

Aus der Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie CVK  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

„Der Einfluss von Belastungsstress und Erholung auf die  
Körperzusammensetzung, das Immunsystem, die vaskuläre  
Funktion und den Eisenstoffwechsel bei Spitzensportlern“

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Simon Reinke

aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. Dr. Stefan D. Anker  
2. Prof. Dr. med. Rüdiger von Baehr  
3. PD Dr. med. Stephan Gielen

Datum der Promotion: 09.09. 2011

## **Vorwort**

In dieser Dissertation fasse ich meine Untersuchungen zum Thema „Der Einfluss von Belastungsstress und Erholung auf das Immunsystem, die vasculäre Funktion und den Eisenstoffwechsel bei Spitzensportlern“ zusammen. Die Ergebnisse meiner Dissertation habe ich in folgenden Publikationen veröffentlicht:

### **Publikation 1:**

**Reinke S**, Karhausen T, Doehner W, Taylor WR, Hottenrott K, Duda GN, Reinke P, Volk HD, Anker SD.

*The Influence of Recovery and Training Phases on Body Composition, Peripheral Vascular Function and Immune System of Professional Soccer Players.*

PLoS ONE. 2009; 4(3): e4910. Epub 2009 Mar 18.

### **Publikation 2:**

Habedank D, Kung T, Karhausen T, von Haehling S, Doehner W, Schefold JC, Hasper D, **Reinke S**, Anker SD, Reinke P.

*Exercise capacity and body composition in living-donor renal transplant recipients over time.*

Nephrol Dial Transplant. 2009 Dec; 24(12): 3854-60. Epub 2009 Sep 7.

### **Publikation 3:**

**Reinke S**, Taylor WR, Duda GN, Haehling S, Reinke P, Volk HD, Anker SD, Doehner W.

*Absolute and Functional Iron Deficiency in Professional Athletes During Training and Recovery*

Int J Cardiol. 2010 Dec 7. [Epub ahead of print]

**Abkürzungsverzeichnis**

ANOVA	= Analysis of Variance
BMI	= Body Mass Index
CK	= Kreatinkinase
CRP	= C-Reaktive Protein
DEXA	= Dual X-ray Absorptiometrie
DFB	= Deutscher Fussballbund
eNOS	= endotheliale NO-Synthetase
EPO	= Erythropoietin
G-CSF	= Granulocyte Colony Stimulating Factor
Hf	= Herzfrequenz
HO-1	= Hämoxygenase 1
HSP32	= Hitzeschockprotein 32
ICAM-1	= Inter-Cellular Adhesion Molecule 1 = CD54
IL-6	= Interleukin 6
IL-8	= Interleukin 8
iNOS	= induzierbare NO-Synthetase
IQR	= Inter Quartal Range
LRV	= Landesruderverband
MCH	= Mean Corpuscular Haemoglobin
MCHC	= Mean Corpuscular Haemoglobin Concentration
MCV	= Mean Corpuscular Volume
nNOS	= neuronale NO-Synthase
NO	= Nitric oxide = Stickstoffoxid
OSP	= Olympiastützpunkt
RQ	= Respiratorischer Quotient
TNF $\alpha$	= Tumor Nekrose Faktor alpha
TSAT	= Transferrinsättigung
VCAM	= Vascular Cell Adhesion Molecule-1 = CD106
VE/VCO <sub>2</sub>	= Atemminutenvolumen/Kohlendioxidabgabe
VO <sub>2</sub> -max	= maximale Sauerstoffaufnahme
WHO	= Weltgesundheitsorganisation
WM	= Weltmeisterschaft

**Inhaltsverzeichnis**

Vorwort	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
Inhaltsverzeichnis	V
<b>1 Abstract</b>	1-2
<b>2 Einleitung</b>	3-6
<b>3 Zielstellung</b>	6
<b>4 Material und Methoden</b>	7
4.1 Probandencharakterisierung und Untersuchungsdesign	7
4.2 Dual X-ray Absorptiometrie (DEXA)	8
4.3 Venenverschlussverfahren (Plethysmographie)	8
4.4 Bestimmung Leukozyten und Granulozytenpopulation	8-9
4.5 Bestimmung IL-6 und total IL-8	9
4.6 Explorative Spiroergometrie	10
4.7 Datenverarbeitung und statistische Analyse	10
<b>5 Ergebnisse</b>	11
5.1 Einfluss von Training und Erholung auf die Körperzusammensetzung, vaskuläre Funktion und Immunsystem bei Bundesligafußballspielern – Publikation (1)	
5.1.1 Kataboler Stoffwechsel in der Erholungsphase	11
5.1.2 Reduzierte periphere Durchblutung in der Belastungsphase	11-12
5.1.3 Erhöhte Endothel- und Immunfunktion in der Erholung	12
5.2 Die Belastbarkeit von Nierentransplantationspatienten – Publikation (2)	12-13
5.3 Absoluter und funktioneller Eisenmangel bei Spitzensportlern während Erholungs- und Belastungsphasen – Publikation (3)	13-14
<b>6 Diskussion</b>	14
6.1 Einfluss von Training und Erholung auf die Körperzusammensetzung, vaskuläre Funktion und Immunsystem bei Bundesligafußballspielern – Publikation (1)	14-16
6.2 Die Belastbarkeit von Nierentransplantationspatienten – Publikation (2)	16
6.3 Absoluter und funktioneller Eisenmangel bei Spitzensportlern während Erholungs- und Belastungsphasen – Publikation (3)	17-18
<b>7 Literatur</b>	19-22
<b>8 Anteilserklärung</b>	23
<b>9 Ausgewählte Publikationen</b>	24
<b>10 Lebenslauf &amp; vollständige Publikationsliste</b>	25-27
<b>11 Selbstständigkeitserklärung</b>	28
<b>12 Danksagung</b>	29

## 1. Abstract:

Ein ausgewogenes Verhältnis von Belastungs- und Erholungsphasen ist wichtig, damit Spitzensportler bestmögliche Leistungen erbringen und die Gefahr von Übertraining sowie die Krankheits- und Verletzungsanfälligkeit reduzieren können.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Auswirkung von Belastungs- und Erholungsphasen auf die Körperzusammensetzung, das Immunsystem, die Endothelfunktion sowie den Eisenstoffwechsel zu untersuchen. Wir hypothetisieren, dass diese konträren Phasen zu rapiden metabolischen Veränderungen führen. Dies resultiert in einer veränderten Körperzusammensetzung aufgrund von muskulären „repair Mechanismen“ bzw. verändertem Muskelstoffwechsel. Durch diesen schnellen und kurzfristigen metabolischen „Turnover“ sind die kurzen Belastungsphasen insuffizient, in der Gewährleistung einer dauerhaften Erholung des trainingsinduzierten gestressten Immun- und vaskulären Systems. Dies betrifft ebenfalls den Eisenstoffwechsel. Die dauerhafte Belastung führt zu reduzierten Eisenspeichern, welche in den kurzen Erholungsphasen nicht vollständig aufgefüllt werden.

Wir untersuchten zehn Fußballerspieler der 1. Fußballbundesliga und 20 Ruderer vom OSP sowie LRV Berlin jeweils am Ende der Saison, der vierwöchigen Urlaubsperiode und der sechswöchigen Vorbereitungsphase auf die neue Saison. Die Diagnostik erfolgte mittels DEXA (Körperzusammensetzung), Plethysmographie (Durchblutung) und Serumanalytik, wobei die Serumanalysen der Bestimmung der Endothelfunktion (Nitrat), der inflammatorischen Aktivität (Leukozyten, Lymphozyten und Granulozyten, IL-6, IL-8, CRP), des Muskelstoffwechsels (CK, Kreatinin) und des Eisenstatus (Erythrozyten, Hb, Transferrin, EPO, MCV, MCH, MCHC) dienten.

Ein Ferritinspiegel  $< 30 \mu\text{g/L}$  wurde als Grenzwert zur Diagnose eines absoluten Eisenmangels festgelegt, während ein funktioneller Eisenmangel bei einem Ferritinspiegel zwischen  $30\text{-}99 \mu\text{g/L}$  oder  $100\text{-}299$  bei einer TSAT  $< 20 \%$  vorlag.

Verglichen mit den Ausgangswerten vom Ende der Saison zeigte sich bei den Probanden während der Erholungsperiode ein kataboler Stoffwechsel und eine signifikante Gewichtsabnahme um  $1,8 \text{ kg}$  von  $90,1 \pm 5,6 \text{ kg}$  auf  $88,3 \pm 5,9 \text{ kg}$  ( $p = 0,008$ ). Verursacht wurde diese Gewichtsreduktion durch einen signifikanten Verlust von fettfreier Masse um  $2,2 \text{ kg}$  von  $74,4 \pm 4,2 \text{ kg}$  auf  $72,2 \pm 3,2 \text{ kg}$  ( $p = 0,01$ ). Diese Reduktion der fettfreien Masse wurde begleitet von einer signifikanten Zunahme des Serumkreatinins, nicht jedoch der Kreatinkinase. Nach der Saisonvorbereitung kam es zu einer marginalen Gewichtszunahme auf  $88,5 \pm 4,0 \text{ kg}$ , die jedoch mit einem signifikanten Anstieg der fettfreien Masse auf  $73,9 \pm 3,7 \text{ kg}$  ( $p = 0,01$ ) assoziiert war. Erneut war dieser Prozess eng verbunden mit dem Verlauf des

Serumkreatinins und zeigte eine signifikante Abnahme ( $p=0,03$ ) und enge umgekehrte Korrelation ( $r= -0,75$ ;  $p = 0,04$ ).

Parallel dazu zeigte sich in der Erholungsphase eine deutliche Verbesserung sowohl des Ruheblutflusses um 23 % ( $p= 0,07$ ), als auch des postischämischen Blutflusses um 32 % ( $p= 0,007$ ). Nach der folgenden Belastungsphase fielen beide Werte wieder auf das Ausgangsniveau vom Ende der Saison zurück. Auffällig war, dass nach beiden Belastungsphasen der stressinduzierte postischämische Blutfluss im subnormalen Bereich lag und dem Niveau von mild herzinsuffizienten Patienten entsprach.

Die immunologische und endotheliale Aktivität war während der Erholungsphase ebenfalls deutlich verstärkt und drückte sich in einer erhöhten Inflammation sowie gesteigerten iNOS Aktivität aus. Dies wird durch einen signifikanten Anstieg der Leukozyten ( $p= 0,009$ ) belegt, der durch eine Granulozytose ( $p= 0,009$ ) verursacht und von einem IL-8 Anstieg ( $p= 0,04$ ) vermittelt war. In seiner Wirkung auf die Vaskularisierung setzte das Endothel während dieser Phase mehr NO frei, das zu einer signifikant erhöhten Nitratkonzentration führte ( $p= 0,005$ ). Die folgende Belastungsphase führte wieder zu einer Rückkehr auf das Ausgangsniveau vom Saisonende.

Der Eisenspeicher war am Ende der Saison in beiden Probandengruppen stark reduziert. Am Saisonende herrschte bei 27 % (8/30) aller Sportler ein absoluter Eisenmangel und bei 70 % (21/30) ein funktioneller Eisenmangel. Die Erholungsperiode hatte keinen bedeutenden Einfluss auf den Eisenspeicher. Lediglich Athleten mit einem absoluten Eisenmangel füllten den Eisenspeicher unter Zunahme des Ferritinspiegels von  $22,6 \pm 5,2$   $\mu\text{g/L}$  auf  $30,3 \pm 10,8$   $\mu\text{g/L}$  ( $p < 0,09$ ) auf. In 14 % der Athleten zeigte sich über die komplette Untersuchungsdauer ein persistierender absoluter Eisenmangel und 10 % aller Sportler hatten einen Hämoglobinwert am unteren Limit nach der WHO-Definition.

Die erhobenen Daten implizieren einen deutlichen Einfluss von Belastungs- und Erholungsphasen auf die Körperzusammensetzung, die vaskuläre Kapazität sowie die Immun- und Endothelfunktion bei Spitzensportlern. Ebenfalls betroffen sind deren Eisenspeicher, die sich zum großen Teil am unteren Normbereich bewegten. Während in der Erholungsperiode eine höhere immunologische Funktion mit einer verbesserten Durchblutung sowie einer partiellen Auffüllung der Eisenspeicher zu verzeichnen war, folgte dem eine Reduzierung der gemessenen Parameter nach der Vorbereitungsphase auf das Ausgangsniveau. Dies legt nahe, dass die Regenerationsperioden nicht ausreichten, um die langfristige Erholung der Systeme über die Vorbereitungsperiode hinaus sicherzustellen.

## 2 Einleitung

Spitzensportler stehen heutzutage unter erheblichem Druck. Wettkämpfe finden global und – getrieben von zunehmender Vermarktung – in immer größerer Zahl statt, wodurch die Regenerationszeiträume geringer werden. Dabei werden die Athleten von Fans, Sponsoren, Verbands- und Vereinsführungen, Mitspielern und nicht zuletzt den Medien auf Schritt und Tritt beobachtet und müssen sich – trotz unterschiedlicher Betrachtungsmaßstäbe – stets bewähren. Ein aktuelles Beispiel ist die Fußballweltmeisterschaft 2010 in Südafrika, deren Ende am 11. Juli 2010 bei den meisten Vereinen der Fußballbundesliga den Beginn der Vorbereitung auf die neue Bundesligasaison markierte.

Die zugunsten der Belastungsphasen verkürzten Regenerationsphasen hindern den Sportler häufig daran, seine optimale Leistung abzurufen. Diese Einschätzung von Sportmedizinern und –wissenschaftlern wird von Trainern und Verbands- bzw. Vereinsverantwortlichen vielfach nicht geteilt. Während Trainer Phasen unterschiedlicher Leistungen gern als „Formschwankungen“ bezeichnen, fordern Sportmediziner komplexere Untersuchungen, um den oftmals zugrundeliegenden physiologischen Veränderungen auf den Grund gehen zu können. Die Trainer werfen den Medizinern dann gelegentlich vor, realitätsfremd zu sein, da sie nicht aktiv aus dem Sport kommen, während den Trainern nachgesagt wird, dass sie für neue Methoden und Inhalte nicht offen seien.

Zwar haben sich einige sportmedizinische Untersuchungen im professionellen Sport etabliert. Häufig beschränken sich diese aber auf trainingswissenschaftlich kurzfristig verwertbare Parameter wie die Messung von Laktat, Hf und RQ und daraus folgend die Bestimmung der individuellen aeroben und anaeroben Ausdauer, des aerob-anaeroben Schwellenbereiches und der muskulären Erholungsfähigkeit des Athleten. Diese Messgrößen sind zudem schnell erhoben und ermöglichen so auf einfache Weise, einen unmittelbaren Bezug zwischen absolviertem Training und individueller Belastung herzustellen.

Dabei gerät leicht außer Blick, dass sich die Leistungsfähigkeit auch durch Erhöhung der Belastbarkeit und Verminderung der Verletzungsanfälligkeit des Sportlers – wohlmöglich nachhaltiger – steigern lässt.

Neben einer Untersuchung von Wienecke, die über einen Zeitraum von drei Jahren innerhalb der 1. und 2. Bundesliga sowie der Regionalliga viele Verletzungen, vor allem ohne Ball- oder Gegnereinfluss, aufzeigt [1], lässt sich bspw. auch der Statistik der gesetzlichen Unfallversicherung für das Jahr 1995 entnehmen, dass allein in der 1. und 2. Fußballbundesliga 247 (42,3 %) Fälle von Verletzungen durch Drehung, Verrenkung, Zerrung, Dehnung und Stauchung ohne gegnerische Einwirkung gab.

Dem stehen 335 (51,8 %) Fälle von Erschütterung, Quetschung, Zerreißung oder Fraktur durch Gegnereinfluss gegenüber.

Tab.1 Verletzungen bei Fußballspielern (vgl. Wienecke, 1998)

<b>Art der Schädigung</b>	<b>Mit Ball-/Gegnereinfluss</b>	<b>Ohne Ball-/Gegnereinfluss</b>
Schulter-, Arm-, Oberkörper	181	11
Muskelverletzungen	32	427
Kreuzbandverletzungen	9	48
Innenband ohne Meniskus	6	52
Achillessehnenruptur	2	21

Deutlich wird, dass die überwiegende Zahl der Verletzungen muskulärer Art ist, häufig den Bereich der unteren Extremitäten betrifft und nicht durch Ball- oder Gegnereinfluss verursacht wird.

Diesbezüglich ist der Zusammenhang zwischen Körperzusammensetzung und Immunsystem-, vaskulären System, Endothelfunktion interessant und wird im Folgenden näher untersucht. Weiterhin wurde der Eisenmetabolismus und -speicher der Athleten einbezogen, da Ferritin nicht nur der erste Parameter in der Beurteilung des Eisenspeichers, sondern auch in die immunologische akute Phase Reaktion eingebunden ist. Bei akuten oder chronischen Entzündungsprozessen, wie z.B. bei muskulären Verletzungen, bestnde – ließe man dies außer Betracht – die Gefahr einer falschen Beurteilung des Zustands der Eisenspeicher.

Sowohl das Immunsystem als auch das Endothel sind bei muskulären Entzündungen oder Muskelzellerstrungen wichtige Komponenten des „Repair-Mechanismus“. So spielt das Endothel eine zentrale Rolle bezüglich des regionalen Blutfluss durch Freisetzung verschiedener vaso-aktiver Substanzen, bei der Regulierung des Gefäßwiderstands und des Blutdrucks in Ruhe oder unter Belastung [2]. Weiterhin initiieren Endothelzellen als Mediatoren während akuter oder chronischer Inflammation, die Freisetzung von Adhäsionsmolekülen wie ICAM-1 oder VCAM, um die Migration von Leukozyten vom Gefäß in das entzündete Gewebe zu unterstützen [3]. Endothelstimulierende Immunzellen wie Thrombozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Lymphozyten oder Neuronen, die es zur Proliferation sowie Umbildung der extrazellulären Matrix anregen, können eine vielfältige zelluläre Signalkaskade initiieren und führen so zu einer Wechselwirkung zwischen Endothel und Immunsystem [4]. So wirken sie z.B. auf die extrazelluläre Matrix, auf Chemokine (IL-

8), Prostaglandine, Zytokine (IL-6, TNF $\alpha$ ), vasoaktive Peptide, Wachstumsfaktoren oder das NO.

NO vermittelt physiologisch eine Reihe von regulatorischen endothelialen Vorgängen. Durch seine hohe vasodilatative Wirkung und der Signalübertragung im zentralen Nervensystem, ist NO daher auch in hohem Maße in die Entzündungs- und Immunreaktionen integriert.

NO wird aus L-Arginin in Verbindung mit den drei möglichen eNOS, nNOS und iNOS gebildet [5]. Die Aktivität von eNOS und iNOS wird durch die Konzentration von ionisiertem Calcium gesteuert. Damit kann die Endothelzelle auf ein extrazelluläres Signal hin sofort mit verstärkter NO-Freisetzung reagieren, während unter normalen Bedingungen eNOS und nNOS nur kleine Mengen von Stickstoffoxid zur Regulation des Blutdrucks, von neurologischen Vorgängen und zur Gegenregulation von pathologischen Vorgängen an vielen Organen freisetzen [6].

Die induzierbare NO-Synthese wird nach Induktion durch proinflammatorische Mediatoren wie TNF $\alpha$  oder IL-8 gebildet [7]. Das bedeutet, dass bei Entzündungsprozessen iNOS aktiviert wird und große Mengen NO synthetisiert. Damit eine genügende Syntheserate gesichert wird, ist jede kernhaltige Zelle befähigt, iNOS zu generieren. Die Endprodukte des Stickstoffoxids sind Nitrit und Nitrat. Letzteres wurde während unserer Studie gemessen, um Rückschlüsse auf die Endothelaktivität ziehen zu können. Viele Studien an verschiedenen Zellmodellen in den letzten Jahren zeigten weiterhin, dass NO protektiv gegen oxidativen Stress wirkt [8]. So besitzt NO sowohl auf dem Wege der direkten Regulation, mit Elementen von Transkriptionsfaktoren, als auch indirekt durch Stimulation bestimmter Signalwege die Möglichkeit die Expression von Proteinen, zu denen auch die HO-1 bzw. das HSP32 zählt, zu regulieren [9]. Dieses Protein verstoffwechselt das proinflammatorisch und zelltoxisch wirkende Häm, z.B. als Ausdruck von erhöhtem Proteinabbau bei Verletzung, in die regulären Abbauprodukte Biliverdin und freies Eisen. Diese werden dann in einem zweiten Schritt in Bilirubin umgebaut oder als das Speichereisen Ferritin eingelagert [10].

Das Speichereisenprotein Ferritin ist daneben der wichtigste Parameter in der Bewertung des Eisenspeichers und demnach in der Beurteilung von Eisenmangelzuständen. Als funktioneller Bestandteil des Hämoglobins und Myoglobins hat Eisen eine essentielle Bedeutung für die Sauerstoffaufnahme, den Sauerstofftransport sowie für die Energieproduktion und den oxidativen Stoffwechsel der Muskulatur [11, 12]. Dies legt nahe, dass der Eisenstoffwechsel eine bedeutende Rolle für die Leistungsfähigkeit und Belastungstoleranz spielt [13]. Aufgrund der intensiven körperlichen Belastungen sind

Spitzensportler anfällig für einen erhöhten Eisenverbrauch, z.B. durch muskuläre (Mikro)-Verletzungen oder häufigere Läsionen des Magen-Darmtraktes und daraus resultierender gestörter gastrointestinaler Absorption [14]. Weiterhin wurde in einigen Studien über eine geringere Lebenszeit der Erythrozyten aufgrund belastungsinduzierter peripherer Hämolyse berichtet, die zu einer gesteigerten Erythropoese mit entsprechendem Eisenverbrauch führt [15, 16, 17]. Andere ätiologische Faktoren hinsichtlich eines erhöhten Eisenverbrauchs durch vermehrte Ausscheidung mittels Schweiß oder im Urin sind hinlänglich bekannt [18, 19].

Zusammenfassend bleibt festzuhalten, dass zwischen Immunsystem, Endothelfunktion und Eisenstoffwechsel ein relevanter biologischer Zusammenhang besteht, der vor dem Hintergrund von den unterschiedlichen Belastungsphasen bei Spitzensportlern von Bedeutung ist. Aufgrund immer kürzer werdender Regenerationszeiträume können Erkenntnisse über diese systemischen Interaktionen helfen, die (leistungs-)physiologischen Reaktionen in dieser speziellen Population besser bewerten und einordnen zu können.

### **3 Zielstellung**

Mit der Arbeit, in der der Einfluss von Belastungs- und Erholungsphasen auf das Immun-, vasculäre System und den Eisenstoffwechsel bei Spitzensportlern untersucht wird, soll gezeigt werden, wie der Organismus auf veränderte Belastungen reagiert. Diese Erkenntnisse sollen zu einem besseren Verständnis von belastungsinduzierter physiologischer Adaptation führen und hilfreiche Hinweise für die Optimierung der Trainingssteuerung (Intensitäten, Dauer, Inhalte) liefern. Verdeutlicht wird dies anhand der leistungsrelevanten metabolischen Systemfaktoren Körperzusammensetzung, vaskulärer Funktion (periphere Durchblutung) sowie immunologischer Marker (Inflammation) und biochemischer Serumparameter. Daraus ergeben sich folgende Fragen:

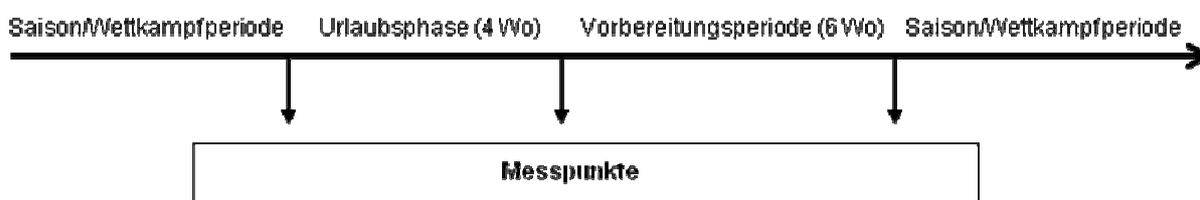
- 1) Wie ändert sich das Muskel-/Fettmassenverhältnis unter Trainingspause und ist dieser Prozess unter Trainingseinfluss reversibel?
- 2) Wie verhält sich der Blutfluss; fördert oder hemmt kontinuierliches Training die periphere Durchblutung und welche Rolle spielen dabei das Immunsystem bzw. das „Endothel“?
- 3) Haben die unterschiedlichen Phasen einen Einfluss auf den Eisenspeicher und den Eisenstoffwechsel der Sportler?

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Probandencharakterisierung und Untersuchungsdesign

Zwischen Mai 2005 und Januar 2007 wurden insgesamt männliche 35 Spitzensportler [11 Fußballspieler (20-36 Jahre) aus der 1. Fußballbundesliga und 24 Ruderer (21-35 Jahre) vom OSP bzw. LRV Berlin] in diese prospektiv beobachtenden Verlaufsstudien eingeschlossen. Die Durchführung der Studien waren zuvor durch die lokale Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt worden und die Probanden hatten ihr Einverständnis zur Teilnahme an der betreffenden Studie abgegeben.

Angepasst an die Rahmenterminpläne des DFB, der Trainingskonzeptionen des Vereins, des OSP- sowie des LRV-Berlin fanden zu diesen Messzeitpunkten die nachfolgend beschriebenen Untersuchungen statt.



Organisatorisch erfolgte eine Einteilung der Probanden in Vierergruppen, damit in Beachtung des circadianen Rhythmus die Untersuchungen jeweils in der Zeit von neun bis zwölf Uhr realisiert werden konnten. Jede Gruppe wurde zu den Verlaufsuntersuchungen jeweils zur gleichen Zeit zu ihrer Eingangsuntersuchung einbestellt, damit die intraindividuellen Messgenauigkeit möglichst wenig beeinträchtigt wurde. Um einen akuten Belastungseinfluss auf die Serumparameter auszuschließen, absolvierten die Sportler 24 Stunden vor den Messungen kein Training oder Wettkampf. Die Blutentnahmen erfolgten zu Beginn der Messtage aus liegender Position nach einer Ruhephase von zehn Minuten. Die Serumproben wurden in einem klimatisierten, vor Sonnenlicht geschützten Raum gelagert und die Auswertung erfolgte am gleichen Tag.

Entsprechend aktueller Publikationen [20, 21] wurde der Grenzwert für die Diagnose des absoluten Eisenmangels auf einen Ferritinwert  $< 30 \mu\text{g/L}$  festgelegt. Ein funktioneller Eisenmangel wurde diagnostiziert bei:

- a) Ferritin  $30 - 99 \mu\text{g/L}$  oder
- b) ein Ferritinwert  $100 - 299 \mu\text{g/L}$  bei einer TSAT  $< 20 \%$ .

#### **4.2 Dual X-ray Absorptiometrie (DEXA)**

DEXA steht für **Dual-(energy) X-ray Absorptiometry** und das Prinzip des DEXA-Scans beruht auf der Verwendung von Photonen zweier unterschiedlicher diskreter Energien von 38 keV und 70 keV.

Aus den erhaltenen Absorptionismustern wird mittels Computeranalyse die genaue Gewebezusammensetzung errechnet und eine Differenzierung nach Gesamtfettgewebe, -muskel- und -knochenmasse sowie spezifische Analyse der Körperzusammensetzung von Extremitäten und Oberkörper möglich. Für diese Untersuchungen wurde das Gerät „Lunar Prodigy“ (Lunar Radiation Company, Madison, Wisconsin, USA) genutzt. Ein Ganzkörperscan dauerte ca. sieben Minuten. Die Strahlenbelastung pro Messung betrug 0,4  $\mu$ Sv, die Messgenauigkeit 99 %. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels der Software Lunar „en Core 2002“

#### **4.3 Venenverschlussverfahren (Plethysmographie)**

Bei dem Venenverschlussverfahren (Plethysmographie) werden Volumenänderungen an den Armen und/oder Beinen gemessen und in Prozent angegeben.

Bei den Untersuchungen Gerät wurde das Modell Hokanson EC6 Plethysmograph der Firma Hokanson Inc., Bellevue, USA benutzt, das nach dem Dehnungsmessprinzip mittels einer Quecksilberelektrode arbeitet.

Dabei werden durch Anlegen einer Manschette an Arm und/oder Bein Volumenänderungen in Ruhe nach einer Infiltration von Luft bis zu einem Druck von 40 mmHG gemessen. Nach einer Umrechnung entspricht dieser Wert dem Ruheblutfluss.

Der maximale (postischämische) Blutfluss wird nach einer dreiminütigen Ischämiephase der entsprechenden Extremität gemessen. Hierzu wird der Manschettendruck drei Minuten lang mit 30 mmHG über dem systolischen Blutdruck gehalten. Nach dem Aufblasen des Drucks wird die Manschette erneut auf den Druck von 40 mmHG aufgepumpt und die Messung analog zur Ruhemessung durchgeführt bis der Blutfluss wieder dem Ruheblutfluss entspricht. Der höchste gemessene Wert wird nun als maximaler Blutfluss gewertet.

#### **4.4 Bestimmung Leukozyten und Granulozytenpopulation**

Für die durchflusszytometrische Bestimmung der Granulozytenpopulation mittels FACS-Calibur<sup>™</sup> und CellQuest<sup>™</sup>-Software (Becton Dickinson, San Jose, USA), wurden 50  $\mu$ l Heparinblut mit jeweils 20  $\mu$ l Antikörperlösung gemischt. Diese Antikörperlösung enthielt die

gegen Granulozyten und Leukozyten gerichteten Antikörper CD11b und PerCP-konjugierte Antikörper. Die Bindung der Antikörper erfolgte während einer 30minütigen Inkubation bei Raumtemperatur im Dunkeln. Danach wurde mit 200 G (Kühlzentrifuge CR 422, Jouan, Saint Nazaire, F) zentrifugiert und der Überstand entfernt. Für die Lyse der Erythrozyten wurde 1 ml FACS-Lysing-Solution (Becton Dickinson, San Jose, USA) hinzugegeben und für 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubiert. Abschließend konnte mit dem Programm QuantiCALC™ (Becton Dickinson, San Jose, USA) jede Probe ausgewertet und die durchschnittliche Anzahl gebundener Antikörper pro Zelle angegeben werden.

#### **4.5 Bestimmung IL-6 und total IL-8**

Die Bestimmung von IL-6 und IL-8 erfolgte mittels des IMMULITE®-Chemilumineszenz-Immunoassay (DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland) aus 100 µl Heparin-Vollblut. Dieses wurde mit 100 µl auf 1:2000 vorverdünnter Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA)-Stock-Lösung (Sigma, Steinheim, D) (1 mg/ml) und 300 µl RPMI 1640 Zellkultur-Medium (Biochrom KG; Berlin, D) gemischt und für vier Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde mit 1000 G (Heraeus Sepatech, Osterode, D) zentrifugiert, und der Überstand bei -70°C gelagert, bis mit dem Milenia-PMN-Elastase-Kit (Milenia Biotec GmbH, Bad Nauheim, D) der ELISA durchgeführt und die Elastase-Konzentration bestimmt wurde. Dazu wurden nach Anleitung des Herstellers alle Proben auf 1:1000 verdünnt und je 100 µl in die Vertiefung einer 96-Well-Mikrotiter-Platte, deren Böden mit Anti-Elastase-Antikörpern beschichtet waren, aufgetragen. Außerdem wurde eine 1:2 Verdünnungsreihe mit dem mitgelieferten Verdünnungspuffer und dem Standard (1000 ng/ml) über die Konzentration 500 ng/ml, 250 ng/ml, 125 ng/ml, 62,5 ng/ml, 31,25 ng/ml und 15,625 ng/ml durchgeführt. Als Nullstandard diente abschließend der Probenverdünnungspuffer.

Bei der Messung des total-IL-8 Spiegels wurde zur Lyse der Erythrozyten zuvor Vollblut mit Milenia-Zell-Lyse-Lösung (Milenia Biotec GmbH, Bad Nauheim, D) im Verhältnis 1:1 versetzt. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass im Blut IL-8 von Erythrozyten abgebunden wird und daher durch „konventionelle“ IL-8-Plasma-Bestimmungen lediglich Sekretionsspitzen messbar sind, die die Bindungskapazität der Erythrozyten übersteigen. Durch die vorherige Lyse der Erythrozyten wird bei den IL-8-Bestimmungen neben dem Plasma-IL-8 auch das abgebundene IL-8 erfasst (→„total-IL-8“).

#### **4.6 Explorative Spiroergometrie**

Innocor<sup>TM</sup> (Innovision Inc., Odense, DK) basiert auf der „Inert-Gas-Rückatmungsmethode“. Dabei atmet der Proband über ein geschlossenes System Bolusgas ein und aus. Dieses besteht zu 95 % aus Sauerstoff, zu 1 % aus dem im Blut unlöslichen Schwefelhexafluorid SF<sub>6</sub> und zu 4 % aus Stickoxid N<sub>2</sub>O, welches sich im Blut löst. Über die im Blut unlösliche Gasmenge wird die ein- und ausgeatmete Gasmenge bestimmt. Weiterhin berechnet Innocor<sup>TM</sup> die Konzentration der im Blut löslichen Gasanteile und berechnet deren Auswaschrage, die proportional zum Herzzeitvolumen ist.

Aus verletzungsbedingten bzw. trainingsinhaltlichen Gründen des Vereins bzw. der Trainer, war es uns leider nur möglich, zehn Probanden auf dem Laufband mittels der Innocor<sup>TM</sup> zu untersuchen.

#### **4.7 Datenverarbeitung und statistische Analyse**

Die statistischen Analysen der Daten erfolgte mit StatView 4.5 (Abacus Concepts Inc., Berkeley, USA) und die Darstellung als Mittelwerte mit Standardabweichung. Aufgrund der geringen Stichprobengröße und der schiefen Verteilung der Merkmale wurden nichtparametrische Tests für nicht normalverteilte Stichproben angewendet. Für vergleichende Analysen zwischen den verschiedenen Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Für Analysen innerhalb einer Gruppe über verschiedene Zeitpunkte, wurde der ANOVA für wiederholte Messungen benutzt. War der ANOVA signifikant, erfolgte die Anwendung des Wilcoxon-Rangsummen-Tests. Die Korrelationsanalysen zwischen verschiedenen Messparametern erfolgten mittels der Spearman-Rangkorrelation. Alle P-Werte waren zweiseitig, die statistische Signifikanz wurde auf Alpha = 0,05 gesetzt.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Einfluss von Training und Erholung auf die Körperzusammensetzung, vasculäre Funktion und Immunsystem – Publikation (1)

#### 5.1.1 Kataboler Stoffwechsel in der Erholungsphase

Bei der Eingangsmessung am Saisonende fanden wir bei den Sportlern ein Körpergewicht von  $90,1 \pm 5,6$  kg, bei einer fettfreien Masse von  $74,4 \pm 4,2$  kg und einem Körperfettanteil von  $11,9 \pm 6,2$  %.

Im Verlauf zeigte sich bei den Spielern während der Erholungsperiode von vier Wochen ein kataboler Stoffwechsel mit einer signifikanten Gewichtsabnahme um 1,8 kg auf  $88,3 \pm 5,9$  kg. Verursacht wurde diese Gewichtsreduktion durch einen signifikanten Verlust von fettfreier Masse um 2,2 kg auf  $72,2 \pm 3,2$  kg. Gleichzeitig erfolgte eine Zunahme der Fettmasse von  $10,3 \pm 5,6$  kg auf  $11,1 \pm 5,4$  kg. Nach der Saisonvorbereitung stellten wir eine marginale Gewichtszunahme auf  $88,5 \pm 4,0$  kg, jedoch verbunden mit einem signifikanten Anstieg der fettfreien Masse auf  $73,9 \pm 3,7$  kg fest. Die Fettmasse reduzierte sich in diesem Zeitraum auf  $9,4 \pm 4,6$  kg.

Diese Veränderungen der Körperzusammensetzung spiegelten sich auch parallel in den Serumkreatininwerten wieder. Die Reduktion der fettfreien Masse, verbunden mit einem signifikanten Anstieg des Serumkreatininspiegels während der Erholungsperiode stehen in einem engen Zusammenhang und zeigen eine umgekehrte Korrelation ( $r = -0,59$ ;  $p < 0,09$ ). Dieser Zusammenhang bestätigte sich ebenfalls nach der Vorbereitungsperiode. Hier korrelierte der Abfall des Serumkreatinins erneut mit der Zunahme der fettfreien Masse ( $r = -0,75$ ;  $p = 0,04$ ) und beide Parameter erreichten wieder das Ausgangsniveau vom Saisonende. Keine statistische Signifikanz zeigten die Verlaufsmessungen der Kreatinkinase.

#### 5.1.2 Reduzierte periphere Durchblutung in der Belastungsphase

Die Messung der peripheren Durchblutung zeigte signifikante Unterschiede zwischen der Belastungs- und Erholungsphase. Am Saisonende waren sowohl der Ruheblutfluss ( $7,3 \pm 3,4$  mL/100 mL/min) als auch der postischämische Blutfluss ( $25,9 \pm 6,3$  mL/100 mL/min) im subnormalen Bereich. Der stressinduzierte postischämische Blutfluss war hierbei sogar vergleichbar mit dem Niveau von leicht herzinsuffizienten Patienten (10-27 mL/100 mL/min).

Die folgende Erholungsperiode war charakterisiert durch eine Zunahme des Ruheblutflusses um 23 % auf  $9,0 \pm 2,7$  mL/100 mL/min und des postischämischen

Blutflusses um 32 % auf  $34,0 \pm 7,6$  mL/100 mL/min. Nach der Saisonvorbereitungsphase fielen beide Blutflusswerte wieder auf das Studienausgangsniveau vom Saisonende zurück.

### 5.1.3 Erhöhte Endothel- und Immunfunktion in der Erholung

Die Erholungsphase war gekennzeichnet durch eine signifikante Erhöhung des Nitratspiegels als Ausdruck einer erhöhten Freisetzung von NO infolge erhöhter iNOS Aktivität im Endothel. Die parallel beobachtete signifikante Mobilisierung und Zunahme der Leukozyten, und dabei insbesondere der neutrophilen Granulozyten, deutet auf die Freisetzung von G-CSF hin. Auch die IL-8-Spiegel im Vollblut nahmen signifikant während Erholungsphase zu. Da gleichzeitig kein Anstieg des CRP als auch des IL-6-Spiegels beobachtet wurde, deutet dies auf eine endothelial vermittelte IL-8-Sekretion während der Erholung hin, was zur Leukozytenrekrutierung und Aktivierung am Endothel führt. Unter Beachtung einer möglichen gegenregulatorischen endothelialen Kompensationsreaktion zur Verhinderung von „reperusionsbedingten“ Gefäßstress zeigten die Abbauprodukte des Stressproteins Ho-1, Bilirubin und indirekt Ferritin, einen signifikanten Anstieg.

Die nachfolgende trainingsintensive Vorbereitungsphase zeigte einen gegensätzlichen Verlauf, d.h. einen Rückgang des Nitrats und der Leukozyten bei Normalisierung des IL-8-Spiegels ( $r = 0,83$ ;  $P = 0,02$ ) sowie der Bilirubin und Ferritinkonzentration bis hin zum Ausgangsniveau vom Saisonende.

## 5.2 Die Belastbarkeit von Nierentransplantationspatienten – Publikation (2)

Der initiale BMI der Patienten war  $23,7 \pm 4,2$  kg/m<sup>2</sup> und erreichte einen Monat nach der Transplantation den geringsten Wert von  $22,9 \pm 4,3$  kg/m<sup>2</sup> ( $P < 0,01$ ). Im weiteren Verlauf kam es zu einer Zunahme des BMI und Erreichen des Ausgangswertes nach zwölf Monaten auf  $24,0 \pm 4,5$  kg/m<sup>2</sup>.

Nach der Transplantation zeigten sich weiterhin deutliche und konsistente Veränderungen in der Körperzusammensetzung zu den Studienzeitpunkten von einem, drei und zwölf Monaten. Es fand eine stetige und signifikante Zunahme der Fettmasse von  $26,6 \pm 11,2$  % bis auf  $31,2 \pm 11,2$  % ( $P < 0,01$ ) nach zwölf Monaten statt, bei gleichzeitiger Reduktion der fettfreien Masse von  $69,1 \pm 10,3$  % auf  $66,3 \pm 10,7$  % ( $P < 0,01$ ).

Spiroergometrisch zeigten die Patienten sowohl nach einem als auch drei Monaten nach der Transplantation eine deutlich reduzierte Belastbarkeit hinsichtlich der VO<sub>2</sub>-max. ( $23,2 \pm 6,0$  vs.  $17,6 \pm 5,1$  vs.  $18,1 \pm 5,3$  mL/min/kg;  $P < 0,001$ ) und erreichten erst nach zwölf Monaten ihre Ausgangsbelastbarkeit ( $23,6 \pm 6,5$  mL/min/kg). Die VO<sub>2</sub> max./fettfreie Masse,

als ein Parameter der Muskelqualität, zeigte einen identischen Verlauf. So reduzierte sich die  $\text{VO}_2 \text{ max./fettfreie Masse}$  von 31,9 (IQR 11,8) mL/min/kg auf ein Minimum von 26,1 (IQR 12,2) mL/min/kg ( $P < 0,001$ ) nach einem Monat und erreichte nach zwölf Monaten 34,4 (IQR 12,5) mL/min/kg.

Die Atemeffizienz  $\text{VE/VCO}_2\text{-slope}$  erreichte drei Monate nach der Transplantation wieder das Ausgangsniveau ( $31,4 \pm 6,7$  vs.  $31,6 \pm 5,6$ ) und nach zwölf Monaten eine signifikante Verbesserung ( $31,4 \pm 6,7$  vs.  $28,7 \pm 3,3$ ;  $P = 0,03$ ).

### **5.3 Absoluter und funktioneller Eisenmangel bei Spitzensportlern während Erholungs- und Belastungsphasen – Publikation (3)**

Das Speichereisen Ferritin spielt eine zentrale Rolle in der Beurteilung und Klassifizierung von Eisenmangelzuständen bis hin zur Anämie. Am Saisonende fanden wir einen absoluten Eisenmangel bei 27 % und einen funktionellen Eisenmangel bei 70 % der untersuchten Sportler. Ein Sportler war gemäß den WHO-Kriterien anämisch und erhielt eine orale Eisensubstitution im Studienverlauf. Dieser Sportler wurde in der weitergehenden statistischen Ergebnisauswertung nicht mehr berücksichtigt.

Weiterhin zeigten 30 % der Athleten am Saisonende eine pathologische oder grenzwertig niedrige Transferrinsättigung von  $< 20$  %.

Initial zeigten die Fußballer signifikant geringere Ferritinwerte als die Ruderer, jedoch verschwanden diese Unterschiede im weiteren Studienverlauf.

Im Studienverlauf zeigten die Fußballer einen signifikanten Anstieg des Serumferritinspiegels während der Erholungsphase. Nach der Saisonvorbereitungsperiode fiel das Speichereisen zurück auf das Ausgangsniveau vom Saisonende. Athleten mit einem absoluten Eisenmangel zeigten eine leichte Erhöhung des Speichereisens während der Erholungsphase verbunden mit einer erneuten Reduktion nach der Saisonvorbereitung. Die Sportler mit einem funktionellen Eisenmangel zeigten keine Veränderungen der Ferritinwerte über den Studienverlauf.

Der primär leistungsrelevante Parameter Hämoglobin war bei den Ausdauerathleten erwartungsgemäß konsistent höher als bei den Fußballspielern. Jedoch zeigten 10 % der Sportler beider Gruppen Anzeichen einer Anämie mit Hämoglobinwerten unterhalb der WHO-Norm bzw. innerhalb einer hierauf bezogenen Spanne von 5 %.

Zum Teil hochsignifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen zeigten sich in der Betrachtung der hämatologischen Indizes MCH, MCHC und MCV. Generell reduzierten sich die Indizes zwar während der Erholungsphase und stiegen nach der Vorbereitungsperiode in

beiden Gruppen. Die Fußballspieler zeigten jedoch konsistent und hochsignifikant niedrigere MCH-Werte als die Ruderer, zum Teil am unteren Normbereich am Ende der Erholungsperiode. Ein ähnliches Bild zeigte sich für das MCV. Bei annähernd gleichen Ausgangswerten nahm das mittlere corpuskuläre Volumen der Fußballspieler während der Urlaubsphase signifikant bis in den unteren Normbereich ab, gefolgt von einem erneuten Anstieg während der Saisonvorbereitung.

## **6 Diskussion**

### **6.1 Einfluss von Training und Erholung auf die Körperzusammensetzung, vaskuläre Funktion und Immunsystem – Publikation (1)**

Die Bedeutung von Regenerations- und Trainingsphasen für die Belastung und Beanspruchung eines Sportlers in der Trainingskonzeptionierung sind hinlänglich bekannt. Gewisse (patho-) physiologische Prozesse und Mechanismen sind gerade im Hinblick auf immunologische und vaskuläre Funktionen jedoch nur unzureichend untersucht. Aufgrund der zunehmenden Globalisierung und Vermarktung von Sportarten verlängern sich die Belastungsphasen während die Erholungsperioden kürzer werden. Daher stellt sich die Frage einer nachhaltigen Regeneration und deren Wirkung auf den Organismus.

Im Rahmen dieser longitudinalen Arbeit konnte gezeigt werden, dass sowohl die Belastungs- als auch Regenerationsphasen einen erheblichen Einfluss auf das Immun- und vaskuläre System haben. Es bleibt zu diskutieren, ob die kurze Erholungsphase der Sportler ausreichend lang ist, um einer erneuten Belastung dauerhaft ausgesetzt zu sein, ohne Leistungseinbußen oder vermehrte Verletzungen oder Krankheiten zu riskieren.

Die Erholungsphase war durch eine – zu erwartende – Zunahme von Fettmasse, aber auch durch einen unerwartet hohen und schnellen Verlust von fettfreier Masse, und hierbei im Wesentlichen Muskelmasse, charakterisiert. Metabolisch wurde dieser Prozess durch einen signifikanten Anstieg des Serumkreatinins gestützt. Weiterhin führte dieser katabole Stoffwechsel zu einer vermehrten immunologischen Aktivierung durch Leukozytenmobilisierung sowie IL-8-Freisetzung und einer erhöhten peripheren Durchblutung. Obwohl dieser Muskelmassenverlust reversibel war, stellt sich die Frage nach der Ursache und den Wirkungen. Beschreibt dieser Vorgang einen für Fußballer physiologischen Prozess bei dem durch das vorwiegend schnelligkeitsorientierte Training gesunde Muskelzellen schnell abgebaut werden, wenn der Trainingsreiz wegfällt? Oder findet in der belastungsfreien Zeit durch einen „Repair-Mechanismus“ ein Abbau zerstörter oder

inaktiver Muskelzellen statt, welcher vorher durch die anfallenden Belastungen unterdrückt wurde? Übernimmt das Immunsystem oder das Endothel dabei die Schrittmacherfunktion?

Ein dominanter Leistungsfaktor im Fußball ist die Schnelligkeit [22]. Dementsprechend besitzt die Muskulatur professioneller Fußballer einen hohen Anteil an phasischen Fasern, in der Regel ein FTO- bzw. FTG-Faserspektrum [23]. Daher findet oftmals ein schneller Abbau der Muskelfasern während Inaktivitätsphasen statt. Dem steht jedoch der erhöhte Kreatininspiegel gegenüber.

Kreatinin entsteht durch eine nicht-enzymatische Dehydrierung von muskulärem Kreatin. Das in der Muskulatur gespeicherte Kreatin und Kreatinphosphat liefert durch die Spaltung des Phosphatrestes die chemische Energie zur Muskelkontraktion für die mechanische Muskelarbeit.

Für die Größe des Kreatininspeichers ist die Muskelmasse maßgeblich. Weil diese bei Sportlern größer ist als bei der Normalbevölkerung, haben erste oftmals höhere Kreatininwerte als zweite. Auffällig ist jedoch, dass die Sportler in dieser Arbeit die höchste Kreatininkonzentration zum Zeitpunkt der geringsten Muskelmasse am Ende der Erholungsphase aufwiesen. Bei gesunden Menschen werden ca. 1,5-2 % des Kreatins in Kreatinin umgewandelt. Da dies zu 98 % in der Muskulatur gespeichert wird, induziert eine Erhöhung des Kreatininspiegels eine gesteigerte Proteinsynthese in den Muskeln. Der beobachtete Muskelmassenverlust während der Erholungsphase könnte daher aus einer Verstoffwechslung von zerstörten oder inaktiven Muskelzellen resultieren und sich in einer gesteigerten Immunreaktion und Durchblutung zeigen.

Die Endothelzellaktivierung mittels iNOS scheint durch die erhöhten Nitratwerte gestützt und lässt auf eine gesteigerte NO-Synthese schließen. Dies resultiert in einem erhöhten peripheren Blutfluss, z.T. bedingt durch eine stickstoffinduzierte Erweiterung der Gefäßwände zur Versorgung des Entzündungsherdes mit anti-inflammatorischen Stoffen.

Diese anti-entzündlichen Stoffe können sowohl Immunzellen als auch NO selbst sein.

Neueren Studien zufolge besitzt NO zellprotektiven Charakter und schützt insbesondere vor oxidativ vermitteltem Stress. Bei einer direkten Reaktion mit NO werden Sauerstoff- und Hydroxyradikale neutralisiert und damit weiteren Reaktionen entzogen. Weiterhin induziert NO u.a. die Expression von HO1 (HSP32), ebenfalls ein antioxidativ und anti-entzündlich wirkendes Protein.

Daher könnte diskutiert werden, dass der ablaufende Entzündungsprozess nicht einen „Repair-Mechanismus“ darstellt, sondern rein oxidativ verursacht wird. Durch die fehlende Belastung in der Erholungsphase wird weniger Sauerstoff verbraucht und es verbleibt mehr

Sauerstoff im Gewebe. In der Folgereaktion Oxidant-Antioxidant kommt es zu einer Schädigung von lokalem Muskelgewebe. Dem folgt ein Entzündungsprozess und dies führt zu der verbesserten Durchblutung. Da IL-8 in seiner Eigenschaft als Chemokin sowohl von Fibroblasten als auch von Endothelzellen produziert werden kann und insbesondere auf neutrophile Granulozyten wirkt, könnte dies die beobachtete Immunreaktion erklären.

Insbesondere die immunologischen Parameter weisen auf eine lokale endothelvermittelte Entzündungsreaktion hin, da parallel die klassischen Inflammationsmarker CRP und IL-6 unauffällig blieben.

Daher weisen die Ergebnisse auf eine primäre Schrittmacherfunktion des Endothels hin. In weiteren Studien mit einer deutlich größeren Population müssten diese Ergebnisse und Interpretationen überprüft werden, um differenziertere und trainingsrelevante Aussagen liefern zu können.

## **6.2 Die Belastbarkeit von Nierentransplantationspatienten – Publikation (2)**

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Organismus von Patienten nach einer Lebendnierenspende eine lange Regenerationszeit von bis zu zwölf Monaten nach der Transplantation aufweist. Dies betrifft im Wesentlichen die Belastbarkeit der Patienten aber auch die Körperzusammensetzung. Bereits in früheren Studien konnte eine Beeinflussung der Leistungsfähigkeit nach einer Nierentransplantation gezeigt werden [24, 25]. Weiterhin ist bekannt, dass die  $VO_2$ -max. maßgeblich von der fettfreien Masse beeinflusst wird [26]. Daher ist es nicht erstaunlich, dass die Leistungsfähigkeit der Patienten im Studienverlauf abnahm, besonders in der frühen Phase nach der Transplantation.

Überraschend war jedoch, dass die Patienten erst zwölf Monate später wieder ihr Ausgangsniveau erreicht haben, obwohl es sich um eine positiv selektierte Kohorte (wenig Begleiterkrankungen, Lebendspende) gehandelt hat. Dabei scheint der temporäre Rückgang der Leistungsfähigkeit, verbunden mit dem Verlust der fettfreien Masse, nicht nur ein rein postoperativ adaptativer Vorgang zu sein, da scheinbar auch die Qualität des Muskels beeinflusst wird. Dies wird deutlich, da die Patienten zwölf Monate später eine gleich hohe bzw. höhere  $VO_2$  max. bei geringerer fettfreier Masse erreichten. Die Sauerstoffaufnahme bzw. der Verbrauch während Belastung wird maßgeblich durch die fettfreie Masse bestimmt; dies ist im Wesentlichen die Muskulatur. Daher könnte die Sauerstoffaufnahme pro kg fettfreie Masse eine Aussage über die Muskelqualität liefern. Die Mechanismen hierfür sind noch unklar. Denkbar wäre eine Veränderung innerhalb des Muskelfaserspektrums hin zu Typ IIA Fasern [27] aber auch eine bessere mitochondriale Sauerstoffverwertung [28].

### **6.3 Absoluter und funktioneller Eisenmangel bei Spitzensportlern während Erholungs- und Belastungsphasen – Publikation (3)**

Aufgrund ihrer intensiven körperlichen Belastungen sind Leistungssportler anfällig für einen Eisenmangel, eine der häufigsten metabolischen Dysfunktionen weltweit. Ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Eisenspeicher, Eisenstoffwechsel und der Leistungsfähigkeit liegt nahe, da Eisen ein funktioneller Bestandteil des Hämoglobins bzw. des Myoglobins ist und somit maßgeblich die Sauerstoffaufnahme, den Sauerstofftransport und die Energiebereitstellung der Muskulatur beeinflusst. Das Protein Ferritin steht hierbei in seiner Funktion als Depoteisen an erster Stelle in der Beurteilung des Eisenspeichers. Dennoch ist die wissenschaftliche Datenlage bezüglich des Eisenstoffwechsels bei Leistungssportlern inkonsistent. So wurden hohe Ferritinwerte (Ferritin > 200 µg/L) besonders bei professionellen Rad- und Skifahrern gemessen [29, 30], während andere Studien normale Ferritinspiegel feststellten (Ferritin 100-150 µg/L) [31, 32, 33]. Eine Untersuchung bei professionellen Fußballspielern stellte grenzwertig niedrige Ferritinspiegel fest [34].

Unsere Untersuchungen bestätigten diese Ergebnisse. Diese Arbeit zeigte, dass nach aktuell etablierten Normbereichen und Grenzwerten 27 % der untersuchten Spitzensportler einen absoluten Eisenmangel aufwiesen. Nach Maßgabe von Grenzwerten, die in hochpublizierten Interventionsstudien bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zugrunde gelegt wurden [20, 21], hatten 70 % der untersuchten Athleten einen funktionellen Eisenmangel. Weiterhin zeigte die Erholungsphase keine suffiziente regenerative Wirkung auf den Eisenspeicher und Eisenstoffwechsel.

Unsere Ergebnisse zeigten, dass der Eisenstoffwechsel trotz seiner Relevanz für die Belastbarkeit und Leistungsfähigkeit bei Spitzensportlern in der Praxisarbeit schlecht untersucht und wenig beachtet wird. Die Praktikabilität und Anwendbarkeit von kliniketablierten Referenzbereichen [35, 36] muss hierbei diskutiert werden, da vielfältige Einflussfaktoren vorhanden sind und Eisenmangelsymptome wie Konzentrationsschwäche, Kopfschmerzen oder schnelle Ermüdung bereits auf subklinischem Niveau auftreten können. Diese können sowohl die aktuelle Leistungsfähigkeit als auch die Regeneration nach akuter Belastung beeinträchtigen; dies auch ohne eine Störung in der Erythropoese.

Eine signifikante Verbesserung hinsichtlich der Belastbarkeit und Belastungstoleranz nach Eisensubstitution wurde diesbezüglich kürzlich bei nichtanämischen Sportlern und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz gezeigt. [37, 21]. Interessanterweise ging diese Leistungsverbesserung nicht mit einer Verbesserung des Hämoglobinspiegels einher. Aufgrund der hohen Belastungen sind Sportler anfällig für muskuläre oder gastrointestinale

Verletzungen mit entsprechenden Einblutungen und immunologischer Reaktion. Beide können den Ferritinspiegel beeinflussen, da durch die Einblutungen mehr Eisen aus dem zirkulierenden System entzogen und mehr Speichereisen verbraucht wird [38]. Im Rahmen von Inflammationsprozessen spielt Ferritin ebenfalls eine große Rolle als akute Phase Protein und kann daher bei kleineren Verletzungen falsch hohe Eisenspeicherwerte anzeigen [39]. Nach Befragung der Athleten gab es jedoch keine Anzeichen von gastrointestinalen Problemen und möglicherweise daraus resultierenden Eisenresorptionsstörungen. Die bestimmten CK-Werte zeigten ebenfalls keine Anzeichen von Muskelzerstörung. Dies spiegelte sich auch parallel in den nicht erhöhten systemischen Inflammationsparametern CRP und IL-6 wider, lediglich das IL-8 war bei den Fußballspielern nach der Erholungsphase erhöht. Anders als IL-6, dem wichtigsten Mediator in der akute Phase Reaktion, wirkt IL-8 vorwiegend chemotaktisch und scheint, wie in Publikation 1 gezeigt, primär lokal-endothelial stimuliert und sezerniert zu sein.

Auch wenn die Erholungsphase keinen nennenswerten Einfluss auf den Eisenspeicher gehabt zu haben scheint, so können wir einen Einfluss verschiedener Trainings- und Belastungsinhalte nicht ausschließen, da die Fußballspieler konsistent niedrigere Depoteisenspeicher zeigten als die Ausdauersportler. Der Ernährungseinfluss (Vegetarismus) auf den Eisenmetabolismus ist hinlänglich bekannt. Da von der vereinsmedizinischen Seite keine spezielle Ernährungsrestriktion bestand, ist von einer einheitlichen, normal gesunden Mischkost auszugehen. Im Zusammenhang mit Aussagekraft des Eisenstoffwechsels hinsichtlich der Hämoglobinbildung wird oft der Einfluss von möglichen Plasmavolumenveränderungen des Blutes diskutiert. Diese meist invasive Messung ist jedoch personen- und zeitintensiv sowie in den meisten Fällen mit der Nutzung radioaktiv behafteter Marker verbunden und daher für unsere Population nicht vermittelbar. Ein Einfluss des Plasmavolumens auf unsere Ergebnisse kann daher nicht vollständig ausgeschlossen werden. Aufgrund der 24stündigen Belastungspause vor unseren Messungen konnten jedoch extreme Volumenveränderungen (Schweißverlust, Flüssigkeitszufuhr) ausgeschlossen werden. Weiteren Studien mit einer größeren Probandenanzahl bliebe es vorbehalten, den Belastungseinfluss auf die Muskulatur und den Eisenstoffwechsel zu untersuchen, da dies in der Sportpraxis augenscheinlich unzureichend etabliert ist.

## Literaturverzeichnis

- 1 Wienecke E. (1998): Patient Bundesliga. LebensbaumVerlag, Bielefeld.
- 2 Poveda J. J., Rientra A., Salas E. et al. (1997): Contribution of nitric oxide to exercise induced changes in healthy volunteers; effects of acute exercise and long-term physical training. European Journal of Clinical Investigation; 27; 967-971.
- 3 Wagener F. A. D. T. G., Volk H.-D., Willis D. et al. (2003): Different Faces of the Heme-Heme Oxygenase System in Inflammation. Pharmacol Rev., September; 55 (3): 551-71.
- 4 Scott A., Khan K. M., Roberts C. R. et al. (2004): What do we mean by the term "inflammation"? A contemporary basic science update for sports medicine. British Journal Sports Medicine; 38: 372-380.
- 5 Thomas L. (2005): Labor und Diagnose. TH-Books Verlagsgesellschaften, Frankfurt/Main.
- 6 Gueler F., Park J-K., Rong S. et al. (2007): Statins Attenuate Ischemia-Reperfusion Injury by Inducing Heme Oxygenase-1 in Infiltrating Macrophages. Am J Pathology, 170, 4, 1192-1199.
- 7 Niess A. M., Passek F., Lorenz I. et al. (1999): Expression of antioxidant stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) in human leukocytes. Free Radic Biology Medicine, 2, S. 184-192.
- 8 Nath KA, Grande JP, Haggard JJ. et al. (2001): Oxidative stress and induction of heme oxygenase-1 in the kidney in sickle cell disease. Am J Pathol., 158:893–903.
- 9 Yet SF, Tian R, Layne MD et al. (2001): Cardiac-specific expression of heme oxygenase-1 protects against ischemia and reperfusion injury in transgenic mice. Circ Res, 89:168–173.
- 10 Adin CA, Croker BP, Agarwal A (2005): Protective effects of exogenous bilirubin on ischemia-reperfusion injury in the isolated, perfused rat kidney. Am J Physiol, 288:778–784.
- 11 Dunn LL., Rahmanto YS., Richardson DR. (2007): Iron uptake and metabolism in the new millennium. Trends Cell Biol; 17; 93-100.

- 12 Fairbanks V., Beutler E. (2001): Iron deficiency. In: Beutler E, ed. Williams hematology. 6<sup>th</sup> ed. New York: Mc Graw-Hill; 295-304, 447-70.
- 13 Haas J.D., Brownlie T. IV. (2001): Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. J Nutr.; 131; Suppl 2; 676-688.
- 14 Otte J.A., Oostveen E., Geelkerken R.H. et al. (2001): Exercise induces gastric ischemia in healthy volunteers: a tonometry study. J Appl Physiol; 91(2): 866-71.
- 15 Banfi G., Di Gaetano N., Lopez R.S. et al. (2007): Decreased mean sphered cell volume values in top-level rugby players are related to the intravascular hemolysis induced by exercise. Lab Hematol.; 13(3):103-7.
- 16 Peeling P., Dawson B., Goodman C. et al. (2009): Cumulative effects of consecutive running sessions on hemolysis, inflammation and hepcidin activity. Eur J Appl Physiol.; 106(1):51-9.
- 17 Telford R.D., Sly G.J., Hahn A.G. et al. (2003): Footstrike is the major cause of hemolysis during running. J Appl Physiol.; 94(1):38-42.
- 18 DeRuisseau KC, Chevront SN, Haymes EM. et al. (2002): Sweat iron and zinc losses during prolonged exercise. Int J Sport Nutr Exerc Metab; 12(4):428-37.
- 19 Haymes E.M., Lamanca J.L. (1989): Iron loss in runners during exercise : implications and recommendations. Sports Med; 7; 277-85.
- 20 Okonko D.O., Grzeslo A., Witkoswki T. et al. (2008): Effect of Intravenous Iron Sucrose on Exercise Tolerance in Anemic and Nonanemic Patients with Symptomatic Chronic Heart Failure and Iron Deficiency. J Am Coll Cardiol.; 15; 51(2):103-12.
- 21 Anker SD., Colet JS., Filippatos G. et al. (2009): Ferric Carboxymaltose in Patients with Heart Failure and Iron Deficiency. N Engl J Med.; 361.
- 22 Kindermann W., Gabriel H., Coen B. et al (1993). Sportmedizinische Leistungsdiagnostik im Fußball. Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin; 44;6: 232-244.
- 23 Coen B, Urhausen A., Coen G. (1998): A soccer specific fitness score. Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin; 49; 6: 187-192.

- 24 Painter PL, Hector L, Ray K et al. (2002): A randomized trial of exercise training after renal transplantation. *Transplantation*; 74: 42–48.
- 25 Armstrong K, Rakhit D, Jeffriess L et al. (2006): Cardiorespiratory fitness is related to physical inactivity, metabolic risk factors, and atherosclerotic burden in glucose-intolerant renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*; 1: 1275–1283.
- 26 Weiss EP, Racette SB, Villareal DT. et al. (2007): Lower extremity muscle size and strength and aerobic capacity decrease with caloric restriction but not with exercise-induced weight loss. *J Appl Physiol.*; 102(2):634-40.
- 27 Topp KS, Painter PL, Walcott S et al. (2003): Alterations in skeletal muscle structure are minimized with steroid withdrawal after renal transplantation. *Transplantation*; 76: 667–673.
- 28 Matsumoto N, Ichimura S, Hamaoka T et al. (2006): Impaired muscle oxygen metabolism in uremic children: improved after renal transplantation. *Am J Kidney Dis*; 48: 473–480.
- 29 Lippi G, Schena F, Franchini M et al. (2005): Serum ferritin as a marker of potential biochemical iron overload in athletes. *Clin J Sport Med.*; 15(5):356-8.
- 30 Zotter H, Robinson N, Zorzoli M et al. (2004): Abnormally high serum ferritin levels among professional road cyclists. *Br J Sports Med.*; 38(6):704-8.
- 31 Schumacher Y.O., Schmid A., Grathwohl D. et al. (2002): Hematological indices and iron status in athletes of various sports and performances. *Med Sci Sports Exerc.*; 34(5):869-75.
- 32 Schumacher Y.O., Schmid A., König D. et al. (2002): Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. *Br J Sports Med.*; 36(3):195-9.
- 33 Malcovati L., Pascutto C., Cazzola M. (2003): Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica.*; 88(5):570-81.
- 34 Ostojic S.M., Ahmetovic Z. (2008): Indicators of iron status in elite soccer players during the sports season. *Int J Lab Hematol.*; 31(4):447-52.
- 35 Thomas L. (2005): Labor und Diagnose. 6. Auflage; Frankfurt / Main; Germany.

36 Laborlexikon, e-Journal für Labormedizin, ISSN 1860-966X für Ferritin.

37 Hinton PS, Sinclair LM. (2007): Iron supplementation maintains ventilatory threshold and improves energetic efficiency in iron-deficient nonanemic athletes. Eur J Clin Nutr.; 61(1); 30-9.

38 Peters HP, De Vries WR, Vanberge-Henegouwen GP. (2001): Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. Gut.;48(3):435-9.

39 Beard J.L. (2001): Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. J Nutr.; 131: Suppl 2: 568-579.

## Anteilerklärung

### Publikation 1:

**Reinke S**, Karhausen T, Doehner W, Taylor WR, Hottenrott K, Duda GN, Reinke P, Volk HD, Anker SD. *PLoS ONE*. 2009;4(3):e4910. Epub 2009 Mar 18.

#### Anteil: 80%

- Planung (incl. Ethikantrag) und Durchführung der Studie
- Rekrutierung der Probanden
- Methodische Durchführung (Blutentnahmen, Plethysmographie)
- Statistische Auswertung, Interpretation und graphische Darstellung der Daten
- Erstellung des Manuskriptes und Begleitung im Begutachtungsprozess

### Publikation 2:

Hadedank D, Kung T, Karhausen T, von Haehling S, Doehner W, Schefold JC, Hasper D, **Reinke S**, Anker SD, Reinke P. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 Dec;24(12):3854-60. Epub 2009 Sep 7.

#### Anteil: 10%

- Durchführung und Auswertung der Spiroergometrie
- Beteiligung an der Diskussion bei der Publikationsentstehung

### Publikation 3:

**Reinke S**, Taylor WR, Duda GN, Haehling S, Reinke P, Volk HD, Anker SD, Doehner W. *Int J Cardiol*. 2010 Dec 7.

#### Anteil: 80%

- Planung (incl. Ethikantrag) und Durchführung der Studie
- Rekrutierung der Probanden
- Statistische Auswertung, Interpretation und graphische Darstellung der Daten
- Erstellung des Manuskriptes und Begleitung im Begutachtungsprozess

Simon Reinke

(Promovend)

(betreuender Hochschullehrer)

## **Ausgewählte Publikationen**

### **Publikation 1:**

**Reinke S**, Karhausen T, Doehner W, Taylor WR, Hottenrott K, Duda GN, Reinke P, Volk HD, Anker SD.

*The Influence of Recovery and Training Phases on Body Composition, Peripheral Vascular Function and Immune System of Professional Soccer Players.*

PLoS ONE. 2009;4(3):e4910. Epub 2009 Mar 18.

Impact Factor: 4.351

### **Publikation 2:**

Habedank D, Kung T, Karhausen T, von Haehling S, Doehner W, Schefold JC, Hasper D, **Reinke S**, Anker SD, Reinke P.

*Exercise capacity and body composition in living-donor renal transplant recipients over time.*

Nephrol Dial Transplant. 2009 Dec;24(12):3854-60. Epub 2009 Sep 7.

Impact Factor: 3.306

### **Publikation 3:**

**Reinke S**, Taylor WR, Duda GN, Haehling S, Reinke P, Volk HD, Anker SD, Doehner W.

*Absolute and Functional Iron Deficiency in Professional Athletes During Training and Recovery*

Int J Cardiol. 2010 Dec 7. [Epub ahead of print]

Impact Factor: 3.469

## **Lebenslauf**

Der Lebenslauf ist aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht einsehbar.

## Komplette Publikationsliste

### Publikationen

**Reinke S**, Karhausen T, Doehner W, Taylor WR, Hottenrott K, Duda GN, Reinke P, Volk HD, Anker SD.

*The Influence of Recovery and Training Phases on Body Composition, Peripheral Vascular Function and Immune System of Professional Soccer Players.*

PLoS ONE. 2009;4(3).

Impact Factor: 4.351

Habedank D, Kung T, Karhausen T, von Haehling S, Doehner W, Schefold JC, Hasper D, **Reinke S**, Anker SD, Reinke P.

*Exercise capacity and body composition in living-donor renal transplant recipients over time.*

Nephrol Dial Transplant. 2009; 24(12):3854-60.

Impact Factor: 3.306

**Reinke S**, Taylor WR, Duda GN, Haehling S, Reinke P, Volk HD, Anker SD, Doehner W.

*Absolute and Functional Iron Deficiency in Professional Athletes During Training and Recovery*

Int J Cardiol. 2010 Dec 7. [Epub ahead of print]

Impact Factor: 3.469

### Vorträge

**Reinke S.**, Taylor W. R., Karhausen T., Doehner W., Hottenrott K., Duda G., Reinke P., Volk H.D., Anker S.D.

*The influence of recovery and training phases on body composition, peripheral vascular function and immune system of professional soccer players.*

European Society of Biomechanics (ESB): "Movement Biomechanics and Sport". 2009, ETH Zürich.

**Reinke S.**, Taylor W. R., Karhausen T., Doehner W., Hottenrott K.,  
Duda G., Reinke P., Volk H.D., Anker S.D.

*Der Einfluss von Erholungs- und Trainingsphasen auf die  
Körperzusammensetzung, die Durchblutung und die Immunfunktion bei  
Fußballspielern der 1. Fußballbundesliga.*

Deutsche Gesellschaft für Sportmedizin und Prävention (DGSP):  
40. Deutscher Sportärztekongress "Sportmedizin - zwischen  
Leistungssport und Klinischer Medizin". 2007, Köln.

**Poster**

**Reinke S.**, Taylor W. R., Singh NB, Schwachmeyer V., Volk H.D.,  
Duda G.

*Die Beurteilung des Heilungsverlaufes nach proximaler Tibiafraktur -  
Etablierung eines quantitativen Parameters zur Charakterisierung des  
Frakturheilungsstatus auf Basis funktioneller-, biochemischer- und  
immunologischer Ebene.*

Berlin-Brandenburg Center of Regenerative Medicine (BCRT) -  
Retreat, 2009 Berlin.

**Selbstständigkeitserklärung:**

„Ich, Simon Reinke, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Einfluss von Belastungsstress und Erholung auf die Körperzusammensetzung, das Immunsystem, die vaskuläre Funktion und den Eisenstoffwechsel bei Spitzensportlern“ Selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

.....

Datum

.....

Unterschrift

## Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Stefan Anker für Betreuung während des Promotionsprozesses. Er war an der Entwicklung der Fragestellungen beteiligt, begleitete den gesamten Entstehungsprozess und ohne seine finanziellen Ressourcen sowie organisatorische Unterstützung, wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Weiterhin danke ich der gesamten AG Angewandte Kachexieforschung für die schöne Zeit des Zusammenarbeitens.

Hervorheben möchte ich jedoch Dr. Tim Karhausen für die Einarbeitung in die Untersuchungsmethoden, Prof. Dr. Doehner sowie Dr. William Taylor für ihre rege Diskussionsbereitschaft bezüglich der Interpretation der Daten. Dies war für die Qualität der Arbeit von großer Bedeutung.

Mein größtes Dankeschön gilt aber zweifelsohne meiner Familie. Ich kann den Wert eurer persönlichen und fachlichen Unterstützung in der ganzen Zeit nicht annähernd beschreiben. Es war immer möglich, auch wenn die Zeit noch so knapp war, inhaltliche Fragen und Probleme zu besprechen und Lösungsansätze zu finden. Eure Kreativität in der Sicht auf die jeweiligen Dinge und vor allem euer Vertrauen, hat mich immer wieder inspiriert und vorangetrieben. Auch waren eure aufmunternden Worte stets Balsam für die Seele und Motivation zugleich. Ich habe euch sehr lieb.

Meinem Bruderherz danke ich für die objektive und rationale sprachliche Korrektur des Manuskripts.

Last but not least geht ein großes Dankeschön an meine Freundin Katrin. Deine Liebe und dein Vertrauen in mich, deine Schulter in schwierigen Momenten sowie dein großes Herz, haben mich in diesem langen Prozess maßgeblich geprägt und die Qualität der Arbeit daher erheblich beeinflusst.