):500–506.
108. DeFronzo RA, Tripathy D. Skeletal Muscle Insulin Resistance Is the Primary Defect in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2009;32(suppl_2):S157–S163.

Literaturverzeichnis

109. Rooyackers O, Myrenfors P, Nygren J, Thorell A, Ljungqvist O. Insulin stimulated glucose disposal in peripheral tissues studied with microdialysis and stable isotope tracers. *Clin Nutr*. 2004;23(4):743–752.
110. Pretty CG, Le Compte AJ, Chase JG, et al. Variability of insulin sensitivity during the first 4 days of critical illness: implications for tight glycemic control. *Ann Intensive Care*. 2012;2(1):17.
111. Wiener R WD. Benefits and risks of tight glucose control in critically ill adults: A meta-analysis. *JAMA*. 2008;300(8):933–944.
112. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2008;294(1):E15–E26.
113. Anderwald C, Tura A, Grassi A, et al. Insulin infusion during normoglycemia modulates insulin secretion according to whole-body insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2011;34(2):437–441.
114. Majumdar S, Genders AJ, Inyard AC, Frison V, Barrett EJ. Insulin entry into muscle involves a saturable process in the vascular endothelium. *Diabetologia*. 2012;55(2):450–456.
115. Iglesias P, Díez JJ. Insulin therapy in renal disease. *Diabetes Obes Metab*. 2008;10(10):811–823.
116. Jamaludin UK, Docherty PD, Chase JG, Le Compte AJ, Shaw GM. Observation of changes in model-based insulin sensitivity during haemodialysis transitions for critically ill patients. 2012.
117. Little RA, Henderson A, Frayn KN, Galasko CS, White RH. The disposal of intravenous glucose studied using glucose and insulin clamp techniques in sepsis and trauma in man. *Acta Anaesthesiol Belg*. 1987;38(4):275–279.
118. Holmäng A, Mimura K, Björntorp P, Lönnroth P. Interstitial muscle insulin and glucose levels in normal and insulin-resistant Zucker rats. *Diabetes*. 1997;46(11):1799–1804.
119. Binnert C, Tappy L. Microdialysis in the intensive care unit: a novel tool for clinical investigation or monitoring? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care March 2002*. 2002;5(2):185–188.
120. 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 - Endocrinol Metab*. 1998;274(5):E936–E945.
121. Levy B, Perez P, Gibot S, Gerard A. Increased muscle-to-serum lactate gradient predicts progression towards septic shock in septic patients. *Intensive Care Med*. 2010;36(10):1703–1709.
122. Jacob S, Hauer B, Becker R, et al. Lipolysis in skeletal muscle is rapidly regulated by low physiological doses of insulin. *Diabetologia*. 1999;42(10):1171–1174.
123. Whyte MB, Jackson NC, Shojaee-Moradie F, et al. Metabolic effects of intensive insulin therapy in critically ill patients. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2010;298(3):E697–E705.
124. Chambrier C, Laville M, Rhzioual Berrada K, Odeon M, Boulétreau P, Beylot M. Insulin sensitivity of glucose and fat metabolism in severe sepsis. *Clin Sci Lond Engl 1979*. 2000;99(4):321–328.
125. Jocken JWE, Goossens GH, Boon H, et al. Insulin-mediated suppression of lipolysis in adipose tissue and skeletal muscle of obese type 2 diabetic men and men with normal glucose tolerance. *Diabetologia*. 2013;56:2255–2265.
126. Watt MJ, Hoy AJ. Lipid metabolism in skeletal muscle: generation of adaptive and maladaptive intracellular signals for cellular function. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2012;302(11):E1315–E1328.
127. Vanhorebeek I, De Vos R, Mesotten D, Wouters PJ, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe G. Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in critically ill patients. *The Lancet*. 2005;365(9453):53–59.
128. Thorell A, Rooyackers O, Myrenfors P, Soop M, Nygren J, Ljungqvist OH. Intensive Insulin Treatment in Critically Ill Trauma Patients Normalizes Glucose by Reducing Endogenous Glucose Production. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(11):5382–5386.
129. Peake SL, Moran JL, Ghelani DR, Lloyd AJ, Walker MJ. The effect of obesity on 12-month survival following admission to intensive care: A prospective study. *Crit Care Med*. 2006:2929–2939.

Literaturverzeichnis

130. Langouche L, Perre SV, Thiessen S, et al. Alterations in Adipose Tissue during Critical Illness An Adaptive and Protective Response? *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(4):507–516.
131. Marques MB, Langouche L. Endocrine, Metabolic, and Morphologic Alterations of Adipose Tissue During Critical Illness*. *Crit Care Med.* 2013;41(1):310–318.
132. Blakemore SJ, Rickhuss PK, Watt PW, Rennie MJ, Hundal HS. Effects of limb immobilization on cytochrome c oxidase activity and GLUT4 and GLUT5 protein expression in human skeletal muscle. *Clin Sci Lond Engl 1979.* 1996;91(5):591–599.
133. Vary TC, Drnevich D, Jurasinski C, Brennan WA Jr. Mechanisms regulating skeletal muscle glucose metabolism in sepsis. *Shock Augusta Ga.* 1995;3(6):403–410.
134. Crossland H, Constantin-Teodosiu D, Gardiner SM, Constantin D, Greenhaff PL. A potential role for Akt/FOXO signalling in both protein loss and the impairment of muscle carbohydrate oxidation during sepsis in rodent skeletal muscle. *J Physiol.* 2008;586(22):5589–5600.
135. Masternak MM, Al-Regaiey KA, Del Rosario Lim MM, et al. Effects of caloric restriction on insulin pathway gene expression in the skeletal muscle and liver of normal and long-lived GHR-KO mice. *Exp Gerontol.* 2005;40(8–9):679–684.
136. Cusin I, Terrettaz J, Rohner-Jeanrenaud F, Zarjevski N, Assimacopoulos-Jeannet F, Jeanrenaud B. Hyperinsulinemia Increases the Amount of GLUT4 mRNA in White Adipose Tissue and Decreases That of Muscles: A Clue for Increased Fat Depot and Insulin Resistance. *Endocrinology.* 1990;127(6):3246–3248.
137. Postic C, Leturque A, Rencurel F, et al. The effects of hyperinsulinemia and hyperglycemia on GLUT4 and hexokinase II mRNA and protein in rat skeletal muscle and adipose tissue. *Diabetes.* 1993;42(6):922–929.
138. O'Brien RM, Granner DK. Regulation of Gene Expression by Insulin. *Physiol Rev.* 1996;76(4):1109–1161.
139. Hirashima Y, Tsuruzoe K, Kodama S, et al. Insulin down-Regulates Insulin Receptor Substrate-2 Expression Through the Phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt Pathway. *J Endocrinol.* 2003;179(2):253–266.
140. Ducluzeau P-H, Perretti N, Laville M, et al. Regulation by Insulin of Gene Expression in Human Skeletal Muscle and Adipose Tissue. *Diabetes.* 2001;50(5):1134–1142.
141. Zhang P, Chen X, Fan M. Signaling mechanisms involved in disuse muscle atrophy. *Med Hypotheses.* 2007;69(2):310–321.
142. Bergouignan A, Rudwill F, Simon C, Blanc S. Physical inactivity as the culprit of metabolic inflexibility: evidence from bed-rest studies. *J Appl Physiol.* 2011;111(4):1201–1210.
143. Barrett EJ, Wang H, Upchurch CT, Liu Z. Insulin regulates its own delivery to skeletal muscle by feed-forward actions on the vasculature. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(2):E252–263.

Eidesstattliche Versicherung

Ich, Nicole Rehfeldt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die systemische und muskuläre Insulinsensitivität von Intensivpatienten mit Critical Illness Myopathie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

KONGRESSBEITRÄGE

LIVES Congress European Society Of Intensive Care Medicine 2013, Paris	Rehfeldt N , Wollersheim T, Assmann A, Krebs M, Mai K, Boschmann M, Spuler S, Spies C, Spranger J, Weber-Carstens S. Metabolic Inflexibility Of Skeletal Muscle in ICU Patients
Hauptstadtkongress der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2013, Berlin	Rehfeldt N , Wollersheim T, Assmann A, Krebs M, Mai K, Boschmann M, Spuler S, Spies C, Spranger J, Weber-Carstens S. Fehlende Modulierbarkeit des muskulären Substratstoffwechsels im Verlauf kritischer Erkrankung
LIVES Congress European Society Of Intensive Care Medicine 2011, Berlin	Wollersheim T, Assmann A, Bierbrauer J, Rehfeldt N , Krebs M, Koch S, Faust K, Kleber C, Spranger J, Weber-Carstens S. Insulin Signaling In Skeletal Muscle During Early Critical Illness: Impact On Development Of Critical Illness Myopathy
Hauptstadtkongress der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2011, Berlin	Wollersheim T, Rehfeldt N , Bierbrauer J, Braunschmidt M, Olbricht C, Egbers C, Boschmann M, Aßmann A, Spranger J, Weber-Carstens S. Systemische Insulinresistenz und Glukose-metabolismus im Skelettmuskel bei Patienten mit Critical Illness Myopathie. Anästh Intensivmed 2011;52:610-S634 Krebs M, Olbricht C, Koch S, Rehfeldt N , Wollersheim T, Goldmann A, Weber-Carstens S, Spies C. Ausgeprägte Muskelschwäche bei Patienten mit alcohol use disorder. Anästh Intensivmed 2011;52:S610-S634
American Thoracic Society International Conference 2011, Denver (Colorado, USA)	Weber-Carstens S, Bierbrauer J, Koch S, Olbricht C, Rehfeldt N , Goldmann A, Spies C. Pronounced Neuromuscular Dysfunction In ICU-Patients With Alcohol Use Disorder (AUD). Am J Respir Crit Care Med 183;2011:A4241
Hauptstadtkongress der Deutschen Gesellschaft für Anästhesiologie und Intensivmedizin 2010, Berlin 1. Posterpreis	Bierbrauer J, Olbricht C, Rehfeldt N , Egbers C, Schülke S, Hantke B, Koch S, Weber-Carstens S. Therapeutisches Potential der frühzeitigen elektrischen Muskelstimulation (EMS) zur Prävention der Critical Illness Myopathie (CIM). Anästh Intensivmed 2010; 51:S732-S754

Danksagung

Ganz herzlich möchte ich bei Herrn PD Steffen Weber-Carstens für die Überlassung des interessanten Themas, die begleitende fachliche Unterstützung sowie für das mir entgegengebrachte Vertrauen bedanken. Besonders anerkennen möchte ich die kritische Durchsicht meines Manuskripts trotz umfangreicher beruflicher Aufgaben.

Des Weiteren gilt mein nachdrücklicher Dank Jeffrey Bierbrauer und Tobias Wollersheim für ihre ausdauernde Betreuung und Motivation bei der Erstellung dieser Arbeit.

Allen Mitarbeitern der Klinischen Forschergruppe 192, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, danke ich für deren fachliche Unterstützung. Ausdrücklich möchte ich mich bei Anke Assmann für kritische Gespräche und Hinweise bedanken.

Allen ehemaligen und aktuellen Mitgliedern der Arbeitsgruppe CIM danke ich für das positive Arbeitsklima, die Hilfsbereitschaft und die anregenden Unterhaltungen.

Aufrichtiger Dank gilt meiner gesamten Familie und meinen Freunden für den Rückhalt und ihre Geduld. In ganz besonderer Weise möchte ich mich bei meinen lieben Eltern für die Möglichkeit zu studieren und für deren unerschütterlichen Glauben an mich bedanken. Herzlichen Dank auch an meine Freunde Nora, Catha und Falko für deren Ansporn, Motivation und moralischen Beistand.

Von ganzem Herzen danke ich Max Conze für die vielen konstruktive Gespräche, für seine Geduld und Rücksichtnahme.