

**Aus der Ambulanz für Sportmedizin der  
Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin**

**DISSERTATION**

**„Immunologische Veränderungen nach 160 km Ultramarathon“**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lea Ronja Lyko  
aus Luckau

Datum der Promotion: 18.09.2020

# Inhalt

Abkürzungen .....	1
Abstrakt .....	3
Abstract .....	4
1. Einleitung.....	6
1.1 Ultramarathon.....	6
1.1.1 Definition .....	6
1.1.2 Teilnehmer: Charakteristik und Zahlen .....	6
1.2 Wissenschaftliches Interesse an Ultramarathons.....	7
1.3 Der Mauerweglauf Berlin .....	9
1.4 Zielsetzung und Relevanz .....	9
1.5.1 Blutbildveränderungen .....	10
1.5.2 Zytokinveränderungen .....	11
1.5.3 Infektanfälligkeit .....	15
1.5.3 Gastrointestinale Symptome .....	17
1.5.4 Typ 1 und Typ 2 Immunantwort .....	17
2. Hypothesen .....	19
3. Methoden.....	20
3.1 Probandenrekrutierung.....	20
3.2 Studiendesign.....	20
3.2.1 Fragebögen.....	21
3.3 Wettlaufsituation und Untersuchung im Zielbereich .....	21
3.4 Labor .....	22
3.4.1 Blutprobenentnahme und Präanalytik .....	22
3.4.2 Messung der Zytokine .....	22
3.4 Datenanalyse.....	24
4. Ergebnisse.....	26
4.1 Kohorte.....	26
4.2 Beschreibung des Zytokinprofils.....	27
4.3 Beschreibung der Blutbildveränderungen .....	29

4.4 Weitere Laborwerte (CK, CRP, kardiale Marker).....	29
4.5 Fragebögen .....	30
4.6 Korrelationen .....	32
5. Diskussion .....	32
5.1 Angestiegene Parameter nach dem Lauf .....	32
5.2 Zusammenhang MCP-1 und IL-10 .....	33
5.3 Anstieg IL-4 und Zusammenhang mit CRP .....	34
5.4 Zusammenhang IL-10 und Basophile.....	35
5.5 T2-Shift.....	35
5.6 Ergebnisse der Fragebögen .....	36
5.6.1 Atemwegsinfekte.....	36
5.6.2 Gastrointestinale Beschwerden .....	38
5.7 Kritische Bewertung der Ergebnisse .....	38
5.8 Schlussfolgerungen und Ausblick.....	40
6. Literaturverzeichnis .....	42
Eidesstattliche Versicherung .....	56
Publikationsliste .....	57
Lebenslauf .....	58
Danksagung .....	58

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Häufigkeiten der angegebenen Laufjahre (mit regelmäßigem Laufen an mindestens 3 Tagen/Woche) vor erstem Ultramarathon (7) .....	7
Abbildung 2: Anzahl der Finisher des Mauerweglaufes (19) .....	9
Abbildung 3: Mögliche Effekte von aus dem Muskel freigesetztem IL-6 bei körperlicher Belastung (43) .....	14
Abbildung 4: Scatterplots zu den Zytokinveränderungen (2016) .....	28
Abbildung 5: Scatterplots zu den Zytokinveränderungen (2017) .....	28
Abbildung 6: Scatterplots zu Blutbildveränderungen (2016) .....	29
Abbildung 7: Scatterplots zu Laborveränderungen der Marker für Muskelschaden, Entzündung und kardiale Belastung (2016).....	30
Abbildung 8: URTI-Symptome in der Woche nach Lauf, n = 36 .....	31
Abbildung 9: GI-Beschwerden während des Laufes, n = 36.....	32

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Anzahl der Finisher pro Herkunftskontinent der Athleten (übersetzt aus (1))..	7
Tabelle 2: Gemessene Zytokine 2016 und 2017 .....	24
Tabelle 3: Probandeneigenschaften .....	26

# Abkürzungen

EKG	Elektrokardiogramm
Km	Kilometer
SD	Standardabweichung
N	Anzahl
OAWI/URTI	obere Atemwegsinfekte/upper respiratory tract infections
GIB	gastrointestinale Beschwerden
z.B.	zum Beispiel
CRP	C-reaktives Protein
CK	Kreatinkinase
DUV	Deutscher Ultramarathon Verband
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ml	Milliliter
µl	Mikroliter
°C	Grad Celsius
BD	Becton Dickinson (Medizintechnik Unternehmen)
CBA	Cytometric Bead Array
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FCAP	Flow Cytometric Analysis Program
T1	Typ 1
T2	Typ 2
TH	T-Helfer
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GM-CSF	Granulozyten-Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
MCP	Monozyten-chemotaktisches Protein
MIP	Monozyten-inflammatorisches Protein
TNF	Tumornekrosefaktor
MIF	Makrophagen-migrationsinhibierender Faktor
YAG	Yttrium-Aluminium-Granat

WURSS	Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey
KFH%	Körperfettanteil in Prozent
LT	Laktatschwelle
Km/h	Kilometer pro Stunde
cm	Zentimeter
m	männlich
w	weiblich
Ø	Durchschnitt
v	Geschwindigkeit
n.s.	nicht signifikant

# Abstrakt

## Einleitung

Bei Ultraläufen ist der Körper einer extremen Langzeitausdauerbelastung ausgesetzt. Verschiedene Aspekte des Immunsystems wie Anzahl und Funktion der zirkulierenden Immunzellen und Zytokinspiegel im Blut können hiervon beeinflusst werden. Obwohl die Läufer in der Regel gesund und fit sind, können neben erheblichen Blutwertveränderungen auch gesundheitliche Probleme im Zusammenhang mit Ultraläufen beobachtet werden (z.B. gastrointestinale Beschwerden, Infekt oder passagere kardiale Dysfunktion). Ziel der Arbeit ist es, den Einfluss ausgesuchter immunologischer Veränderungen zu untersuchen und eventuelle Zusammenhänge mit Beschwerden der Läufer zu erfassen.

## Methodik

Insgesamt 39 Läufer (vier mit Doppelstart) nahmen in den Jahren 2016 und 2017 im Rahmen der Studie am Berliner Mauerweglauf über 160km teil und wurden zu drei Zeitpunkten untersucht: eine Woche vor dem Wettkampf (PRE), unmittelbar nach Zieleinlauf (POST) und eine Woche nach dem Wettkampf (RE). Die Läufer erhielten eine initiale Leistungsdiagnostik, und es erfolgte zu allen Zeitpunkten eine umfassende Labordiagnostik, mit Zytokinen, Entzündungsmarkern, Blutbild und kardialen Markern. Beschwerden während und nach dem Lauf wurden mittels Fragebögen erhoben.

## Ergebnisse

28 Läufer (Alter 45,4 Jahre  $\pm$  1,51 SE) beendeten das Rennen erfolgreich. Von PRE zu POST wurden beobachtet: signifikante Anstiege von Entzündungs- und Belastungsparametern (CRP, CK, Leukozyten, Monozyten) und pro- bzw. antiinflammatorischen Zytokinen (IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, IFN $\alpha$ 2, IL-4), wobei IL-6 bei allen Läufern die ausgeprägtesten Anstiege zeigte. Die Veränderungen waren RE größten Teils wieder zurückgebildet. Es korrelierten MCP-1 und IL-10 ( $p = 0,0009$ ,  $r = 0,67$ ), die basophilen Granulozyten und IL-10 ( $p = 0,0002$ ,  $r = 0,74$ ), sowie CRP mit IL-4 ( $p = 0,0005$ ,  $r = -0,6933$ ). 30 von 36 Läufern berichteten über gastrointestinale Beschwerden beim Laufen und etwa die Hälfte der Läufer litt nach dem Lauf an oberen Atemwegsbeschwerden.

## **Schlussfolgerung**

Nach 160 km Ultralauf konnten immunologische Veränderungen im Zytokinprofil und Blutbild beobachtet werden, die auf eine deutliche inflammatorische Antwort hinweisen. Es zeichnet sich zudem eine Verlagerung zur Typ-2-Immunantwort ab, welche in Verbindung mit den vermehrt auftretenden Atemwegsinfekten nach dem Lauf stehen könnte.

## **Abstract**

### **Introduction**

During ultramarathons, the body is exposed to intensive and prolonged endurance exercise. Various aspects of the immune system can be affected, like blood cytokine levels and the amount and functionality of circulating immune cells. In addition to significant changes in blood parameters, although runners are generally healthy and fit, health problems associated with ultrarunning can be observed (e.g. gastrointestinal ailments, infection or passages of cardiac dysfunction). The aim of this work is to investigate the influence of selected immunological changes and to detect possible correlations with symptoms of the runners.

### **Methods**

A total of 39 runners (four with double start) took part in the study on the Mauerweglauf Berlin, running over 160km in the years 2016 and 2017. They were examined at three times: one week before the competition (PRE), immediately after the finish line (POST) and one week after the competition (RE). The runners received an initial performance diagnosis and a comprehensive laboratory test with cytokines, inflammatory markers, and cardiac markers was conducted at PRE, POST and RE. Complaints during and after the run were collected through questionnaires.

### **Results**

28 runners (age 45.4 years  $\pm$  1.51 SE) finished the race successfully. From PRE to POST, significant increases in inflammatory and stress parameters (CRP, monocytes) and pro and anti-inflammatory cytokines (IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, IFN $\alpha$ 2, IL-4) were observed. IL-6 showed the most pronounced increase amongst all runners. The changes were reconstituted at RE. Correlations were found for MCP-1 and IL-10 ( $p = 0.0009$ ,  $r = 0.67$ ), the basophil granulocytes and IL-10 ( $p = 0.0002$ ,  $r = 0.74$ ), and CRP



and IL-4 ( $p = 0.0005$ ,  $r = -0.6933$ ). 30 of 36 runners reported gastrointestinal discomfort while running and about half of the runners suffered from upper respiratory tract ailments after the run.

### **Conclusion**

After 160 km of ultrarunning, immunological changes in cytokine profile and blood count could be observed, which indicate a significant inflammatory response. Furthermore, a shift towards type 2 immunity was observed, which could be associated with the increased respiratory infections after the run.

# 1. Einleitung

## 1.1 Ultramarathon

### 1.1.1 Definition

Als Ultramarathon werden Läufe bezeichnet, die über die herkömmliche Marathondistanz von 42,195 km hinausgehen. Der Lauf wird dabei über Zeit oder Strecke definiert: 24-Stunden-Läufe und Distanzen bis 200 km sind nicht selten, wobei nach oben keine Begrenzung besteht. Mit Etappenläufen können noch weitaus längere Strecken absolviert werden.

### 1.1.2 Teilnehmer: Charakteristik und Zahlen

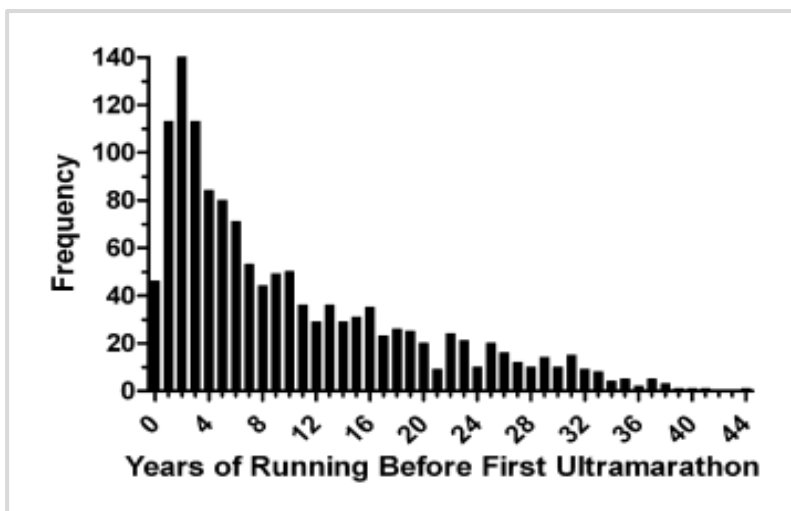
Mit der steigenden Zahl von Ultramarathon-Veranstaltungen und stetig wachsender Teilnahme, ist auch die Zahl der erfolgreichen Zieleinläufe (Finishes) in den letzten Dekaden exponentiell angestiegen (1-3). Das erhöhte Teilnehmeraufkommen kann vor allem durch die vermehrte Teilnahme von Frauen (2, 4) und größerem Zulauf der über 40-jährigen Läufer erklärt werden (2, 5, 6). Die Untersuchungen von Hoffman et al. zu 161-km-Ultramarathons in Nordamerika zeigten, dass der Anteil von weiblichen Finishern von nahezu keinen in den späten siebziger Jahren auf 20% im Jahr 2004 erhöhte, wo er dann stagnierte (2). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Eichenberger et al. in ihrer Studie zum Swiss Alpine Marathon (78 km). Sie beschreiben einen Anstieg des Frauenanteils von 10 % im Jahr 1998 auf etwa 16 % im Jahr 2011 (4). Die meistvertretene Altersgruppe unter sowohl männlichen als auch weiblichen Läufern waren die 40- bis 49-jährigen (4, 5). In dieser Gruppe stieg auch die Zahl der Finishes am deutlichsten an (2, 6).

Der typische Ultramarathonläufer ist tendenziell männlich und stammt aus einem industrialisierten Land. Cheika et al. zeigten, dass Europa das Herkunftsland der meisten Finisher von 100-km-Läufen war, gefolgt von Asien. Der exponentielle Zuwachs an Ultraläufern hat seinen Ursprung vor allem in den Herkunftsländern Japan, Deutschland, Italien, Polen und Nordamerika (1).

Kontinent	Frauen	Männer	Gesamt	Anteil Läufer in %
Europa	10129	72426	82555	73,5
Asien	2912	17903	20815	18,5
Nordamerika	1687	4936	6623	5,9
Australien	268	871	1139	1,0
Südamerika	91	569	660	0,6
Afrika	117	357	474	0,4

**Tabelle 1:** Anzahl der Finisher pro Herkunftskontinent der Athleten (übersetzt aus (1))

Die Trainingsumfänge von Ultraläufern wurden in der ULTRA-Studie von Hoffman et al. untersucht. Hierzu wurden Läufer aller Distanzen über 50 km befragt. Die dem ersten Wettkampf vorausgegangene Anzahl an Trainingsjahren betrug im Durchschnitt 7 Jahre mit einer Spannweite von 3 bis 15 Jahren. Die Gruppe der Läufer mit 3 oder weniger Jahren Lauferfahrung machte aber einen beachtlichen Anteil von 25 % aus. Der Trainingsumfang im Jahr vor dem Wettkampf betrug durchschnittlich 3347 km, und nahm auch mit steigendem Alter kaum ab (7).



**Abbildung 1:** Häufigkeiten der angegebenen Laufjahre (mit regelmäßigem Laufen an mindestens 3 Tagen/Woche) vor erstem Ultramarathon (7)

## 1.2 Wissenschaftliches Interesse an Ultramarathons

Mit den steigenden Teilnehmerzahlen bei Ultramarathons, wurde auch vermehrt wissenschaftliches Interesse an dieser Extremsportart geweckt. So wurden bis heute bereits viele Teilbereiche körperlicher Veränderungen in und um Wettlaufsituationen untersucht. Dazu gehören kardiovaskuläre Anpassungen, die kognitive und neuromuskuläre Funktion, sowie metabolische und immunologische Parameter (8-16).

Die Auswirkungen von einzelnen Langzeitausdauerbelastungen auf diese Komponenten sind in der Literatur beschrieben, jedoch gibt es noch lückenhaftes Wissen in den Teilgebieten und auch das Zusammenspiel aller Faktoren, sowie die möglichen Auswirkungen repetitiver extremer Belastungen über Jahre, bleibt ungeklärt. Zudem ist in vielen dieser Teilbereiche noch keine klare Aussage zu treffen, ob die untersuchten Reaktionen auf den Ultralauf einen physiologischen oder möglicherweise auch pathologischen Stellenwert haben. Das liegt mitunter auch am Design der Studien: oft können nur kleine Kollektive mit ausgewählten Verfahren, wie z.B. Echokardiografie, EKG, Muskelbiopsien oder Laboruntersuchungen, zu bestimmten Teilaspekten untersucht werden. Diese Vorgehensweise ist mitunter dadurch begründet, dass eine vollumfassende Datenerhebung mit großem Aufwand für Sportler und Untersucher verbunden ist und es würden sich auch logistische Schwierigkeiten bei der Bereitstellung der benötigten Geräte und Materialien im Zielbereich ergeben. Auch handelt es sich bei den meisten Ultramarathon-Events um kleinere Veranstaltungen mit wenigen Teilnehmern, was die Rekrutierung größerer Kollektive erschwert.

Der Ultralauf ist keine Domäne der Leistungssportler, sondern hat einen hohen Anteil von Teilnehmern aus dem ambitionierten Freizeitsportbereich, wobei auch die Freizeitläufer sehr hohe Trainingsumfänge von über 100 km pro Woche absolvieren (7). Unter den Freizeitsportlern ist der Anteil der älteren Läufer (> 40 Jahre) stetig gewachsen (2, 5, 6). Die Läufer in dieser Altersgruppe tragen ein besonders hohes Risiko, da sie oft nicht frei von Vorerkrankungen, vor allem im kardiovaskulären Bereich, sind. Aufgrund der möglichen gesundheitlichen Auswirkungen dieser extremen Belastungen in einem potentiellen „Risikokollektiv“ von Sportlern erscheint es umso wichtiger, evidenzbasierte sportmedizinische Screenings zu entwickeln, um Sportler vor gesundheitlichen Gefahren schützen zu können, oder sie beim Wettlauf besser begleiten zu können. Noch gibt es allerdings nur wenige Referenzdaten, um eine verlässliche Einschätzung möglicherweise negativer gesundheitlicher Auswirkungen und Empfehlungen für die Trainings-, Wettkampf- und Erholungsphase zu entwickeln.

Doch auch außerhalb der Grenzen der Sportmedizin ist ein Ultramarathon als Forschungsgegenstand von Interesse, da er Gelegenheit bietet, körperliche Anpassungen in Extremsituationen zu studieren und daraus Modelle für pathologische und regenerative Prozesse im Allgemeinen abzuleiten (17, 18).

### 1.3 Der Mauerweglauf Berlin

Der Berliner Mauerweglauf führt die Läufer auf seiner 100 Meilen (etwa 161 km) langen Strecke durch Berlin und Umland und erinnert an die Opfer der damaligen Grenze, die Deutschland von 1961 bis 1989 teilte. Dabei wird jedes Jahr der Fokus auf das Einzelschicksal eines Maueropfers gelegt, dessen Konterfei auf der Finisher-Medaille abgebildet ist. Seit der Lauf im Jahr 2011 ins Leben gerufen wurde, erfreut er sich stetig wachsender Teilnehmerzahlen. Es ist möglich, am Lauf als Einzelperson oder als Staffel mit mehreren Läufern teilzunehmen. Einzelläufer müssen, um als Finisher zu gelten, den Lauf in unter 30 Stunden beenden. Laut der Deutschen Ultramarathon Vereinigung e.V. (DUV) hatte der Lauf in seinen Anfängen im Jahr 2011 78 Finisher unter den Einzelläufern, 2016 waren es bereits 247 Finisher und 2017 waren es 271 (19).

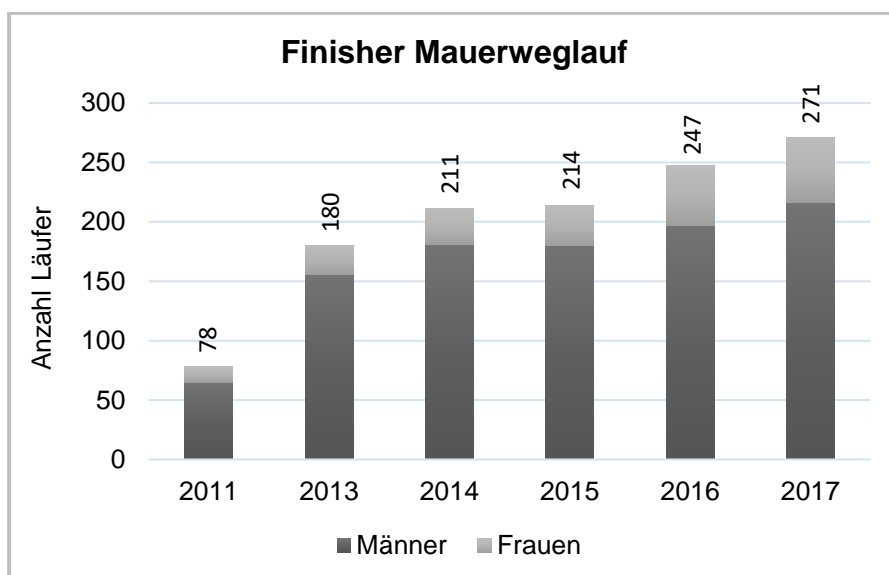


Abbildung 2: Anzahl der Finisher des Mauerweglaufes (19)

### 1.4 Zielsetzung und Relevanz

Ziel der Arbeit ist es, die immunologischen Veränderungen im Rahmen des Mauerweglaufes auf Ebene der Zytokine und im Blutbild umfassend zu beschreiben und auch mögliche Zusammenhänge zu anderen Parametern herzustellen. Hierzu zählt die Verbindung der immunologischen Marker zu laborchemischen Parametern für Inflammation (CRP) und Muskelschäden (CK). Ein weiterer Untersuchungsgegenstand sind die bei Ultramarathons vermehrt auftretenden Infektionen der oberen Atemwege

und auch gastrointestinale Beschwerden, mit denen viele Läufer während und nach dem Lauf zu schaffen haben. Hier ist zu untersuchen, ob und inwiefern das Zytokinprofil die erhöhte Anfälligkeit für Atemwegsinfektionen bedingt und mit dem Auftreten von gastrointestinalen Beschwerden in Verbindung steht. Weiterhin soll die kardiale Funktion, welche durch die Laborwerte Troponin I und NTproBNP eingeschätzt werden soll, auf immunologische Beeinflussung untersucht werden.

Ein tiefergehendes Verständnis dieser Zusammenhänge ist aus sportmedizinischer Sicht interessant, um die gesundheitlichen Risiken eines Ultramarathons besser einschätzen zu können und auf lange Sicht das Screeningverfahren für die Läufer vor der Belastung zu optimieren. So entstehen neue Perspektiven für die individuelle sportmedizinische Beratung der Läufer. Hierzu zählen die individuelle Risikoeinschätzung, die Einschätzung der Sporttauglichkeit sowie evidenzbasierte Empfehlungen zur Vor- und Nachbereitung des Wettlaufes.

### **1.5.1 Blutbildveränderungen**

Starke Ausdauerbelastung zieht, neben anderen Auswirkungen auf das Immunsystem, auch eine Veränderung in der Anzahl und Funktionalität zirkulierender Zellen in einigen Untergruppen der Leukozyten nach sich (20, 21). Auch in Folge von Ultramarathons konnten solche Veränderungen beobachtet werden, wie z.B. in Untersuchungen von Shin et al.. Sie stellten nach einem 308-km-Lauf signifikant erhöhte absolute Zahlen zirkulierender Leukozyten, Monozyten und Neutrophilen fest, und eine Verringerung in der Anzahl der Lymphozyten und Eosinophilen. Auch einige Chemokine, wie z.B. das chemotaktisch auf Neutrophile wirkende IL-8, waren im Serum erhöht. Diese Beobachtungen weisen auf eine starke systemische Inflammation hin (22). Im Hinblick auf die Neutrophilie erkannten Suzuki et al., dass vor allem die Zellzahlen in den Subgruppen Monozyten und stabkernige Neutrophile nach Marathonlauf erhöht waren. In Korrelation mit dem Anstieg der stabkernigen Neutrophilen wurde auch ein Anstieg der IL-6-Konzentration im Plasma beobachtet, was die Vermutung zulässt, dass IL-6 eine Freisetzung der Immunzellen aus dem Knochenmark bewirkt. Zudem war auch in dieser Untersuchung das Neutrophilen-Chemokin IL-8 im Plasma signifikant erhöht (23). Stelzer et al. konnten zusätzlich zu der Leukozytose nach Ultramarathon auch eine eingeschränkte Funktionalität der zirkulierenden hämatopoetischen Progenitorzellen feststellen, wodurch die Regeneration der Zellpopulationen des Immunsystems beeinträchtigt werden kann (13).

Neben chemotaktisch wirkenden Zytokinen und der eingeschränkten Funktion der Progenitorzellen, kann eine vermehrte Produktion von Stresshormonen während des Ultralaufes als Ursache für die Veränderungen im Blutbild gesehen werden. Kortisol zeigte positive Korrelationen mit dem Ausmaß der Leukozytose nach Ausdauerbelastung (21) und auch Katecholamine sind in der Lage eine Leukozytose zu induzieren (24).

## **1.5.2 Zytokinveränderungen**

Bereits in mehreren Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass der Zytokinpiegel im Plasma bei Ultraläufern nach dem Wettkampf ansteigt. Besonders konsistent und ausgeprägt in allen Studien waren die Anstiege von IL-6, IL-10 und IL-8 (8-10, 22, 23), Nieman et al. sahen zudem auch Erhöhungen von IL-1RA, G-CSF, MCP-1, MIP-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  und MIF (12, 14, 25). Luk et al. stellten zwar auch einen Anstieg von IL-6, IL-10 und IL-8 fest, jedoch, teils im Unterschied zu Nieman et al., einen Abfall von IL-1 $\beta$ , IL-2, G-CSF, TNF $\alpha$ , IL-4, IL-13 (26). Die Studien konnten also nicht durchgehend widerspruchsfreie und reproduzierbare Ergebnisse liefern, was Anlass zu weiteren Untersuchungen gibt. Es geht aber aus allen Studien hervor, dass die Zytokinprofile eine inflammatorische Reaktion auf die extreme Ausdauerbelastung anzeigen.

Die Inkonsistenz in den Beobachtungen zu Ultraläufen lässt sich eventuell durch die hohe interindividuelle Varianz in den Zytokinprofilen der Finisher erklären, die Nieman feststellen konnte, wobei sich aber kein signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen zeigte (27). Zudem scheint die interindividuelle Zytokinvarianz in keiner Verbindung zum Ausmaß des oxidativen Stresses zu stehen (28).

### **1.5.2.1 Auslöser der Hyperzytokinämie**

Oxidativer Stress wie z.B. die Ausschüttung von Stickstoffmonoxid (NO) ist dennoch ein potenzieller Trigger der Zytokinproduktion. Steensberg et al. fanden Hinweise, dass NO im Muskel die Expression von Genen beeinflusst, die zur vermehrten Bildung von u.a. IL-6 und IL-8 führt (29). Weitere Trigger können auch Stresshormone wie Katecholamine und Cortisol sein, die während Ultraläufen vermehrt ins Blut gelangen (13, 30). Cortisol induziert dabei als antiinflammatorisches Hormon auch eher antiinflammatorische T2-Zytokine und wirkt regulatorisch auf proinflammatorische Zytokine wie IL-1 und TNF $\alpha$  (31-34). Gill et al. stellten die Hypothese auf, dass Entzündungsmediatoren wie Zytokine als Reaktion auf eine Endotoxämie ausgeschüttet werden, welche durch

eine Störung der intestinalen Epithelfunktion entsteht. Die Epithelien des Verdauungstraktes werden während eines Ultramarathons durch Minderperfusion und Volumendepletion im Organismus stark strapaziert und können so leicht in ihrer Funktion beeinträchtigt werden. Lipopolysaccharide können so in die Blutbahn gelangen und damit eine Zytokinantwort triggern (8, 35). Direkte Korrelationen von Zytokinen und gastrointestinalen Beschwerden konnten jedoch bisher noch nicht gezeigt werden. Darüber hinaus kann der durch Ultralauf induzierte Muskelschaden als ein Auslöser der Zytokinämie gesehen werden (36). So stellten Nieman et al. fest, dass der Muskelschaden nach 160 km Ultralauf mit den Zytokinveränderungen korrelierte (14). Die erhöhten Zytokinwerte könnten demnach nicht ausschließlich von Immunzellen, sondern auch von Myozyten im belasteten und geschädigten Muskel produziert werden (37-39). Eine Verbindung der Zeit, in der eine Strecke absolviert wurde, mit der Zytokinausschüttung konnte seither nur von Luk et al. in Bezug auf IL-10 beobachtet werden, welches in der schnellen Probandengruppe signifikant anstieg, in der moderaten und langsamen Gruppe aber nicht. IL-6 und IL-8 verzeichneten auch signifikante Anstiege, Korrelationen zur Geschwindigkeit konnten aber für keine weiteren Zytokine gefunden werden (26). Letztendlich sind die möglichen Trigger der Zytokinfreisetzung zahlreich, und es liegt punktuell auch Evidenz für die Mechanismen vor, doch die Zusammenhänge sind bei Weitem noch nicht ausreichend aufgeklärt und verstanden.

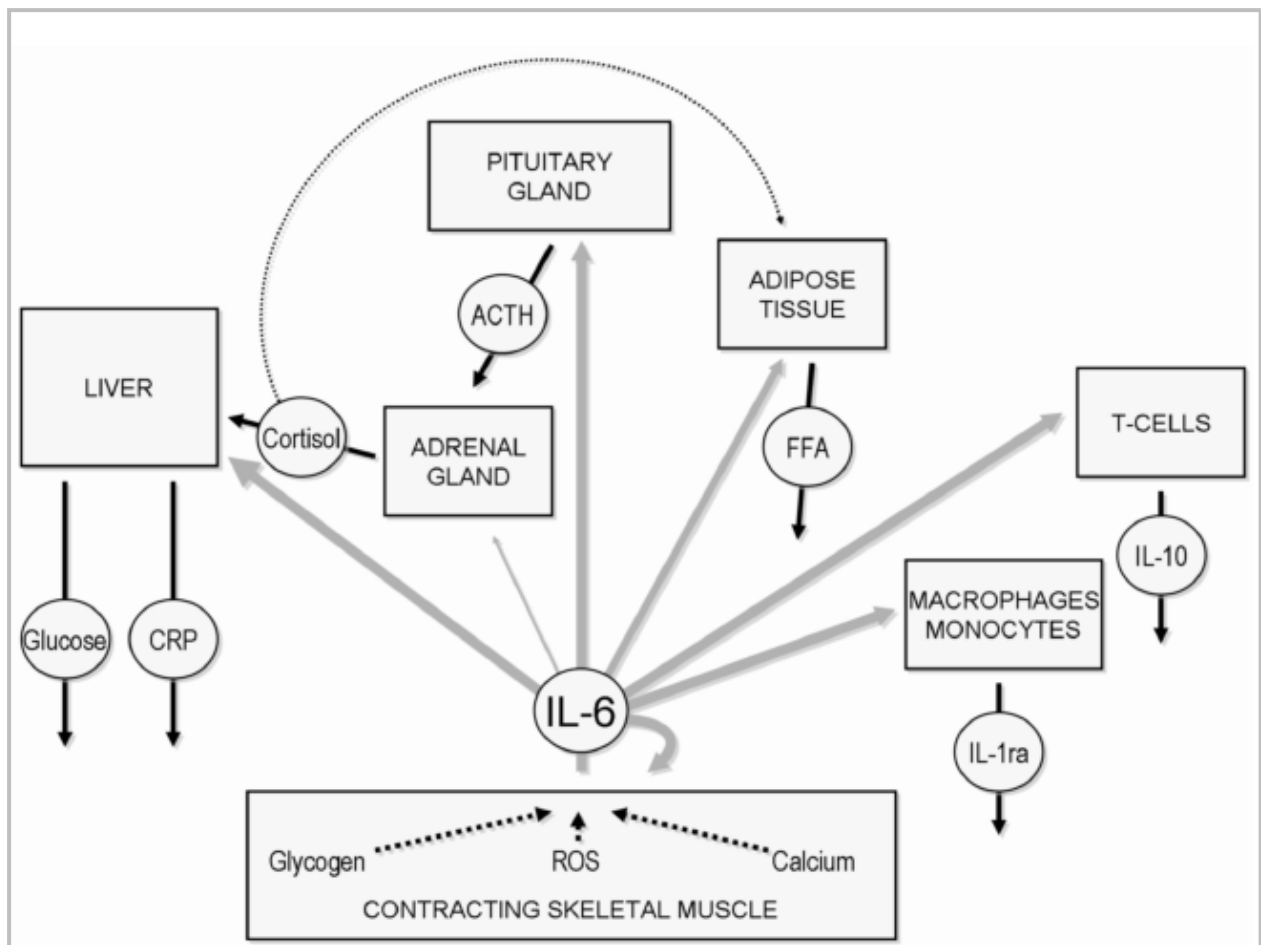
### **1.5.2.2 IL-6**

IL-6 zeigte in Studien zu Ultraläufen von allen Zytokinen die höchsten Anstiege (8, 10, 12, 14, 25). Die Quelle des IL-6 wird zum überwiegenden Teil im belasteten Muskel gesehen (40, 41). Hierzu gibt es mehrere Hypothesen: Zum einen könnte die Verletzung von Muskelfasern eine Freisetzung von IL-6 bedingen (40), zum anderen könnte IL-6 von kontrahierenden Muskeln als Reaktion auf niedrige Glykogenspiegel freigesetzt werden, als Signal an die Leber, mehr Glukose bereit zu stellen (38, 42). Es wird weiterhin vermutet, dass auch Veränderungen der Kalziumhomöostase und die vermehrte Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) im Muskel als Triggerfaktoren zur IL-6 Freisetzung beitragen (43). Wallberg et al. fanden zudem heraus, dass bei extrem langanhaltender Ausdauerbelastung über 12 Stunden, die Intensität und nicht die Dauer der Belastung den Anstieg von IL-6 bestimmt (44).



Die Freisetzung von IL-6 wird durch Inhibitoren, wie IL-1ra und TNF-Rezeptoren, sowie dem antiinflammatorischen IL-10 reguliert (45), deren Freisetzung IL-6 auch selbst induziert (40, 46). Weiterhin stimuliert IL-6 die Cortisolausschüttung und ist damit, zumindest teilweise, für die erhöhten Cortisolwerte nach Ultramarathons verantwortlich (46, 47). Cortisol hat zwar eine inhibitorische Wirkung, beispielsweise auf IL-1 $\beta$  und TNF $\alpha$ , nicht aber auf IL-6 (33, 34). Zudem werden IL-1 $\beta$  und TNF $\alpha$  von IL-6 selbst inhibiert (48, 49). Dies könnte den Umstand erklären, dass weit größere Anstiege von IL-6 als von anderen Zytokinen zu verzeichnen sind (33). Weitere Einflüsse von IL-6 auf die Immunreaktion sind die Induzierung von CRP, indem es die Hepatozyten zur Produktion von Akute-Phase-Proteinen anregt (46, 50, 51), und die Mobilisation und Beeinflussung der Funktionalität von Neutrophilen Granulozyten (23, 36, 52, 53).

Mit seinen zahlreichen Funktionen ist IL-6 nicht klar als inflammatorisches oder antiinflammatorisches Zytokin einzuordnen, da es wie oben beschrieben viele eher antiinflammatorische Effekte hat, aber auch eine Rolle in Autoimmunerkrankungen oder der Frühphase von Infektionen spielt (54). Demnach wird es in der Literatur eher in die Kategorie der multifunktionalen Zytokine eingeordnet (55). Im Kontext der Ausdauerbelastung spielt IL-6 eine wichtige Rolle als Sensor und Vermittler der Energiebereitstellung im Muskel (38, 41, 42) und es verbessert die Lipolyse und Lipidoxigenierung (56, 57). Folglich ist es neben seiner immunmodulatorischen Funktion auch bedeutsam für die Anpassung des Körpers an die außergewöhnliche Stoffwechsellage während Ultraläufen, die durch einen langanhaltend erhöhten Energiebedarf der Muskeln geprägt ist.



**Abbildung 3:** Mögliche Effekte von aus dem Muskel freigesetztem IL-6 bei körperlicher Belastung (43)

### 1.5.2.3 Zytokine und Marker für Muskelschaden und Entzündung (CK, CRP)

Ultraläufe können mit erheblichem Muskelschaden assoziiert sein (58), welcher eine ausgeprägte Invasion von Neutrophilen und Makrophagen ins Muskelgewebe, und damit eine inflammatorische Reaktion hervorruft (59). Folglich stehen auch die Plasmazytokine nach Ultralauf in Verbindung mit dem Ausmaß von Muskelschaden und Entzündung: Die Läufer mit den höchsten Werten für Kreatinkinase (CK), als Marker für Muskelschaden, und CRP, als Marker für Entzündung, zeigten auch die größten Anstiege von den Zytokinen IL-6, G-CSF, IL-10, MCP-1 und IL-1ra. Die Korrelation war in diesem Zusammenhang am stärksten für IL-6 und G-CSF ausgeprägt (14, 25, 60). IL-6 inhibiert die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 $\beta$  und TNF $\alpha$  und stimuliert wiederum antiinflammatorische Zytokine wie IL-1ra und IL-10 (40, 46, 48, 49). G-CSF unterstützt IL-6 in seiner Funktion, indem es dessen Freisetzung induziert und die gleichen proinflammatorischen Zytokine inhibiert (61). Man kann also sagen, dass

die Sportler mit dem größten Muskelschaden auch die größten antiinflammatorischen Reaktionen zeigten (14).

#### **1.5.2.4 Zytokine und kardiovaskuläre Veränderungen**

Entzündungsmarker wie Interleukine stehen erwiesenermaßen in Verbindung mit kardiovaskulären Erkrankungen, in Bezug auf Entstehung, Verlauf und Prognose (62-64). Beispielsweise konnte bei Patienten mit Herzversagen gezeigt werden, dass TNF $\alpha$  und IL-6 den Krankheitsverlauf negativ beeinflussen und prädiktiv für die Mortalität sind (65). Die Auswirkung des Zytokinprofils nach Ultramarathons auf die kardiale Funktion wurde bisher kaum untersucht. Krzemiński et al. beobachteten nach einem 100-km-Lauf Veränderungen der linksventrikulären Funktion, an deren Entstehung eventuell TNF $\alpha$  beteiligt ist. TNF $\alpha$  korrelierte mit zwei Indizes für die linksventrikuläre Funktion (fraktionelle Faserverkürzung und E-Wellen-Dezelerationszeit) (9). Eine Studie von La Gerche et al. zeigte, dass die belastungsinduzierte kardiale Dysfunktion mit Anstiegen von Zytokinen assoziiert war. Dies galt v.a. für die proinflammatorischen Zytokine IL-1 $\beta$ , IL-12p70 und TNF $\alpha$ , die auch wesentlich an kardiologischen Pathologien beteiligt sind. Diese Zusammenhänge beweisen bei Weitem noch keine Kausalität, geben aber Anlass zu weiteren Nachforschungen, ob und inwiefern die durch Sport induzierte Inflammation die kardiale Dysfunktion bedingt (10). Inflammation ist ein wichtiger Teil des regenerativen Prozesses nach Schäden an Myozyten, doch langanhaltende und exzessive Entzündung kann auch selbst zu Gewebeschaden und Dysfunktion führen (66). Diese Hypothese ist eventuell auch auf starke Ausdauerbelastung anwendbar, doch ob und wie sich die Immunreaktion nach Ultralauf kausal auf das Herz auswirkt, bleibt bisher noch unklar.

#### **1.5.3 Infektanfälligkeit**

Sport im Allgemeinen kann positive und negative Effekte auf das Immunsystem im Hinblick auf die Infektanfälligkeit, z.B. für obere Atemwegsinfektionen (OAWI/URTI) haben (67). Dauer und Schwere der sportlichen Betätigung sind in dieser Hinsicht die entscheidenden Faktoren: während regelmäßige, moderate körperliche Belastung, im Vergleich mit einem eher inaktiven Lebensstil, mit einem verminderten Risiko einhergeht, kann exzessive, langandauernde körperliche Belastung gegenteilige Effekte haben (67-70). Es wurde gezeigt, dass die Inzidenz von URTI bei Sportlern normal ist in moderaten Trainingsperioden, sich aber erhöht in harten Trainingsperioden oder

Wettkampfphasen (71). Moderate Bewegung von etwa zwei Stunden pro Tag geht mit einer Reduktion des Risikos für URTI um 29 % einher (69). Doch sehr starke Langzeitausdauerbelastung, z.B. im Rahmen von Ultraläufen, hat eine zeitlich begrenzte Suppression verschiedener Aspekte des Immunsystems zur Folge (67, 71). Mehrere Studien zu Ultraläufen zeigten, dass nach dem Wettkampf unter den Läufern die Inzidenz von URTI-Symptomen deutlich gesteigert war (71-74). Einer von vier Läufern des Western States Endurance Run (WSER) zeigte URTI-Symptome in den zwei Wochen nach dem Lauf (75). Eine signifikante Korrelation mit Immunparametern ergab sich nur mit der sIgA-Sekretion, gemessen im Speichel (12, 75). Diese inverse Korrelation von sIgA und URTI konnte in mehreren Untersuchungen bestätigt werden (76, 77), wobei zweifelhaft ist, dass vermindertes sIgA allein verantwortlich für die erhöhte Infektanfälligkeit ist (27). Jedoch konnten in der Gruppe von 350 WSER-Athleten keine Unterschiede zwischen URTI- und Nicht-URTI-Gruppe in Bezug auf andere immunologische, demographische oder das Training betreffende Parameter festgestellt werden, was darauf schließen lässt, dass sich die Suche nach einem weiteren prädiktiven Faktor für das Auftreten von URTI komplex gestalten könnte (27). In einer Umfrage in der Trainingsphase vor dem WSER gab eine deutliche Mehrheit (81 %) der Läufer an, nach subjektiver Einschätzung, weniger URTI zu haben als Nicht-Trainierende (27). Nach dem Lauf litten jedoch 26 % der Läufer an Symptomen eines URTI (12). Das erhöhte Auftreten von URTI-Symptomen ist problematisch, da viele Sportler in ihrem Training eingeschränkt sind, was zu Leistungsabfällen führen kann (67). Über die Ursache der erhöhten Infektanfälligkeit der Läufer lässt sich bisher jedoch nur spekulieren. Die Suppression der Interferon-Gamma- (IFN $\gamma$ ) Produktion steht als auslösender Faktor zur Diskussion, da IFN $\gamma$  maßgeblich an der Abwehr von Viren beteiligt ist (78). Es wurde aber noch nicht gezeigt, dass die Läufer mit der deutlichsten Immunsuppression im Zytokinprofil auch die mit den meisten URTI sind (72). Eine multifaktorielle Genese, bei der auch metabolische Veränderungen und psychische Belastung, sowie physikalische Stressoren aus der Umwelt eine Rolle spielen, wird vermutet (67).

Es ist zu erwähnen, dass in den meisten hier genannten Studien, die Zahlen der URTI durch Selbsteinschätzung der Läufer zu Symptomen wie z.B. laufende Nase, Husten und Halsschmerzen, anhand von Fragebögen erhoben wurden. Doch Infektionen sind nicht zwangsläufig der alleinige Auslöser dieser Symptome, sondern auch andere Faktoren können dazu führen, wie Austrocknung und Entzündung der Atemwege oder

die vermehrte Einatmung von luftverschmutzenden Partikeln und Allergenen durch erhöhte Atemfrequenz und Atemtiefe (67). Es wird auch vermutet, dass die Hyperzytokinämie auch ohne vorliegende Infektion der Auslöser mancher grippeartigen Symptome wie Fatigue, Fiebergefühl sowie Kopf- und Gliederschmerzen sein kann (14, 79, 80). Man sollte also bei der Suche nach den Mediatoren der erhöhten URTI-Symptome auch eine nichtinfektiöse Genese in Betracht ziehen.

### **1.5.3 Gastrointestinale Symptome**

Gastrointestinale Beschwerden treten sehr häufig während Ultramarathons auf und sind ein bedeutsamer leistungslimitierender Faktor, da sie nicht nur beim Laufen selbst behindern, sondern auch die essentielle Flüssigkeits- und Nährstoffaufnahme während eines Langstreckenlaufes einschränken (81). Die Beschwerden basieren wahrscheinlich auf einer Schädigung des intestinalen Epithels, was auch durch den häufig positiven Hämoccult-Test nach dem Lauf nahegelegt wird (82). Die Faktoren, die diese Epithelschädigung bedingen oder beeinflussen können, sind zahlreich. Das mechanische Trauma und die Minderperfusion im Splanchnikusgebiet mit folgender Ischämie werden als Hauptursachen angesehen (8, 83). Auch Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme, Trainingsumfang, Außentemperatur oder nicht-steroidale, antiinflammatorische Schmerzmittel stehen im Verdacht, einen Einfluss auf das Ausmaß der gastrointestinalen Schädigung zu haben, ein Kausalzusammenhang geht aber bisher aus keiner Studie hervor (8, 84, 85). Folge dieser Epithelschädigung ist letzten Endes eine Barriestörung, mit resultierender Endotoxämie (85, 86), die auch einer der Auslöser der Zytokinämie sein könnte (35). Genauere Verbindungen in Bezug auf einzelne Zytokine konnten bisher jedoch nur in einer Studie von Gill et al. beobachtet werden. Hier sah man eine positive Korrelation zwischen dem Auftreten von gastrointestinalen Symptomen und der IL-8 und IL-10 Konzentration im Blut, was vermuten lässt, dass ein höheres Symptomvorkommen mit mehr Immunaktivierung (IL-8) und mehr kompensatorischen, antiinflammatorischen Mechanismen (IL-10) assoziiert ist (8). Diese ersten Erkenntnisse sind noch zu validieren.

### **1.5.4 Typ 1 und Typ 2 Immunantwort**

T-Helferzellen (TH-Zellen) lassen sich anhand ihrer funktionellen Eigenschaften in Typ-1- und Typ-2-TH-Zellen einteilen (87, 88). Entsprechend der vorwiegend aktiven TH-Zellen und des damit einhergehenden Zytokinprofils, kann auch die Reaktion des

Immunsystems in Typ-1- (T1) und Typ-2- (T2) Immunantwort klassifiziert werden (89). Das dynamische Gleichgewicht der beiden Immunantworten wird als T1/T2-Balance bezeichnet und ist seit einigen Jahren Gegenstand der Forschung (90-92). Das Überwiegen einer Untergruppe von TH-Zellen und ihrer Zytokine im Sinne eines T1/T2-Ungleichgewichtes, wird auch im Zusammenhang mit Langzeitausdauerbelastung als Indikator von Immunveränderungen diskutiert (93). Es wird vermutet, dass dieses Phänomen einer der Mechanismen ist, die eine erhöhte Infektanfälligkeit und ein vermehrtes Auftreten allergischer Reaktionen bei Sportlern nach starker Ausdauerbelastung hervorrufen (67, 94).

Die Einteilung in Typ-1- und Typ-2-TH-Zellen wurde erstmals im Jahr 1986 von Mosmann et al. erwähnt (89). Es gibt keinen generell anwendbaren Konsensus bei der Definition des T1/T2-Paradigmas, in der Literatur werden jedoch sehr ähnliche Definitionen verwendet (67, 89, 93). In Anlehnung daran ergibt sich folgende, für diese Arbeit am sinnvollsten erscheinende Beschreibung: Typ-1-TH-Zellen produzieren vornehmlich  $TNF\alpha$ ,  $IFN\gamma$  und IL-2 (88). Sie sind Bestandteil der zellvermittelten Immunantwort und dienen, über Mechanismen wie Makrophagenaktivierung, der Abwehr gegen intrazelluläre Pathogene wie z.B. Viren (88, 95). Im Unterschied dazu beteiligen sich Typ-2-TH-Zellen als Bestandteil der humoralen Immunantwort an der Abwehr extrazellulärer Pathogene und produzieren vor allem IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 und IL-13 (87, 88). IL-13 und IL-4 sind Mediatoren der B-Zell-Reifung und -Differenzierung und stimulieren die Antikörper-Produktion. Des Weiteren induzieren Typ-2-TH-Zellen IgE-vermittelte allergische Reaktionen, die Aktivierung von Eosinophilen und übernehmen regulatorische Aufgaben bei der Reparatur von Muskelgewebe nach Verletzung (59).

In mehreren Berichten wird der Einfluss von Sport auf die T1/T2-Balance thematisiert. Nach Langzeitausdauerbelastung ist eine Verschiebung des Gleichgewichtes in Richtung der Typ-2-TH-Zellen zu beobachten (93, 94). Das verminderte Vorkommen von Typ-1-TH-Zellen im Blut könnte mit Hormonveränderungen assoziiert sein. Sowohl Kortisol als auch Katecholamine werden während des Ultramarathonlaufes vermehrt produziert (13) und unterdrücken die Typ-1 Immunantwort, während sie die Typ-2-Immunantwort stimulieren (96). Beide Hormone wirken dabei über ihre Rezeptoren an Antigen-präsentierenden Zellen (APC), indem sie die Produktion von IL-12 hemmen, welches Typ-1-TH-Zellen und die Produktion von  $IFN\gamma$  induziert (97, 98). Gleichzeitig fördern Katecholamine wie Adrenalin und Noradrenalin die Produktion von T2-Zytokinen

wie z.B. dem antiinflammatorischen IL-10 und induzieren so einen T2-Shift in der Immunantwort (99). Steensberg et al. konnten eine negative Korrelation von Adrenalin im Plasma mit dem prozentualen Anteil von Typ-1-TH-Zellen im Blut nach längerer Ausdauerbelastung feststellen. Des Weiteren ergab sich aus dieser Untersuchung eine positive Korrelation von IL-6 und Typ-2-TH-Zellen (100). Dies lässt vermuten, dass auch IL-6, welches nach Ultraläufen im Plasma stark erhöhte Werte aufweist (8, 12, 13, 22, 44), zu der T2-Verschiebung der Immunantwort beiträgt.

## 2. Hypothesen

Folgende Hypothesen wurden nach Anschauung der Literatur aufgestellt:

1. Die Langzeitausdauerbelastung der Sportler geht mit einer ausgeprägten, aber zeitlich begrenzten Zytokinämie nach dem Lauf einher, wobei unter anderem erhöhte Werte von IL-6, IL-8 und IL-10 zu erwarten sind.
2. Es besteht eine Beeinflussung der Zytokine untereinander, die möglicherweise in Korrelationen einzelner Zytokine sichtbar wird.
3. Die immunologischen Veränderungen zeigen sich auch im Blutbild, wo eine Neutrophilie, Basophilie, Leukozytose und Monozytose, sowie Lymphopenie und Eosinopenie erwartet wird. Mutmaßlich könnten Zytokine für diese Veränderungen verantwortlich sein, wie z.B. IL-6 und IL-8 für Leukozytose und Neutrophilie, oder IL-10 für die Lymphozytose.
4. Die Zytokinämie ist für gastrointestinale Beschwerden der Läufer, sowie für Symptome eines oberen Atemwegsinfektes nach dem Lauf mitverantwortlich.
5. Als Nebenhypothese wird der Zusammenhang der Ausprägung der Zytokinämie mit kardialer Dysfunktion untersucht, im Hinblick auf eine eventuell immunologisch vermittelte Kardiomyopathie nach Ultralauf. Hier liegt der Fokus auf den in vorausgegangenen Untersuchungen betrachteten Interleukinen IL-1 $\beta$ , IL-12p70 und TNF $\alpha$ .

## **3. Methoden**

### **3.1 Probandenrekrutierung**

Die Studienteilnehmer wurden mithilfe der Veranstalter des Berliner Mauerweglaufs in den Jahren 2016 und 2017 angeschrieben und rekrutiert. Es wurden volljährige männliche und weibliche Läufer ohne weitere Altersbegrenzung zur Teilnahme zugelassen. Alle Teilnehmer mussten eine schriftliche Einverständniserklärung abgeben. Ausschlusskriterien waren Vorerkrankungen wie Diabetes Mellitus oder bekannte Herz-Kreislauf-Erkrankungen, die die Sporttauglichkeit oder Teilnahme am Mauerweglauf beschränken könnten.

### **3.2 Studiendesign**

Die Untersuchung der Läufer fand zu drei Zeitpunkten statt: eine Voruntersuchung, eine Untersuchung direkt nach Zieleinlauf und eine Abschlussuntersuchung. Die Läufer wurden ein bis zwei Wochen vor dem Mauerweglauf in die sportmedizinische Ambulanz der Charité in Berlin einbestellt. Hier fand die Voruntersuchung statt, die einen standardisierten sportmedizinischen Check-up mit ausführlicher Anamnese, EKG, Echokardiographie, Anthropometrie und Laufbandergometrie mit Laktat-Leistungsdiagnostik beinhaltete. Zudem wurden Blutproben abgenommen, woraus zusätzlich zum Routinelabor auch immunologische, endokrinologische, metabolische und kardiale Parameter bestimmt wurden.

Direkt nach dem Zieleinlauf wurden die Echokardiographie und das EKG wiederholt. Es fand erneut eine Blutentnahme statt und alle Läufer wurden mit einem 24-Stunden-EKG ausgestattet. Das Auftreten von oberen Atemwegsinfektionen und gastrointestinalen Beschwerden (GIB) wurde mithilfe von Fragebögen dokumentiert. Diese wurden nach Zieleinlauf und in der darauffolgenden Woche täglich ausgefüllt. Enthalten waren auch Fragen hinsichtlich der subjektiven Schmerzwahrnehmung, allgemeiner Stimmung und Kognition der Läufer.

Zur Abschlussuntersuchung kamen die Probanden etwa eine Woche nach dem Lauf wieder in die sportmedizinische Ambulanz der Charité und es wurde erneut eine Echokardiografie, ein EKG und eine Blutentnahme durchgeführt. Für alle Vorgänge im Rahmen der Studie wurde das Einverständnis der Ethikkommission eingeholt. Der



Antrag zur Durchführung der Untersuchungen beim Mauerweglauf wurde von der Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin bewilligt.

### **3.2.1 Fragebögen**

Alle Fragebögen wurden online als Google-Dokumente hochgeladen und von den Probanden ausgefüllt. Zur Einschätzung der URTI-Symptome wurde der Wisconsin Fragebogen zu Beschwerden der oberen Atemwege (WURSS-21) genutzt, der bereits erprobt und reliabel ist (101). Dieser wurde in der Woche nach dem Lauf täglich ausgefüllt. Die gastrointestinalen Beschwerden während des Laufes wurden im Nachhinein einmalig durch einen Fragebogen erhoben, der, in Anlehnung an eine Arbeit von Struempfle und Hoffman (102), speziell für den Mauerweglauf übersetzt und angepasst wurde. Es werden Symptome des oberen und unteren Magen-Darm-Traktes abgefragt und auch eine Einschätzung der Art und Schwere gegebenenfalls auftretender Schmerzen ist möglich.

## **3.3 Wettlaufsituation und Untersuchung im Zielbereich**

Die 161 km lange Strecke des Berliner Mauerweglaufes verläuft weitestgehend flach und ist zu großen Teilen asphaltiert. Sie führt die Läufer aber auch über Feldwege und durch bewaldete Gebiete durch das Berliner Umland. Für die Verpflegung der Läufer mit Speisen und Getränken gibt es 27 Verpflegungspunkte entlang der Strecke, die von über 350 freiwilligen Helfern betreut werden (103). Der Mauerweglauf startet um 6 Uhr morgens und ein erfolgreicher Zieleinlauf ist bis 12 Uhr mittags am Folgetag möglich. Start und Ziel befanden sich auf dem Gelände des Friedrich-Ludwig-Jahn-Sportparks, welcher gute Bedingungen für die Untersuchung der Probanden unmittelbar nach Zieleinlauf bot. Um die Untersuchung der Probanden zum Zeitpunkt POST realisieren zu können, mussten alle benötigten Geräte (EKG, Ultraschallgerät) und Labormaterialien zur Blutabnahme und für die präanalytische Aufbereitung (Zentrifugen, Pipetten, Trockeneis zur Lagerung) in die Gebäude des Sportparks verbracht werden. Durchgeführt wurden die Untersuchungen von 10 bis 15 Mitarbeiter des Sportmedizinischen Institutes der Charité, die über den gesamten Zeitraum der erwarteten Zieleinläufe, von etwa 23:00 Uhr bis 12:00 am Folgetag, anwesend waren.

## **3.4 Labor**

### **3.4.1 Blutprobenentnahme und Präanalytik**

Die Blutproben wurden aus einer peripheren Vene am Arm in liegender oder sitzender Position der Probanden abgenommen. Insgesamt wurden pro Proband und Blutentnahme 13 Blutprobenröhrchen mit etwa 80 ml Blut entnommen, wovon jedoch nur drei für die hier vorliegende Arbeit benötigt wurden. Eine EDTA-Monovette (2 ml) und eine Heparin-Monovette (5 ml) wurden ohne weitere Verarbeitung an das Labor der Charité geschickt zur Bestimmung des großen Blutbildes und der Parameter der klinischen Chemie. Die Messung der Zytokine erfolgte im Studienlabor der Immunologie der Charité am Campus Virchow Klinikum. Vor dem Transport dorthin mussten die Proben vorbereitet und stabilisiert werden. Eine Serum-Monovette (9 ml) wurde 30 Minuten in aufrechter Position gerinnen lassen und anschließend 10 Minuten zentrifugiert. Dann wurde der Überstand in drei Eppendorf-Tubes mit je 500 µl Fassungsvermögen abpipettiert und ebenfalls bei – 80 °C eingefroren. Die Proben wurden später in gefrorenem Zustand in das immunologische Studienlabor transportiert. Sowohl das Charité-Labor als auch das Studienlabor der Immunologie arbeiten mit dem Vacutainer-System.

### **3.4.2 Messung der Zytokine**

Zur Messung der Zytokine wurden die Serum-Proben mit einem MILLIPLEX® MAP Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel der Firma Millipore (Merck) analysiert. Bei der Messmethode handelt es sich um einen Bead basierten Multiplex „Sandwich Immunoassay“, mit dem sich die Konzentrationen von löslichen Proteinen wie Chemokinen und Zytokinen nachweisen lassen. Dazu werden die Möglichkeiten der Durchflusszytometrie genutzt, verschiedene Fluoreszenzen in einer Probe zu erkennen und zu unterscheiden. Die Intensität der emittierten Signale wird, nach Anregung, mit verschiedenen Detektoren gemessen. So können gemultiplexte Analysen durchgeführt werden, was in diesem Zusammenhang bedeutet, dass man nicht für jedes Zytokin einen einzelnen Messdurchlauf braucht, sondern die Messungen mehrerer Substanzen in einer Probe gebündelt werden. In Teilen ist die Methode dem ELISA oder dem Western Blot ähnlich, braucht jedoch weniger Probenmaterial und weniger Zeit für die Analyse.

Mit dem Assay können mehrere Proteine gleichzeitig aus einer Probe von nur 12,5 µl Serum analysiert werden. Hierzu befinden sich in einem Well der Mikrotiterplatte mehrere magnetische Beads (fluoreszenzgefärbte Mikrokügelchen) die je mit unterschiedlichen Antikörpern gegen die zu testenden Substanzen beschichtet sind. Die Probe wird hinzugegeben und es folgt eine Serie von Waschvorgängen, um ungebundene Proteine zu entfernen. Dann werden Detektionsantikörper hinzugefügt und inkubiert, um Sandwich-Komplexe mit den gebundenen Proteinen zu bilden. Die finalen Detektionskomplexe werden nach Zugabe eines Streptavidin-Phycoerythrin-Konjugates geformt und können nun mit einem Durchflusszytometer (Bioplex 200 Reader) analysiert werden. Dabei werden die Beads in einem Flüssigkeitsstrom aufgereiht und von zwei Lasern angeregt: Der rote Diodenlaser regt die intrinsischen Farbstoffe an und das Signal wird dann mit zwei Avalanche-Photodioden (Bead Detector 1 und 2) gemessen. Mit dem grünen YAG-Laser werden die fluoreszenzmarkierten Detektionsmoleküle angeregt, was von einem Photomultiplier (Assay Detector) gemessen wird. Gleichzeitig erkennt ein Dublettendiskriminator (DD Detector) mögliche Beadaggregate. Die Auswertung der Daten erfolgt durch Bio-Plex Manager™ Software, welche die Daten als mittlere Fluoreszenzintensität präsentiert und die Konzentration der einzelnen Zytokine in pg/ml ausgibt. Die Konzentration der an die jeweiligen Beads gebundenen Analyten ist dabei proportional zur am Detektor gemessenen mittleren Fluoreszenzintensität.

Im Kit enthalten sind zwei Qualitätskontrollen, eine mit hoher und eine mit niedriger Zytokin-Konzentration, die auf jeder Platte mit gemessen werden und einen vorgegebenen Bereich treffen müssen. So wird die einwandfreie Funktion der Messungen sichergestellt (104).

Zu erwähnen ist, dass die Proben aus den Jahren 2016 und 2017 zwar mit der gleichen Methode analysiert wurden, aber aus Gründen der unterschiedlichen Verfügbarkeit von Messkits eine unterschiedliche Anzahl von Analyten gemessen wurde. Die Proben von 2016 wurden mit einem 18 plex Kit analysiert und die Proben von 2017 mit einem 30 plex Kit. Mit dem größeren 30 plex Kit wurden also alle 2016 gemessenen Zytokine (außer SCD40L) und noch einige andere zusätzlich gemessen. Welche Zytokine in welchem Jahr gemessen wurden, ist Tabelle 2 zu entnehmen.

<b>Analyt</b>	<b>2016</b>	<b>2017</b>
IL-1 $\alpha$	x	x
IL-1 $\beta$	x	x
IL-2	x	x
IL-4	x	x
IL-6	x	x
IL-8	x	x
IL12(p70)	x	x
IL-13	x	x
IL17A	x	x
IL-19	x	x
IFN- $\alpha$ 2	x	x
IFN- $\gamma$	x	x
MCP-1	x	x
TNF $\alpha$	x	x
IP-10	x	x
MIP-1 $\alpha$	x	x
MIP-1 $\beta$	x	x
SCD40L	x	
IL-1RA		x
IL-3		x
IL-5		x
IL-7		x
IL-12(p40)		x
IL-15		x
GM-CSF		x
G-CSF		x
TNF $\beta$		x
Eotaxin		x
Rantes		x
EGF		x
VEGF		x

**Tabelle 2:** Gemessene Zytokine 2016 und 2017

### 3.4 Datenanalyse

Die gesammelten Daten wurden zur Datenaufbereitung in Excel (Microsoft Office Excel 2007) übertragen und zunächst standardisiert und bereinigt. In den Daten der Zytokinmessungen wurden alle unterhalb des quantifizierbaren Messbereiches

liegenden Daten (OOR<, out of range below) durch den Wert „0“ ersetzt. Die Daten der Messung von 2017 von IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-4, IL-5, IL-13, IFN- $\alpha$ 2 und VEGF wurden daraufhin von der weiteren statistischen Analyse ausgeschlossen, da nahezu alle Werte unterhalb des Messbereiches lagen und somit nicht verwertbar waren. Vollständige Datensätze von Nicht-Finishern wurden trotzdem in die Analyse einbezogen, wenn sie vor Abbruch des Rennens mindestens 120 km gelaufen waren.

Zur statistischen Auswertung wurde das Statistikprogramm GraphPad Prism 7 genutzt. Es wurden ausschließlich nicht-parametrische Tests angewandt. Zur besseren Darstellung der Daten wurden Methoden der deskriptiven Statistik herangezogen. Die Häufigkeiten der Patientencharakteristika wurden tabellarisch mithilfe von Spannweite, Mittelwert mit Standardabweichung dargestellt und die gemessenen Analyten wurden in Scatterplots grafisch aufgearbeitet.

Bei der Analyse der Mittelwertunterschiede wurde die Vorgehensweise verfolgt, in der Kohorte von 2016 nach angestiegenen Zytokinen zu screenen und diese Beobachtungen in der Kohorte von 2017 zu validieren. Zunächst sollte in beiden Kohorten herausgearbeitet werden, ob überhaupt Unterschiede zwischen den drei gemessenen Zeitpunkten bestehen, wozu der Friedman-Test mit dem p-Wert für statistische Signifikanz ( $\alpha$ -Level) 0,05 verwendet wurde. Nach Anschlagen des Friedman-Testes wurden mit Wilcoxon-Tests die genauen Unterschiede zwischen den drei Zeitpunkten einzeln evaluiert und das Signifikanzniveau angepasst. In der Kohorte von 2016 wurde das  $\alpha$ -Level 0,05 nur bezüglich der drei Messzeitpunkte angepasst, in der Validierungskohorte von 2017 wurde das Signifikanzniveau zusätzlich entsprechend der Anzahl der getesteten Interleukine korrigiert (Bonferoni-Korrektur).

Zur Exploration von Korrelationen wurden nur die Daten von 2016 verwendet, da hier mehr vollständige Datensätze und eine insgesamt größere Kohorte gegeben waren. Es wurde die Spearman Korrelation verwendet und das Signifikanzniveau wurde nach Bonferoni-Holm korrigiert. Die Daten vom Zeitpunkt POST aller signifikant angestiegenen Zytokine wurden auf Korrelationen untereinander getestet und zudem mit CRP, CK, URTI und GI-Beschwerden korreliert. Im Fall der Immunzellen wurden nach Literaturrecherche nur ausgewählte Kombinationen von Zelltyp und Interleukin untersucht, bei denen Zusammenhänge vermutet werden konnten. Getestet wurden eventuelle Zusammenhänge von allen angestiegenen Interleukinen mit den Gesamtleukozyten, IL-6, IL-8 und IFN- $\alpha$ 2 mit den Neutrophilen, IL-4, MCP-1 und IFN- $\alpha$ 2

mit den Monozyten, IL-10 und IL-4 mit den Eosinophilen, sowie IL-10 und MCP-1 mit den Basophilen.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Kohorte

Insgesamt konnten 39 Probanden in die Studie eingeschlossen werden, wovon 28 das Rennen erfolgreich beendeten. 4 Läufer haben in beiden Jahren am Lauf teilgenommen (Doppelstart). Es gab 22 Teilnehmer im Jahr 2016 und 17 Teilnehmer im Jahr 2017. Die Probandengruppen zeigen ein vergleichbares Profil, insgesamt handelt es sich jedoch um ein eher heterogenes Probandenkollektiv in Bezug auf das Alter und die anthropometrischen Grunddaten (Vgl. Tab. 1 und 2). Das Durchschnittsalter der Gesamtkohorte lag bei 46 Jahren (SD  $\pm$  9,8), wobei nahezu alle Altersklassen von 25 bis 65 Jahren vertreten waren. Die Probanden waren vorwiegend männlich (n = 33), nur 6 waren weiblich.

Variable	2016		2017		Gesamt	
Anzahl Läufer	n = 22		n = 17		n = 39	
Geschlecht	(19m/3w)		(14m/3w)		(33m/6w)	
Finisher	n = 16		n = 12		n = 28	
	MW + SD	Spannweite	MW + SD	Spannweite	MW + SD	Spannweite
Alter in Jahren	46 $\pm$ 8,8	26 - 62	44 $\pm$ 10,2	25 - 65	46 $\pm$ 9,8	25 - 65
Größe in cm	176 $\pm$ 8,1	154 - 188	174 $\pm$ 4,5	165 - 183	175 $\pm$ 6,8	154 - 188
Gewicht in kg	74 $\pm$ 8,4	58 - 93	72 $\pm$ 7,2	58 - 93	73 $\pm$ 7,5	58 - 93
BMI	23 $\pm$ 1,7	21 - 28	24 $\pm$ 2,2	20 - 30	24 $\pm$ 1,9	20 - 30
KFA in %	15 $\pm$ 5,7	3 - 24	18 $\pm$ 6,5	6 - 29	17 $\pm$ 6,3	3 - 29
Km/h an LT	8,7 $\pm$ 1,2	6,8 - 11,3	8,9 $\pm$ 1,5	6,2 - 11,9	8,8 $\pm$ 1,3	6,2 - 11,9
Laktat an IAS	2,4 $\pm$ 0,4	1,95 - 3,09	2,7 $\pm$ 0,4	2,13 - 3,37	2,5 $\pm$ 0,4	1,95 - 3,37
$\emptyset$ v in km/h	7,2 $\pm$ 1,1	5,5 - 9,1	7,7 $\pm$ 1,6	5,8 - 10,5	7,4 $\pm$ 1,3	5,5 - 10,5

**Tabelle 3:** Probandeneigenschaften

Vollständige Datensätze konnten von 32 Probanden erhoben werden, wobei 6 Datensätze nicht vollständig waren, da die Probanden nach vorzeitigem Rennabbruch die Untersuchung im Zieleinlauf nicht wahrgenommen haben und 1 Proband nicht zum Follow-up erschien. 5 Probanden haben sich trotz vorzeitigem Rennabbruchs zur

Untersuchung im Zieleinlauf vorgestellt und sind vor dem Abbruch mindestens 120 km gelaufen, wonach sie in die Auswertung einbezogen werden konnten. So ergeben sich 21 vollständige Datensätze in der Kohorte von 2016, und 12 im Jahr 2017.

## 4.2 Beschreibung des Zytokinprofils

Wir sahen zum Zeitpunkt nach dem Lauf bei allen Läufern eine deutliche Zytokinämie. Besonders ausgeprägt waren die Anstiege von PRE zu POST bei IL-6 ( $p < 0,0001$ ), IL-8 ( $p < 0,0001$ ) und IL-10 ( $p = 0,0004$ ). Weiterhin stiegen MCP-1 ( $p = 0,001$ ) und IFN- $\alpha$ 2 ( $p = 0,0038$ ) an, sowie das Typ-2-T-Zellzytokin IL-4 ( $p = 0,0058$ ). (s. Abb. 1) Zudem sind tendenzielle Anstiege von MIP-1 $\beta$ , IL-2, IL-12p70, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  und IL-13 zu beschreiben, die jedoch keine Signifikanz erreichten. (s. Abb.2) In der Kohorte von 2017 konnten die Anstiege von IL-6 ( $p = 0,0078$ ), IL-8 ( $p = 0,0048$ ) und IL-10 ( $p = 0,0005$ ) bestätigt werden. Bei MCP-1 zeigte sich auch 2017 ein Anstieg von PRE zu POST, der zwar im Scatterplot sichtbar, aber mit  $p = 0,0171$  nicht signifikant war. (s. Abb. 3) Die 2016 beobachteten Veränderungen von IL-4 und IFN- $\alpha$ 2 konnten in der Kohorte von 2017 leider, aufgrund zu weniger Messwerte im quantifizierbaren Bereich, nicht validiert werden. Als Nebenbeobachtung in der Kohorte von 2017 ist ein Abfall von Eotaxin nach dem Lauf zu nennen ( $p = 0,0134$ ). Alle Veränderungen von Zytokinkonzentrationen waren nicht längerfristig persistent, sondern hatten sich zur Follow-up Untersuchung nach einer Woche (RE) wieder vollständig auf das Anfangsniveau zurückgebildet.

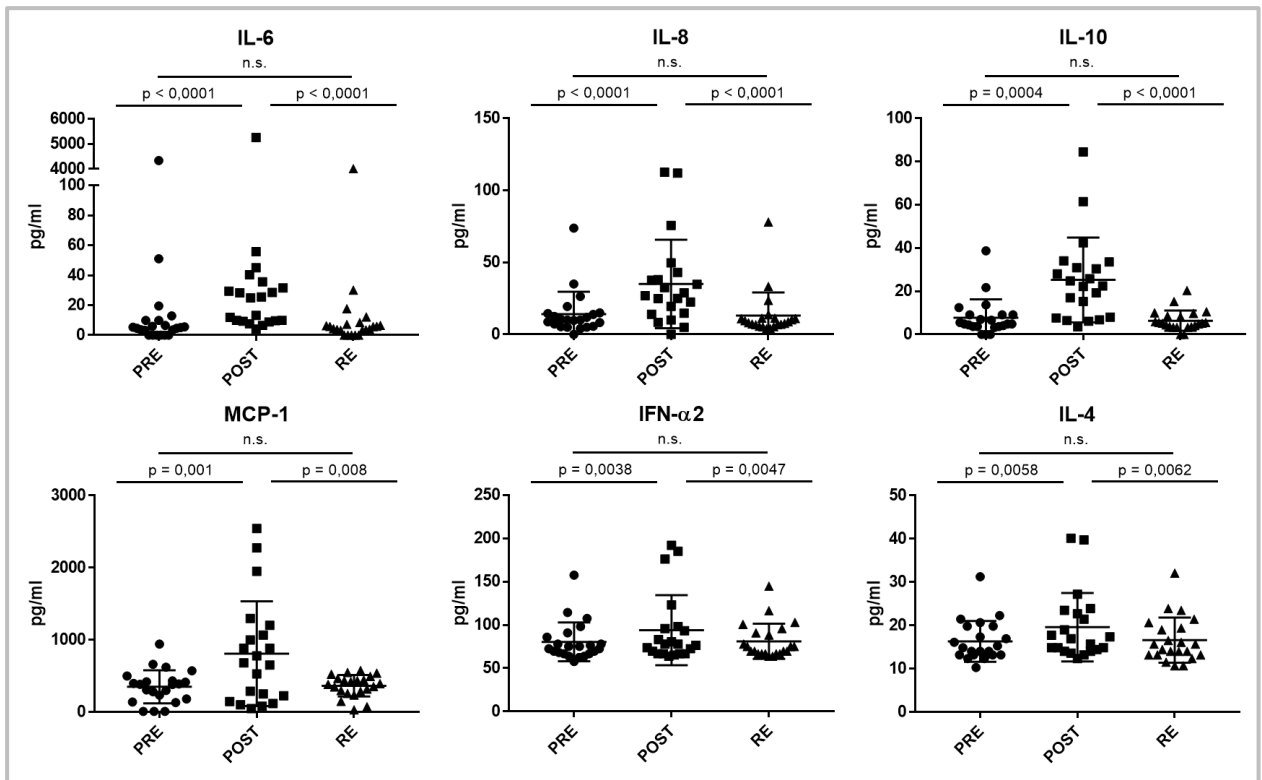


Abbildung 4: Scatterplots zu den Zytokinveränderungen (2016)

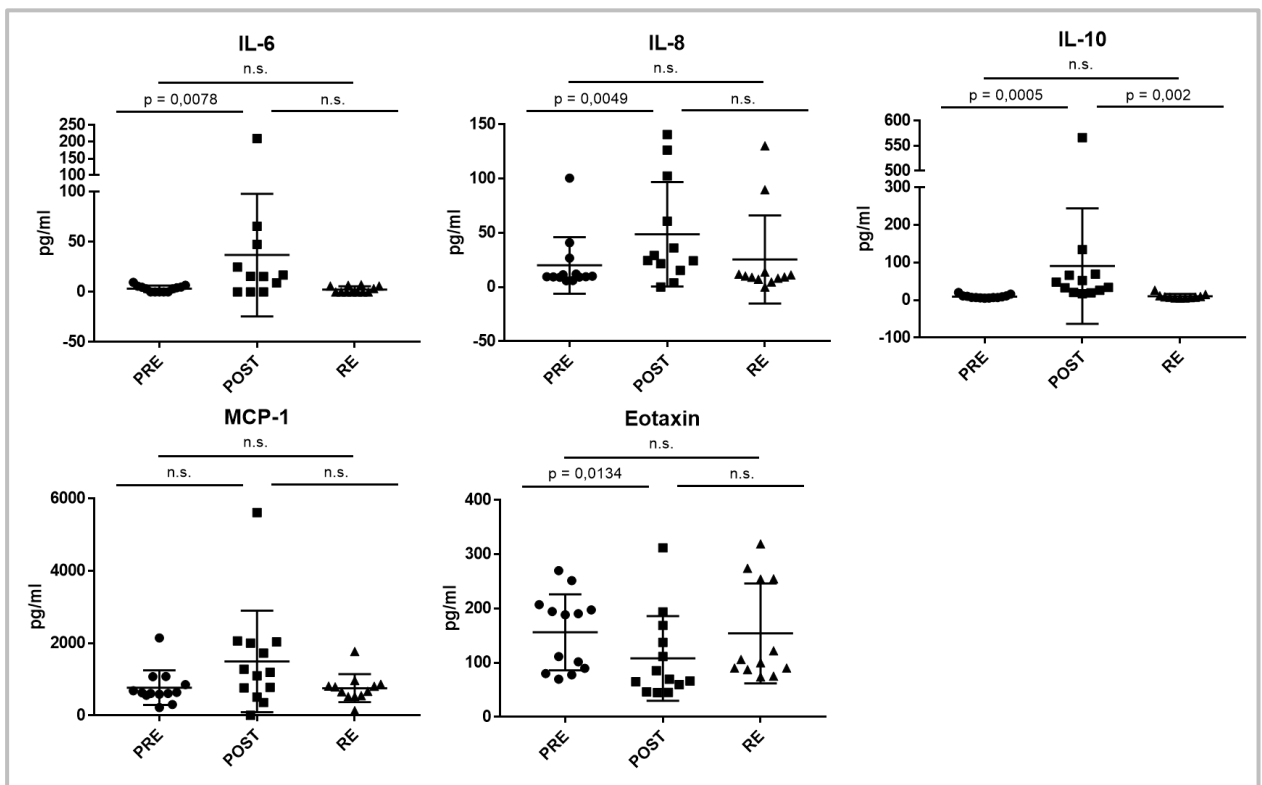


Abbildung 5: Scatterplots zu den Zytokinveränderungen (2017)



### 4.3 Beschreibung der Blutbildveränderungen

Im Blutbild der Läufer konnten ausgeprägte Veränderungen der absoluten Zellzahlen beobachtet werden, die sich nach einer Woche wieder vollständig zurückgebildet hatten. Es war insgesamt eine signifikante Leukozytose ( $p < 0,0001$ ) zum Zeitpunkt nach dem Lauf zu beobachten, mit einer Erhöhung der absoluten Neutrophilen ( $p < 0,0001$ ), Monozyten ( $p < 0,0001$ ) und Basophilen ( $p = 0,0008$ ). Eine signifikante Erniedrigung lag bei den absoluten Werten der Eosinophilen zum Zeitpunkt POST vor ( $p = 0,0001$ ). Die Anzahl der Lymphozyten und Thrombozyten im Blut veränderte sich nicht signifikant. Betrachtet man jedoch den prozentualen Anteil der Lymphozyten an den Gesamtleukozyten, so kann man von einer relativen Lymphopenie sprechen.

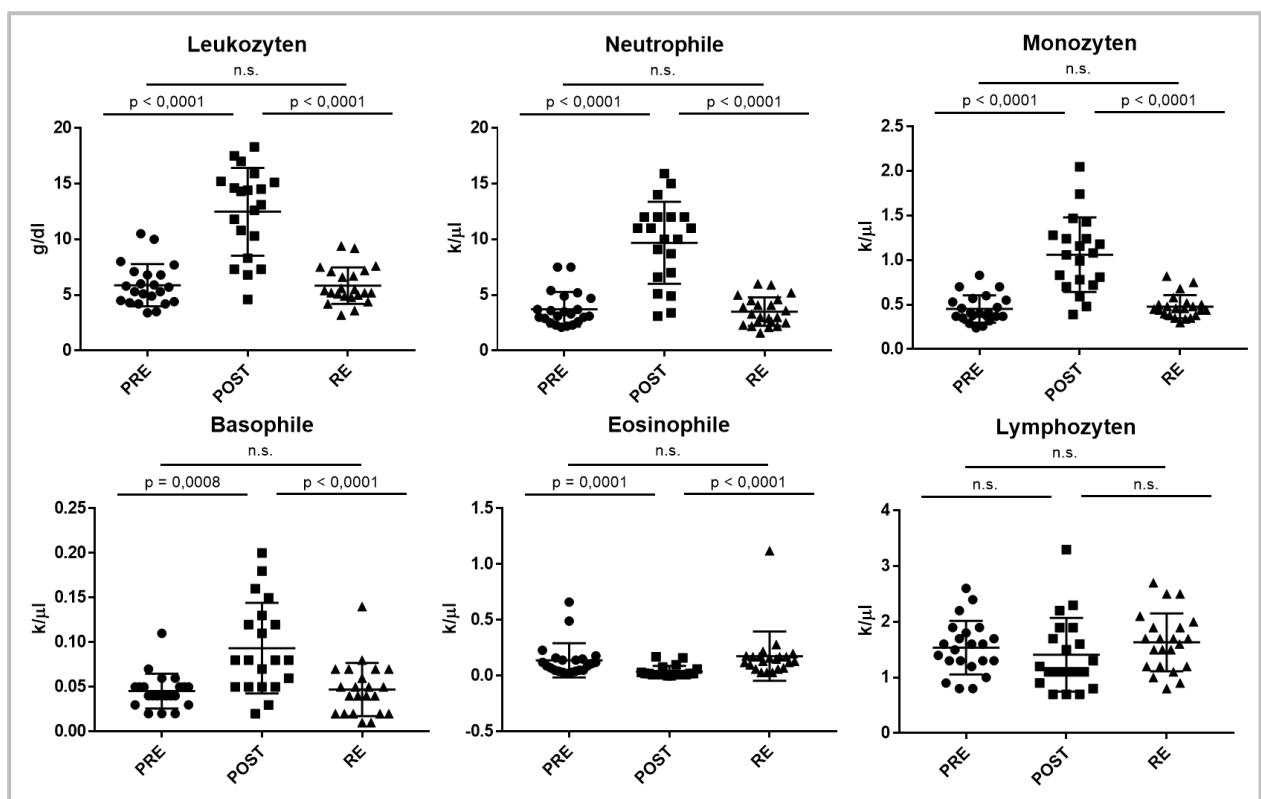


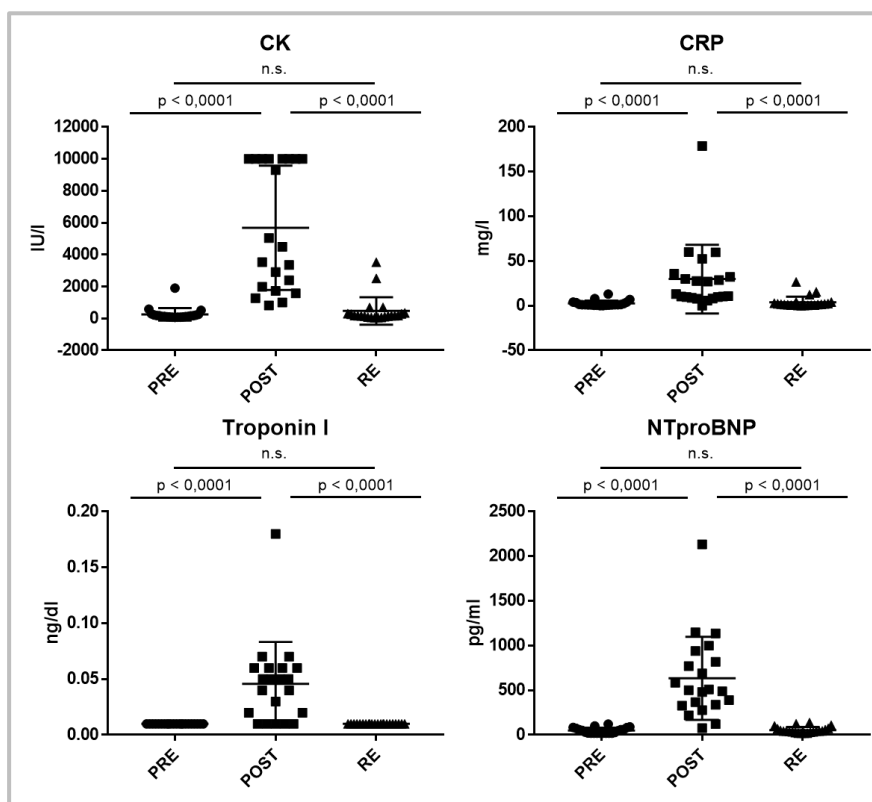
Abbildung 6: Scatterplots zu Blutbildveränderungen (2016)

### 4.4 Weitere Laborwerte (CK, CRP, kardiale Marker)

Das Akute-Phase-Protein CRP war nach dem Lauf signifikant angestiegen ( $p < 0,0001$ ), wobei aber bis auf einen Ausreißer keine Werte über 60 mg/l lagen. Auch die CK, welche als Marker für das Ausmaß des Muskelschadens dient, war bei allen Läufern signifikant erhöht zum Zeitpunkt POST ( $p < 0,0001$ ). Zu diesem Zeitpunkt war zudem eine gruppierte Verteilung der Messwerte auffällig. Eine Gruppe liegt mit den Werten

zwischen 1000 und 5000 IU/l und eine Weitere mit Werten über 10000 IU/l, die aber wegen des begrenzten quantifizierbaren Bereiches der Messmethode nicht genauer bestimmt werden konnten. Die Veränderungen bildeten sich nach einer Woche wieder nahezu vollständig auf das Ausgangsniveau zurück.

Auch bei den Markern für erhöhte kardiale Belastung ließen sich nach dem Lauf signifikant erhöhte Werte beobachten ( $p < 0,0001$ ). Der Marker NTproBNP war bei allen Läufern zum Zeitpunkt POST erhöht, wobei die Werte relativ gleichmäßig über eine Spannweite von 75 bis 1200 pg/ml verteilt waren. Das Troponin I stieg bei den meisten Läufern etwa um das fünffache an, bei einem kleinen Teil (ca.  $\frac{1}{4}$ ) der Probanden blieb es jedoch zu allen drei Zeitpunkten auf dem Ausgangsniveau.

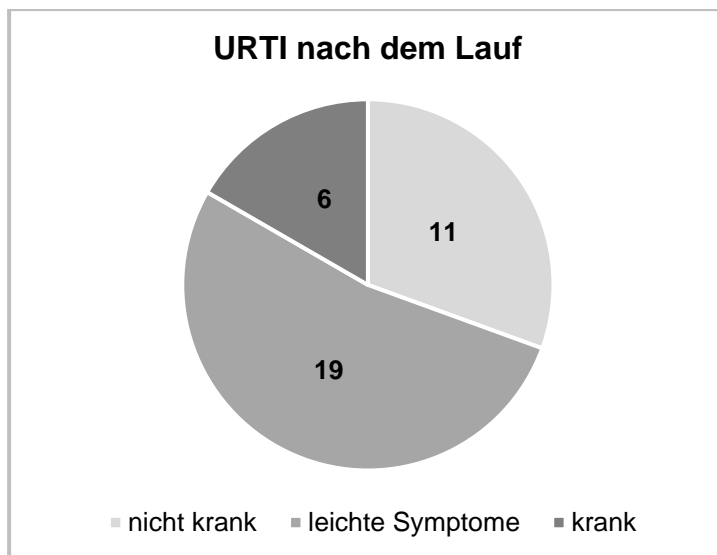


**Abbildung 7:** Scatterplots zu Laborveränderungen der Marker für Muskelschaden, Entzündung und kardiale Belastung (2016)

## 4.5 Fragebögen

Die Fragebögen zu Beschwerden der oberen Atemwege und des Gastrointestinaltraktes wurden von allen Probanden in der Kohorte 2016 ausgefüllt und vollständig übermittelt. Im Jahr 2017 fehlen die Daten von 3 Nicht-Finishern, sodass von den 17 Probanden nur 14 Datensätze vollständig sind.

Von den insgesamt 36 Läufern berichteten 19 in der Woche nach dem Lauf von leichten Symptomen eines Infektes der oberen Atemwege. 6 Läufer hatten starke Symptome, bzw. fühlten sich krank und im Alltag eingeschränkt im Sinne einer Erkältung. 11 Läufer blieben frei von Beschwerden. (s. Abb. 4) Am häufigsten wurde ein ausgeprägtes Gefühl von Abgeschlagenheit und Müdigkeit und die Symptome laufende, verstopfte Nase mit vermehrtem Niesen, sowie Halsschmerzen angegeben.



**Abbildung 8:** URTI-Symptome in der Woche nach Lauf, n = 36

30 von 36 Läufern berichteten von gastrointestinalen Beschwerden während des Laufes, wobei die Beschwerden bei 7 Sportlern vereinzelt auftraten, bei 11 Sportlern gelegentlich intermittierend und bei 12 Läufern häufig bzw. über einen längeren Zeitabschnitt persistierend waren. (s. Abb. 5) Die am häufigsten angegebenen Beschwerden des oberen Magen-Darm-Traktes waren vermehrtes Aufstoßen und Völlegefühl und was den unteren Magen-Darm-Trakt betraf, waren es verstärkter Stuhldrang und Blähungen. Auch krampfartige Bauchschmerzen spielten des Öfteren eine Rolle, vereinzelt kam es weiterhin zu Durchfällen und Übelkeit mit Erbrechen. Insgesamt ließ sich bei allen Läufern eine Steigerung der Beschwerden mit zunehmender Anzahl der gelaufenen Kilometer beobachten. Die ersten leichten Beschwerden wurden mit „gelegentlich“ oder „selten“ schon zu Beginn des Laufes angegeben, häufige und stärkere Symptome traten jedoch erst ab Kilometer 40 auf.



**Abbildung 9:** GI-Beschwerden während des Laufes, n = 36

## 4.6 Korrelationen

Zunächst wurden die 2016 signifikant angestiegenen Zytokine (IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1 und IFN $\alpha$ 2) auf Korrelationen untereinander untersucht. Daraus resultierte ein signifikantes Ergebnis was eine positive Korrelation von MCP-1 und IL-10 ( $p = 0,0009$ ,  $r = 0,67$ ) zeigte. Eine ähnliche Tendenz war auch bei IFN $\alpha$ 2 und IL-8 ( $p = 0,0029$ ,  $r = 0,62$  (n.s.)) zu erkennen. Die 6 oben genannten Zytokine zeigten, bis auf eine signifikante positive Korrelation von Basophilen und IL-10 ( $p = 0,0002$ ,  $r = 0,74$ ), keine Korrelationen mit den Gesamtleukozyten oder deren Untergruppen. Auch das mit IL-10 korrelierende Interleukin MCP-1 zeigte Tendenzen zur Korrelation mit den Basophilen ( $p = 0,0056$ ,  $r = 0,6$  (n.s.)). Der Entzündungsmarker CRP korrelierte signifikant negativ mit IL-4 ( $p = 0,0005$ ,  $r = -0,6933$ ), Zusammenhänge zu weiteren Zytokinen waren nicht ersichtlich. Die CK, kardiale Marker, Atemwegsbeschwerden und gastrointestinale Beschwerden ließen sich nicht mit Zytokinerhöhungen in Verbindung bringen.

## 5. Diskussion

### 5.1 Angestiegene Parameter nach dem Lauf

Die Untersuchungen zum Mauerweglauf konnten bestätigen, dass sich das Immunprofil der Ultraläufer durch die körperliche Belastung deutlich verändert, was sowohl die Zytokine, als auch die Immunzellen betrifft. Unsere Erwartungen bestätigten sich auch dahingehend, dass sich die Veränderungen nach einer Woche wieder vollständig

zurückgebildet hatten und nicht längerfristig persistierten. Das Zytokinprofil zeigte nach dem Lauf eine ausgeprägte Zytokinämie von IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1 und IFN- $\alpha$ 2. Dabei stiegen die Interleukine IL6, IL8 und IL-10 am deutlichsten bei allen Läufern an, was unsere Hypothese dahingehend bestätigte und auch bereits in vielen anderen Studien zu Ultraläufen gezeigt werden konnte (8, 12, 22, 30, 44).

Was die Immunzellsubpopulationen betrifft, so bestätigten sich unsere Erwartungen einer allgemeinen Leukozytose, welche vor allem in einem Anstieg der absoluten Neutrophilen, Basophilen, und Monozyten begründet ist. Weiterhin konnten eine durch den Lauf bedingte Eosinopenie und eine relative Lymphopenie bestätigt werden. Diese Veränderungen sind auch in der Literatur zu Ultraläufen bereits sporadisch beschrieben worden (13, 22). Unsere Ergebnisse lassen jedoch keine Schlussfolgerungen zu, inwiefern die erhöhten Werte von IL-6 und IL-8 Einfluss auf die Verschiebung der Immunzellpopulation hatten, oder ob bestimmte Immunzellen in besonderem Ausmaß an der Produktion dieser Interleukine beteiligt waren. Nur die Korrelation von IL-10 und Basophilen lässt Zusammenhänge vermuten, welche an anderer Stelle ausgeführt werden sollen.

Insgesamt sind die Zytokinämie und die Veränderungen in den Immunzellsubpopulationen das Resultat eines starken Immunstresses. Dieser ist einerseits Folge des physiologischen Traumas durch den Lauf, welches eine Überbelastung des Gewebes mit entsprechend starkem Muskelschaden nach sich zieht, der sich in den teilweise oberhalb des messbaren Bereiches (< 10000) liegenden CK-Werten zum Zeitpunkt POST äußert. Die Muskelschädigung trägt auch zu einer systemischen Inflammationsreaktion bei, indem IL-6 induziert wird (105), welches wiederum Anstiege des CRP bewirkt. (51) Andererseits wird der Immunstress aber auch durch die Ausschüttung von zytokinstimulierenden Hormonen wie Adrenalin vermittelt. (99). Weitere Stressoren, die einen Einfluss auf das Immunsystem haben können, sind die während des Laufes erschwerte Temperatur- und Volumenregulation des Körpers, sowie die fortschreitende Depletion der Energiequellen (106, 107).

## **5.2 Zusammenhang MCP-1 und IL-10**

Bei der Suche nach Interaktionen der nach dem Lauf erhöhten Interleukine konnte eine Korrelation von IL-10 und MCP-1 gefunden werden. Zu der Verbindung der beiden Zytokine liegen nur begrenzt Untersuchungen vor. Kucharzik et al. konnten zeigen, dass IL-10 in der Lage ist, die MCP-1-Produktion von aktiviertem intestinale Epithel in

vitro zu hemmen (108). Untersuchungen, die sich mit der MCP-1 Freisetzung aus Monozyten beschäftigen, sind nicht sehr zahlreich und zeigen unterschiedliche Ergebnisse. In einer Untersuchung stellte sich die CCL16 vermittelte MCP-1 Ausschüttung unter Einfluss von IL-10 als erhöht dar (109), andererseits scheint IL-10 in einer anderen Untersuchung eher regulatorische, begrenzende Effekte auf die Autostimulation von MCP-1 zu haben (110). Die bestehende Literatur liefert in diesem Fall also nur unzureichende Hinweise, wie die gefundene Korrelation begründet sein könnte. Ein Zusammenhang von IL-10 und MCP-1 ist jedoch bereits bekannt und sollte näher untersucht werden.

### **5.3 Anstieg IL-4 und Zusammenhang mit CRP**

In der Literatur zu extremer Langzeitausdauerbelastung wird in vielen Untersuchungen der Einfluss proinflammatorischer Zytokine adressiert, jedoch werden, abgesehen von IL-10, nur selten antiinflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-5 und IL-13 betrachtet (10, 14, 25, 27, 111). In einer Studie zu einer mit dem Fahrrad in heißer Umgebung zurückgelegten, 164 km langen Strecke, konnte nach der Belastung ein Abfall von IL-4 beobachtet werden. Es wird jedoch auch vermutet, dass sich die Zytokinantworten bei Rad- und Laufwettstreiten generell unterscheiden (26).

IL-4 ist ein antiinflammatorisches Typ-2-Interleukin, es hemmt und reguliert beispielsweise die Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine TNF- $\alpha$  und IL-1 und stimuliert gleichzeitig den IL-1 Antagonisten IL-1RA (112, 113). Der signifikante Anstieg von IL-4, der sich nach dem Mauerweglauf präsentierte, könnte vor diesem Hintergrund als Gegenregulation zu der insgesamt eher proinflammatorischen Reaktion gedeutet werden. In diesem Zusammenhang passt auch die negative Korrelation von IL-4 und CRP. Man könnte annehmen, dass bei Sportlern mit niedrigen IL-4 Werten die Inflammation schlechter eingedämmt werden kann, wodurch das CRP vermehrt ansteigt. Sportler, bei denen die Inflammation wiederum durch höhere IL-4 Werte reguliert wird, könnten dadurch geringer ausgeprägte Anstiege des CRP zeigen. Trotz dieses Zusammenhangs ist zu bedenken, dass der Anstieg des CRP nach dem Lauf in erster Linie durch IL-6 induziert wird. Dieser Anstieg ist möglicherweise von Bedeutung, da auch CRP, wie die Zytokine, ein wichtiges Molekül in der Abwehr bakterieller Erreger ist. Es ist aber davon auszugehen, dass auch antiinflammatorische Interleukine eine bedeutsame Rolle in der immunologischen Antwort auf starke Ausdauerbelastung spielen, die bisher noch nicht ausreichend untersucht worden ist. Diese Interleukine

könnten ausschlaggebend dafür sein, ob ein Sportler eine überschießende Inflammation in eventuell sogar schädigendem Ausmaß entwickelt, oder nicht.

## **5.4 Zusammenhang IL-10 und Basophile**

Dass basophile Granulozyten eine wichtige Rolle spielen bei der Entwicklung einer Typ-2-Immunantwort, ist in Bezug auf allergische Erkrankungen und Helminthen-Infektionen bereits in der Literatur beschrieben (114-116). IL-10 scheint eher regulatorische Wirkung auf die Aktivität der Basophilen, und damit auch Einfluss auf die Ausschüttung weiterer Interleukine zu haben. Im Kontext der allergischen Erkrankungen wird angenommen, dass Basophile wichtige Zielzellen bei der Regulierung bzw. Eindämmung der Typ-2-Immunantwort sind, und dieser Prozess von IL-10 vermittelt wird, indem es die Ausschüttung von IL-4 und IL-13 aus Basophilen hemmt (117). Auch im Falle der chronischen Helminthen-Infektion im Mausmodell wird das IL-10 eher für eine verminderte Reaktivität der basophilen Granulozyten verantwortlich gemacht (118). Über den Einfluss von IL-10 auf die Anzahl der Basophilen wird hier jedoch nicht berichtet. Eine Arbeit aus dem Jahr 2010 legt hingegen nahe, dass basophile Granulozyten in der Lage sind, die Ausschüttung von IL-10 aus Typ-2-TH-Zellen zu stimulieren. Unter Abwesenheit von basophilen Granulozyten konnte eine verringerte Produktion von Typ-2-Zytokinen wie IL-10, IL-4 und IL-13 an Mäusen beobachtet werden (119). Der beobachtete Zusammenhang des Anstiegs von Basophilen und IL-10 könnte also hypothetisch auf die Stimulation von TH-Zellen zur Ausschüttung von IL-10, ausgelöst durch die basophilen Granulozyten, zurückgeführt werden. Dies könnte Teil eines autoregulatorischen Kreislaufes der Basophilen sein, die durch Induktion von IL-10 sowohl Ihre eigene Aktivität, aber auch die Typ-2-Immunantwort ein Stück weit begrenzen.

## **5.5 T2-Shift**

Die vermehrte Synthese von IL-4, IL-10 und IL-6 nach dem Lauf spricht für ein Überwiegen der TH2-Immunantwort (88, 93, 120). Die T1- und T2-Immunantwort haben eine gegenseitig inhibitorische Wirkung (121), sie stehen also in einer komplexen Wechselbeziehung zueinander, die eine Anpassung der Immunantwort an die Bedürfnisse des Körpers ermöglicht. Die Dysbalance der TH-Subpopulationen geht mit chronischen und autoimmunen Erkrankungen einher, was nun die Frage nahelegt,

inwiefern sich der beobachtete T2-Shift förderlich oder schädlich auf die Sportler auswirkt (89, 122). Erst seit Kurzem existieren Untersuchungen, die die T1/T2-Balance in Bezug auf Geweberegeneration und Muskelaufbau thematisierten. Sie kommen zu dem Ergebnis, dass ein T2-Shift nach Gewebeschaden wichtig ist, da so regenerierende Mechanismen in Muskel und Gewebe aktiviert werden können. Vor allem die vermehrte Einwanderung von durch Typ-2-Interleukine aktivierten, sogenannten M2-Makrophagen scheint bei den Reparaturprozessen eine wichtige Rolle zu spielen (59, 89). Insofern scheint der Nutzen des TH2-Shiftes in einer positiven Beeinflussung der Reparaturmechanismen für den erheblichen, durch Ultraläufe verursachten Gewebeschaden zu liegen. Wichtig ist die Tatsache, dass sich die T2-Verlagerung im Zytokinprofil innerhalb einer Woche wieder vollständig zurückzubilden scheint. Denn wenn die von Typ-2-Zytokinen vermittelten Reparaturprozesse chronisch aktiv bleiben, kann dies zu pathologischer Fibrose in verschiedenen Organsystemen führen (59, 89). Es ist davon auszugehen, dass die positiven Effekte des TH2-Shiftes in der frühen Phase nach dem Lauf überwiegen. Sollte jedoch ein Ultraläufer Tendenzen einer Chronifizierung dieser immunologischen Konstellation zeigen, so wären gesundheitliche Langzeitschäden nicht ausgeschlossen. Nimmt man an, dass sich ein Sportler mit jedem Ultraläufe sozusagen einem profibrotischen Stimulus aussetzt, so wäre auch die Anzahl und Frequenz der Wettläufe in die Abwägung des gesundheitlichen Langzeitrisikos mit einzubeziehen.

## **5.6 Ergebnisse der Fragebögen**

### **5.6.1 Atemwegsinfekte**

Etwa die Hälfte der Läufer litt in der Woche nach dem Lauf an Symptomen einer oberen Atemwegsinfektion, wobei etwa 16 % zusätzlich über ein subjektives Krankheitsgefühl klagten. In Studien zum WSER meldete einer von vier Läufern eine Atemwegsinfektion nach dem Lauf, was in etwa mit unseren Zahlen übereinstimmt (12, 75). In der Literatur gibt es zahlreiche Studien, die einen Zusammenhang zwischen Atemwegsinfektionen und der Intensität und Dauer der körperlichen Belastung postulieren, der etwa einer J-förmigen Kurve folgt: leichte bis mäßige sportliche Belastung senkt, starke bis übermäßige Belastung erhöht das Infektionsrisiko (69, 71, 73, 77, 96). Der beste Prädiktor des Infektionsrisikos scheint das mukosale IgA direkt nach dem Lauf zu sein (12, 75-77). Es gibt auch die Hypothese, dass in einem sogenannten „offenen



Zeitfenster“ von 3 bis 72 Stunden nach starker körperlicher Belastung das Eindringen von Erregern erleichtert ist, aufgrund von eingeschränkter Aktivität von NK-Zellen (123). In diesem Zeitraum sind auch mehrere Interleukine stark erhöht, eine direkte Verbindung von Interleukinen zur erhöhten Infektanfälligkeit konnte jedoch bisher nicht nachgewiesen werden.

In unseren Untersuchungen zeichnete sich kein Zusammenhang von Atemwegsinfektionen und Interleukinen ab, jedoch bietet die Literatur einen möglichen Erklärungsansatz in Verbindung mit den Anstiegen von IL-6, IL-10 und IL-4. IL-6 ist bedeutsam für die Kommunikation von Muskeln mit anderen, energiebereitstellenden Organen und wirkt sich auch förderlich auf die Energiebereitstellung durch die Beeinflussung von Lipolyse und Glukosestoffwechsel aus (124). Diese Wirkung dieses Interleukins ist ausschlaggebend für die erfolgreiche Beendigung eines Ultralaufes. Andererseits könnte es für eine erhöhte Infektanfälligkeit mitverantwortlich sein, indem es den Shift zur Typ-2-Immunität unterstützt. Studien zeigen, dass IL-6 die Typ-2 Interleukine IL-4 und IL-10 induziert und somit eine Differenzierung von naiven T-Zellen zu T2-Effektorzellen begünstigt (46, 124, 125). Betrachtet man die Auswirkungen der T2-Verlagerung der Immunantwort, so lässt sich auf einen Zusammenhang zum vermehrten Auftreten von URTI-Symptomen bei Ultraläufern schließen: Eine vermehrte Infektanfälligkeit ließe sich durch die nach Langzeitausdauerbelastung kompromittierte T1-Immunantwort und damit auch eingeschränkte zellvermittelte Immunität erklären, wodurch keine zuverlässige Abwehr gegen intrazelluläre Erreger mehr gewährleistet werden kann und sich Viren so leichter in den Zellen vermehren können. Somit kann man bei der Begründung der erhöhten Infektanfälligkeit nach Ultralauf vielleicht nicht von einer reinen Immunsuppression, sondern eher von einer Schwerpunktverlagerung zu Gunsten der T2-Immunantwort sprechen. Da mehrere T2-Zytokine bei vorbestehender Allergie auch eine Rolle bei der Initiation allergischer Reaktionen spielen, ist bei manchen Läufern auch eine allergische Genese der URTI-Symptome in Betracht zu ziehen. Die Verlagerung zur T2-Immunantwort ist vermutlich trotz der damit einhergehenden gesundheitlichen Probleme bei Sportlern sinnvoll, da sie das Immunsystem hindert eine überschießende Inflammation oder Gewebeschaden zu induzieren und gleichzeitig Reparaturprozesse fördert.

## **5.6.2 Gastrointestinale Beschwerden**

Mit etwa 83 % litt der überwiegende Teil der Läufer nach eigenen Angaben während des Laufes an gastrointestinalen Beschwerden. Rund ein Drittel aller Läufer klagte dabei über starke, langanhaltende Beschwerden. Ähnliche Zahlen zwischen 75 % und 89 % konnten auch in anderen Studien zu Ultraläufen beobachtet werden (8, 84, 85). Diese Studien hatten eine ähnlich weit gefasste Definition von gastrointestinalen Beschwerden wie wir, die darauf abzielt die Symptome möglichst vollständig zu erfassen. Andere Zahlen zwischen 40 % und 50 % ergeben sich bei Studien, die Ihre Symptomerfassung eingegrenzt und beispielsweise auf Übelkeit und Erbrechen beschränkt haben (81, 126). Als mögliche Ursache wird diskutiert, dass Ultralauf eine Schädigung des gastrointestinalen Epithels induzieren kann. Eine Untersuchung von Baska et al., die einen Zusammenhang von Beschwerden des unteren Verdauungstraktes und einem positiven Hämoccult-Test nach dem Lauf sieht, stützt diese Annahme (82). Grundlage der Epithelschädigung könnten Minderperfusion und mechanische Reizung sein, die eine Barrierestörung des Epithels bedingen und somit zur Endotoxeinämie mit nachfolgender Freisetzung von Entzündungsmediatoren führen könnten (8, 127). In unseren Untersuchungen lassen sich leider keine zielführenden Hinweise finden, ob und inwiefern sich die Zytokinämie und die gastrointestinalen Beschwerden gegenseitig bedingen.

## **5.7 Kritische Bewertung der Ergebnisse**

Bei jeder Untersuchung, die sich mit Zytokinen beschäftigt, ist zu bedenken, dass Zytokine Moleküle mit insgesamt eher kurzer Halbwertszeit im Blutkreislauf sind. Die Zytokinmessung im Blutplasma ist also vielleicht nicht ausreichend, um das systemische Zytokinprofil zu erfassen, da man nur eine Momentaufnahme erhält. Es handelt sich bei der Immunreaktion um eine Zytokinkaskade, was bedeutet, dass sich die maximalen Anstiege verschiedener Zytokine wahrscheinlich über den gesamten Laufzeitraum verteilen. Frühe Induktoren der inflammatorischen Zytokinkaskade, wie TNF- $\alpha$  oder IL-1 könnten folglich bei bis zu 30 Stunden dauernden Läufen, zum Messzeitpunkt im Zieleinlauf schon wieder abgefallen sein. Um dieses Problem zu lösen wären mehrere, mit hohem organisatorischem Aufwand verbundene Etappenmessungen notwendig, die in unserem Fall nicht umsetzbar waren. Weiterhin ist zu bedenken, dass Faktoren, wie die z.B. zirkadiane Rhythmik der Läufer oder die

Witterung, Einfluss auf die Zytokinfreisetzung haben können. Diese Faktoren können interindividuell und auch von Lauf zu Lauf variieren und somit möglicherweise Abweichungen in den Ergebnissen von Studien erklären.

Eine Beeinflussung der Messergebnisse wäre bereits im Prozess der Präanalytik denkbar. Im präanalytischen Protokoll der Blutproben zur Zytokinanalyse ist die Lagerung bei - 80 °C vorgesehen. Hier sind Abweichungen möglich, da die Kühlung der Proben im Zieleinlauf und beim Transport auf Trockeneis erfolgte, wodurch die Temperaturregulierung möglicherweise nicht so exakt wie unter Laborbedingungen gewährleistet ist. Auch durch die Lagerungszeiten bis zur Messung im externen Labor und den Prozess des Einfrierens und Auftauens sind Beschädigungen der Proben, wie Agglutination oder Zerfall von Molekülen, nicht ausgeschlossen.

Das Bead-basierte multiplex Immunoassay ist als Messmethode ebenfalls kritisch zu betrachten. Die Messwerte der angewandten Methode korrelieren gut mit denen des Goldstandards ELISA, die exakte Übereinstimmung der absoluten Messwerte ist allerdings nicht immer gewährleistet (128). Das liegt daran, dass mit steigender Anzahl der Analyten Kreuzreaktionen der Anti-Zytokin-Antikörper mit anderen Zytokinen nicht auszuschließen sind (129). Dies ist im Zusammenhang mit der Verwendung von unterschiedlichen Messkits im Jahr 2016 (18 Analyten) und 2017 (30 Analyten) aus Gründen der Verfügbarkeit zu bedenken. Eventuelle Abweichungen der absoluten Messwerte sollten in unserem Fall jedoch keine gravierenden Auswirkungen gehabt haben, da es vorwiegend darum ging, Trends im Zytokinprofil zu erkennen.

Einige Analyten der Messung von 2017 konnten nicht in die Auswertung einbezogen werden konnten, da zu viele Werte außerhalb des messbaren Bereiches lagen. Ursächlich könnte ein eingeeengter Messbereich einzelner Interleukine bei größerer Gesamtzahl von Analyten sein. Vereinzelt könnten fehlende Messwerte durch technische Fehler der Methode (z.B. agglutinierte Beads, zu viele oder zu wenige Beads zugleich in der Mikrokanalküvette) entstanden sein. Dadurch war die Betrachtung der Kohorten 2016 und 2017 als Screenings- und Validierungskohorte nicht in allen Aspekten möglich, wie im Fall von IL-4 und IFN $\alpha$ 2.

Auch die Übereinstimmung von 4 Probanden in der Kohorte von 2016 und 2017 ist bei der Betrachtung der Kohorten als Screenings- und Validierungskohorte zu berücksichtigen. Außerdem gab es 2017 weniger Teilnehmer und die Daten der Nicht-Finisher konnten nicht vollständig erfasst werden, wodurch die Datensätze zu klein waren, um sie effektiv auf Korrelationen zu testen.

Zuletzt ist noch zu erwähnen, dass in dieser Untersuchung relativ viele Analyten untersucht wurden, was mit dem insgesamt eher explorativen Charakter der Studie zusammenhängt. Dadurch wird in der statistischen Analyse eine Korrektur des p-Wertes notwendig, wofür wir mit der Bonferoni-Korrektur ein sehr konventionelles und im Vergleich mit anderen Studien eher striktes Verfahren gewählt haben. Dieser Umstand und auch die teilweise geringe Probandenzahl, könnten die z.T. nicht signifikanten Ergebnisse erklären. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind nicht als Beweis für Kausalzusammenhänge zu sehen, sondern eher als Hinweise auf Zusammenhänge, die zur Hypothesenbildung für nachfolgende Untersuchungen genutzt werden sollten.

## **5.8 Schlussfolgerungen und Ausblick**

Der Mauerweglauf bietet als 160-km-Ultramarathon die Gelegenheit, Sportler in einer körperlichen Ausnahmesituation zu begleiten und körperliche Anpassungsmechanismen in den Bereichen Immunsystem, Energiestoffwechsel und Regeneration zu untersuchen. Die Auswertung der umfassenden Datenerhebung, mit dem Schwerpunkt auf immunologischen Parametern, lässt folgende Kernaussagen zu:

1. Die immunologischen Veränderungen in Zytokinprofil und Blutbild lassen starken, durch den Ultralauf ausgelösten Immunstress vermuten, der sich in einer inflammatorischen Reaktion zeigt. Es sind jedoch auch antiinflammatorische Prozesse erkennbar, die möglicherweise der Eindämmung der Inflammationsreaktion dienen.
2. Weitere im Blut untersuchte Marker zeigen, dass der Ultralauf das Gewebe des Skelett- und Herzmuskels stark beansprucht und sogar temporär schädigen kann.
3. Alle zum Zeitpunkt POST angestiegenen Laborparameter zeigen eine hohe interindividuelle Varianz und damit eine große Streuung der Werte. Zu den Zeitpunkten PRE und RE ist eine solche Streuung nicht zu beobachten. Dies lässt vermuten, dass die Reaktion auf den Stressor Ultralauf sehr individuell verläuft.
4. Alle anhand der Laborwerte beobachteten Veränderungen waren nach einer einwöchigen Regenerationsphase wieder rückläufig. Über chronische

Auswirkungen des Ultralaufens lässt sich nach dieser Untersuchung keine Aussage treffen.

5. Symptome eines oberen Atemwegsinfektes treten nach dem Lauf deutlich gehäuft auf und könnten Folge einer erhöhten Infektanfälligkeit durch Priorisierung der T2-Immunantwort, mit demnach unzureichender Erregerabwehr durch die T1-Immunantwort, sein.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die Sportler nach dem Lauf eine deutliche Stressreaktion des Immunsystems zeigen, die als Antwort auf die außergewöhnliche Belastung in vielen anderen körperlichen Bereichen zu sehen ist. Um einen Ultramarathon zu bewältigen muss der Körper z.B. in den Bereichen Energiebereitstellung und Temperaturregulation wichtige Anpassungsleistungen vollbringen, wodurch andere Bereiche, wie das Immunsystem, aus dem Gleichgewicht gebracht, oder sogar in ihrer Funktion beeinträchtigt werden können. Die genauen Zusammenhänge dieser Bereiche können hier nur zum Teil beleuchtet werden und sollten Gegenstand weiterer Forschung bleiben.

Weiterhin ist auch die Unterscheidung zwischen akuten und chronischen Auswirkungen des Ultralaufens von Bedeutung. Unsere Untersuchungen geben keine Hinweise auf bleibende Veränderungen von Parametern, sie umfassen aber auch nur einen kurzen Zeitraum um ein einmaliges Ultralauf-Ereignis. Dieser Umstand sollte also nicht darauf schließen lassen sollte, dass es keine chronischen Auswirkungen gibt. Hier könnten andere, speziell zu der Frage nach chronischen Veränderungen entworfene Studien aufschlussreicher sein.

Das sportmedizinische Institut der Charité Berlin wird auch in den kommenden Jahren die Sportler beim Mauerweglauf betreuen. Mit den stetig wachsenden Teilnehmerzahlen dieser Veranstaltung ist zukünftig auch das rekrutieren größerer Kohorten für weitere Untersuchungen denkbar. Durch die Fülle an beobachtbaren Veränderungen in zahlreichen Funktionsbereichen des Körpers, deren Zusammenhänge noch nicht vollständig verstanden sind, werden Ultraläufe auch in Zukunft als Gegenstand der Forschung von Interesse sein.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Cejka N, Rüst CA, Lepers R, Onywera V, Rosemann T, Knechtle B. Participation and performance trends in 100-km ultra-marathons worldwide. *Journal of sports sciences*. 2014;32(4):354-66.
2. Hoffman MD, Ong JC, Wang G. Historical analysis of participation in 161 km ultramarathons in North America. *The International journal of the history of sport*. 2010;27(11):1877-91.
3. Knoth C, Knechtle B, Rust CA, Rosemann T, Lepers R. Participation and performance trends in multistage ultramarathons-the 'Marathon des Sables' 2003-2012. *Extreme physiology & medicine*. 2012;1(1):13.
4. Eichenberger E, Knechtle B, Rust CA, Rosemann T, Lepers R. Age and sex interactions in mountain ultramarathon running - the Swiss Alpine Marathon. *Open access journal of sports medicine*. 2012;3:73-80.
5. Hoffman MD, Wegelin JA. The Western States 100-Mile Endurance Run: Participation and Performance Trends. *Medicine and science in sports and exercise*. 2009;41(12):2191-8.
6. Knechtle B, Rust CA, Rosemann T, Lepers R. Age-related changes in 100-km ultra-marathon running performance. *Age (Dordrecht, Netherlands)*. 2012;34(4):1033-45.
7. Hoffman MD, Krishnan E. Exercise behavior of ultramarathon runners: baseline findings from the ULTRA study. *Journal of strength and conditioning research*. 2013;27(11):2939-45.
8. Gill SK, Hankey J, Wright A, Marczak S, Hemming K, Allerton DM, Ansley-Robson P, Costa RJ. The Impact of a 24-h Ultra-Marathon on Circulatory Endotoxin and Cytokine Profile. *International journal of sports medicine*. 2015;36(8):688-95.
9. Krzeminski K, Buraczewska M, Miskiewicz Z, Dabrowski J, Steczkowska M, Kozacz A, Ziemia A. Effect of ultra-endurance exercise on left ventricular performance and plasma cytokines in healthy trained men. *Biology of sport*. 2016;33(1):63-9.

10. La Gerche A, Inder WJ, Roberts TJ, Brosnan MJ, Heidbuchel H, Prior DL. Relationship between Inflammatory Cytokines and Indices of Cardiac Dysfunction following Intense Endurance Exercise. *PLoS one*. 2015;10(6):e0130031.
11. McKune AJ, Smith LL, Semple SJ, Wade AA. Influence of ultra-endurance exercise on immunoglobulin isotypes and subclasses. *British journal of sports medicine*. 2005;39(9):665-70.
12. Nieman DC, Dumke CI, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Lind RH, Morrow JD. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. *International journal of sports medicine*. 2003;24(7):541-7.
13. Stelzer I, Kropfl JM, Fuchs R, Pekovits K, Mangge H, Raggam RB, Gruber HJ, Prüller F, Hofmann P, Truschnig-Wilders M, Obermayer-Pietsch B, Haushofer AC, Kessler HH, Mächler P. Ultra-endurance exercise induces stress and inflammation and affects circulating hematopoietic progenitor cell function. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 2015;25(5):e442-50.
14. Nieman DC, Dumke CL, Henson DA, McAnulty SR, Gross SJ, Lind RH. Muscle damage is linked to cytokine changes following a 160-km race. *Brain, behavior, and immunity*. 2005;19(5):398-403.
15. Hurdiel R, Riedy SM, Millet GP, Mauvieux B, Peze T, Elsworth-Edelsten C, Martin D, Zunquin G, Dupont G. Cognitive performance and self-reported sleepiness are modulated by time-of-day during a mountain ultramarathon. *Research in sports medicine (Print)*. 2018:1-8.
16. Millet GY, Lepers R, Maffiuletti NA, Babault N, Martin V, Lattier G. Alterations of neuromuscular function after an ultramarathon. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2002;92(2):486-92.
17. Millet GP, Millet GY. Ultramarathon is an outstanding model for the study of adaptive responses to extreme load and stress. *BMC medicine*. 2012;10:77.
18. Fallon KE. The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clinical journal of sport medicine : official journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*. 2001;11(1):38-43.
19. Ultramarathon Statistik. Deutscher Ultramarathon Verband e.V., 2017. (Accessed July 14, 2018, at <http://statistik.d-u-v.org/eventdetail.php?event=35149>.)

20. Kakanis MW, Peake J, Brenu EW, Simmonds M, Gray B, Hooper SL, Marshall-Gradisnik SM. The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exercise immunology review*. 2010;16:119-37.
21. Nieman DC, Berk LS, Simpson-Westerberg M, Arabatzis K, Youngberg S, Tan SA, Lee JW, Eby WC. Effects of long-endurance running on immune system parameters and lymphocyte function in experienced marathoners. *International journal of sports medicine*. 1989;10(5):317-23.
22. Shin YO, Lee JB. Leukocyte chemotactic cytokine and leukocyte subset responses during ultra-marathon running. *Cytokine*. 2013;61(2):364-9.
23. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Liu Q, Kurakake S, Okamura N, Kumae T, Umeda T, Sugawara K. Impact of a competitive marathon race on systemic cytokine and neutrophil responses. *Medicine and science in sports and exercise*. 2003;35(2):348-55.
24. Benschop RJ, Rodriguez-Feuerhahn M, Schedlowski M. Catecholamine-induced leukocytosis: early observations, current research, and future directions. *Brain, behavior, and immunity*. 1996;10(2):77-91.
25. Nieman DC, Henson DA, Dumke CL, Oley K, McAnulty SR, Davis JM, Murphy EA, Utter AC, Lind RH, McAnulty LS, Morrow JD. Ibuprofen use, endotoxemia, inflammation, and plasma cytokines during ultramarathon competition. *Brain, behavior, and immunity*. 2006;20(6):578-84.
26. Luk HY, Levitt DE, Lee EC, Ganio MS, McDermott BP, Kupchak BR, McFarlin BK, Hill DW, Armstrong LE, Vingren JL. Pro- and anti-inflammatory cytokine responses to a 164-km road cycle ride in a hot environment. *European journal of applied physiology*. 2016;116(10):2007-15.
27. Nieman DC. Immune Function Responses to Ultramarathon Race Competition. *Medicina Sportiva*. 2009;13(4):189-96.
28. McAnulty SR, Owens JT, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Dumke CL, Milne GL. Ibuprofen use during extreme exercise: effects on oxidative stress and PGE<sub>2</sub>. *Medicine and science in sports and exercise*. 2007;39(7):1075-9.
29. Steensberg A, Keller C, Hillig T, Frosig C, Wojtaszewski JF, Pedersen BK, Pilegaard H, Sander M. Nitric oxide production is a proximal signaling event controlling



exercise-induced mRNA expression in human skeletal muscle. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*.

2007;21(11):2683-94.

30. Nieman DC, Peters EM, Henson DA, Nevines EI, Thompson MM. Influence of vitamin C supplementation on cytokine changes following an ultramarathon. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2000;20(11):1029-35.

31. Cannon JG, Evans WJ, Hughes VA, Meredith CN, Dinarello CA. Physiological mechanisms contributing to increased interleukin-1 secretion. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1986;61(5):1869-74.

32. Papanicolaou DA, Petrides JS, Tsigos C, Bina S, Kalogeras KT, Wilder R, Gold PW, Deuster PA, Chrousos GP. Exercise stimulates interleukin-6 secretion: inhibition by glucocorticoids and correlation with catecholamines. *The American journal of physiology*. 1996;271(3 Pt 1):E601-5.

33. DeRijk R, Michelson D, Karp B, Petrides J, Galliven E, Deuster P, Paciotti G, Gold PW, Sternberg EM. Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) production in humans: high sensitivity of TNF alpha and resistance of IL-6. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(7):2182-91.

34. Wilckens T, De Rijk R. Glucocorticoids and immune function: unknown dimensions and new frontiers. *Immunology today*. 1997;18(9):418-24.

35. Jeukendrup AE, Vet-Joop K, Sturk A, Stegen JH, Senden J, Saris WH, Wagenmakers AJ. Relationship between gastro-intestinal complaints and endotoxaemia, cytokine release and the acute-phase reaction during and after a long-distance triathlon in highly trained men. *Clinical science (London, England : 1979)*. 2000;98(1):47-55.

36. Suzuki K, Totsuka M, Nakaji S, Yamada M, Kudoh S, Liu Q, Sugawara K, Yamaya K, Sato K. Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1999;87(4):1360-7.

37. Frydelund-Larsen L, Penkowa M, Akerstrom T, Zankari A, Nielsen S, Pedersen BK. Exercise induces interleukin-8 receptor (CXCR2) expression in human skeletal muscle. *Experimental physiology*. 2007;92(1):233-40.
38. Keller C, Steensberg A, Pilegaard H, Osada T, Saltin B, Pedersen BK, Neufer PD. Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2001;15(14):2748-50.
39. Nielsen S, Pedersen BK. Skeletal muscle as an immunogenic organ. *Current opinion in pharmacology*. 2008;8(3):346-51.
40. Ostrowski K, Rohde T, Zacho M, Asp S, Pedersen BK. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *The Journal of Physiology*. 1998;508(Pt 3):949-53.
41. Steensberg A, van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Pedersen BK. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *The Journal of Physiology*. 2000;529(Pt 1):237-42.
42. Steensberg A, Febbraio MA, Osada T, Schjerling P, van Hall G, Saltin B, Pedersen BK. Interleukin-6 production in contracting human skeletal muscle is influenced by pre-exercise muscle glycogen content. *The Journal of Physiology*. 2001;537(Pt 2):633-9.
43. Fischer CP. Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exercise immunology review*. 2006;12:6-33.
44. Wallberg L, Mikael Mattsson C, Enqvist JK, Ekblom B. Plasma IL-6 concentration during ultra-endurance exercise. *European journal of applied physiology*. 2011;111(6):1081-8.
45. Ostrowski K, Rohde T, Asp S, Schjerling P, Pedersen BK. Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *The Journal of Physiology*. 1999;515(Pt 1):287-91.
46. Steensberg A, Fischer CP, Keller C, Moller K, Pedersen BK. IL-6 enhances plasma IL-1ra, IL-10, and cortisol in humans. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2003;285(2):E433-7.

47. Bethin KE, Vogt SK, Muglia LJ. Interleukin-6 is an essential, corticotropin-releasing hormone-independent stimulator of the adrenal axis during immune system activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(16):9317-22.
48. Starkie R, Ostrowski SR, Jauffred S, Febbraio M, Pedersen BK. Exercise and IL-6 infusion inhibit endotoxin-induced TNF- $\alpha$  production in humans. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2003;17(8):884-6.
49. Schindler R, Mancilla J, Endres S, Ghorbani R, Clark SC, Dinarello CA. Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF. *Blood*. 1990;75(1):40-7.
50. Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunology today*. 1997;18(9):428-32.
51. Pedersen BK, Steensberg A, Schjerling P. Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol*. 2001;536(Pt 2):329-37.
52. Yamada M, Suzuki K, Kudo S, Totsuka M, Nakaji S, Sugawara K. Raised plasma G-CSF and IL-6 after exercise may play a role in neutrophil mobilization into the circulation. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2002;92(5):1789-94.
53. Suwa T, Hogg JC, English D, Van Eeden SF. Interleukin-6 induces demargination of intravascular neutrophils and shortens their transit in marrow. *American journal of physiology Heart and circulatory physiology*. 2000;279(6):H2954-60.
54. Ishihara K, Hirano T. IL-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine & growth factor reviews*. 2002;13(4-5):357-68.
55. Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. *Cytokine kinetics. Exercise immunology review*. 2002;8:6-48.
56. Pedersen BK, Steensberg A, Keller P, Keller C, Fischer C, Hiscock N, val Hall G, Plomgaard P, Febbraio MA. Muscle-derived interleukin-6: lipolytic, anti-inflammatory

and immune regulatory effects. *Pflugers Archiv : European journal of physiology*. 2003;446(1):9-16.

57. van Hall G, Steensberg A, Sacchetti M, Fischer C, Keller C, Schjerling P, Hiscock N, Møller K, Saltin B, Febbraio MA, Pedersen BK. Interleukin-6 stimulates lipolysis and fat oxidation in humans. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(7):3005-10.

58. Kim HJ, Lee YH, Kim CK. Biomarkers of muscle and cartilage damage and inflammation during a 200 km run. *European journal of applied physiology*. 2007;99(4):443-7.

59. Tidball JG. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nature reviews Immunology*. 2017;17(3):165-78.

60. Nieman DC, Henson DA, Davis JM, Dumke CL, Gross SJ, Jenkins DP, Murphy EA, Carmichael MD, Quindry JC, McAnulty SR, Utter AC, Mayer EP. Quercetin ingestion does not alter cytokine changes in athletes competing in the Western States Endurance Run. *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2007;27(12):1003-11.

61. Hartung T. Immunomodulation by colony-stimulating factors. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. 1999;136:1-164.

62. Christiansen MK, Larsen SB, Nyegaard M, Neergaard-Petersen S, Ajjan R, Würtz M, Lerkevang Grove E, Hvas AM, Jensen HK, Kristensen SD, . Coronary artery disease-associated genetic variants and biomarkers of inflammation. *PloS one*. 2017;12(7):e0180365.

63. Noori NM, Shahramian I, Teimouri A, Keyvani B, Mahjoubifard M. Serum Levels of Tumor Necrosis Factor-alpha and Interleukins in Children with Congenital Heart Disease. *The journal of Tehran Heart Center*. 2017;12(1):15-22.

64. Prins KW, Archer SL, Pritzker M, Rose L, Weir EK, Sharma A, Thenappan T. Interleukin-6 is independently associated with right ventricular function in pulmonary arterial hypertension. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 2017.

65. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation*. 2001;103(16):2055-9.
66. Jiang B, Liao R. The paradoxical role of inflammation in cardiac repair and regeneration. *Journal of cardiovascular translational research*. 2010;3(4):410-6.
67. Gleeson M. Immune function in sport and exercise. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2007;103(2):693-9.
68. Nieman DC. Current perspective on exercise immunology. *Current sports medicine reports*. 2003;2(5):239-42.
69. Matthews CE, Ockene IS, Freedson PS, Rosal MC, Merriam PA, Hebert JR. Moderate to vigorous physical activity and risk of upper-respiratory tract infection. *Medicine and science in sports and exercise*. 2002;34(8):1242-8.
70. Morgado JM, Rama L, Silva I, de Jesus Inacio M, Henriques A, Laranjeira P, Pedreiro S, Rosado F, Alves F, Gleeson M, Pais ML, Paiva A, Teixeira AM. Cytokine production by monocytes, neutrophils, and dendritic cells is hampered by long-term intensive training in elite swimmers. *European journal of applied physiology*. 2012;112(2):471-82.
71. Nieman DC. Is infection risk linked to exercise workload? *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32(7 Suppl):S406-11.
72. Nieman DC. Immune response to heavy exertion. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1997;82(5):1385-94.
73. Nieman DC. Exercise, infection, and immunity. *International journal of sports medicine*. 1994;15 Suppl 3:S131-41.
74. Peters EM, Bateman ED. Ultramarathon running and upper respiratory tract infections. An epidemiological survey. *South African medical journal = Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*. 1983;64(15):582-4.
75. Nieman DC, Henson DA, Dumke CL, Lind RH, Shooter LR, Gross SJ. Relationship between salivary IgA secretion and upper respiratory tract infection following a 160-km race. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2006;46(1):158-62.

76. Fahlman MM, Engels HJ. Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. *Medicine and science in sports and exercise*. 2005;37(3):374-80.
77. Gleeson M. Mucosal immune responses and risk of respiratory illness in elite athletes. *Exercise immunology review*. 2000;6:5-42.
78. Northoff H, Berg A, Weinstock C. Similarities and differences of the immune response to exercise and trauma: the IFN-gamma concept. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 1998;76(5):497-504.
79. Shephard R. Sepsis and mechanisms of inflammatory response: is exercise a good model? *British journal of sports medicine*. 2001;35(4):223-30.
80. Smith LL. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Medicine and science in sports and exercise*. 2000;32(2):317-31.
81. Hoffman MD, Fogard K. Factors related to successful completion of a 161-km ultramarathon. *International journal of sports physiology and performance*. 2011;6(1):25-37.
82. Baska RS, Moses FM, Graeber G, Kearney G. Gastrointestinal bleeding during an ultramarathon. *Digestive diseases and sciences*. 1990;35(2):276-9.
83. Rehrer NJ, Brouns F, Beckers EJ, Frey WO, Villiger B, Riddoch CJ, Menheere PP, Saris WH. Physiological changes and gastro-intestinal symptoms as a result of ultra-endurance running. *European journal of applied physiology and occupational physiology*. 1992;64(1):1-8.
84. Stuempfle KJ, Hoffman MD, Hew-Butler T. Association of gastrointestinal distress in ultramarathoners with race diet. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2013;23(2):103-9.
85. Stuempfle KJ, Valentino T, Hew-Butler T, Hecht FM, Hoffman MD. Nausea is associated with endotoxemia during a 161-km ultramarathon. *Journal of sports sciences*. 2016;34(17):1662-8.
86. Bosenberg AT, Brock-Utne JG, Gaffin SL, Wells MT, Blake GT. Strenuous exercise causes systemic endotoxemia. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 1988;65(1):106-8.

87. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1986;136(7):2348-57.
88. Seder RA, Paul WE. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4+ T cells. *Annual review of immunology*. 1994;12:635-73.
89. Gieseck RL, 3rd, Wilson MS, Wynn TA. Type 2 immunity in tissue repair and fibrosis. *Nature reviews Immunology*. 2017.
90. Libetta C, Esposito P, Sepe V, Guastoni C, Zucchi M, Meloni F, Dal Canton A. Effects of different peritoneal dialysis fluids on the TH1/TH2 balance. *European cytokine network*. 2011;22(1):24-31.
91. Tan WP, Mai XD, Wu BQ, Li XY, Li J, Wei J, Huang HR, Huang SL. [Expression of transcription factors T-bet/GATA-3 mRNA and its effect on Tc1/Tc2 balance in asthmatic children]. *Zhonghua er ke za zhi = Chinese journal of pediatrics*. 2007;45(4):284-7.
92. Lee S, Watson MW, Clark B, Flexman JP, Cheng W, French MA, Price P. Hepatitis C virus genotype and HIV coinfection affect cytokine mRNA levels in unstimulated PBMC but do not shift the T1/T2 balance. *Immunology and cell biology*. 2006;84(4):390-5.
93. Zhao G, Zhou S, Davie A, Su Q. Effects of moderate and high intensity exercise on T1/T2 balance. *Exercise immunology review*. 2012;18:98-114.
94. Suzuki K, Nakaji S, Kurakake S, Totsuka M, Sato K, Kuriyama T, Fujimoto H, Shibusawa K, Machida K, Sugawara K. Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance with special focus on interleukin-12 p40/p70. *Exercise immunology review*. 2003;9:48-57.
95. Murray HW, Rubin BY, Rothermel CD. Killing of intracellular *Leishmania donovani* by lymphokine-stimulated human mononuclear phagocytes. Evidence that interferon-gamma is the activating lymphokine. *Journal of Clinical Investigation*. 1983;72(4):1506-10.
96. Lakier Smith L. Overtraining, excessive exercise, and altered immunity: is this a T helper-1 versus T helper-2 lymphocyte response? *Sports medicine (Auckland, NZ)*. 2003;33(5):347-64.

97. Elenkov IJ, Chrousos GP. Stress Hormones, Th1/Th2 patterns, Pro/Anti-inflammatory Cytokines and Susceptibility to Disease. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 1999;10(9):359-68.
98. Blotta MH, DeKruyff RH, Umetsu DT. Corticosteroids inhibit IL-12 production in human monocytes and enhance their capacity to induce IL-4 synthesis in CD4+ lymphocytes. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 1997;158(12):5589-95.
99. Elenkov IJ, Wilder RL, Chrousos GP, Vizi ES. The sympathetic nerve--an integrative interface between two supersystems: the brain and the immune system. *Pharmacological reviews*. 2000;52(4):595-638.
100. Steensberg A, Toft AD, Bruunsgaard H, Sandmand M, Halkjaer-Kristensen J, Pedersen BK. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md : 1985)*. 2001;91(4):1708-12.
101. Barrett B, Brown RL, Mundt MP, Thomas GR, Barlow SK, Highstrom AD, Baharainian M. Validation of a short form Wisconsin Upper Respiratory Symptom Survey (WURSS-21). *Health and Quality of Life Outcomes*. 2009;7:76-.
102. Stuempfle KJ, Hoffman MD. Gastrointestinal distress is common during a 161-km ultramarathon. *Journal of sports sciences*. 2015;33(17):1814-21.
103. Der Mauerweglauf: Laufen auf den Spuren deutscher Geschichte. LG Mauerweglauf Berlin e.V., 2018. (Accessed October 17, 2017, at <http://100meilen.de/der-mauerweglauf-laufen-auf-den-spuren-deutscher-geschichte/>.)
104. Bio-Plex Pro™ Cytokine, Chemokine and Growth Factor Assays Instruction Manual. Bio-Rad Laboratories GmbH, 2018. (Accessed June 4, 2018, at <http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/lst/literature/10014905.pdf>.)
105. Bruunsgaard H, Galbo H, Halkjaer-Kristensen J, Johansen TL, MacLean DA, Pedersen BK. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *The Journal of Physiology*. 1997;499(Pt 3):833-41.
106. Costa RJS, A. J. M. Swancott, S. Gill, J. Hankey, V. Scheer, A. Murray, C. D. Thake. Compromised Energy and Macronutrient Intake of Ultra-endurance Runners During a Multi-stage Ultra-marathon Conducted in a Hot Ambient Environment. *International Journal of Sports Science* 3. 2013;3(2):51-62.



107. Pedersen BK, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiological reviews*. 2000;80(3):1055-81.
108. Kucharzik T, Luger N, Pauels HG, Domschke W, Stoll R. IL-4, IL-10 and IL-13 down-regulate monocyte-chemoattracting protein-1 (MCP-1) production in activated intestinal epithelial cells. *Clinical and experimental immunology*. 1998;111(1):152-7.
109. Musso T, Cappello P, Stornello S, Ravarino D, Caorsi C, Otero K. IL-10 enhances CCL2 release and chemotaxis induced by CCL16 in human monocytes. *International journal of immunopathology and pharmacology*. 2005;18(2):339-49.
110. Vestergaard C, Gesser B, Lohse N, Jensen SL, Sindet-Pedersen S, Thestrup-Pedersen K, Matsushima K, Larsen CG. Monocyte chemotactic and activating factor (MCAF/MCP-1) has an autoinductive effect in monocytes, a process regulated by IL-10. *Journal of dermatological science*. 1997;15(1):14-22.
111. Reihmane D, Jurka A, Tretjakovs P, Dela F. Increase in IL-6, TNF-alpha, and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *European journal of applied physiology*. 2013;113(4):851-8.
112. Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA. Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;86(10):3803-7.
113. Vannier E, Miller LC, Dinarello CA. Coordinated antiinflammatory effects of interleukin 4: interleukin 4 suppresses interleukin 1 production but up-regulates gene expression and synthesis of interleukin 1 receptor antagonist. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1992;89(9):4076-80.
114. Annunziato F, Romagnani C, Romagnani S. The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2015;135(3):626-35.
115. Voehringer D. Regulation of type 2 immunity by basophils. *Advances in experimental medicine and biology*. 2013;785:37-41.
116. Zhong W, Su W, Zhang Y, Liu Q, Wu J, Di C, Zhang Z, Xia Z. Basophils as a primary inducer of the T helper type 2 immunity in ovalbumin-induced allergic airway inflammation. *Immunology*. 2014;142(2):202-15.

117. Walter J-J. Der Einfluss von IL-10 auf die allergeninduzierte IL-4- und IL-13-Freisetzung aus basophilen Granulozyten von Patienten mit Wespengiftallergie [Monografie]. München: Ludwig-Maximilians-Universität; 2009.
118. Larson D, Hubner MP, Torrero MN, Morris CP, Brankin A, Swierczewski BE, Swierczewski BE, Davies SJ, Vonakis BM, Mitre W. Chronic helminth infection reduces basophil responsiveness in an IL-10-dependent manner. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 2012;188(9):4188-99.
119. Denzel AJ. Bedeutung basophiler Granulozyten für das Zustandekommen einer humoralen Gedächtnisimmunantwort [Monografie]. Regensburg: Universität Regensburg; 2010.
120. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. 1986. *Journal of immunology* (Baltimore, Md : 1950). 2005;175(1):5-14.
121. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunology today*. 1996;17(3):138-46.
122. Zhang Y, Zhang Y, Gu W, He L, Sun B. Th1/Th2 cell's function in immune system. *Advances in experimental medicine and biology*. 2014;841:45-65.
123. Pedersen BK, Ullum H. NK cell response to physical activity: possible mechanisms of action. *Medicine and science in sports and exercise*. 1994;26(2):140-6.
124. Steensberg A. The role of IL-6 in exercise-induced immune changes and metabolism. *Exercise immunology review*. 2003;9:40-7.
125. Rincon M, Anguita J, Nakamura T, Fikrig E, Flavell RA. Interleukin (IL)-6 directs the differentiation of IL-4-producing CD4+ T cells. *The Journal of experimental medicine*. 1997;185(3):461-9.
126. Glace B, Murphy C, McHugh M. Food and fluid intake and disturbances in gastrointestinal and mental function during an ultramarathon. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*. 2002;12(4):414-27.
127. Gill SK, Teixeira A, Rama L, Prestes J, Rosado F, Hankey J, Scheer V, Hemmings K, Ansley-Robson P, Costa RJ. Circulatory endotoxin concentration and

cytokine profile in response to exertional-heat stress during a multi-stage ultra-marathon competition. *Exercise immunology review*. 2015;21:114-28.

128. Elshal MF, McCoy JP. Multiplex bead array assays: performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods (San Diego, Calif)*. 2006;38(4):317-23.

129. Kellar KL, Douglass JP. Multiplexed microsphere-based flow cytometric immunoassays for human cytokines. *Journal of immunological methods*. 2003;279(1-2):277-85.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lea Ronja Lyko, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Titel „Immunologische Veränderungen nach 160 km Ultramarathon“ 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](http://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.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, 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 StGB) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **Publikationsliste**

Publikation 1: Ronja Claußnitzer, Thomas Thouet, Paul Schmidt, Gerald Grütz, Levent Akyüz, Sebastian Kämpf, Carmen Scheibenbogen, Bernd Wolfarth, „Immunologische Veränderungen nach 160km Ultramarathon FAMOS Berlin“, Poster Deutscher Olympischer Sportärztekongress, 24.05.2018. - 26.05.2018, Hamburg

Beitrag im Einzelnen: Anteil an der Erhebung und Auswertung der Daten, Erstellung und Präsentation des Posters und der darauf abgebildeten Grafiken und Tabellen

## **Lebenslauf**

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

# Danksagung

An dieser Stelle möchte mich bedanken, bei nachstehenden Personen, die mich bei der Anfertigung meiner Promotionsschrift unterstützt haben:

Zunächst gilt mein Dank Frau Prof. Dr. Scheibenbogen und Herr Prof. Dr. Wolfahrt, die mir als meine Betreuer und durch die kooperative Zusammenarbeit der beiden Institute den Zugang zu meiner Thematik ermöglicht haben.

Besonderer Dank gebührt Herr Dr. Thouet, für die wegweisende Begleitung und den stets konstruktiven Austausch, sowie für die Hilfe bei der Beschaffung wichtiger Quellen und Dokumente.

Ferner danke ich dem gesamten Team der Sportmedizin und allen Helfern, die bei der Betreuung der Läufer mitgearbeitet und die Erhebung der Daten ermöglicht haben.

Weiterhin möchte ich mich bei den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Scheibenbogen am immunologischen Institut bedanken, insbesondere bei Andreas Wilhelm und Sebastian Kämpf für den Einsatz bei der immunologischen Analyse und die Bereitstellung der Daten.

Ich danke zudem Arno Schroll für die hilfreiche Beratung in statistischen Fragen.