

Aus dem Institut für Physiologie - Zentrum für Weltraummedizin und
extreme Umwelten
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Physiologische Änderungen im Rahmen eines 100 km
Marsches

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marc W. Jörres

Datum der Promotion: 26.06.2022

Inhaltsverzeichnis

1.1 Abstract, deutsch.....	3
1.2 Abstract, englisch	4
2 Einführung.....	5
3 Methoden	8
3.1 Event	8
3.2 Teilnehmer.....	8
3.3 Bestimmung der Ausgangswerte	9
3.4 Messungen während des Laufs	10
3.5 Messungen nach dem Lauf.....	10
3.6 Statistische Analyse	10
4 Ergebnisse	11
4.1 Körperzusammensetzung	12
4.2 Kardiale Stressparameter	12
4.3 Marker des Muskelzellschadens	12
4.4 Inflammatorische Marker.....	13
4.5 Lipidparameter	13
5 Diskussion.....	14
5.2 Körperzusammensetzung und Hydratationszustand	15
5.3 Kardiale Stressparameter	16
5.4 Marker des Zellzerfalls	19
5.5 Inflammation	20
5.6 Fettstoffwechsel.....	21
5.7 Stärken und Limitationen der Studie	23
5.8 Zusammenfassung	24
6 Literaturverzeichnis	25
7 Eidesstattliche Versicherung	31
8 Anteilserklärung.....	32
9 Auszug aus der Journal Summary List	33
10 Publikation.....	38
11 Lebenslauf.....	57
12 Publikationsliste.....	59
13 Danksagung	60

1.1 Abstract, deutsch

Hintergrund: Ausdauerrennen mit hoher Intensität wie (Ultra-) Marathons rufen bekanntermaßen deutliche Veränderungen diverser metabolischer und physiologischer Parameter hervor. Hingegen ist wenig über lang andauernde Läufe mit niedriger Intensität bekannt. Wir führten daher diese Studie durch um den Einfluss einer langen Ausdauerleistung mit niedriger Intensität auf den menschlichen Körper zu untersuchen.

Methoden: 25 männliche und 18 weibliche Teilnehmer (Alter 34.6 ± 8.8 Jahre; BMI: 22.4 ± 2.0 kg/m²) des Mammutmarsches 2014 bis 2016 wurden für die Studie rekrutiert. Der „Mammutmarsch“ ist eine 100km lange Wanderveranstaltung, bei der die Teilnehmer die Distanz in 24h zurücklegen sollen - joggen oder rennen war nicht erlaubt. Somit lag die mittlere gemessene Geschwindigkeit bei 4.12 ± 0.76 km/h. Die Teilnehmer wurden je nach Abschneiden in FIN (Ziel erreicht, n=11) und NON (Ziel nicht erreicht, n=21) kategorisiert. Die Körperzusammensetzung wurde mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) vor und nach dem Marsch gemessen. Serumproben wurden vor dem Marsch, bei 30 km, 70 km und 100 km abgenommen. Actimeter Armbänder (SenseWear®) wurden an 19 Probanden ausgegeben um Informationen über Aktivität und Intensität (MET) zu gewinnen. Die Herzfrequenz während des Rennens wurde mit mobilen Herzfrequenz-Messgeräten bei 16 Teilnehmern bestimmt. Statistische Veränderungen der Serumparameter wurden mittels mixed-effects-ANOVA und zusätzlichen t-Tests ermittelt. Die Korrelation zu MET, Laufgeschwindigkeit, Alter, BMI, NT-pro-BNP Ausgangswerten, Herzfrequenz während des Laufs und Geschlecht wurde mit linearen Regressionsanalysen bestimmt.

Ergebnisse: Kardiale und Muskelstress-Parameter (CRP, CK, CK-MB, AST, ALT, Cortisol, und NT-pro-BNP) stiegen signifikant an, während Cholesterin, Triglyceride und LDL-Werte signifikant sanken. Die in diesem Marsch mit niedriger Intensität beobachteten Veränderungen waren vergleichbar mit solchen in Läufen mit höherer Intensität wie (Ultra-) Marathons. Belastungsdauer, Alter, BMI und Trainingsstatus scheinen einen Einfluss auf die Veränderungen der genannten Parameter zu haben. Insbesondere deuten unsere Daten daraufhin, dass NT-pro-BNP Werte auch bei Gesunden ein Marker für die kardiovaskuläre Fitness sind.

Schlussfolgerung: Ein Ausdauermarsch mit niedriger Intensität bewirkt eine starke metabolische Reaktion und Zellstress, sowie eine Verbesserung des Lipidprofils, vergleichbar mit anderen Langstreckenläufen größerer Intensität. Trotz ansteigender kardialer Stressparameter fand sich kein Hinweis auf kardiale Zellschäden. Unsere Daten deuten darauf hin, dass die Dauer der Belastung einen größeren Einfluss als die Intensität hat.

1.2 Abstract, englisch

Background: Long endurance exercises like (ultra-) marathons are known to elicit a variety of metabolic and physiological changes in the human body. The knowledge about ultra-endurance exercise at low intensities is scarce though. In this study we aimed to evaluate changes in body composition and metabolism in long-endurance but low-intensity events.

Methods: 25 male and 18 female recreational studies (age 34.6 ± 8.8 years; BMI: 22.4 ± 2.0 kg/m²) of the 2014 to 2016 100km “Mammutmarsch” were recruited to take part in this study. This event is a hiking event, challenging participants to complete the 100km distance in 24 hours - no running or jogging was permitted. The mean observed speed was 4.12 ± 0.76 km/h. Categorizing the participants in finishing (FIN, n=11) and non-finishing participants (NON, n=21) allowed differential assessment of performance. Body composition was determined pre- and post-event with bioimpedance analysis (BIA), serum samples were taken pre-event, at 30 km, 70 km and 100 km. Actimeter armbands (SenseWear®) were handed out to 19 participants to gain information about body activity and exercise intensity (MET). Mean heart rate during the race was assessed with mobile heart rate monitors in 16 participants. Serum parameter alterations were analysed with mixed-effects-ANOVA and t-tests. Serum parameters were analysed by linear regression analysis to determine correlations with MET, speed, age, BMI, baseline NT-pro-BNP, heart rate during the race and sex.

Results: Muscle and cardiac stress markers (CRP, CK, CK-MB, AST, ALT, cortisol, and NT-pro-BNP) increased significantly, while cholesterol, triglycerides and LDL levels decreased significantly. Alterations in this march of low intensity were comparable to those of higher intensity (ultra-) marathons. Duration of exercise, age, BMI, training status and sex seem to influence the elevation of named parameters. Notably, our data indicate that NT-pro-BNP might be a marker for cardiovascular fitness also in healthy individuals.

Conclusion: This low-intensity long-endurance march triggered a strong systemic reaction and cell stress as well as shifts to a favourable lipid profile like higher intensity events. Despite increasing cardiac stress parameters, we did not find evidence for cardiac cell damage. Our data suggests that duration has a bigger influence on stress markers and metabolism than intensity.

2 Einführung

Extreme Ausdauerveranstaltungen wie beispielsweise Marathons und Ultramarathons nahmen in den letzten Jahren deutlich an Beliebtheit und Teilnehmerzahlen zu (1, 2). Während zehntausende Teilnehmer an klassischen Marathons mit einer Länge von 42.195 km teilnehmen (3), sind es bei wesentlich längeren Ultramarathons (die Distanzen variieren von 60 km über 100 km bis weit über 300 km) zumeist nur wenige hundert Teilnehmer (2). Die extreme Ausdauerbelastung bei solchen Veranstaltungen führt im menschlichen Körper zu massivem Zellstress und zahlreichen Veränderungen diverser metabolischer und physiologischer Parameter (4, 5). Neben Veränderungen der Körperzusammensetzung, insbesondere einer Abnahme der fettfreien Masse sowie von Körperfett (6, 7) werden eine Vielzahl von Veränderungen diverser Blutwerte beschrieben.

Lipidveränderungen

Zu o.g. Veränderungen zählen unter anderem eine Abnahme von Cholesterin-, Triglycerid- und LDL-Werten (8). In mehreren Studien konnten eine 10-20 prozentige Cholesterinreduktionen, annähernd eine Halbierung von Triglycerid-Werten sowie eine deutliche Abnahme von LDL-Werten (variierend von 10-40%) gezeigt werden (9, 10). Während in der Studie von Ginsburg *et al.* (1996) (9), der Athleten des Hawaii Ironman Triathlon verfolgte, keine signifikanten HDL-Veränderungen gezeigt wurden, konnte in einem 24-Stunden Ultramarathon ein HDL-Anstieg um annähernd 30% verzeichnet werden (10). Als ursächlich für diese Veränderungen wird der hohe Kalorienbedarf während der langandauernden Ausdauerleistung gesehen - Kohlenhydrate können nur limitiert zur Energiegewinnung gespeichert werden (11), daher ist eine zunehmende Fettoxidation nötig um den erhöhten Energiebedarf zu decken (10, 12). Da Lipidprofile mit hohen Cholesterinwerten und erhöhtem LDL/HDL-Quotienten als kardiovaskulärer Risikofaktor gelten, werden die beobachteten Veränderungen als gesundheitsfördernd angesehen (9).

Kardiale Stressparameter

Etablierte kardiale Stressparameter sind NT-pro-BNP sowie kardiale Troponine (13–15). NT-pro-BNP ist ein Prohormon des BNP, und wird von Kardiomyozyten bei Ventrikeldehnung freigesetzt. BNP hat eine entgegengesetzt regulatorische Wirkung, indem es die Natriurese und Vasodilatation triggert, sowie sympatho-inhibitorische Effekte (14). Zahlreiche Studien bezüglich Marathons zeigen eine NT-pro-BNP Erhöhung nach Belastung, in 39% der beobachteten Studien über den oberen Referenzwert hinaus (16). Auch in Ultramarathons wurden deutliche NT-pro-BNP-Erhöhungen nach Belastung beschrieben, beispielsweise ein sechsfacher Anstieg (40 pg/ml auf 250 pg/ml) in einem 100 km-Ultramarathon (14) oder ein zehnfacher Anstieg (54 pg/ml auf 508 pg/ml) in einem 48-Stunden-Ultramarathon während der ersten 24 Stunden (17). Diese Veränderungen werden mehrheitlich als physiologisch angesehen, da nach einer Ruhephase rasch die Ausgangswerte erreicht wurden (14, 17, 18), jedoch werden auch pathologische Effekte diskutiert (19).

Kardiale Troponinerhöhung über das obere Referenzlimit von 10 ng/l nach Marathons oder Ultramarathons wurden in einer Metaanalyse bei über 50% von 1045 beobachteten Athleten beschrieben (20). Über die klinische Signifikanz dieser Beobachtung wird diskutiert. Einige Autoren postulieren einen belastungsinduzierten Myokardschaden oder kardiale Zellnekrosen (21). Andere hingegen gehen von einer reversiblen Freisetzung zytoplasmatischer Troponine aufgrund von Membranleckage oder temporären Veränderungen der intrazellulären Calciumkonzentration aus, ohne pathologische Konsequenzen (14, 22–24).

Inflammatorische Marker

Des Weiteren ist eine Zunahme bei Stressparametern und Akutphaseproteinen wie CRP nach langanhaltenden Ausdauerleistungen bekannt (25). So wurden nach einem 24 Stunden-Ultramarathon CRP-Werte bis zu 30 mg/l beobachtet (17). Interleukin-6 wird als Induktor für die Produktion von CRP als Akutphaseprotein in der Leber beschrieben, welches dann anti-inflammatorische Enzyme aktiviert und an der Beseitigung geschädigter Zellen mitwirkt (10, 17). Generell wird die Erhöhung von Akutphaseproteinen wie CRP nach Ausdauerbelastung als Ausdruck einer inflammatorischen Antwort auf starken Muskelzellschaden ohne Langzeitschädigung angesehen, wobei die Dauer und die Intensität der Belastung die Intensität der Akutphasereaktion beeinflussen (10, 17).

Marker für (Muskel-) Zellschaden

AST, CK und CK-MB sind gut untersuchte Marker eines belastungsinduzierten Muskelzellschadens (26, 27). Je nach Dauer und Intensität der Belastung sowie beeinflusst durch unterschiedlichen Trainingsstatus werden teils massive CK-Erhöhungen beschrieben: Yoon *et al.* (2016) berichteten von einer 35-fachen CK-Erhöpfung auf 5270 U/l in einem 308 km langen Ultramarathon bei erfahrenen Ausdauerathleten (28). Nach einem 24-Stunden Ultramarathon mit unerfahrenen Läufern konnten sogar CK-Werte bis 18000 U/l gemessen werden (17). Ebenso wie CK ist auch CK-MB ein Marker für Muskelzellschaden, im Skelettmuskel sowie im Myokard (5, 28, 29). Auch für CK-MB werden nach Ausdauerbelastungen erhöhte Werte beschrieben - in der Zusammenschau mit den massiv erhöhten CK-Werten in ebenjenen Studien werden diese Werte ebenso als Marker für Skelettmuskelschaden anstelle von kardialen Muskelzellschäden gewertet (5, 28). AST-Erhöhungen können sowohl als Marker für Muskelzellzerfall sowie für Leberzellschaden gewertet werden - Erhöhungen nach extremen Ausdauerbelastungen werden jedoch auch vorrangig als muskelzellinduziert gewertet (4, 10, 17).

Ziel der Studie

Die teils massiven Veränderungen von physiologischen und metabolischen Parametern wurden alle in Studien zu Veranstaltungen beschrieben, in denen die Teilnehmer das Ziel hatten, entweder in einer bestimmten Zeit möglichst weit zu kommen (4, 10) oder eine bestimmte Strecke möglichst schnell zurückzulegen (5, 7, 14, 28, 29). Die durchschnittlichen Laufgeschwindigkeiten bei solchen

Veranstaltungen sind daher in der Regel relativ hoch, beispielsweise etwa 14 km/h in 80 km-Läufen (30), oder etwa 10 km/h in 100 km-Ultramarathons (14, 28). Über die Folgen von langandauernden Ausdauerleistungen über ähnliche Distanzen mit niedrigen Laufgeschwindigkeiten und Intensitäten, in denen die Teilnehmer gehen statt rennen oder joggen, ist hingegen wenig bekannt - zum Zeitpunkt unserer Studie konnte keine andere Untersuchung mit vergleichbarem Setting gefunden werden. Die einzigen Studien, in denen die Probanden mit einer vergleichsweise niedrigen Durchschnittsgeschwindigkeit liefen, behandelten Rennen mit der mehr als dreifachen Distanz über mehrere Tage (28, 29). Auch hier war jedoch das Ziel möglichst schnell die gesamte Distanz zu absolvieren, sodass sich die Teilnehmer mit der für sie höchstmöglichen Intensität fortbewegten. Die SANTIAGO-Studien (31, 32), Untersuchungen an Probanden, die die Pilgerroute nach Santiago de Compostela, eine Strecke von 280 km, zurücklegten, konnten einen signifikanten Gewichtsverlust sowie HDL-Anstieg (15%) und LDL-Abfall (17%) zeigen. Jedoch wurden hier über 12 Tage hinweg etwa 23 km pro Tag (ca. 5.5 h/Tag) zurückgelegt. Der Großteil der Studien, die sich mit den Auswirkungen von Läufen mit geringer Geschwindigkeit bzw. Intensität auseinandersetzten, behandelt Interventionen über einen längeren Zeitraum, in denen die Probanden für eine gewisse Zeit angewiesen wurden, bspw. 10000 Schritte pro Tag zu laufen (33) oder regelmäßig Nordic Walking (34) zu betreiben. Ergebnisse dieser Interventionen waren eine signifikante Abnahme von Körpergewicht, Körperfett und teilweise auch die Verbesserung des Lipidprofils (33, 34). Diese positiven Auswirkungen von regelmäßigen, niedrigintensiven Übungseinheiten konnten auch in Metaanalysen dokumentiert werden. Eine Reduktion von kardiovaskulären Risikofaktoren wie erhöhtem Blutdruck und Übergewicht ist Konsens, der Einfluss von niedrigintensiven Laufeinheiten auf Lipidprofile jedoch fraglich (35, 36).

Eine einzelne Studie untersuchte den Einfluss von Lauftraining mit niedriger Intensität auf NT-pro-BNP: Die Teilnehmer, die explizit gingen anstatt zu rennen oder joggen, waren Patienten mit koronarer Herzkrankheit (KHK). Die Übungsdauer betrug jedoch lediglich 30 Minuten (37). Hier konnte ein moderater aber signifikanter NT-pro-BNP Anstieg bei stabilen Troponin T werten gemessen werden (37).

Während Ausdauerbelastungen höherer Intensität somit eindeutig mit der Erhöhung diverser Stressmarker einhergehen, und niedrigintensive Läufe über einen längeren Zeitraum kardiovaskuläre Risikofaktoren reduzieren, ist es fraglich, ob dies bei einer einmaligen längeren Ausdauerbelastung mit niedriger Intensität, insbesondere wenn die körperlich gesunden Teilnehmer gehen statt rennen, ebenso der Fall ist. Diese Frage sollte in einem 24-Stunden-100 km-Marsch, bei dem die Probanden gehen anstatt zu joggen oder zu rennen, untersucht werden. Nachrangiges Ziel der Studie war, zu untersuchen, ob gewisse präexistente Unterschiede der Probanden (Geschlecht, Alter, Gewicht, Trainingsstatus) einen Einfluss auf mögliche Veränderungen der beobachteten Parameter haben.

Die Arbeitshypothese der Studie war, dass ein langer Ausdauerlauf mit geringer Intensität jedoch keine signifikanten Veränderungen der untersuchten Parameter hervorruft. Die Ergebnisse könnten dazu beitragen, physiologische

Anpassungsprozesse des gesunden menschlichen Körpers auf langanhaltende Ausdauerreize niedriger Intensität besser zu verstehen. Eine mögliche klinische Relevanz besteht dabei für Patienten mit chronischen Herzleiden oder solchen Erkrankungen, die als Folge des westlichen bewegungsarmen Lebensstils auftreten, in dem Sinne, dass etwaige positive Effekte von Ausdauertraining auch durch niedrigintensive Belastungen möglicherweise zu erreichen sind, ohne den oben beschriebenen massiven Zellstress hervorzurufen.

3 Methoden

3.1 Event

Der „Mammutmarsch“ (im Verlauf auch „MM“) ist ein Ultramarathon, in dem die Teilnehmer eine 100 km lange Strecke innerhalb von 24 Stunden zurücklegen sollen (38). Anders als in „klassischen“ Ultramarathons ist das Ziel nicht, die Strecke möglichst schnell zu bewältigen - es wird kein Gewinner gekürt - sondern überhaupt die gesamte Strecke zurückzulegen. Die Teilnehmer sollen gehen beziehungsweise wandern und nicht rennen. Daher zieht der Lauf vor allem Freizeitsportler und Wanderer und keine erfahrenen Ultra-Ausdauerathleten an. Dieses Konzept eines 100 km langen Marsches führt somit zu einer langen, kontinuierlichen Ausdauerleistung von niedriger Intensität. Fand der erste organisierte Mammutmarsch im Jahr 2013 noch mit lediglich 17 Teilnehmern statt, waren es 2016 schon ungefähr 2000 Teilnehmer.

Die Strecke startete in den Jahren 2014-2016 im Osten Berlins und führte, jedes Jahr mit einer geänderten Route, bis nach Gusow in Brandenburg. Das Terrain, durch das die MM 2014-2016 führten, war jedes Jahr ähnlich und bestand aus geteerten Straßen, Kopfsteinpflaster, Waldboden oder Schotterwegen, größtenteils flach, jedoch auch teilweise hügelig - GPS Daten von 2015 und 2016 zeigten, dass über den Verlauf der Strecke 600-700 Höhenmeter zurückgelegt werden mussten bei einem Höhenprofil von 7 bis 85 m. Die Temperaturen schwankten zwischen 6 °C nachts und 19 °C tagsüber. Die Durchschnittstemperaturen lagen beim MM 2014 bei 14.3 °C, 2015 bei 13.3 °C und 2016 bei 9.3 °C. Lediglich im Jahr 2016 gab es leichten Nieselregen (2 mm Niederschlag in 3 Stunden).

Entlang der Strecke wurden Checkpoints errichtet, in denen die Teilnehmer Wasser und Snacks erhielten, oder sich auf aufgestellten Bänken ausruhen konnten. Die Probanden waren für ihre Ausrüstung und Proviant selbst verantwortlich und liefen somit mit Rucksäcken mit einem Gewicht von etwa 2-4 kg.

3.2 Teilnehmer

Im Jahr 2014 wurde eine Machbarkeitsstudie mit einem Probanden durchgeführt. Die weiteren Probanden wurden mit Hilfe der Organisatoren des Events rekrutiert. Jeder mit seiner E-Mail-Adresse angemeldete Teilnehmer des MM 2015 (etwa 800 Teilnehmer) und des MM 2016 (etwa 2000 Teilnehmer) erhielt eine E-Mail, in der die Studie angekündigt wurde. Interessierte Teilnehmer kontaktierten die Studienleiter per

E-Mail und erhielten weitere Informationen bezüglich Zweck, Zielsetzung und Ablauf der Studie sowie benutztem Equipment. Vor dem MM 2015 meldeten sich 35 Teilnehmer zurück, vor dem MM 2016 meldeten sich 43 Teilnehmer. Diese wurden in der Reihenfolge der Bewerbung ausgewählt, sowie nach Geschlecht, um eine möglichst gleichmäßige Verteilung zu gewährleisten. Es gab keine speziellen Voraussetzungen um an der Studie teilzunehmen - alle gesunden, erwachsenen Teilnehmer konnten eingeschlossen werden. Alle Probanden waren Freizeitsportler, keine professionellen Athleten, jedoch hatten einige bereits Erfahrung in anderen Ausdauerveranstaltungen wie Marathons gesammelt.

So wurden insgesamt 43 gesunde Probanden (MM 2014: n=1, MM 2015 n=20, MM2016: n=22), 25 männlich und 18 weiblich, alle Teilnehmer der MM 2014-2016, verfolgt. Die Daten von 32 Probanden (19 männlich, 13 weiblich) konnten schließlich für die Analysen verwendet werden.

Alle Probanden nahmen freiwillig an der Studie teil und willigten nach ausreichender Bedenkzeit sowie Klärung aller Fragen schriftlich in die Teilnahme ein. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Charité (Votum EA1/163/14) befürwortet und erfüllte alle Anforderungen der Deklaration von Helsinki.

3.3 Bestimmung der Ausgangswerte

Alle Probanden wurden in der Woche vor Start des MM im Zentrum für Weltraummedizin in der Charité vorstellig, um Ausgangsdaten zu erheben. Hierfür wurden Körpergewicht und -größe, BMI, Körperzusammensetzung und Ruheherzfrequenz gemessen sowie Serumproben entnommen. Außerdem füllten alle Teilnehmer Fragebögen bezüglich der wöchentlich zu Fuß zurückgelegten Strecke (Gehen/Wandern sowie Läufe) im letzten halben Jahr vor dem MM aus. Zusätzlich sollten sich alle Probanden auf einer Skala von 1-10 bezüglich ihrer Ausdauerfähigkeit selbst einschätzen.

Die Teilnehmer wurden instruiert sich nüchtern und ausgeruht für die Messungen einzufinden. Unmittelbar vor den Messungen sollten sie die Blase entleeren und alle metallischen Gegenstände vom Körper entfernen. Alle anthropometrischen Messungen erfolgten lediglich in leichter Unterwäsche.

Körpergewicht und -größe wurden mit einer kalibrierten Waage und Messlatte (Firma Seca) gemessen. Die Körperzusammensetzung wurde mittels bioelektrischer Impedanzanalyse (BIA) mit der tetrapolaren Elektrodenmethode (39) mit einem BIA 101 Gerät der Firma AKERN gemessen. Das Gerät misst durch ein konstantes Signal eines Wechselstroms bei einer Frequenz von 50 kHz den Widerstand (Impedanz, Z) des Körpers, bestehend aus Wirkwiderstand R (Resistanz) und kapazitiven Blindwiderstand Xc (Reaktanz). Die Messungen wurden ausschließlich an den rechten Extremitäten durchgeführt, nachdem die Probanden ruhig 10 Minuten in Rückenlage lagen. Um Fettmasse, fettfreie Masse und Körperfettanteil aus den bestimmten Werten zu berechnen wurde die Formel von Segal *et al.* (1988) benutzt, die insbesondere für den Einsatz bei heterogenen Populationen validiert wurde (40). Um zusätzlich den Anteil des Körperwassers zu bestimmen wurde die Formel von Sun *et al.* (2003) genutzt (41).

Die Ruheherzfrequenz wurde mit einem mobilen Herzfrequenz-Messgerät der Firma Polar (RS800CX) durchgeführt. Hierfür wurde die mittlere Herzfrequenz in Rückenlage über eine Zeit von 10 Minuten bestimmt.

Serumproben wurden aus der Ellenbeuge entnommen und direkt auf Eis (ohne direkten Kontakt) gekühlt und in einer versiegelten Kühlbox gelagert. Direkt nach dem Rennen wurden die Serumproben bei 2000G 10 Minuten lang zentrifugiert und über Nacht bei 4 °C gelagert, bevor sie am nächsten Tag zu einem zertifizierten Labor (Labor 28 GmbH, Berlin) zur Analyse versendet wurden. Es wurden die Parameter NT-pro-BNP (pg/ml), Troponin T (ng/l), CRP (mg/l), Cortisol (µg/dl), LDL (mmol/l), HDL (mmol/l), Triglyceride (mmol/l), Cholesterin (mmol/l), CK (U/l), CK-MB (U/l), AST (U/l), ALT (U/l), und Natrium (mmol/l) bestimmt.

3.4 Messungen während des Laufs

Um neben dem Energieverbrauch, Schrittzahl, und Laufzeit auch die Laufintensität ausgedrückt als MET (metabolic equivalent of task) (42) zu messen, erhielten 20 Teilnehmer Actimeter Armbänder (SenseWear®). Die akquirierten Daten wurden mit der Herstellersoftware (SenseWear Professional 7.0) ausgewertet und somit auch die mittlere Laufgeschwindigkeit bestimmt.

Die Herzfrequenz während des Rennens wurde bei 16 Teilnehmern mit den Herzfrequenz-Monitoren der Firma Polar gemessen, mit denen auch die Ausgangsmessungen zur Ruhfrequenz erfolgten. Die Ausgabe der Messgeräte (Actimeter sowie Herzfrequenzmonitor) erfolgte je nach Verfügbarkeit der Geräte und nach der Reihenfolge, in der die Probanden zur Voruntersuchung erschienen.

Um auch während des Rennens Serumproben zu gewinnen, wurden an Checkpoints bei 30 km und 70 km Bänke, Tische und ein Zelt aufgestellt. Alle Probanden fanden sich dort ein und erhielten eine Blutentnahme, die gewonnenen Proben wurden wie oben beschrieben umgehend in einer Kühlbox gelagert. Um die Einflüsse von aufgenommener Nahrung und Flüssigkeit möglichst gering zu halten, wurden die Probanden angewiesen, in der letzten Stunde vor Erreichen des Checkpoints weder zu essen noch zu trinken.

3.5 Messungen nach dem Lauf

Messungen nach dem Lauf erfolgten lediglich für Probanden die die 70 km Marke oder das Ziel (100 km) erreichten. Wie auch bei den Messungen während des Rennens sollten die Studienteilnehmer in der Stunde vorher weder essen noch trinken. Innerhalb von 30 Minuten nach Erreichen des jeweiligen Checkpoints wurden dann Körpergewicht und Körperzusammensetzung mittels BIA, wie oben beschrieben, bestimmt. Außerdem erfolgte eine weitere Blutabnahme zur Gewinnung von Serumproben.

3.6 Statistische Analyse

Die gewonnenen Daten wurden mit der statistischen Software GraphPad Prism®, Version 8 (GraphPad Software Inc., USA) analysiert. Die Probanden wurden je nach Leistung in zwei Gruppen aufgeteilt: Teilnehmer, die das Ziel erreichten (FIN) und

Teilnehmer, die das Ziel nicht erreichten (NON). So konnte gewährleistet werden, dass trotz der höheren Anzahl an Einzelwerten in früheren Checkpoints (0 km, 30 km) auch spätere Veränderungen in der Gruppe FIN statistisch sicher erfasst werden.

Unterschiede in anthropometrischen Daten wurden mittels ungepaarten t-Tests analysiert. Die Körperzusammensetzung vor und nach dem Rennen je Proband wurde mit gepaarten t-Tests statistisch ausgewertet. Alle Serumparameter wurden mittels mixed-effects-ANOVA analysiert. Zusätzlich wurden gepaarte t-Tests benutzt, um Veränderungen zwischen den einzelnen Checkpoints darzustellen.

Die Korrelation von Serumparametern zu verschiedenen MET-Werten, Durchschnittsgeschwindigkeit, Alter, BMI, Geschlecht, NT-pro-BNP-Ausgangswerten und der durchschnittlichen Herzfrequenz während des Laufes wurde mit linearen Regressionsanalysen untersucht.

4 Ergebnisse

Von den 32 Teilnehmern, die brauchbare Serumproben lieferten, erreichten 11 das Ziel (FIN, davon 7 Männer und 4 Frauen), 21 mussten den Marsch vorzeitig beenden (NON, davon 12 Männer und 9 Frauen). In den einzelnen Gruppen waren folgende Fallzahlen vorhanden:

- FIN: pre: n = 11; 30 km: n = 9; 70 km: n = 10; 100 km: n = 11

Beim MM14 wurden nur vor dem Lauf und im Ziel Blutproben entnommen, außerdem verpasste ein Proband das Zelt zur Blutabnahme bei 30 km.

- NON: pre: n = 21; 30 km: n = 21; 70 km: n = 8; 100 km: n = 0.

11 Proben, davon 7 beim MM 2015 und 4 beim MM 2016 waren hämolytisch und konnten nicht verarbeitet werden.

Die Actimeter-Daten konnten von 7 Probanden aus FIN und 8 Probanden aus NON benutzt werden. 5 Probanden, die vor dem Lauf Actimeter-Armbänder erhielten, lieferten keine brauchbaren Proben.

Herzfrequenzmonitordaten mit verwertbaren Proben konnten bei 7 Probanden aus FIN und 6 Probanden aus NON verwendet werden, 3 Probanden mit Herzfrequenzmonitoren lieferten hämolytische Blutproben.

Die Probanden waren im Mittel 33.4 ± 8.9 Jahre alt, mit einem BMI von 23.6 ± 2.7 kg/m². Die mittlere Ruheherzfrequenz lag bei 66.7 ± 11.3 1/min. Männer in FIN und NON waren signifikant größer, schwerer und hatten einen größeren BMI als Frauen. Probanden aus FIN hatten einen signifikant niedrigeren BMI als Probanden aus NON. Trendweise konnte FIN auch eine größere Laufleistung vor dem MM vorweisen (55.4 ± 38.6 km vs. 36.6 ± 29.7 km; $p=0.18$). Im Mittel schätzten die Probanden ihre Ausdauerkapazität mit 7.3 von 10 Punkten ein. Hier gab es keinen Unterschied zwischen FIN und NON, jedoch schätzten männliche Probanden aus NON ihre

Ausdauerkapazität signifikant höher ein als weibliche Probanden aus NON (8.0 ± 0.8 vs. 6.4 ± 1.3 , $p=0.02$).

Im Mittel brauchten die Probanden 22.83 h um das Ziel zu erreichen. Der schnellste Finisher brauchte 21.68 h, der langsamste 24.78 h. Die Durchschnittsgeschwindigkeit lag bei 4.12 ± 0.76 km/h sowohl bei Männern als auch bei Frauen. Die durchschnittliche Laufintensität lag bei 4.8 ± 0.4 MET, im ersten Viertel des Laufs war die Intensität mit 5.2 MET größer als in den restlichen Vierteln (4.4 MET). Probanden mit höheren MET-Werten liefen die Strecke mit einer trendweise größeren Geschwindigkeit [$(3.95 \pm 0.89$ km/h vs. 4.36 ± 0.47 km/h ($p=0.32$)).

4.1 Körperzusammensetzung

Das Körpergewicht der Probanden, die das Ziel oder den 70 km Checkpoint erreichten ($n=18$, 9 weiblich, 9 männlich), verringerte sich durchschnittlich um 0.7 kg ($p<0.01$). Ebenso nahm der BMI signifikant ab, von 22.4 ± 2.0 kg/m² auf 22.1 ± 2.0 kg/m² ($p<0.01$).

Die Gewichtsverluste stammten in erster Linie von einem Verlust von fettfreier Masse, insbesondere Körperwasser, von 0.9 kg (1.6% $p<0.01$), beziehungsweise 0.8 l (1.9%, $p<0.01$). Die Fettmasse zeigte keine signifikanten Veränderungen.

4.2 Kardiale Stressparameter

Die NT-pro-BNP-Werte stiegen über den Verlauf des Marsches bei allen Teilnehmern signifikant an, im Mittel ungefähr vierfach, von 37.4 ± 31.5 pg/ml bis auf 142.2 ± 70.0 pg/ml. Die Korrelationsanalysen zeigten folgende Ergebnisse: Bei Probanden aus FIN, die mit geringerer Intensität liefen (MET <5), stiegen die NT-pro-BNP-Werte steiler an, als bei Probanden, die mit höherer Intensität (MET >5) liefen. In der Subgruppe, von Probanden die mit höherem MET >5 liefen, stiegen NT-pro-BNP Werte für NON stärker an als für FIN (Steigung FIN: 0.21 ± 0.02 ; NON: 1.52 ± 0.40 ; $p<0.01$). Gleiches galt für die Subgruppe MET <5 trendweise (Steigung FIN: 1.30 ± 0.22 ; NON: 2.08 ± 0.33 ; $p=0.17$). Gleichzeitig zeigen die Daten, dass NT-pro-BNP-Werte bei Probanden mit höheren Herzfrequenzen während des Laufs (>106.5 1/min) stärker anstiegen als bei anderen Probanden aus NON. Höhere NT-pro-BNP Ausgangswerte (>30 pg/ml) waren mit einem steileren NT-pro-BNP Anstieg in FIN assoziiert.

Die Troponin T-Werte stiegen von 0 km auf 30 km signifikant von 4.3 ± 1.3 ng/l auf 6.3 ± 2.4 ng/l an ($p<0.02$) und sanken ab 70 km wieder auf Höhe der Ausgangswerte ab. Probanden, die während des Laufes eine höhere Herzfrequenz (>106.5 1/min) aufwiesen, zeigten in der Korrelationsanalyse signifikant höhere Troponinwerte in NON (4.47 ± 0.56 ng/l vs. 6.48 ± 1.15 ng/l; $p=0.02$). Gleiches galt trendweise für FIN (4.19 ± 0.45 ng/l vs. 4.66 ± 0.56 ng/l; $p<0.10$).

4.3 Marker des Muskelzellschadens

CK zeigte bei allen Teilnehmern einen kontinuierlichen signifikanten Anstieg während des Marschs von 147.8 ± 77.4 U/l vor dem Rennen bis annähernd auf das 10-fache

auf 1368.0 ± 854.1 U/l bei 100 km. Lineare Korrelationsanalysen zeigten, dass die CK-Werte signifikant steiler für Probanden mit geringerer Laufintensität ($MET < 5$) in NON anstiegen. Alter (>35 Jahre), größerer BMI (>23 kg/m^2) und männliches Geschlecht korrelierten ebenso positiv mit höheren CK-Werten.

CK-MB Werte stiegen ebenfalls signifikant über den Verlauf des Marsches an, ungefähr 4.5-fach, von 10.3 ± 3.5 U/l auf 47.2 ± 41.8 U/l bei 100 km. Höhere CK-MB-Werte waren in FIN positiv mit größerem BMI korreliert.

AST zeigte einen 2.5-fachen Anstieg von 23.1 ± 5.2 U/l auf 56.6 ± 26.2 U/l ($p < 0.01$). Höhere AST-Werte korrelierten auch positiv mit größerem Alter und größerem BMI.

ALT-Werte stiegen erst von 70 km auf 100 km signifikant an, von 21.4 ± 6.3 U/l auf 25.6 ± 6.7 U/l.

4.4 Inflammatorische Marker

CRP-Werte stiegen signifikant ab 70km an. Von 1.4 ± 1.1 mg/l vor dem Marsch stieg das CRP bei 70 km zunächst auf 7.0 ± 7.4 mg/l und schließlich auf 25.4 ± 13.8 mg/l nach 100 km. Größeres Alter (>35 Jahre) und größerer BMI (>23 kg/m^2) korrelierten trendweise mit höheren CRP-Werten ($p < 0.10$). In NON traf gleiches für männliches Geschlecht zu ($p < 0.10$).

Cortisol-Werte zeigten eine signifikante Dynamik über den Verlauf des Rennens: Bei FIN sanken die Werte von 12.6 ± 3.3 $\mu g/dl$ zunächst auf 6.4 ± 4.3 $\mu g/dl$ bei 30 km und stiegen bis auf 28.1 ± 6.0 $\mu g/dl$ bei 70 km und erreichten schließlich 25.7 ± 11.1 $\mu g/dl$ nach dem Marsch. In NON gab es einen kontinuierlichen Anstieg von 12.1 ± 5.1 $\mu g/dl$ über 15.0 ± 7.3 $\mu g/dl$ bei 30 km auf 25.1 ± 9.9 $\mu g/dl$ bei 70 km.

4.5 Lipidparameter

Cholesterin- und LDL-Werte zeigten bis 70 km keine signifikanten Veränderungen, sanken jedoch in FIN von 70 km auf 100 km signifikant ab. Cholesterinwerte verringerten sich insgesamt um etwa 12% von 4.64 ± 1.03 mmol/l auf 4.22 ± 1.10 mmol/l bei 100 km.

LDL sank um etwa 20% von 2.48 ± 0.69 mmol/l auf 2.21 ± 0.76 mmol/l. Korrelationsanalysen zeigten, dass Probanden aus FIN, die den Marsch mit einer höheren durchschnittlichen Laufgeschwindigkeit absolvierten (>4.3 km/h), signifikant niedrigere Cholesterinwerte hatten ($p < 0.01$). In NON korrelierte ein höherer BMI (>23 kg/m^2) signifikant mit höheren LDL Werten.

HDL-Werte in NON stiegen bereits von 30 km auf 70 km bis zu 2.05 ± 0.45 mmol/l (Ausgangswert: 1.56 ± 0.43 mmol/l; $p < 0.01$). In FIN erfolgte ein signifikanter Anstieg erst nach 70 km bis auf 1.86 ± 0.63 mmol/l (Ausgangswert: 1.69 ± 0.67 mmol/l; $p < 0.05$). Niedrigerer BMI (<23 kg/m^2), weibliches Geschlecht und eine geringere Herzfrequenz während des Laufes (<106.5 1/min) korrelierten mit höheren HDL-Werten in linearen Korrelationsanalysen.

Triglyceride im Serum verringerten sich um mehr als 50% von 1.28 ± 0.67 mmol/l auf 0.59 ± 0.56 mmol/l. Eine niedrigere Geschwindigkeit während des Laufes (<4.3 km/h) und eine höhere Herzfrequenz während des Laufes (>106.5 1/min) korrelierte mit höheren Triglyceridwerten.

4.6 Natriumkonzentration

Die Natriumkonzentration im Serum sank signifikant in FIN und NON, von 139.6 ± 1.83 mmol/l vor dem Rennen auf 136.6 ± 3.04 mmol/l im Ziel ($p < 0.05$). Korrelationsanalysen zeigten einen Zusammenhang zwischen höherem Alter (>35 Jahren) und höheren Natriumkonzentrationen.

5 Diskussion

Das Ziel der Studie war es zu evaluieren, inwiefern sich ein 100 km langer Marsch mit geringer Laufintensität auf diverse metabolische und physiologische Parameter sowie die Körperzusammensetzung auswirkt, insbesondere im Vergleich zu vorbeschriebenen Veränderungen in (Ultra-) Marathons mit einer größeren Laufintensität. Die Arbeitshypothese war, dass ein langer Ausdauermarsch mit deutlich geringerer Intensität keine oder einen deutlich geringeren Anstieg von Stressparametern hervorrufen würde. Gegenteilig zu dieser Hypothese zeigten unsere Daten jedoch, dass auch ein Lauf mit niedriger Intensität über 100 km eine signifikante Stressreaktion im Körper hervorruft, die mit Anstieg der Parameter CRP, CK, CK-MB, AST, ALT, Cortisol, und NT-pro-BNP und Veränderungen des Lipidhaushalts, erkennbar an den Parametern Cholesterin, LDL, HDL und Triglyceriden, einhergeht. Die Größe der Veränderungen war sogar mit denen aus übungsintensiveren Läufen vergleichbar. Daraus lässt sich, wie im Verlauf noch detaillierter erörtert wird, schließen, dass neben der Belastungsintensität insbesondere die Belastungsdauer für die Stärke der metabolischen Reaktion verantwortlich ist. In einem zweiten Schritt wurde untersucht, inwieweit vorbestehende Unterschiede (Geschlecht, Alter, Gewicht, Trainingsstatus) einen Einfluss auf unterschiedliche Veränderungen während des Laufes hatten.

5.1 Performance und Anthropometrie

Die erfassten anthropometrischen Daten zeigen, dass es sich bei den beobachteten Probanden um gesunde, gut trainierte Freizeitathleten handelte. Der mittlere BMI von etwa $22-25$ kg/m² und eine mittlere Ruheherzfrequenz von ungefähr 67/min bewegten sich im (niedrig) normalen Bereich (43), waren aber über denen von professionellen Ausdauerathleten, bei denen Ruheherzfrequenzen unter 50/min beschrieben wurden (44). Nichtsdestotrotz deuten eine beachtliche Laufleistung von etwa 35-55 km pro Woche und eine als gut selbst eingeschätzte Ausdauerkapazität (≈ 7.3 von 10) auf einen guten Trainingszustand hin. Interessanterweise schätzten weibliche Teilnehmer aus NON ihre Ausdauerleistung signifikant schlechter ein als männliche Probanden (8.0 ± 0.8 vs. 6.4 ± 1.3 ; $p=0.02$), trotz einer vergleichbaren Laufleistung pro Woche (34.0 ± 9.0 km vs. 38.7 ± 11.7 km; $p=0.77$). Dies stimmt mit Studien überein, die beschreiben, dass Frauen ihre physischen Kapazitäten häufig unterschätzen (45). Die Daten von Actimeter Armbändern zeigen, dass der Lauf mit einer durchschnittlichen Laufgeschwindigkeit von etwa 4.12 km/h und folglich einem MET von etwa 5 mit einer deutlich geringeren Laufintensität ablief als „klassische“ (Ultra-)

Marathons, in denen Geschwindigkeiten von etwa 8-14 km/h (14, 19, 28) und somit Intensitäten von 8-10 MET (46) erreicht werden.

5.2 Körperzusammensetzung und Hydratationszustand

In unserer Studie verloren die Probanden signifikant an Körpergewicht, in erster Linie durch einen Verlust an fettfreier Masse (-1.6%; $p < 0.01$), beziehungsweise Körperwasser (-1.9%; $p < 0.01$). Gewichtsverluste bei höherintensiven Ultramarathons wurden bereits beschrieben (6, 7). Anders als beim MM verloren die Probanden in diesen Studien eine signifikante Menge an Fettmasse - Baur *et al.* (2016) beschrieben einen Verlust von etwa 24.4% bei einem „Ultraman Triathlon“, in dem die Teilnehmer über 3 Tage hinweg 10 km schwammen, über 400 km Rad fuhren und knapp 85 km liefen (6). Knechtle *et al.* berichteten sogar von einem Verlust von 42.7% der Fettmasse während des „World Challenge Deca Iron Triathlon 2006“, bei dem die Probanden 10 Tage lang je einen Ironman Triathlon, bestehend aus 3.8 km Schwimmen, 180 km Radfahren und 42.195 km Laufen, absolvieren mussten. Ein Zusammenhang zwischen Belastungsintensität und Verlust von Fettmasse wurde sowohl im Feldversuch (47) als auch unter Laborbedingungen (48) beschrieben - je größer die Intensität, desto größer auch der Anteil der Fettverbrennung, bis zu einem Maximum bei 64 ± 4 % der VO_{2max} . Jedoch wurden auch beim „Yukon Arctic Ultramarathon“, der mit durchschnittlichen Geschwindigkeiten von 3-5 km/h absolviert wurde, signifikante Fettmasseverluste beschrieben (49). Während dieses Laufes mussten die Teilnehmer jedoch über mehrere Tage hinweg in Temperaturen bis -45 °C bis zu 680 km laufen, sodass es dort über einen viel längeren Zeitraum zu einem belastungsinduzierten Kaloriendefizit kam, mit der zusätzlichen Belastung durch die extreme Kälte. Die maximale Rate der Fettverbrennung wurde 2005 von Alpert mit 290 kJ/kg Fettmasse pro Tag beschrieben (50). Bezogen auf unsere Studie bedeutet dies, dass die Probanden mit einer mittleren Fettmasse von 13.3 kg maximal 120 g Körperfett in den 24 Stunden mobilisieren konnten, wenn man davon ausgeht mit etwa 7700 kcal (ca. 32000 kJ) 1 kg Körperfett zu verbrennen (51). Daher waren die 24 Stunden höchstwahrscheinlich zu kurz um eine signifikante Menge an Fettmasse zu mobilisieren, unabhängig von der Intensität.

Da der Verlust des Körpergewichtes letztendlich ein Verlust von Körperwasser war, deuten wir diesen als eine Folge des Schwitzens mit insuffizienter Rehydratation. Da über den Verlauf der Studie die Natriumkonzentration signifikant sank, lässt sich dies als moderate Verdünnungshyponatriämie (6 Teilnehmer zeigten Natriumwerte unter 135 mmol/l, das Minimum lag bei 131 mmol/l) infolge der Dehydratation und des Versuchs des Ausgleichs durch große, hypoosmolare Flüssigkeitsmengen deuten (5). Allerdings wird der Verlust von bis zu 3% des Körpergewichts noch als Euhdratation beschrieben (52).

Ein größerer Abfall der Natriumkonzentration war in unserer Studie mit jüngerem Alter korreliert. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte der Trainingsstatus sein, da gerade bei Ultramarathons das „beste“ Alter mit 30-50 Jahren angegeben wird (5). Des Weiteren verlieren jüngere Menschen mehr Elektrolyte durch vermehrtes Schwitzen, da im Alter die Schweißdrüsen weniger Acetylcholin-sensibel werden (53).

5.3 Kardiale Stressparameter

Zu den Auswirkungen von extremen Ausdauerbelastungen wie Ultra-Marathons auf das kardiovaskuläre System gibt es bereits einige Studien, die sich insbesondere mit kardialen Troponinen und NT-pro-BNP als kardiale Stressparameter auseinandersetzen (4, 5, 14, 23, 24, 37). Kardiale Troponine im Speziellen gelten als Marker für einen Myokardschaden (15). Troponinerhöhungen nach Ausdauerbelastungen wurden in diversen Settings beschrieben (4, 5, 14, 17, 23, 24). Der genaue Pathomechanismus hierfür und die Frage, ob die Troponindynamik Ausdruck eines relevanten myokardialen Schadens ist, werden weiterhin diskutiert (5). So konnten beispielsweise La Gerche *et al.* (2008) nach einem Ultra-Triathlon echokardiographisch eine rechtsventrikuläre Dysfunktion nach dem Rennen feststellen, die sich innerhalb einer Woche jedoch wieder normalisierte (19). Lord *et al.* (2015) konnte eine echokardiographisch beschriebene rechtsventrikuläre Dysfunktion nach einem 100-Meilen-Ultra-Marathon auch als Veränderungen in 12-Kanal-EKGs darstellen, die sich nach 6 Stunden zurückbildeten (54). Ein Zusammenhang zwischen erhöhten Troponinwerten und echokardiographisch sichtbaren Änderungen der linksventrikulären Funktion wurden durch Christensen *et al.* (2017) beschrieben: Nach einem 63km-Lauf konnte eine Reduktion der linksventrikulären Ejektionsfraktion um 15% echokardiographisch dargestellt werden. Die Reduktion war signifikant invers mit Troponin T-Erhöhungen korreliert (55). Wie bereits erwähnt ist der genaue Pathomechanismus der Troponinerhöhung nicht abschließend geklärt. Aktuell diskutierte Erklärungen sind eine Sekretion durch Membranleckage von zytoplasmatischen Troponinen aufgrund intrazellulärer Veränderungen der Calcium-Konzentration (14, 22–24). Die Mehrheit der Studien geht von einer temporären Veränderung ohne irreversible Myokardschädigungen aus (4). Andere Autoren beschreiben keine signifikanten Troponinveränderungen nach extremen Ausdauerbelastungen (29).

In dieser Studie konnte ebenfalls eine Troponindynamik mit signifikanten Veränderungen gezeigt werden: Bei 30 km kam es zu einer signifikanten Troponinerhöhung, die jedoch ab 70 km wieder reversibel war, sodass sich bei 70 km und 100 km normale Troponinwerte messen ließen. Eine ähnliche Dynamik konnte auch in einem 48-Stunden-Ultra-Marathon beobachtet werden, bei dem sich nach einem signifikanten Troponin T-Anstieg nach 12 Stunden die Werte im Verlauf normalisierten (17). Eine mögliche Erklärung für diese Dynamik ist der Einfluss der Übungsintensität. In unserer Studie zeigen Daten der SenseWear Actimeter eine höhere Aktivität im Sinne von höheren MET-Werten im ersten Drittel des Rennens. Auch bei dem 48-Stunden-Ultra-Marathon war die Geschwindigkeit in den ersten 12 Stunden höher (8.6 km/h) als in den darauffolgenden 12 Stunden (6.0 km/h). Gleichzeitig konnte eine signifikante Korrelation zwischen Troponinerhöhung und Laufgeschwindigkeit dargestellt werden (17). Somit könnte eine mögliche Erklärung eine intensitätsabhängige Sekretion von Troponin T sein, die durch die höheren Laufgeschwindigkeiten zu Beginn der Läufe zu signifikanten Troponin-Erhöhungen

führt, im Verlauf, durch die erschöpfungsbedingte langsamere Geschwindigkeit und somit niedrigere Intensität, die Werte sich aber wieder normalisieren.

Die Theorie der intensitätsabhängigen Sekretion von Troponinen wird von weiteren Autoren geteilt: Bei einem Vergleich zwischen einem intensiveren Marathon, einem Mountainbike-Marathon und einem 100-km-Ultra-Marathon mit vergleichsweise niedriger Intensität wurden bei den erstgenannten signifikante Troponinerhöhungen gemessen, jedoch nicht bei dem 100-km-Ultra-Marathon (14).

Diese Korrelation konnte auch in einer Meta-Analyse dargestellt werden, in denen insbesondere die Laufveranstaltungen mit kürzeren Distanzen und höheren Laufgeschwindigkeiten und somit höherer Intensität die größten Troponin T-Erhöhungen hervorriefen (23).

Ein weiterer möglicher Einflussfaktor auf Troponinerhöhungen könnte der Trainingsstatus der Probanden sein. In dieser Studie zeigten Teilnehmer mit höheren Herzfrequenzen während des Rennens auch größere Troponin T-Anstiege. Gleiches konnte in Untersuchungen nach einem Marathon gezeigt werden (56). Eine direkte Korrelation zwischen Trainingsstatus und Troponinerhöhung wurde auch durch Mehta *et al.* (2012) bei einem London Marathon beschrieben (57).

Auch wenn die reversiblen Troponinerhöhungen als physiologisch gewertet werden, konnte nichtsdestotrotz durch die signifikant steigenden NT-pro-BNP-Werte eine deutliche Volumenbelastung des Herzens nachgewiesen werden.

Kommt es durch eine Volumenbelastung zur Dehnung der Ventrikel wird BNP ausgeschüttet, das über eine Erhöhung der Natriurese und Relaxation der glatten Muskulatur die Vor- und Nachlast senkt und somit das Herz vor Volumenüberladung schützt (13). NT-pro-BNP ist das biologisch inaktive Signalpeptid des BNP, das in äquimolarer Menge ausgeschüttet wird und somit als kardialer Marker, in der Klinik insbesondere zur Beurteilung einer Herzinsuffizienz, verwendet wird (58). Somit ist es nicht verwunderlich, dass eine Vielzahl an Studien erhöhte NT-pro-BNP Werte nach Marathons und Ultra-Marathons beschreiben, da durch das über lange Zeit erhöhte Herzminutenvolumen eine Volumenbelastung und somit eine Ventrikeldehnung vorliegen (4, 5, 14, 16, 24, 37). Während des Mammutmarsches stiegen bei jedem einzelnen Probanden NT-pro-BNP Werte signifikant an, insgesamt konnte ein 4-facher Anstieg von 7.4 pg/ml auf 142.2 pg/ml beobachtet werden. In einem 308-km Ultra-Marathon (28) und in einem 48-Stunden-Ultra-Marathon (17) wurde sogar ein 10-facher Anstieg von NT-pro-BNP dokumentiert. In einem kürzeren, aber bei höherer Intensität gelaufenen Marathon stiegen NT-pro-BNP Werte ebenfalls 3-4-fach von 40 pg/ml auf 130 pg/ml (14). In der gleichen Studie wurde ebenfalls ein 100 km langer Ultra-Marathon verfolgt, hier stieg das NT-pro-BNP von 40 pg/ml auf 250 pg/ml an. Auffällig ist hier der größte Anstieg bei länger andauernden Events, was die Frage aufwirft, ob die Dauer oder die Intensität der Belastung einen größeren Einfluss auf die NT-pro-BNP-Sekretion haben. Um dieser Fragestellung nachzugehen beobachteten Serrano-Ostariz *et al.* (2009) 21 Probanden, die randomisiert an 6 verschiedenen Tagen jeweils 45, 60 und 90 Minuten mit einer VO₂max von 85% beziehungsweise 95% liefen (59). Die Dauer der Belastung beeinflusste signifikant die Größe des NT-pro-BNP Anstiegs, die Intensität der Belastung jedoch bloß Troponinveränderungen

(59). Setzt man unsere Studie, durchgeführt mit niedrigen Laufintensitäten, in den Kontext mit oben beschriebenen Ergebnissen, werden die höchsten NT-pro-BNP Anstiege insbesondere bei besonders langen Laufveranstaltungen (ein 48-Stunden-Ultra-Marathon (17) sowie ein 308-km-Lauf (28)) erreicht, bei kürzeren Strecken mit höherer Laufintensität waren die Anstiege jedoch moderater (14). Somit stützen die Daten unserer Studie die Hypothese, dass die Dauer der Belastung der dominante Einfluss auf NT-pro-BNP Veränderungen darstellt. Eine mögliche Erklärung hierfür lässt sich aus der Physiologie der NT-pro-BNP Synthese ableiten: Durch die Volumenbelastung des Herzens kommt es bei sportlichen Aktivitäten zur Ventrikeldehnung und somit NT-pro-BNP Synthetisierung. Durch eine Steigerung der Intensität steigert sich auch die Herzfrequenz. Jedoch kann durch die Verkürzung der R-R Intervalle die diastolische Füllung der Ventrikel und somit die Ventrikeldehnung nicht linear folgen, die Füllung der Ventrikel erreicht ihr Maximum bei einer Frequenz von etwa 100-120/min. Somit kommt es durch eine weitere Zunahme der Intensität auch nicht zu einer linearen Zunahme der NT-pro-BNP Sekretion (60).

Neben der Belastungsdauer und der -Intensität können auch vorbestehende Unterschiede Einfluss auf die NT-pro-BNP Erhöhung im Rahmen einer Ausdauerbelastung haben:

Ein weiterer in der Literatur genannter Einflussfaktor für NT-pro-BNP-Erhöhungen ist der Trainingsstatus der Studienpopulation (60). Insbesondere bei Patienten mit Herzinsuffizienz konnte ein Zusammenhang zwischen NT-pro-BNP-Erhöhung und kardiovaskulärer Fitness dargestellt werden (61). Auch in unserer Studie konnte bei Probanden, die nur in der Lage waren, mit einer geringeren Intensität ($MET < 5$) zu laufen, ein signifikant stärkerer NT-pro-BNP-Anstieg gesehen werden. Außerdem stieg NT-pro-BNP in der Subgruppe, die mit höherer Intensität ($MET > 5$) lief, stärker bei NON als bei FIN an. Somit stellt sich die Frage, ob NT-pro-BNP nicht auch in herzgesunden Probanden (bei keinem der Teilnehmer dieser Studie war eine Herzinsuffizienz bekannt) ein Marker für die kardiorespiratorische Fitness ist. Einen weiteren Hinweis hierzu liefert der stärkere Anstieg von NT-pro-BNP in NON bei Teilnehmern mit höheren Herzfrequenzen während des Rennens, schließlich ist die Herzfrequenz invers mit der kardiorespiratorischen Fitness korreliert (62). Diese Theorie wird von Ergebnissen von Scharhag *et al.* (2006) gestützt, die eine inverse Korrelation zwischen NT-pro-BNP Anstieg und Ausdauertraining pro Woche beschrieben: Probanden mit höheren Trainingsvolumina zeigten geringere NT-pro-BNP Anstiege (18). Ein besser adaptiertes Myokard könnte eine mögliche Erklärung sein (18). Ähnlich wie bei Troponin T werden die NT-pro-BNP Anstiege als physiologische, reversible Antwort auf eine langanhaltende Ausdauerbelastung angesehen. (24) Tatsächlich scheint NT-pro-BNP kardioprotektive Effekte zu haben, indem es eine Hypertrophie und bindegewebigen Umbau der Kardiomyozyten inhibiert (24).

Insgesamt deuten unsere Daten darauf hin, dass langanhaltende, niedrige Übungsintensitäten eine kardiale Stimulation und somit einen Trainingseffekt erzielen können, was bisher lediglich bei Veranstaltungen mit höherer Laufintensität vorbeschrieben wurde (16).

5.4 Marker des Zellzerfalls

Creatinkinasen und ihre Isoformen (u.a. CK-MM und CK-MB) sind als Marker der Skelettmuskelschädigung bekannt, die durch starke insbesondere exzentrische Muskelbelastung oder Ausdauerbelastung freigesetzt werden (4, 63). Als Katalysator der Phosphorylierung von ADP zu ATP in Muskelzellen liegen sie mitochondrial und im Zytosol vor (64). Ist die individuelle Belastungskapazität einer Muskelzelle erreicht, kommt es aufgrund von ATP-Mangel zu Dysfunktionen der Natrium-Kalium-ATPase sowie Calcium-ATPase und somit zu einer intrazellulären Calciumakkumulation die zum Zelltod und somit zur Freisetzung intrazellulärer Bestandteile wie der CK führt (65). Während des MM war über den Verlauf des Marsches eine 10-fache CK-Erhöhung und 4-fache CK-MB-Erhöhung über den oberen Referenzwert zu beobachten, mit einem Maximum nach 100 km. Vorliegende Studien zeigen eine große interindividuelle Varianz bezüglich CK-Anstiegen nach extremen Ausdauerbelastungen: Scharhag *et al.* (2005) (14) und Yoon *et al.* (2016) (28) beschrieben mit nach 100 km-Ultra-Marathons eine vergleichsweise moderate CK-Erhöhung bis zu 695 U/l beziehungsweise ca. 400 U/l, obwohl die Teilnehmer mit einer deutlich höheren durchschnittlichen Laufgeschwindigkeit von ca. 10 km/h liefen. Dagegen wurden bei einem 308 km-Ultra-Marathon 35-fache CK-Erhönungen bis über 5000 U/l beobachtet (28). Die größten Veränderungen konnten von Waskiewicz *et al.* (2012) (10) und Klapcinska *et al.* (2013) (17) nachgewiesen werden mit CK-Erhönungen bis etwa 18000 U/l nach einem 24-Stunden-Ultra-Marathon mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit knapp über 7 km/h. Insgesamt stimmen die Veränderungen somit mit Beobachtungen aus Studien mit höherintensiven Events überein, jedoch besteht eine hohe interindividuelle Varianz bezüglich der Größe der jeweiligen Anstiege, die auf weitere Einflussfaktoren hindeuten.

Als mögliche Erklärung für die großen individuellen Unterschiede wurden verschiedene Einflussfaktoren herangezogen, dazu gehören der Trainingsstatus, das Geschlecht und das Alter, der BMI sowie die Dauer und die Intensität der Belastung (4, 10, 17, 28, 66, 67). Bei den oben genannten Studien ist zu beachten, dass Scharhag *et al.* (2005) (14) und Yoon *et al.* (2016) (28) erfahrene Ausdauerathleten betrachteten, jedoch Waskiewicz *et al.* (2012) (10) und Klapcinska *et al.* (2013) (17) Freizeitsportler. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die gravierenden CK-Unterschiede nach einer ähnlichen Ausdauerbelastung sein. Auch in unserer Studie waren die Probanden Freizeitsportler. Hier zeigte sich, dass Teilnehmer, die mit einer geringeren Intensität marschierten, höhere CK-Anstiege hatten. Dies widerspricht der Theorie, dass eine höhere Intensität mit höheren CK-Werten einhergeht, jedoch kann argumentiert werden, dass die Probanden, die nur mit geringerer Intensität liefen, folglich auch einen schlechteren Trainingsstatus und daher einen höheren CK-Anstieg hatten. Dies würde bedeuten, dass der Trainingsstatus ein wichtigerer Einflussfaktor als die Intensität der Ausdauerbelastung darstellt. Übereinstimmend zeigten sich bei o.g. Studien bei höherer Laufgeschwindigkeit durch erfahrene Ausdauerathleten niedrigere CK-Anstiege als bei unerfahrenen Läufern trotz geringerer Laufgeschwindigkeiten (10, 14, 17). Des Weiteren zeigte sich auch in unserer Studie ein Zusammenhang zwischen der Größe des CK-Anstiegs und dem BMI, Alter und

Geschlecht. Ältere Teilnehmer, Probanden mit höherem Gewicht und Männer zeigten größere CK-Veränderungen. Jedoch muss erwähnt werden, dass in unserer Studie Männer einen signifikant höheren BMI als Frauen hatten, somit könnte es sich bei dieser Korrelation um einen nur scheinbaren Effekt handeln. Bezüglich des Alters gibt es in der Literatur widersprüchliche Aussagen: einige Autoren sprechen von altersbedingter Sarkopenie und somit niedrigeren CK-Werten im Alter, während andere aufgrund von erhöhter Suszeptibilität der Muskelzellen gegenüber Ausdauerbelastungen im Alter von einem stärkeren Zellerfall und somit höheren CK-Werten ausgehen (68).

Aufgrund der Rolle von CK-MB bei der Diagnose von Myokardschäden erfolgten diverse Studien, um die Relevanz einer solchen Erhöhung im Kontext von extremen Ausdauerbelastungen zu beurteilen (5, 28, 29). Insgesamt werden CK-MB Veränderungen im Rahmen von Ultramarathons aber bei deutlich stärkeren CK-Anstiegen als Zeichen eines Skelettmuskelschadens gewertet, auch weil sich keine strukturellen Myokardschäden nachweisen ließen (5, 29). In dieser Studie war der gesamte CK-Anstieg mit 10-fach erhöhten Werten nach dem Rennen ebenfalls deutlich größer als der 4-fache CK-MB-Anstieg.

AST ist ebenso wie die Creatinkinasen als Muskelzellzerfallsmarker nach Ausdauerbelastung beschrieben (4, 10, 17). Als Transaminase katalysiert sie die Reaktion von Aspartat und Ketoglutarat zu Oxaloacetat und Glutamat in den Mitochondrien beziehungsweise dem Cytosol. Durch ihr Vorkommen in Skelettmuskelzellen kommt es daher bei Muskelzellzerfall ebenfalls zur Freisetzung (69). Während des MM kam es etwa zu einem 2.5-fachen Anstieg der AST, während die ALT nur geringe Veränderungen zeigte. Der Anstieg der AST war dabei, übereinstimmend mit der aktuellen Studienlage, mit höherem Alter korreliert (4).

Insgesamt zeigte sich also wie auch bei Veranstaltungen mit größerer Laufintensität ein massiver Anstieg von Markern des Muskelzellzerfalls. Neben zahlreichen anderen Einflussgrößen scheint dabei der Trainingsstatus der Studienpopulation der wichtigste Faktor insbesondere für das Ausmaß des CK-Anstiegs zu sein.

5.5 Inflammation

CRP wird in der Leber nach Induktion durch IL-6 gebildet, um in seiner Rolle als Akutphaseprotein geschädigte Zellen zu binden und somit die Beseitigung dieser zu induzieren (10, 17). Betrachtet man die massiv erhöhten Zellzerfallsmarker während des Verlaufs des MM, verwundert es nicht, dass auch die CRP-Werte signifikant anstiegen. Nach normalen Werten bis zu einer Laufstrecke von 30 km kam es ab 70 km zu einem signifikanten CRP-Anstieg, der sein Maximum mit einer 25-fachen Erhöhung der Ausgangswerte auf 25 mg/l bei 100 km erreichte. Eine ähnliche Dynamik wurde in anderen Ultra-Marathons mit höherer Laufintensität beobachtet: So stiegen CRP-Werte nach einem 3-tägigen Ultra-Triathlon, indem die Teilnehmer insgesamt für ca. 30 Stunden (mit Unterbrechung zwischen den einzelnen Disziplinen) einer Ausdauerbelastung ausgesetzt waren, von 1 mg/l auf 9 mg/l (6). Größere Anstiege wurden nach 24-Stunden-Ultra-Marathons beschrieben: Bei einer Studie mit untrainierten Probanden von Klappinska *et al.* (2013) kam es zu einer Steigerung der

CRP-Werte von 1 mg/l auf 30 mg/l (17). Ein CRP-Anstieg gleichen Ausmaßes wurde auch von Waszkiewicz *et al.* (2012) nach einem 24-Stunden-Ultra-Marathon beobachtet (10). Fallon *et al.* (2001) berichteten von einem CRP Anstieg von 1,9 mg/l auf 21,9 mg/l, in einem 24-Stunden-Lauf, bei dem erfahrene Ausdauerathleten eine Strecke von über 140 km zurücklegten (25).

Trotz der niedrigeren Laufgeschwindigkeit des MM im Vergleich zu den genannten Studien waren die Dynamik und das Ausmaß des CRP-Anstiegs vergleichbar. Individuelle Abweichungen der Größe des CRP-Anstieges während dieses niedrigintensiven Laufs könnten ebenfalls durch präexistente Unterschiede erklärt werden. Einflussfaktoren auf CRP-Werte sind unter anderem BMI und das Geschlecht (70, 71). Auch die Dimension des Muskelzellschadens beeinflusst die Akutphasereaktion und somit auch den CRP-Anstieg, allerdings ist die CK-Erhöhung aufgrund der vielen Einflussfaktoren kein sicheres Maß (25). Während des MM hatten Probanden mit einem höheren Gewicht und männliche Probanden einen größeren CRP-Anstieg. Die Korrelation zum BMI ist aus anderen Studien bekannt (71), jedoch widersprechen höhere CRP-Werte bei Männern dem aktuellen Forschungsstand - vorbeschrieben ist eine Assoziation zwischen höheren CRP-Werten und weiblichen Geschlecht (70). Wie bereits oben erwähnt gab es in unserer Studie einen Zusammenhang zwischen größerem BMI und männlichem Geschlecht, sodass es sich auch hier höchstwahrscheinlich um einen nur scheinbaren Effekt handelt.

Cortisol ist ein Hormon das in der Nebenniere gebildet wird und durch seine katabole Wirkung wichtige metabolische (z.B. Förderung der Glukoneogenese und Lipolyse) und Immunfunktionen besitzt (72). In der Literatur ist eine intensitätsabhängige Steigerung der Cortisol synthese ab einer VO₂max von 60% beschrieben. Jedoch wird diese Schwelle bei Ultra-Marathons selten übertroffen, nichtsdestotrotz sind Erhöhungen der Cortisolwerte auch bei solchen Veranstaltungen beschrieben, sodass auch von einem signifikanten Einfluss der Übungsdauer ausgegangen werden kann (72). Auch während des Mammutmarsches kam es zu signifikanten Änderungen der Cortisolwerte. Aufgrund der circadianen Ausschüttung von Cortisol (73) ist jedoch schwer zu beurteilen, ob es sich hierbei um eine normale physiologische Veränderung im Rahmen des circadianen Rhythmus handelt, oder ob eine belastungsabhängige Ausschüttung vorliegt. Da ab 70 km die Cortisolwerte den oberen Referenzwert überschritten, kann jedoch auch hier, bei diesem Lauf mit geringer Intensität, von einer neuroendokrinen Antwort ausgegangen werden. Gerade bei extremen Ausdauerbelastungen, die einen hohen Energiebedarf nach sich ziehen, erscheint eine zusätzliche Cortisolausschüttung physiologisch sinnvoll, um notwendige Energiereserven, beispielsweise durch die Glukoneogenese und Lipolyse, freizusetzen (74).

5.6 Fettstoffwechsel

Bei der Beurteilung, ob eine (Ausdauer-) Belastung des Körpers als gesundheitsfördernd angesehen werden kann, kommt Parametern des Fettstoffwechsels eine besondere Bedeutung zu, da unter anderem hohe Cholesterinwerte als kardiovaskulärer Risikofaktor gelten und mit einer erhöhten

Morbidität und Mortalität einhergehen (5). Metaanalysen, die Studien auswerten, bei denen Probanden täglich mit niedriger Intensität liefen, konnten zwar eine signifikante Verringerung des Körpergewichtes, jedoch keinen Einfluss auf Lipidwerte zeigen (35, 36). Als wichtiger Einflussfaktor, um Serumlipidkonzentrationen zu verringern, wird die Intensität der Belastung beschrieben: Um LDL- und Cholesterinwerte signifikant zu reduzieren, wird in der Literatur aerobes Training mit einer VO₂max von etwa 65-80% als Schwelle angegeben (75, 76). Jedoch konnten in den SANTIAGO-Studien, in den Probanden über 12 Tage hinweg in etwa 5h pro Tag je 23 km gehend zurückgelegt, signifikante Verbesserungen des Lipidprofils (HDL +15%, LDL -17%) beschrieben werden (31, 32). Im Vergleich mit unserer Studie handelt es sich hierbei jedoch um einen deutlich ausgeweiteten Zeitraum und nicht um einen einmaligen Dauerlauf. Auch deshalb war es unsere Nullhypothese, dass es bei diesem 100 km Lauf mit niedriger Intensität zu keiner signifikanten Änderung kommen würde. Anders als vermutet zeigte sich jedoch eine signifikante Reduktion der Triglyceridwerte in FIN und NON von 1,05 mmol/l auf 0,59 mmol/l. In FIN sanken LDL und Cholesterinwerte ab der 70 km Marke um 20% beziehungsweise 12%. Außerdem zeigte sich eine signifikante Zunahme der HDL-Werte.

Diese Veränderungen bewegen sich in einem ähnlichen Ausmaß wie die Veränderungen in Ultramarathons mit höherer Intensität: So wurden in einer Studie mit Teilnehmern des Hawaii Ironman Triathlon eine Triglycerid-Reduktion um 39%, Cholesterinreduktion um 9% und eine Abnahme der LDL-Werte um 10% beschrieben (9). Eine etwas stärkere Dynamik wurde in einem 24-Stunden-Ultra-Marathon, in dem die Probanden eine Strecke von fast 170 km mit etwa 7 km/h liefen, beobachtet. Cholesterin sank von 5,07 mmol/l auf 4,04 mmol/l, LDL von 2,86 mmol/l auf 1,74 mmol/l, Triglyceride von 1,73 mmol/l auf 0,80 mmol/l und bei HDL konnte ein Anstieg von 1,43 mmol/l auf 2,01 mmol/l verzeichnet werden (10). Dass trotz der vergleichsweise niedrigeren Übungsintensität signifikante Veränderungen beobachtet werden konnten, wird auf den hohen Energiebedarf, der eine Erhöhung der Fettoxidation und Mobilisation des Speicherfetts bedarf, zurückgeführt (10, 17). Doch auch während dieses Laufes mit niedriger Intensität konnten bei Probanden, die mit einer höheren Durchschnittsgeschwindigkeit liefen, günstigere Lipidprofile nachgewiesen werden. Auch in den SANTIAGO-Studien konnte eine Korrelation zwischen höherer Laufgeschwindigkeit und stärkerem HDL-Anstieg festgestellt werden (31). Dies könnte Ausdruck eines besseren Trainingsstatus sein, der die Probanden dazu befähigte, schneller zu laufen. Dazu passt es, dass FIN eine trendweise größere Laufleistung vor dem MM hatten und auch während des Marsches trendweise schneller liefen (4,39 km/h vs. 3,79 km/h, p=0,19). Des Weiteren konnten bei Probanden mit höheren Herzfrequenzen auch höhere Triglyceridkonzentrationen und bei Probanden mit niedrigeren Herzfrequenzen höhere HDL-Konzentrationen nachgewiesen werden. Die positive Wirkung von Ausdauertraining auf den Lipidstatus sowie eine bessere Fettoxidation bei trainierten Athleten sind in der Literatur vorbeschrieben (5, 77). Tatsächlich ist bezüglich der Wirkung des Ausdauertrainings auf die Senkung des kardiovaskulären Risikos ein Dosis-Wirkungs-Prinzip bekannt (78).

Als weiterer Einflussfaktor auf HDL-Werte konnte in der Studie weibliches Geschlecht identifiziert werden, übereinstimmend mit der aktuellen Literatur (79). Zudem zeigte sich erwartungsgemäß eine Korrelation zwischen höherem BMI und unvorteilhaften Lipidprofilen (10).

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass auch ein langer Ausdauerlauf mit niedriger Intensität das Lipidprofil signifikant verbessern kann. Einen erheblichen Einfluss hat jedoch der Trainingsstatus und somit die Regelmäßigkeit des Trainings. Dies ist insbesondere für Individuen mit größerem BMI oder kardialen Vorerkrankungen, die deshalb kein hochintensives Training durchführen können, von Bedeutung. Unsere Studie stützt somit andere Untersuchungen, die beschreiben, dass eine Reduktion des kardiovaskulären Risikos schon mit geringen Intensitäten möglich ist, deutet jedoch auch auf ein Dosis-Wirkungs-Prinzip hin (80).

5.7 Stärken und Limitationen der Studie

Mit einer Fallzahl von $n=43$ (davon $n=32$ mit brauchbaren Serumproben) ist die größte Stärke dieser Studie gleichzeitig auch ihre größte Limitation. Im Kontext von heute üblichen RCTs mit großen Fallzahlen erscheint die hier betrachtete Population klein, betrachtet man jedoch eine Vielzahl von Studien mit vergleichbarem Setting in diesem Bereich, fällt auf, dass die Mehrheit dieser Studien mit deutlich geringeren oder ähnlichen Fallzahlen arbeitete, indem in der Regel etwa 5-35 Probanden verfolgt wurden (6, 8–10, 14, 17, 19, 25, 29, 47, 49). Bei der Differenzierung in FIN und NON sowie andere Subgruppen reduziert sich durch niedrigere Fallzahlen die Validität, jedoch erlaubte uns dies auch Veränderungen gegen Ende des Marsches signifikant darzustellen, leistungsbezogene Analysen durchzuführen sowie weitere Einflussfaktoren zu untersuchen. Insgesamt können die teils hoch signifikanten Ergebnisse somit zwar nicht als sicherer Nachweis, jedoch als deutlicher Hinweis verstanden werden. Was durch die limitierte Anzahl der Probanden jedoch nicht möglich war, ist eine Gewichtung, welcher Einflussfaktoren (bspw. Intensität der Belastung) oder präexistenten Unterschiede (Alter, Geschlecht, BMI, Trainingsstatus) einen größeren Einfluss hatten. Hierfür hätten alle Parameter einzeln unter Ausschaltung anderer Größen betrachtet werden müssen, was eine deutlich höhere Probandenanzahl benötigt hätte.

Einige individuelle Einflussgrößen wie beispielsweise die Kalorien- und Flüssigkeitsaufnahme waren nicht standardisiert erfasst. Dies könnte potentiell Einfluss auf die gemessenen Serumparameter gehabt haben, auch wenn die Teilnehmer dazu angewiesen waren, ab einer Stunde vor Erreichen der Checkpoints keine Nahrung oder Flüssigkeit mehr aufzunehmen.

Die Serumproben wurden bis zu 24 Stunden nach der Abnahme gelagert. Obwohl die Serumparameter dadurch nicht hätten beeinflusst werden sollen, konnten Proben von 7 Probanden des MM15 und 4 Probanden des MM16 infolge von Hämolyse nicht verwendet werden. Ob dies an einem möglichen Kontakt zum Eis der Kühlboxen oder möglichen Erschütterungen während des Transportes lag, lässt sich retrospektiv nicht sicher beurteilen. Alle anderen Proben konnten jedoch problemlos prozessiert werden.

5.8 Zusammenfassung

Die zentrale Erkenntnis der Studie war, dass auch lange Ausdauermärsche mit niedriger Intensität, ebenso wie (Ultra-) Marathons, mit signifikanten Veränderungen der Körperzusammensetzung und diverser Serumparmeter, die eine kardiale Belastung sowie eine Akutphasereaktion und metabolische Anpassungen anzeigen, einhergehen. Das Ausmaß der Veränderungen lässt sich mit dem von höherintensiven (Ultra-) Marathons vergleichen. Jedoch gibt es zum Teil größere individuelle Differenzen im genauen Ausmaß der Veränderung, die zum Teil durch vorbestehende individuelle Unterschiede wie größeres Alter, größerer BMI, Geschlecht oder Trainingsstatus beeinflusst werden.

So verloren die Probanden etwa 1% der Körpermasse, dies größtenteils durch einen Verlust an Körperwasser. Der Belastungszeitraum von 24 Stunden war jedoch zu kurz, um die Fettmasse signifikant zu reduzieren. Eine kardiale Belastung wurde durch die über den Lauf signifikante NT-pro-BNP-Erhöhung über den Lauf angezeigt. Beeinflusst wurde das Ausmaß der Erhöhung insbesondere durch die Dauer der Belastung, jedoch scheint auch der Trainingsstatus einen signifikanten Einfluss zu haben. Auch in gesunden Probanden könnte NT-pro-BNP damit als Marker für die kardiopulmonale Leistungsfähigkeit dienen.

Durch einen massiven Anfall von Stoffwechselprodukten des Muskelzellerfalls wie Creatinkinasen wurde eine deutliche Akutphaseantwort, messbar durch signifikant erhöhte CRP-Werte, ausgelöst. Es gibt jedoch keine Hinweise auf bleibende Muskel- oder Myokardschäden, die aktuelle Literatur deutet mehrheitlich auf einen Trainingseffekt hin.

Interessanterweise konnte auch ein Lauf mit solch niedriger Intensität signifikante Veränderungen des Lipidprofils, im Sinne von Triglycerid-, LDL- und Cholesterinverminderung und HDL-Erhöhung, hervorrufen, obwohl dafür in der Literatur höhere Intensitäten als notwendig beschrieben wurden. Die extrem langandauernde Belastung und somit der deutlich erhöhte Kalorienbedarf machte jedoch offensichtlich eine gesteigerte Lipolyse notwendig.

Ungeachtet der als positiv zu wertenden Lipidveränderungen können solche extremen Ausdauerbelastungen, trotz niedriger Intensität, sicherlich nicht für untrainierte Personen empfohlen werden, die ihre kardiovaskuläre Gesundheit verbessern wollen. Die massive Stressreaktion des Körpers sowie die kardiale Belastung könnten in einer anderen Studienpopulation eventuell negative gesundheitliche Auswirkungen haben, wie sie einige wenige Studien bereits beschrieben haben.

Trotz allem unterstützen die hier gefundenen Ergebnisse aktuelle Empfehlungen hin zu einem generell aktiveren Lebensstil, da offensichtlich auch niedrige Belastungsintensitäten signifikante Verbesserungen der Blutfette hervorrufen und somit das kardiovaskuläre Risiko reduzieren können.

6 Referenzen

1. Knechtle B, Scheer V, Nikolaidis PT, Sousa CV. Participation and Performance Trends in the Oldest 100-km Ultramarathon in the World. *Int J Environ Res Public Health* (2020) 17. doi:10.3390/ijerph17051719
2. International Association of Ultrarunners (2020): <http://iau-ultramarathon.org>. [accessed July 13, 2019].
3. BMW Berlin Marathon: <https://www.bmw-berlin-marathon.com/impressionen/statistik-und-geschichte/zahlen-und-rekorde/> [assessed January 31, 2021].
4. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem* (2012) 56:1–54. doi:10.1016/b978-0-12-394317-0.00015-7
5. Knechtle B, Nikolaidis PT. Physiology and Pathophysiology in Ultra-Marathon Running. *Front Physiol* (2018) 9:634. doi:10.3389/fphys.2018.00634
6. Baur DA, Bach CW, Hyder WJ, Ormsbee MJ. Fluid retention, muscle damage, and altered body composition at the Ultraman triathlon. *Eur J Appl Physiol* (2016) 116:447–58. doi:10.1007/s00421-015-3291-9.
7. Knechtle B, Salas Fraire O, Andonie JL, Kohler G. Effect of a multistage ultra-endurance triathlon on body composition: World Challenge Deca Iron Triathlon 2006. *Br J Sports Med* (2008) 42:121-5; discussion 125. doi:10.1136/bjism.2007.038034.
8. Emed LG, Passaglia DG, Guerios ST, João PG, Moser AI, Abdalla DS, et al. Acute modification in plasma lipid levels in ultramarathon runners. *J Sports Sci* (2016) 34:1657–61. doi:10.1080/02640414.2015.1130237.
9. Ginsburg GS, Agil A, O'Toole M, Rimm E, Douglas PS, Rifai N. Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid levels and susceptibility of lipids to peroxidation in triathletes. *JAMA* (1996) 276:221–5.
10. Waśkiewicz Z, Kłapcińska B, Sadowska-Krępa E, Czuba M, Kempa K, Kimsa E, et al. Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. *Eur J Appl Physiol* (2012) 112:1679–88. doi:10.1007/s00421-011-2135-5.
11. Coyle EF, Coggan AR, Hemmert MK, Ivy JL. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol* (1985) (1986) 61:165–72. doi:10.1152/jappl.1986.61.1.165.
12. Helge JW, Rehrer NJ, Pilegaard H, Manning P, Lucas SJ, Gerrard DF, et al. Increased fat oxidation and regulation of metabolic genes with ultraendurance exercise. *Acta Physiol (Oxf)* (2007) 191:77–86. doi:10.1111/j.1748-1716.2007.01709.x
13. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga S, Komatsu Y, Kishimoto I, et al. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an "emergency" cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Invest* (1995) 96:1280–7. doi:10.1172/JCI118162.
14. Scharhag J, Herrmann M, Urhausen A, Haschke M, Herrmann W, Kindermann W. Independent elevations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac

- troponins in endurance athletes after prolonged strenuous exercise. *Am Heart J* (2005) 150:1128–34. doi:10.1016/j.ahj.2005.01.051
15. Sarko J, Pollack CV. Cardiac troponins. *The Journal of Emergency Medicine* (2002) 23:57–65. doi:10.1016/s0736-4679(02)00463-8
 16. Vilela EM, Bettencourt-Silva R, Nunes JP, Ribeiro VG. BNP and NT-proBNP elevation after running--a systematic review. *Acta Cardiol* (2015) 70:501–9. doi:10.2143/AC.70.5.3110509.
 17. Kłapcińska B, Waśkiewicz Z, Chrapusta SJ, Sadowska-Krępa E, Czuba M, Langfort J. Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur J Appl Physiol* (2013) 113:2781–93. doi:10.1007/s00421-013-2714-8
 18. Scharhag J, Urhausen A, Schneider G, Herrmann M, Schumacher K, Haschke M, et al. Reproducibility and clinical significance of exercise-induced increases in cardiac troponins and N-terminal pro brain natriuretic peptide in endurance athletes. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* (2006) 13:388–97. doi:10.1097/01.hjr.0000219117.33038.90.
 19. La Gerche A, Connelly KA, Mooney DJ, Maclsaac AI, Prior DL. Biochemical and functional abnormalities of left and right ventricular function after ultra-endurance exercise. *Heart* (2008) 94:860–6. doi:10.1136/hrt.2006.101063.
 20. Sedaghat-Hamedani F, Kayvanpour E, Frankenstein L, Mereles D, Amr A, Buss S, et al. Biomarker changes after strenuous exercise can mimic pulmonary embolism and cardiac injury--a metaanalysis of 45 studies. *Clin Chem* (2015) 61:1246–55. doi:10.1373/clinchem.2015.240796.
 21. Koller A, Summer P, Moser H. Regular exercise and subclinical myocardial injury during prolonged aerobic exercise. *JAMA* (1999) 282:1816. doi:10.1001/jama.282.19.1816.
 22. Benda NM, Hopman MT, van Dijk AP, Oxborough D, George KP, Thijssen DH, et al. Impact of prolonged walking exercise on cardiac structure and function in cardiac patients versus healthy controls. *Eur J Prev Cardiol* (2016) 23:1252–60. doi:10.1177/2047487316631389.
 23. Shave R, George KP, Atkinson G, Hart E, Middleton N, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc* (2007) 39:2099–106. doi:10.1249/mss.0b013e318153ff78.
 24. Scharhag J, George K, Shave R, Urhausen A, Kindermann W. Exercise-associated increases in cardiac biomarkers. *Med Sci Sports Exerc* (2008) 40:1408–15. doi:10.1249/MSS.0b013e318172cf22.
 25. Fallon KE. The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin J Sport Med* (2001) 11:38–43. doi:10.1097/00042752-200101000-00007
 26. Cerqueira É, Marinho DA, Neiva HP, Lourenço O. Inflammatory Effects of High and Moderate Intensity Exercise-A Systematic Review. *Front Physiol* (2019) 10:1550. doi:10.3389/fphys.2019.01550.
 27. Allen J, Sun Y, Woods JA. Exercise and the Regulation of Inflammatory Responses. *Prog Mol Biol Transl Sci* (2015) 135:337–54. doi:10.1016/bs.pmbts.2015.07.003.

28. Yoon JH, Park Y, Ahn J, Shin KA, Kim YJ. Changes in the markers of cardiac damage in men following long-distance and ultra-long-distance running races. *J Sports Med Phys Fitness* (2016) 56:295–301.
29. Kim Y-J, Shin Y-O, Lee J-B, Lee Y-H, Shin K-A, Kim A-C, et al. The effects of running a 308 km ultra-marathon on cardiac markers. *Eur J Sport Sci* (2014) 14 Suppl 1:S92-7. doi:10.1080/17461391.2011.654267.
30. Zingg MA, Knechtle B, Rosemann T, Rüst CA. Performance differences between sexes in 50-mile to 3,100-mile ultramarathons. *Open Access J Sports Med* (2015) 6:7–21. doi:10.2147/OAJSM.S76490.
31. Bemelmans RH, Blommaert PP, Wassink AM, Coll B, Spiering W, van der Graaf Y, et al. The relationship between walking speed and changes in cardiovascular risk factors during a 12-day walking tour to Santiago de Compostela: a cohort study. *BMJ Open* (2012) 2. doi:10.1136/bmjopen-2012-000875
32. Bemelmans RH, Coll B, Faber DR, Westerink J, Blommaert PP, Spiering W, et al. Vascular and metabolic effects of 12 days intensive walking to Santiago de Compostela. *Atherosclerosis* (2010) 212:621–7. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2010.06.012
33. Schneider PL, Bassett DR, Thompson DL, Pronk NP, Bielak KM. Effects of a 10,000 steps per day goal in overweight adults. *Am J Health Promot* (2006) 21:85–9. doi:10.4278/0890-1171-21.2.85
34. Hagner W, Hagner-Derengowska M, Wiacek M, Zubrzycki IZ. Changes in level of VO₂max, blood lipids, and waist circumference in the response to moderate endurance training as a function of ovarian aging. *Menopause* (2009) 16:1009–13. doi:10.1097/gme.0b013e31819c0924
35. Oja P, Kelly P, Murtagh EM, Murphy MH, Foster C, Titze S. Effects of frequency, intensity, duration and volume of walking interventions on CVD risk factors: a systematic review and meta-regression analysis of randomised controlled trials among inactive healthy adults. *Br J Sports Med* (2018) 52:769–75. doi:10.1136/bjsports-2017-098558
36. Murtagh EM, Nichols L, Mohammed MA, Holder R, Nevill AM, Murphy MH. The effect of walking on risk factors for cardiovascular disease: an updated systematic review and meta-analysis of randomised control trials. *Prev Med* (2015) 72:34–43. doi:10.1016/j.ypmed.2014.12.041
37. Scharhag J, Herrmann M, Weissinger M, Herrmann W, Kindermann W. N-terminal B-type natriuretic peptide concentrations are similarly increased by 30 minutes of moderate and brisk walking in patients with coronary artery disease. *Clin Res Cardiol* (2007) 96:218–26. doi:10.1007/s00392-007-0491-2.
38. Mammutmarsch 2018. <https://mammutmarsch.de/> [accessed July 8, 2017].
39. Lukaski HC, Bolonchuk WW. Estimation of body fluid volumes using tetrapolar bioelectrical impedance measurements. *Aviat Space Environ Med* (1988) 59:1163–9.
40. Segal KR, van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, van Itallie TB. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr* (1988) 47:7–14. doi:10.1093/ajcn/47.1.7
41. Sun SS, Chumlea WC, Heymsfield SB, Lukaski HC, Schoeller D, Friedl K, et al. Development of bioelectrical impedance analysis prediction equations for body

- composition with the use of a multicomponent model for use in epidemiologic surveys. *Am J Clin Nutr* (2003) 77:331–40. doi:10.1093/ajcn/77.2.331
42. Ainsworth BE, Haskell WL, Leon AS, Jacobs DR, Montoye HJ, Sallis JF, et al. Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. *Med Sci Sports Exerc* (1993) 25:71–80. doi:10.1249/00005768-199301000-00011.
 43. Kannel WB, Kannel C, Paffenbarger RS, Cupples L. Heart rate and cardiovascular mortality: The Framingham study. *Am Heart J* (1987) 113:1489–94. doi:10.1016/0002-8703(87)90666-1
 44. Doyen B, Matelot D, Carré F. Asymptomatic bradycardia amongst endurance athletes. *Phys Sportsmed* (2019) 47:249–52. doi:10.1080/00913847.2019.1568769
 45. Obiling KH, Hansen A-LS, Overgaard K, Normann K, Sandbaek A, Maindal HT. Association between self-reported and objectively measured physical fitness level in a middle-aged population in primary care. *Prev Med Rep* (2015) 2:462–6. doi:10.1016/j.pmedr.2015.05.010
 46. Mendes Md, Da Silva I, Ramires V, Reichert F, Martins R, Ferreira R, et al. Metabolic equivalent of task (METs) thresholds as an indicator of physical activity intensity. *PLoS One* (2018) 13:e0200701. doi:10.1371/journal.pone.0200701
 47. Knechtle B, Knechtlet B, Schwanke M, Knechtle P, Kohler G. Decrease in body fat during an ultra-endurance triathlon is associated with race intensity. *Br J Sports Med* (2008) 42:609–13. doi:10.1136/bjsm.2007.040956
 48. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Med Sci Sports Exerc* (2002) 34:92–7. doi:10.1097/00005768-200201000-00015
 49. Coker RH, Weaver AN, Coker MS, Murphy CJ, Gunga H-C, Steinach M. Metabolic Responses to the Yukon Arctic Ultra: Longest and Coldest in the World. *Med Sci Sports Exerc* (2017) 49:357–62. doi:10.1249/MSS.0000000000001095
 50. Alpert SS. A limit on the energy transfer rate from the human fat store in hypophagia. *J Theor Biol* (2005) 233:1–13. doi:10.1016/j.jtbi.2004.08.029
 51. WISHNOFSKY M. Caloric equivalents of gained or lost weight. *Am J Clin Nutr* (1958) 6:542–6. doi:10.1093/ajcn/6.5.542
 52. Noakes TD, Sharwood K, Speedy D, Hew T, Reid S, Dugas J, et al. Three independent biological mechanisms cause exercise-associated hyponatremia: evidence from 2,135 weighed competitive athletic performances. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2005) 102:18550–5. doi:10.1073/pnas.0509096102
 53. Lee J-B, Kim J-H, Murota H. Perspiration Functions in Different Ethnic, Age, and Sex Populations: Modification of Sudomotor Function. *Curr Probl Dermatol* (2016) 51:109–19. doi:10.1159/000447370
 54. Lord R, Somauroo J, Stembridge M, Jain N, Hoffman MD, George K, et al. The right ventricle following ultra-endurance exercise: insights from novel echocardiography and 12-lead electrocardiography. *Eur J Appl Physiol* (2015) 115:71–80. doi:10.1007/s00421-014-2995-6
 55. Christensen DL, Espino D, Infante-Ramírez R, Cervantes-Borunda MS, Hernández-Torres RP, Rivera-Cisneros AE, et al. Transient cardiac dysfunction but elevated cardiac and kidney biomarkers 24 h following an ultra-distance

- running event in Mexican Tarahumara. *Extrem Physiol Med* (2017) 6:3. doi:10.1186/s13728-017-0057-5
56. Martínez-Navarro I, Sánchez-Gómez J, Sanmiguel D, Collado E, Hernando B, Panizo N, et al. Immediate and 24-h post-marathon cardiac troponin T is associated with relative exercise intensity. *Eur J Appl Physiol* (2020) 120:1723–31. doi:10.1007/s00421-020-04403-8
 57. Mehta R, Gaze D, Mohan S, Williams KL, Sprung V, George K, et al. Post-exercise cardiac troponin release is related to exercise training history. *Int J Sports Med* (2012) 33:333–7. doi:10.1055/s-0031-1301322
 58. Maries L, Manitiu I. Diagnostic and prognostic values of B-type natriuretic peptides (BNP) and N-terminal fragment brain natriuretic peptides (NT-pro-BNP). *Cardiovasc J Afr* (2013) 24:286–9. doi:10.5830/CVJA-2013-055
 59. Serrano-Ostáriz E, Terreros-Blanco JL, Legaz-Arrese A, George K, Shave R, Bocos-Terraz P, et al. The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand J Med Sci Sports* (2011) 21:244–9. doi:10.1111/j.1600-0838.2009.01042.x
 60. Legaz-Arrese A, George K, Carranza-García LE, Munguía-Izquierdo D, Moros-García T, Serrano-Ostáriz E. The impact of exercise intensity on the release of cardiac biomarkers in marathon runners. *Eur J Appl Physiol* (2011) 111:2961–7. doi:10.1007/s00421-011-1922-3.
 61. Nichols S, Taylor C, Page R, Kallvikbacka-Bennett A, Nation F, Goodman T, et al. Is Cardiorespiratory Fitness Related to Cardiometabolic Health and All-Cause Mortality Risk in Patients with Coronary Heart Disease? A CARE CR Study. *Sports Med Open* (2018) 4:22. doi:10.1186/s40798-018-0138-z
 62. Kang S-J, Ha G-C, Ko K-J. Association between resting heart rate, metabolic syndrome and cardiorespiratory fitness in Korean male adults. *J Exerc Sci Fit* (2017) 15:27–31. doi:10.1016/j.jesf.2017.06.001
 63. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* (2002) 81:S52-69. doi:10.1097/00002060-200211001-00007
 64. Sorichter S, Puschendorf B, Mair J. Skeletal muscle injury induced by eccentric muscle action: muscle proteins as markers of muscle fiber injury. *Exerc Immunol Rev* (1999) 5:5–21.
 65. Bäcker HC, Busko M, Krause FG, Exadaktylos AK, Klukowska-Roetzler J, Deml MC. Exertional rhabdomyolysis and causes of elevation of creatine kinase. *Phys Sportsmed* (2020) 48:179–85. doi:10.1080/00913847.2019.1669410
 66. Neal RC, Ferdinand KC, Ycas J, Miller E. Relationship of ethnic origin, gender, and age to blood creatine kinase levels. *Am J Med* (2009) 122:73–8. doi:10.1016/j.amjmed.2008.08.033
 67. Kim J, So W-Y. High Body Mass Index Is Associated with the Extent of Muscle Damage after Eccentric Exercise. *Int J Environ Res Public Health* (2018) 15. doi:10.3390/ijerph15071378.
 68. Baird MF, Graham SM, Baker JS, Bickerstaff GF. Creatine-kinase- and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *J Nutr Metab* (2012) 2012:960363. doi:10.1155/2012/960363.
 69. Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* (2010) 48:757–67. doi:10.1515/CCLM.2010.179

70. Lakoski SG, Cushman M, Criqui M, Rundek T, Blumenthal RS, D'Agostino RB, et al. Gender and C-reactive protein: data from the Multiethnic Study of Atherosclerosis (MESA) cohort. *Am Heart J* (2006) 152:593–8. doi:10.1016/j.ahj.2006.02.015.
71. Timpson NJ, Nordestgaard BG, Harbord RM, Zacho J, Frayling TM, Tybjaerg-Hansen A, et al. C-reactive protein levels and body mass index: elucidating direction of causation through reciprocal Mendelian randomization. *Int J Obes (Lond)* (2011) 35:300–8. doi:10.1038/ijo.2010.137.
72. Tauler P, Martinez S, Moreno C, Martínez P, Aguilo A. Changes in salivary hormones, immunoglobulin A, and C-reactive protein in response to ultra-endurance exercises. *Appl Physiol Nutr Metab* (2014) 39:560–5. doi:10.1139/apnm-2013-0466
73. Edwards S, Clow A, Evans P, Hucklebridge F. Exploration of the awakening cortisol response in relation to diurnal cortisol secretory activity. *Life Sciences* (2001) 68:2093–103. doi:10.1016/s0024-3205(01)00996-1
74. Popovic B, Popovic D, Macut D, Antic IB, Isailovic T, Ognjanovic S, et al. Acute Response to Endurance Exercise Stress: Focus on Catabolic/anabolic Interplay Between Cortisol, Testosterone, and Sex Hormone Binding Globulin in Professional Athletes. *J Med Biochem* (2019) 38:6–12. doi:10.2478/jomb-2018-0016
75. Mann S, Beedie C, Jimenez A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Med* (2014) 44:211–21. doi:10.1007/s40279-013-0110-5.
76. Fikenzler K, Fikenzler S, Laufs U, Werner C. Effects of endurance training on serum lipids. *Vascul Pharmacol* (2018) 101:9–20. doi:10.1016/j.vph.2017.11.005
77. Bassett DR, Howley ET. Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci Sports Exerc* (2000) 32:70–84. doi:10.1097/00005768-200001000-00012.
78. Aadahl M, Kjaer M, Jørgensen T. Associations between overall physical activity level and cardiovascular risk factors in an adult population. *Eur J Epidemiol* (2007) 22:369–78. doi:10.1007/s10654-006-9100-3.
79. Davis CE, Williams DH, Oganov RG, Tao SC, Rywik SL, Stein Y, et al. Sex difference in high density lipoprotein cholesterol in six countries. *Am J Epidemiol* (1996) 143:1100–6. doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a008686
80. Eijsvogels TM, Maessen MF. Exercise for Coronary Heart Disease Patients: Little Is Good, More Is Better, Vigorous Is Best. *J Am Coll Cardiol* (2017) 70:1701–3. doi:10.1016/j.jacc.2017.08.016

7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marc Jörres, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Physiologische Änderungen im Rahmen eines 100 km Marsches / Physiological changes during a 100km-walking-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/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

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

Datum

Unterschrift

8 Anteilserklärung

Publikation 1: Marc Jörres, Hanns-Christian Gunga and Mathias Steinach, Physiological Changes, Activity, and Stress During a 100-km–24-h Walking-March, *Frontiers in Physiology*, 11.03.2021.

Beitrag im Einzelnen: Marc Jörres hat die Untersuchungen an und mit Probanden vor den Läufen des MM 15 und 16 (BIA, Erhebung anthropometrischer Daten, Blutentnahmen, Ausgabe von Messgeräten) durchgeführt und Daten während und nach den Märschen erhoben (Durchführung von Blutentnahmen sowie BIA). Von Marc Jörres erfolgte außerdem die statistische Auswertung der Labor-, BIA und Actimeterdaten mittels RM-ANOVA, t-Tests und linearen Korrelationsanalysen, aus denen alle in der Publikation verwendeten Tabellen und Grafiken zu anthropometrischen Unterschieden (Table 1 und 2), Veränderungen der Laborparameter während des Laufs (Figure 1 bis 4) sowie Grafiken und Tabellen zu den linearen Korrelationsanalysen (Figure 5-12, Table 3) erstellt wurden. Weiterhin wurden Abstract, Methoden-, Ergebnis- und Diskussionsteil der Publikation von Marc Jörres verfasst.

Prof. Hanns-Christian Gunga war Rat- und Hinweisgeber während der durchgeführten Studie und lieferte wichtige inhaltliche sowie organisatorische Hinweise zur Anfertigung des Papers und der Publikation. Prof. Gunga war für die Schaffung der Rahmenbedingungen der Forschung unserer AG in den Extremen Umwelten verantwortlich und machte diese Studie grundsätzlich erst möglich.

Dr. Mathias Steinach plante und designte die durchgeführte Studie, half bei der Erhebung der Daten vor dem Lauf (BIA, Erhebung anthropometrischer Daten, Blutentnahmen) und während des Laufs (Blutentnahmen, BIA) sowie bei der Formulierung des Papers und der Publikation.

Unterschrift, Datum und Stempel des/der erstbetreuenden Hochschullehrers/in

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

9 Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: **Selected JCR Year: 2017** Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: **"PHYSIOLOGY"** Selected Category Scheme: WoS
Gesamtanzahl: 83 Journale

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	PHYSIOLOGICAL REVIEWS	27,680	24.014	0.030380
2	Annual Review of Physiology	9,111	14.327	0.013180
3	JOURNAL OF PINEAL RESEARCH	9,079	11.613	0.008600
4	PHYSIOLOGY	3,235	5.947	0.005780
5	Acta Physiologica	4,489	5.930	0.008330
6	Comprehensive Physiology	3,159	5.797	0.013090
7	International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity	8,371	5.548	0.019780
8	CELLULAR PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY	11,234	5.500	0.017450
9	EXERCISE AND SPORT SCIENCES REVIEWS	2,935	5.065	0.003070
10	JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LONDON	48,647	4.540	0.045010
11	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-LUNG CELLULAR AND MOLECULAR PHYSIOLOGY	13,256	4.092	0.016920
12	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM	18,777	4.018	0.022800
13	JOURNAL OF CELLULAR PHYSIOLOGY	18,225	3.923	0.019990
14	JOURNAL OF BIOLOGICAL RHYTHMS	3,031	3.906	0.003440
15	JOURNAL OF GENERAL PHYSIOLOGY	7,802	3.680	0.009350
16	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-HEART AND CIRCULATORY PHYSIOLOGY	28,039	3.569	0.027570
17	Conservation Physiology	856	3.460	0.003160
18	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-CELL PHYSIOLOGY	15,675	3.454	0.015940
19	PESTICIDE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY	4,805	3.440	0.005730

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
20	Frontiers in Physiology	10,356	3.394	0.037750
21	International Journal of Sports Physiology and Performance	3,503	3.384	0.007070
22	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-GASTROINTESTINAL AND LIVER PHYSIOLOGY	14,321	3.293	0.018460
23	JOURNAL OF APPLIED PHYSIOLOGY	42,698	3.256	0.026580
24	CHEMICAL SENSES	4,756	3.235	0.004650
24	Reviews of Physiology Biochemistry and Pharmacology	752	3.235	0.000600
26	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-RENAL PHYSIOLOGY	15,665	3.164	0.020520
27	PSYCHOPHYSIOLOGY	13,301	3.118	0.012340
28	AMERICAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY-REGULATORY INTEGRATIVE AND COMPARATIVE PHYSIOLOGY	18,469	3.082	0.018580
29	KIDNEY & BLOOD PRESSURE RESEARCH	1,524	3.000	0.002640
30	JOURNAL OF MAMMARY GLAND BIOLOGY AND NEOPLASIA	2,148	2.963	0.001760
31	INTERNATIONAL JOURNAL OF PSYCHOPHYSIOLOGY	7,496	2.868	0.010950
32	PHYSIOLOGICAL GENOMICS	4,519	2.782	0.005350
33	PFLUGERS ARCHIV-EUROPEAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY	9,086	2.765	0.011030
34	Journal of Physiological Sciences	993	2.757	0.001940
35	JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY	1,558	2.736	0.003020
36	JOURNAL OF INSECT PHYSIOLOGY	8,699	2.733	0.008210
37	EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY	5,323	2.732	0.008410
38	CHRONOBIOLOGY INTERNATIONAL	5,049	2.643	0.007620

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
39	CLINICAL PHYSIOLOGY AND FUNCTIONAL IMAGING	2,149	2.600	0.002770
40	INTERNATIONAL JOURNAL OF BIOMETEOROLOGY	5,208	2.577	0.006340
41	Applied Physiology Nutrition and Metabolism	4,489	2.518	0.010370
42	JOURNAL OF COMPARATIVE PHYSIOLOGY B- BIOCHEMICAL SYSTEMIC AND ENVIRONMENTAL PHYSIOLOGY	4,016	2.517	0.004250
43	JOURNAL OF NEUROPHYSIOLOGY	43,471	2.502	0.041080
44	JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY	3,251	2.478	0.002670
45	EUROPEAN JOURNAL OF APPLIED PHYSIOLOGY	15,249	2.401	0.015280
46	PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ZOOLOGY	3,122	2.291	0.003180
47	COMPARATIVE BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY A- MOLECULAR & INTEGRATIVE PHYSIOLOGY	10,382	2.258	0.007360
48	CLINICAL JOURNAL OF SPORT MEDICINE	3,683	2.224	0.004470
49	CANADIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY AND PHARMACOLOGY	4,427	2.210	0.004110
50	QUARTERLY JOURNAL OF EXPERIMENTAL PSYCHOLOGY	5,027	2.190	0.009160
51	CLINICAL AND EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY AND PHYSIOLOGY	5,570	2.092	0.005180
52	CRYOBIOLOGY	4,497	2.050	0.004020
53	NEUROPHYSIOLOGIE CLINIQUE-CLINICAL NEUROPHYSIOLOGY	1,303	2.045	0.001450
54	JOURNAL OF VASCULAR RESEARCH	1,613	2.029	0.002190

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
55	PHYSIOLOGICAL MEASUREMENT	5,247	2.006	0.006630
56	ADVANCES IN PHYSIOLOGY EDUCATION	1,388	1.981	0.001690
57	JOURNAL OF COMPARATIVE PHYSIOLOGY A-NEUROETHOLOGY SENSORY NEURAL AND BEHAVIORAL PHYSIOLOGY	5,159	1.970	0.004510
58	Lymphatic Research and Biology	752	1.903	0.001110
59	ARCHIVES OF PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY	851	1.806	0.001050
60	RESPIRATORY PHYSIOLOGY & NEUROBIOLOGY	6,396	1.792	0.006970
61	FISH PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY	3,837	1.735	0.004860
62	JOURNAL OF MUSCULOSKELETAL & NEURONAL INTERACTIONS	1,435	1.651	0.001880
63	JOURNAL OF MEMBRANE BIOLOGY	4,002	1.638	0.003020
64	JOURNAL OF ELECTROMYOGRAPHY AND KINESIOLOGY	4,927	1.568	0.005740
65	Journal of Physiological Anthropology	629	1.487	0.000910
66	GENERAL PHYSIOLOGY AND BIOPHYSICS	874	1.479	0.000880
67	KOREAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY & PHARMACOLOGY	817	1.469	0.001670
68	JOURNAL OF BIOLOGICAL REGULATORS AND HOMEOSTATIC AGENTS	1,396	1.397	0.002290
69	PEDIATRIC EXERCISE SCIENCE	1,597	1.353	0.002140
70	PHYSIOLOGICAL RESEARCH	3,075	1.324	0.003510
71	ARCHIVES OF INSECT BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY	1,882	1.316	0.001160

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
72	HYPERTENSION IN PREGNANCY	1,108	1.257	0.001610
73	ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA	496	1.064	0.000580
74	LYMPHOLOGY	738	0.976	0.000790
75	CHINESE JOURNAL OF PHYSIOLOGY	532	0.827	0.000530
76	CRYOLETTERS	992	0.790	0.000730
77	BIOLOGICAL RHYTHM RESEARCH	639	0.699	0.000790
78	Physiology International	14	0.522	0.000030
79	JOURNAL OF EVOLUTIONARY BIOCHEMISTRY AND PHYSIOLOGY	349	0.455	0.000240
80	NEUROPHYSIOLOGY	223	0.368	0.000250
81	ZHURNAL VYSSHEI NERVNOI DEYATELNOSTI IMENI I P PAVLOVA	262	0.311	0.000140
82	Revista Brasileira de Medicina do Esporte	785	0.270	0.000400
83	KLINISCHE NEUROPHYSIOLOGIE	43	0.158	0.000030

Copyright © 2018 Clarivate Analytics



Physiological Changes, Activity, and Stress During a 100-km-24-h Walking-March

Marc Jörres*, Hanns-Christian Gunga and Mathias Steinach

Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, Institute of Physiology, Center for Space Medicine and Extreme Environments, Berlin, Germany

Background: Long-endurance exercises like ultramarathons are known to elicit various metabolic and physiological changes in the human body. However, little is known about very long-duration exercise at low intensities regarding healthy human subjects.

Aim: The purpose of this study was to evaluate changes in body composition and metabolism in long-endurance but low-intensity events.

Methods: Twenty-five male and 18 female healthy recreational athletes (age 34.6 ± 8.8 years; BMI: 22.4 ± 2.0 kg/m²) of the “100 km Mammutmarsch” were recruited for participation during the events in 2014–2016. Other than classical ultramarathons, the “Mammutmarsch” is a hiking event, in which participants were required to walk but not run or jog. It was expected to complete the 100-km distance within 24 h, resulting in a calculated mean speed of 4.17 km/h, which fits to the mean speed observed (4.12 ± 0.76 km/h). As not all participants reached the finish line, comparison of finishers (FIN, $n = 11$) and non-finishers (NON, $n = 21$) allowed differential assessment of performance. Body composition measured through bioelectrical impedance analysis (BIA) was determined pre- and post-event, and serum samples were taken pre-event, at 30, 70, and 100 km to determine NT-pro-BNP, troponin T, C-reactive protein (CRP), cortisol, low-density lipoprotein (LDL), high-density lipoprotein (HDL), triglycerides, total cholesterol, total creatine kinase (CK), CK-MB, aminotransferase (AST), ALT, and sodium levels. Nineteen participants wore actimeter armbands (SenseWear®) to gain information about body activity and exercise intensity [metabolic equivalent of task (MET)]. Sixteen participants wore mobile heart rate monitors to assess mean heart rate during the race. Serum parameter alterations over the course of the race were analyzed with mixed-effects ANOVA and additional *t*-tests. All serum parameters were analyzed for correlation concerning different MET levels, speed, age, BMI, baseline NT-pro-BNP, mean heart rate during the race, and sex with linear regression analysis.

Results: We found significant elevations for muscle and cardiac stress markers (CRP, CK, CK-MB, AST, ALT, cortisol, and NT-pro-BNP) as well as decreasing markers of lipid metabolism (cholesterol, triglycerides, LDL). Although the intensity level demanded from our participants was low compared with other studies on (ultra-) marathons, the alteration of tested parameters was similar to those of high-intensity exercise, e.g., NT-pro-BNP showed a fourfold increase ($p < 0.01$) and LDL decreased by 20% ($p = 0.05$).

OPEN ACCESS

Edited by:

Ginés Viscor,
University of Barcelona, Spain

Reviewed by:

Beat Knachtli,
Universitätsspital Zürich, Switzerland
Guillermo Olcina,
University of Extremadura, Spain

*Correspondence:

Marc Jörres
marc.jorres@charite.de;
marc.jorres@t-online.de

Specialty section:

This article was submitted to
Environmental, Aviation and Space
Physiology,
a section of the journal
Frontiers in Physiology

Received: 11 December 2020

Accepted: 27 January 2021

Published: 11 March 2021

Citation:

Jörres M, Gunga H-C and
Steinach M (2021) Physiological
Changes, Activity, and Stress During
a 100-km-24-h Walking-March.
Front. Physiol. 12:640710.
doi: 10.3389/fphys.2021.640710

Besides the duration of exercise, age, BMI, training status, and sex are relevant parameters that influence the elevation of stress factors. Notably, our data indicate that NT-pro-BNP might be a marker for cardiovascular fitness also in healthy adults.

Conclusion: This low-intensity long-endurance walk evoked a strong systemic reaction and large cell stress and shifted to a favorable lipid profile, comparable to higher intensity events. Despite increasing cardiac stress parameters, there were no indications of cardiac cell damage. Remarkably, the duration seems to have a greater influence on stress markers and metabolism than intensity.

Keywords: body composition, cardiac stress, endurance, exercise performance, low intensity, physiological changes, ultra-endurance, ultramarathon

INTRODUCTION

The knowledge about physiological changes in athletes participating in ultramarathons is scarce. While thousands of athletes compete in classic marathons, only a few hundred do so in ultramarathons, i.e., distances longer than 42.195 km. Nevertheless, in the last decades, the number of such events has been increasing, as well as the number of athletes participating in such events (Whyte, 2014; International Association of Ultrarunners, 2020; Knechtle et al., 2020).

Several studies have shown that engaging in endurance sports elicits various metabolic and physiological changes in the human body. Changes in lean body mass and body fat (Knechtle et al., 2008a; Baur et al., 2016), as well as a decrease in serum lipids (Ginsburg et al., 1996), are considered beneficial on diseases caused by western sedentary lifestyle, such as the metabolic syndrome (Saklayen, 2018), while other alterations, such as increases in cardiac and muscle cell damage markers and markers indicating systemic inflammatory reaction, may indicate adverse effects (Fallon, 2001; Scharhag et al., 2005, 2006; Kasprowicz et al., 2013; Kłapcińska et al., 2013; Baur et al., 2016). Established markers to assess these changes are creatine kinase (CK), transaminases, C-reactive protein (CRP), and cortisol (Allen et al., 2015; Cerqueira et al., 2020). Markers to assess cardiac stress are NT-pro-BNP, released by cardiomyocytes in response to stretching caused by volume load (Nakagawa et al., 1995), and cardiac troponins, indicating myocardial damage (Sarko and Pollack, 2002). These changes are discussed to be a physiological response as cardiac and muscle cell markers return to baseline shortly after finishing a marathon or ultramarathon, suggesting rapid cell repair without adverse long-term effects (Scharhag et al., 2005, 2006, 2008; La Gerche et al., 2008; Kłapcińska et al., 2013).

However, the majority of these studies assessed triathlons, marathons, or ultramarathons where participants ran or jogged (Ohba et al., 2001; Wu et al., 2004; Scharhag et al., 2005; Scott et al., 2009; Banfi et al., 2012; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014; Vilela et al., 2015; Emed et al., 2016; Yoon et al., 2016). In those races, exercise intensity and, therefore, mean speed is usually relatively high, e.g., around 14 km/h in 80-km races (Zingg et al., 2015). In studies with lower mean running speed around 5 km/h, distances were much longer (up to 308 km), but participants still ran or jogged instead of walking (Kim et al.,

2014; Yoon et al., 2016). One study with a relatively low mean speed covered a distance of up to 430 miles (≈ 690 km) but was conducted in extremely cold weather (daily average temperatures around -25°C) (Coker et al., 2017).

Research concerning NT-pro-BNP in endurance exercise showed levels exceeding its upper reference limit (URL) in 35.9% of runners; however, only marathon and half-marathon races were assessed (Vilela et al., 2015). Very few studies exist that evaluated changes in NT-pro-BNP during ultramarathons. The distances in existing studies varied between 60 (Salvagno et al., 2014), 100 (Scharhag et al., 2005), 160 (Scott et al., 2009), and 280 km (Kłapcińska et al., 2013) up to 308 km (Kim et al., 2014; Yoon et al., 2016) with running velocities varying from 8.5 to 10.0 km/h (Kasprowicz et al., 2013), respectively. Two studies (Kim et al., 2014; Yoon et al., 2016) evaluating NT-pro-BNP at lower intensities (i.e., walking instead of jogging or running) covered more than triple the distance than the MM, assessed in the present study. Another study covering exercise at low intensities did not include healthy subjects but examined patients with coronary heart syndrome, evaluated for only 30 min (Scharhag et al., 2007). To our knowledge, no data covering healthy athletes walking for a distance around 100 km exists.

Cardiac troponins have been analyzed in many studies regarding half-marathon, marathon, and ultramarathon-runs with increases in 51% of 1,045 evaluated athletes above the cut-off value of 10 ng/L (Sedaghat-Hamedani et al., 2015). However, participants of the evaluated ultramarathons were running at jogging speed (9–10 km/h at a distance of 100 km) (Ohba et al., 2001; Scharhag et al., 2005). Only few studies have evaluated troponins at low-intensity and long-duration exercise. However, in these few studies, participants were either heart patients (Benda et al., 2016); were 55 years in mean age of which 82% were prescribed diuretics, statins, or antihypertensive drugs; or were of heterogenic age (21–82 years) of which 23% had cardiac pathologies (Eijsvogels et al., 2010).

Regarding metabolic and stress parameters, several studies have shown that ultramarathons may lead to a catabolic state and fatigue with a decrease in triglycerides and cholesterol (Emed et al., 2016) and increases of up to fourfold in cortisol (Baur et al., 2016), 100,000 IU/L in CK, 40-fold in CRP, and 20-fold in aspartate aminotransferase (AST) (Wu et al., 2004; Baur et al., 2016). At present, only one study had included low-intensity long-duration exercise at 60% of the participants' VO_2max , but

included different disciplines like walking, cycling, and kayaking (Marklund et al., 2013).

Thus, previous studies assessed multiple changes during ultramarathons in which athletes tried to reach their personal limits, e.g., running or jogging the longest possible distance in 48 h (Kłapcińska et al., 2013) or finish a certain distance as fast as possible (Scharhag et al., 2005; Scott et al., 2009; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014; Baur et al., 2016; Yoon et al., 2016). As walking and running speed correlate with exercise intensity [e.g., expressed in metabolic equivalent of task (MET)] (Ainsworth et al., 1993; Mendes et al., 2018), the literature lacks information concerning long-endurance exercise of low intensity, i.e., walking instead of running among healthy human adults. While high-intensity endurance exercises are clearly associated with the elevation of diverse stress markers, it is questionable whether low-intensity exercise over long distances might be less stressful and, thus, more suitable for persons with pre-existing conditions, or if such events of low intensity elicit significant changes among metabolic and stress parameters in healthy humans at all.

In addition, the number of persons living a sedentary lifestyle is increasing (Arocha Rodulfo, 2019), leading to numerous adverse health effects like obesity and metabolic disorders (Mayer-Davis and Costacou, 2001) where this western sedentary lifestyle could be construed as an adverse environmental factor (Wachira et al., 2018; Koohsari et al., 2020; Lin et al., 2020).

The purpose of this study was, therefore, to evaluate if and to what extent changes in body composition and a wide range of serum markers are evoked in healthy adult participants by a 24-h-100-km walking-march of low intensity. In addition, we aimed to assess whether there were any correlations to individual intensity, age, sex, and BMI.

It was the null hypothesis of this study that there would be no significant changes in the evaluated parameters evoked by the low-intensity exercise and that individual intensity, age, sex, and BMI would not significantly influence the evaluated parameters. The findings might further contribute to our understanding of physiological processes of healthy human adults in response to low-intensity long-duration exercise and could help recreational athletes in their training as well as being applied in clinical settings with respect to diseases of western sedentary lifestyle.

MATERIALS AND METHODS

Event

The “Mammutmarsch” (German for “Mammoth March,” henceforth “MM”) is an ultramarathon challenging participants to complete 100 km in less than 24 h (Mammutmarsch, 2018; Maggioni et al., 2020). Other than in classical (ultra-) marathons, the goal is not to finish the event as fast or as far as possible to cure a winner, instead the participants are required to only walk the entire distance. Therefore, the MM addresses leisure athletes rather than professional (ultra-) marathon runners. As the event is designed as a “march” without running or jogging, it is leading to a continuous long-duration exercise of low intensity, which marks the unique setting of this event. In 2016, around 2,000 athletes participated. The track consists of paved roads,

gravel roads, soft forestry paths, or cobblestones leading through partly flat and partly hilly terrain into the rural areas around the city of Berlin. As shown by GPS data from 2015 to 2016, the track has an overall ascend and descend from 600 to 700 m each, with an altitude profile from 7 to 85 m. In 2014, the march led through the same terrain, with the same endpoint (Gusow, Brandenburg, Germany).

Regardless of checkpoints along the track providing snacks and water as well as benches to rest, all participants were responsible for their own gear and provisions and thus carried around 2–4 kg of equipment in a backpack.

Handicaps of the march were the long distance, the lack of sleep, and cool temperatures especially at night. The events that were part of this study took place on May 31/June 01, 2014, May 9/10, 2015, and May 14/15, 2016, starting at 5 pm and finishing 5 pm the next day. Temperatures ranged from 6°C at night to 19°C during the day with average temperatures of 14.3°C in 2014, 13.3°C in 2015, and 9.3°C in 2016. In 2014 and 2015, conditions were dry for 24 h, while in 2016, there was light drizzle (2 mm over 3 h) at the end of the race.

As the conditions for all 3 years were similar concerning temperature, weather, track, and season, all participants' data were pooled for statistical analysis.

Subjects

This study includes 43 healthy individuals of which were 25 male and 18 female. All participants attended in the MM 2014, 2015, and 2016. Due to issues relating to serum sample data collection, out of the 43 subjects, 32 (19 male, 13 female) were included in the serum sample data analysis.

Recruitment was conducted with support of the event organizers. All participants received an email announcing the study with a call for participation. Interested individuals contacted the investigators *via* email and were provided with information regarding the purpose of the study, methods, and used equipment before enrolling. Participants were chosen in the order they applied and with the purpose to achieve an even distribution of females and males. There were no special requirements to partake in the study – all adult participants were eligible for inclusion in the study. All were recreational athletes; some had a background of taking part in similar marches or other long-endurance events.

The potential study participants were given appropriate time to consider partaking in the study and to raise questions or concerns. All gave their informed written consent to partake in the study.

The study was approved by the Charité Ethics Board (review number EA1/163/14), and all measurements and procedures complied with the Declaration of Helsinki (54th Revision 2008, Korea) regarding the treatment of human subjects.

Measurements

Baseline Assessment

Body mass, height, BMI, body composition, resting heart rate, and serum parameters were measured pre-race in a standardized laboratory environment indoors in an air-conditioned laboratory (temperatures 18–21°C) the week prior to the event. To assess

training status with regard to our study, the participants filled out a questionnaire about the distances covered per week on foot (including both walking and jogging) of the previous half year prior to the event and self-evaluated their endurance capability on a rating scale from 1 to 10. Subjects were advised to have fasted for 6–8 h and to abstain from sleep deprivation the previous night as well as alcohol and drug consumption (except for oral contraceptives for the female subjects) and from caffeine consumption the morning of the test. Directly before the measurements, participants were instructed to empty the bladder and to remove all jewelry for pre-race measurements.

Anthropometric data were gathered with a calibrated scale and height meter (Seca, Germany) on an even surface while participants wore only minimal clothing (light underwear). Mean resting heart rate was measured for all the participants with a mobile heart rate monitor [RS800CX, Polar (Williams et al., 2017)] in a supine position for 10 min.

Body composition was evaluated using bioelectrical impedance analysis (BIA) via the tetra polar electrode method with a BIA 101 device from AKERN, Italy (Lukaski and Bolonchuk, 1988; Jaffrin and Morel, 2008). The BIA 101 measures resistance at a fixed constant sine current of 50 kHz for the determination of reactance in human tissue and has been clinically validated to allow the evaluation of body composition (Segal et al., 1988) and provided a mobile platform of data collection during our study. For quantification of fat mass, lean tissue mass, and percent body fat, the formula of Segal et al. for non-obese subjects was used. The equation is validated to assess body composition in heterogeneous populations (Segal et al., 1988). To assess total body water, the formula of Sun et al. (2003) was applied. Measurements were conducted while the participants were in a supine position after having laid down for 10 min to allow equal redistribution of body fluids in all instances, with minimal clothing and removed metals. For all measurements, the right limbs were used. Undoubtedly incorrect calculations (one participant) were excluded.

Serum samples were taken from cubital vein blood collections in a Sarstedt S-Monovette®, immediately chilled on ice (without direct contact to the ice to avoid freezing), and stored in a sealed cooling box. Directly after the race, samples were centrifuged for 10 min at $2,000 \times g$. Afterward, they were stored overnight at 4°C and sent to the laboratory the next day. The parameters NT-pro-BNP (pg/ml), troponin T (ng/L), CRP (mg/L), cortisol ($\mu\text{g/dl}$), low-density lipoprotein (LDL) (mmol/L), high-density lipoprotein (HDL) (mmol/L), triglycerides (mmol/L), total cholesterol (mmol/L), total CK (U/L), CK-MB (U/L), AST (U/L), ALT (U/L), and sodium (mmol/L) were determined by a certified laboratory [Labor 28 GmbH, Berlin, Germany, accredited at the “DAKs” (Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH), the national accreditation body for the Federal Republic of Germany, pursuant to regulation (EC) number 765/2008 and the accreditation body act of Germany] (Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH, 2020).

In-Race Measurements

Actimeter armbands (SenseWear®) were given to 20 participants in order to measure body activity parameters such as exercise

intensity [metabolic equivalent of task [1 MET = energy expenditure with an oxygen consumption of 3.5 ml O₂/kg/min, resembling resting metabolic rate equal to 1 kcal/kg/h (Ainsworth et al., 1993)]], energy expenditure, steps, time of activity, and duration of wearing the armband. Especially in cooler environments (Van Hoye et al., 2014) and in light exercise (Santos-Lozano et al., 2017) – like in the presented study – the SenseWear armband can be considered an accurate tool for assessment of energy expenditure. Each participant was instructed how to wear the actimeter and to set a time stamp right before starting and finishing the march. The collected data were analyzed using the manufacturer’s software (SenseWear Professional 7.0). From these data, mean walking speed was determined.

To measure heart rate during the race, mobile heart rate monitors [RS800CX, Polar (Williams et al., 2017)] were handed out to 16 participants.

Serum samples were taken at 30 and 70 km checkpoints and stored as mentioned above, and the same parameters were determined as in the pre-race measurements. For the collection, a pavilion with a bench and a table were set up at the checkpoints. To reduce influence on serum parameters by consumed food or fluids, the participants were instructed to neither eat nor drink 1 h before arriving at the checkpoints.

Post-race Measurements

Only for participants who reached the 70- or 100-km checkpoint, post-measurements were performed.

Post-race measurements for participants who reached the 100-km checkpoint were carried out within 30 min at the finishing area; as for the earlier checkpoints, no foods or drinks were to be consumed 1 h before reaching the finish and until completing all measurements. For participants who dropped out at the 70-km checkpoint, all post-measurements were carried out there. The BIA measurements were conducted in the same manner as during baseline assessment. After all participants finished the march (or dropped out at an earlier stage), blood samples were transported and centrifuged for 10 min at $2,000 \times g$. They were stored overnight at 4°C and sent to the laboratory the next day.

Statistical Analysis

Acquired data were analyzed using appropriate statistical tests (mixed-effects analysis, *t*-test, and linear regression for correlation analysis) with the statistical software GraphPad Prism®, Version 8, GraphPad Software Inc., United States.

We analyzed two groups accordingly to their performance: participants who were able to finish the entire MM (FIN) and participants who dropped out at an earlier stage (NON).

Differences in anthropometric data in FIN and NON-and in between sexes were analyzed with an unpaired *t*-test. Body composition pre- and post-race was analyzed with paired *t*-test.

All statistical analyses for serum parameters were carried out with mixed-effects ANOVA. This mixed model uses a compound symmetry covariance matrix and is fit using restricted maximum likelihood (REML). In the absence of missing values, this method gives the same *p* values and multiple comparisons tests as repeated measures ANOVA. In the presence of missing values

(missing completely at random), the results can be interpreted like repeated measures ANOVA.

Additionally, to assess differences in between single time points, paired *t*-tests were performed in FIN and NON.

Overall, these were the following numbers of cases in each group:

- FIN: pre: *n* = 11; 30 km: *n* = 9; 70 km: *n* = 10; 100 km: *n* = 11

In 2014, only pre- and post-values were assessed, and in 2015, one finishing participant missed the tent for collection of blood samples at 30 km.

- NON: pre: *n* = 21; 30 km: *n* = 21; 70 km: *n* = 8; 100 km: *n* = 0

Means at different time points between groups (FIN; NON) were analyzed using unpaired *t*-tests.

All serum parameters were analyzed for correlation concerning different MET levels, speed, age, BMI, baseline NT-pro-BNP, mean heart rate during the race, and sex with linear regression analysis. Regression lines were analyzed regarding goodness of fit (r^2), differences in increase or decrease of parameters between the evaluated groups (slope), and differences in overall levels of parameters between the evaluated groups (*y*-intercept = elevation). If slopes differed too much, it was not possible to calculate whether *y*-intercepts differed significantly ("not computable" = "n.c.").

Data of participants reaching the finish line after the 24-h time limit were used for statistical analyses as well (*n* = 2).

Results are presented as means ± SD. Statistical significance was assumed at *p* < 0.05.

RESULTS

Demographics and Performance

A total of 32 athletes out of the 43 (25 male, 18 female; age 33.4 ± 8.9 years; BMI: 23.6 ± 2.7 kg/m²; resting heart rate 66.7 ± 11.3 bpm) partaking in all three MM competitions delivered usable serum samples and were included in the statistical analysis. Out of those 32 athletes, 11 athletes were able to complete the 100-km course (FIN) and 21 competitors withdrew during the race (NON), due to fatigue or musculoskeletal complaints. **Table 1** depicts demographic and anthropometric data, as well as resting heart rate and the history of weekly covered distance on foot of the half year prior to the MM and the self-rated endurance capability of FIN and NON as well as female and male participants.

In both groups, FIN and NON, males had a significantly greater BMI than females. Additionally, in NON, male subjects were significantly older, taller, and heavier than female subjects, and the FIN group showed a more homogenous distribution in demographic and baseline parameters. Individuals who were able to finish the race (FIN) had a significantly lower BMI than participants who dropped out at an earlier stage (NON).

On average, finishers needed 22.83 h to complete the race, while the fastest male finisher ended after 21.68 h and the

TABLE 1 | Anthropometric data and demographics.

	FIN		
	<i>m</i>	<i>f</i>	<i>p</i> (<i>m</i> vs. <i>f</i>)
<i>n</i>	7	4	
Age (years)	35.9 ± 10.8	33.8 ± 4.8	0.72
Height (cm)	182.7 ± 11.0	176.8 ± 4.5	0.33
Weight (kg)	76.1 ± 8.6	68.3 ± 46.1	0.14
BMI (kg/m ²)	22.8 ± 1.1	21.1 ± 0.5	< 0.02*
Resting heart rate (bpm)	69.0 ± 5.3	56.75 ± 10.1	0.09
Distance covered per week (km)	39.5 ± 5.1	79.3 ± 27.2	0.11
Endurance capability (self-rating, 1–10)	7.7 ± 0.2	7.5 ± 0.5	0.73
	NON		
	<i>m</i>	<i>f</i>	<i>p</i> (<i>m</i> vs. <i>f</i>)
<i>n</i>	12	9	
Age (years)	39.3 ± 2.3	27.8 ± 1.9	< 0.01*
Height (cm)	179.5 ± 3.7	171.8 ± 2.3	< 0.03*
Weight (kg)	82.5 ± 2.7	64.4 ± 2.9	< 0.01*
BMI (kg/m ²)	25.5 ± 0.5	21.8 ± 0.7	< 0.01*
Resting heart rate (bpm)	63.1 ± 7.2	66.7 ± 11.3	0.41
Distance covered per week (km)	34.0 ± 9.0	38.7 ± 11.7	0.77
Endurance capability (self-rating, 1–10)	8.0 ± 0.8	6.4 ± 1.3	0.02*
	FIN vs. NON		
	FIN	NON	<i>p</i> (FIN vs. NON)
<i>n</i>	11	21	
Age (years)	35.7 ± 9.7	34.3 ± 9.0	0.72
Height (cm)	180.5 ± 9.4	176.2 ± 8.2	0.18
Weight (kg)	72.36 ± 8.5	74.8 ± 12.7	0.58
BMI (kg/m ²)	22.2 ± 1.3	23.9 ± 2.6	< 0.05 [§]
Resting heart rate (bpm)	64.5 ± 9.2	64.6 ± 9.1	0.97
Distance covered per week (km)	55.4 ± 38.6	36.6 ± 29.7	0.18
Endurance capability (self-rating, 1–10)	7.6 ± 0.2	7.1 ± 0.3	0.32

Depicted are anthropometric data and subject demographics for male (*m*) and female (*f*) subgroups in FIN and NON as well as a comparison between all subjects of FIN and NON (presented are means ± SD).

*Significant difference between male and female.

§Significant difference between FIN and NON.

slowest after 24.78 h. The fastest female completed the race in 21.75 h and the slowest in 23.32 h. Mean speed was 4.12 ± 0.76 km/h in both sexes.

Subjects of FIN (4.39 ± 0.26 km/h) were faster compared with subjects of NON (3.87 ± 0.98 km/h) as a trend (*p* = 0.19). The subjects with the highest and lowest mean speed were both subjects of NON, with a mean speed of 4.94 and 2.32 km/h, respectively. FIN had a greater history of endurance training per week as a trend (55.4 ± 38.6 vs. 36.6 ± 29.7 km; *p* = 0.18). Overall, participants self-rated their endurance capability (mean) with a 7.3 out of 10 points; there were no significant differences between

FIN and NON (7.6 ± 0.2 vs. 7.1 ± 0.3 , $p = 0.32$), but male subjects in NON-self-rated their endurance capability significantly higher than female subjects (8.0 ± 0.8 vs. 6.4 ± 1.3 , $p = 0.02$).

Body Composition

Participants reaching the 70-km checkpoint or the 100-km finish were included in this analysis ($n = 18$, 9 female, 9 male), and one participant who delivered faulty data was ruled out.

Pre-event mean body weight was 70.4 ± 10.3 kg with a mean BMI of 22.4 ± 2.0 kg/m². Both weight and BMI decreased significantly post-event to 69.7 ± 10.2 kg (mean $\Delta = 0.7$ kg, $p < 0.01$) and 22.1 ± 2.0 kg/m² ($p < 0.01$), respectively. BIA testing revealed significant changes: lean body mass decreased from 57.1 ± 10.5 to 56.2 ± 10.3 kg ($p < 0.01$) that correlated with a loss in total body water (42.1 ± 8.5 L before vs. 41.3 ± 8.1 L after MM; $p < 0.01$) (Mayer-Davis and Costacou, 2001). According to the fat-specific formula (male < 20%; female < 30% body fat) of Segal et al., this represents a loss of approximately 1.6% (0.9 kg) and 1.9% (0.8 L), respectively. The percentage of body fat did not change significantly (Table 2).

Serum Analysis

Serum parameter of FIN and NON-are depicted in Supplementary Table 3.

Cardiac and Skeletal Muscle Cell Markers

In both groups, serum levels of NT-pro-BNP, CK, and CK-MB increased significantly over the course of the MM. There were no significant differences for means at certain checkpoints between NON-and FIN (Figures 1A–C). Interestingly, mixed-effects ANOVA for troponin T showed significant results, driven by a significant increase only at the 30-km checkpoint ($p < 0.05$), but not at 70 and 100 km (Figure 1B).

Fat Metabolism

Triglycerides decreased significantly over the duration of the MM by over 50% (Figure 2A) in NON-and in FIN as a strong trend ($p < 0.06$). LDL decreased by approximately 20% as a strong trend in FIN ($p = 0.05$) (Figure 2B), while HDL increased significantly in NON (Supplementary Table 1). Paired *t*-tests showed a significant decrease after 70 km for cholesterol,

LDL, and triglycerides as well as a significant HDL increment ($p < 0.05$ for all).

Stress and Inflammatory Markers

C-reactive protein increased significantly over the course of the MM in both groups starting at 70 km (Figure 3A). Cortisol levels also changed significantly in both groups (Figure 3B). Of interest, at 30 km, the cortisol level in NON-was significantly higher than that in FIN, since the cortisol level initially declined in the FIN group.

Sodium Alterations

Sodium levels declined in both FIN and NON-groups, while a stronger decrease was observed in the FIN group up to 70 km distance (Figure 4).

Correlation Analysis

Metabolic Equivalent of Task

Out of the 20 participants wearing actimeter armbands, 15 delivered usable serum samples ($n = 15$) for correlation analysis [7 out of 11 finishing participants (FIN) and 8 of 21 non-finishers (NON)]. From those participants, serum samples were gathered for correlation analysis. Mean MET did not differ significantly between groups or sex (Supplementary Table 2).

Data from the SenseWear armbands showed that participants had a higher MET in the first quarter of the race (18:00–24:00) in comparison to the last three quarters: mean MET from 18:00 to 24:00 h was 5.2, and from 24:00 to 18:00 h the next day, 4.4 ($p < 0.01$). Five MET was chosen as a cut-off value for a most even distribution. Participants who exhibited a higher mean MET (MET > 5) finished the track in a shorter time and walked with a higher speed as a trend [3.95 ± 0.89 vs. 4.36 ± 0.47 km/h ($p = 0.32$)]. Mean MET for subjects with a mean MET < 5 was 4.54 ± 0.31 ; for MET > 5, it was 5.25 ± 0.18 .

Participants with mean MET < 5 showed a significantly higher slope (= higher increase) for NT-pro-BNP (Figure 5) and CK-MB in FIN. In NON, CK increased significantly greater for participants with lower mean MET (Supplementary Table 3).

Our data indicate that NT-pro-BNP increased stronger in non-finishers (NON). The slope for NT-pro-BNP was significantly greater in NON-for participants that walked with a mean MET > 5 than in FIN (Table 3).

Speed

Concerning speed, participants were divided into two subgroups: mean speed > 4.3 km/h (mean: 4.65 ± 0.15 km/h) and < 4.3 km/h (mean: 3.65 ± 0.72 km/h); 4.3 km/h was chosen as cut-off for a most even distribution. Mean speed in FIN (4.39 ± 0.26 km/h) was greater as a trend than in NON (3.87 ± 0.98 km/h; $p = 0.19$). There were no significant differences regarding sex, neither in FIN nor NON.

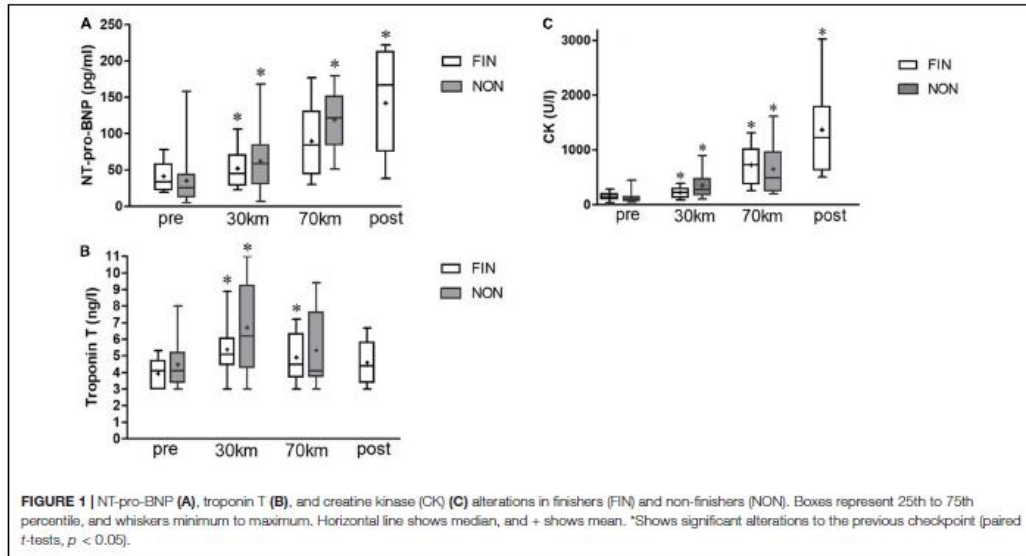
Slower participants had significantly higher cholesterol and triglyceride levels in FIN (Figures 6A,B). CRP increased significantly greater in slower participants in NON (Figure 6C). CK levels were significantly greater in FIN for faster subjects, as opposed to NON, where slower participants expressed a

TABLE 2 | Body composition pre- and post-race.

	Body composition		
	Pre	Post	<i>p</i> (pre vs. post)
<i>n</i>	18	18	
Body mass (kg)	70.4 ± 10.3	69.7 ± 10.2	< 0.01*
BMI (kg/m ²)	22.4 ± 2.0	22.1 ± 2.0	< 0.01*
Lean body mass (kg)	57.1 ± 10.5	56.2 ± 10.3	< 0.01*
Fat mass (kg)	13.3 ± 3.1	13.4 ± 2.9	0.66
Total body water (L)	42.1 ± 8.5	41.3 ± 8.1	< 0.01*

Presented are parameters of body composition in all participants that reached the 70- or 100-km checkpoint.

*Significant differences pre- to post-race.



greater increase of CK (Figure 6D). Exact values are presented in Supplementary Table 4.

In the subgroup of faster participants > 4.3 km/h, finishers showed a significantly greater increment of CK than non-finishers (slope FIN: 13.9 ± 2.0; slope NON: 3.9 ± 1.3; *p* < 0.01). In participants with a mean speed < 4.3 km/h, NON had significantly greater CK levels (elevation) with a similar slope to FIN (elevation FIN: 21.0 ± 89.2; elevation NON: 169.5 ± 66.1; *p* = 0.04).

For all the other parameters, there were no significant changes, or linear regression was not a fitting model.

Age

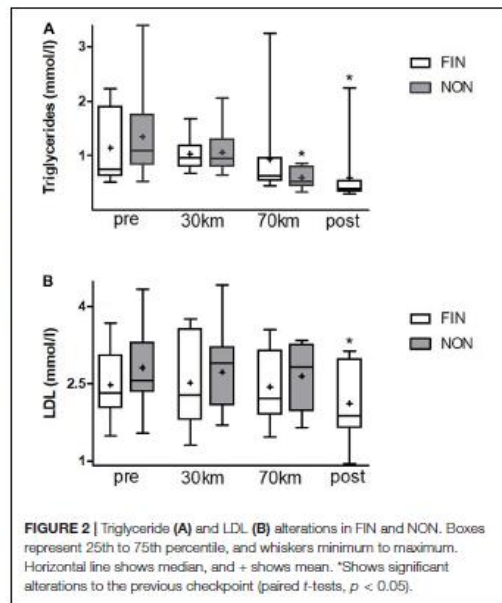
Mean age in FIN was 35.7 ± 9.7 years; in NON, it was 34.3 ± 9.0 years, so 35 years was chosen as the cut-off for a most even distribution, in order to test for an age-related effect. Mean age for participants older than 35 years was 41.6 ± 6.2 years; for participants younger than 35, it was 27.9 ± 5.4. Linear regression analysis showed significant differences for an increase in CK and for a decrease in sodium (Supplementary Table 5). In FIN, older participants showed a significant greater increase for CK values. Sodium decreased significantly more in younger subjects in FIN. In NON, younger subjects had a significantly lower elevation in sodium (Figure 7).

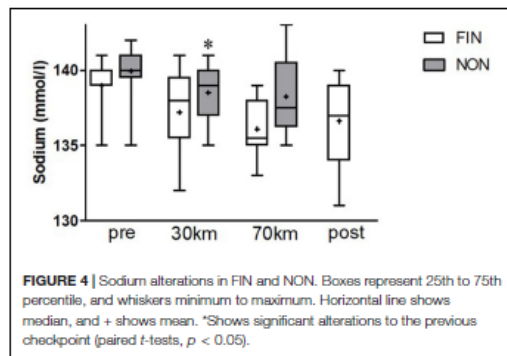
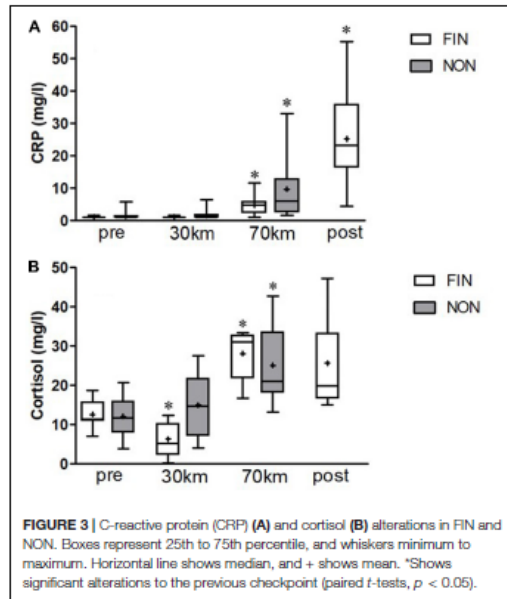
For all the other parameters tested, there were no significant changes, or linear regression was not a fitting model.

BMI

Concerning BMI, 23 kg/m² was chosen as cut-off for a most even distribution. Mean BMI in the group > 23 kg/m² was 25.4 ± 2.0 kg/m²; in the group < 23 kg/m², it was 21.4 ± 1.3 kg/m². Linear regression analysis showed a

significantly higher increase for CK, CK-MB, and AST for participants with a higher BMI in FIN (*p* < 0.01) (Figure 8A). In NON, participants with higher BMI showed significantly higher elevations of LDL and lower HDL levels. Slopes did not

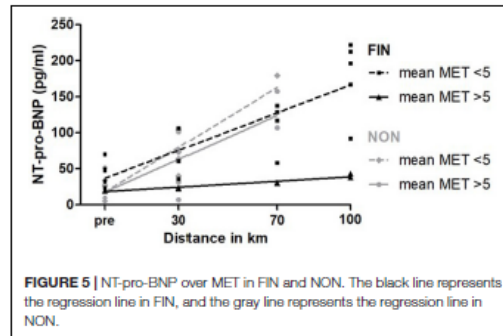




differ significantly (Figures 8B,C). CRP increased stronger in participants with a higher BMI as a trend in both FIN and NON (*p* < 0.10) (Figure 8D). Exact values are presented in Supplementary Table 6.

Sex

All serum parameters were analyzed with linear regression analysis for significant differences in male and female. NT-pro-BNP and HDL showed significantly higher elevations in females of both FIN and NON-groups (Figures 9A,B). Baseline NT-pro-BNP was significantly higher in females (54.20 ± 10.60 pg/ml) as confirmed by *t*-test (male: 25.9 ± 4.6 pg/ml; *p* = 0.01). Supplementary Table 7 depicts the exact results.



For all the other parameters, there were no significant changes, or linear regression was not a fitting model.

Baseline NT-pro-BNP

It was also evaluated whether a higher baseline NT-pro-BNP > 30 pg/ml led to different changes in serum parameters than a lower baseline NT-pro-BNP < 30 pg/ml with linear regression analysis. NT-pro-BNP values for participants with higher baseline NT-pro-BNP increased relatively stronger, shown by a significantly higher slope in linear regression analysis in FIN (Supplementary Table 8 and Figure 10).

In the subgroup of participants with a baseline NT-pro-BNP < 30 pg/ml, subjects who were not able to finish the race (NON) had a significantly greater increment of NT-pro-BNP over the course of the MM, compared with FIN (slope NON: 1.37 ± 0.24; slope FIN: 0.30 ± 0.09; *p* < 0.01). In subjects with a baseline NT-pro-BNP > 30 pg/ml, there were no significant changes. Finally, heart rate did not differ significantly for groups with regard to NT-pro-BNP.

Mean Heart Rate During the Race

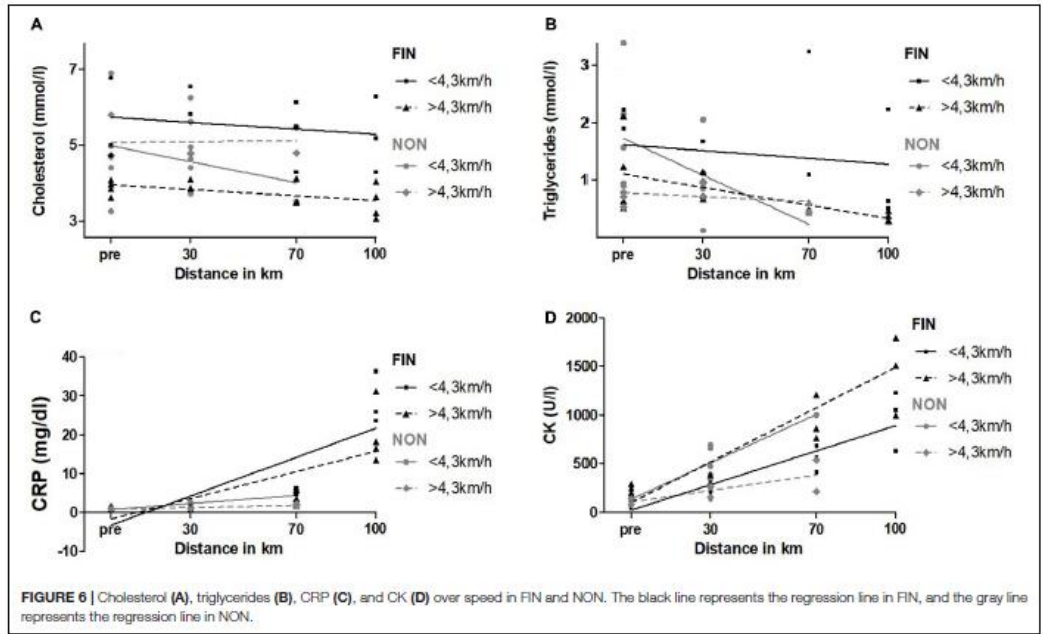
All serum parameters were analyzed with linear regression analysis for significant differences between participants that had a mean heart rate <106.5 and >106.5 bpm during the race; 106.5 bpm was the median and chosen as the cut-off value. Mean heart rate during the race in FIN was 106.8 ± 8.5 bpm; in NON, it was 108.5 ± 13.4 bpm (*p* = 0.79).

In NON, NT-pro-BNP showed a significantly higher increase in participants with a mean heart rate > 106.5 during the MM (*p* = 0.02) (Figure 11A and Supplementary Table 9). Participants with a greater heart rate during the MM > 106.5 bpm showed significantly higher levels for troponin T (*p* = 0.02) and higher levels for triglycerides as a trend (*p* = 0.11) (Figures 11B, 12B and Supplementary Table 9). In FIN, participants with greater heart rate during the race had significantly higher values of triglycerides (*p* = 0.02), and troponin T levels were greater as a trend (*p* < 0.10) (Figures 11B, 12B and Supplementary Table 9). In both FIN and NON, subjects with lower heart rates during the race had significantly higher elevations of HDL (*p* < 0.01 in FIN and *p* = 0.02 in NON) (Figure 12A and Supplementary Table 9).

TABLE 3 | NT-pro-BNP over MET subgroups dependent on outcome.

Linear regression		MET < 5		MET > 5	
		FIN	NON	FIN	NON
n		5	4	2	4
NT-pro-BNP (pg/ml)	r^2	0.67	0.85	0.93	0.64
	Slope	1.30 ± 0.78	2.08 ± 0.33	0.21 ± 0.02	1.52 ± 0.40
	Elevation	36.86 ± 15.21	17.60 ± 10.06	18.19 ± 1.45	17.63 ± 14.80
	p (lines different?)	Slope: 0.17	Elevation: 0.98	Slope: < 0.01	Elevation: n.c.

Presented are linear regression parameters for NT-pro-BNP in participants exercising with a mean MET > 5 and < 5 in FIN and NON. Presented are goodness of fit (r^2), slope ± SD, elevation ± SD, and p values for slope and elevation to determine whether regression lines are significantly different. NT-pro-BNP levels rise significantly stronger in NON in the subgroup of MET > 5, shown by a significantly greater slope.

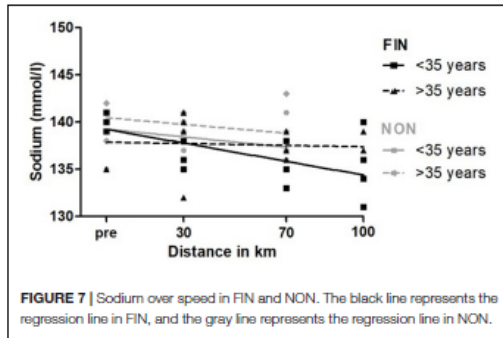


DISCUSSION

This study was conducted to evaluate whether a low-intensity long-endurance march, during which participants were walking instead of running or jogging, would elicit similar changes in body composition, metabolism, and cardiovascular risk markers as described previously in higher intensity marathons or ultramarathons (Ginsburg et al., 1996; Fallon, 2001; Wu et al., 2004; Scharhag et al., 2005, 2006; Knechtle et al., 2008a; Scott et al., 2009; Kasprovicz et al., 2013; Klapcińska et al., 2013; Marklund et al., 2013; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014; Vilela et al., 2015; Baur et al., 2016; Emed et al., 2016; Yoon et al., 2016; Coker et al., 2017). To our knowledge, this is the first investigation to evaluate a broad range of physiological parameters among healthy human adults in such a unique setting. Data from

actimeter armbands showed that the MM was conducted at a lower mean speed (4.12 km/h) and therefore lower intensity (mean MET ≈5) than in classical (ultra-) marathons, conducted with jogging and running speeds of 8–14 km/h (Scharhag et al., 2005; La Gerche et al., 2008) and a mean energy expenditure of 8–10 (Mendes et al., 2018); in addition, the average in-race heart rate (≈106–108 bpm) was comparatively low.

The considerable amount of distances covered on foot per week (≈35–55 km), a good self-evaluated endurance capacity (≈7.3 out of 10) combined with the low-normal mean resting heart rates (≈67 bpm) (Kannel et al., 1987), and a normal mean BMI (≈22–25 kg/m²; Global Bmi Mortality Collaboration et al., 2016) suggest that our study participants were aerobically fit and healthy recreational athletes, but not highly trained endurance athletes who display much lower resting heart rates of below



50 bpm (Doyen et al., 2019) and, in severe cases, even below 30 bpm (Jensen-Urstad et al., 1997).

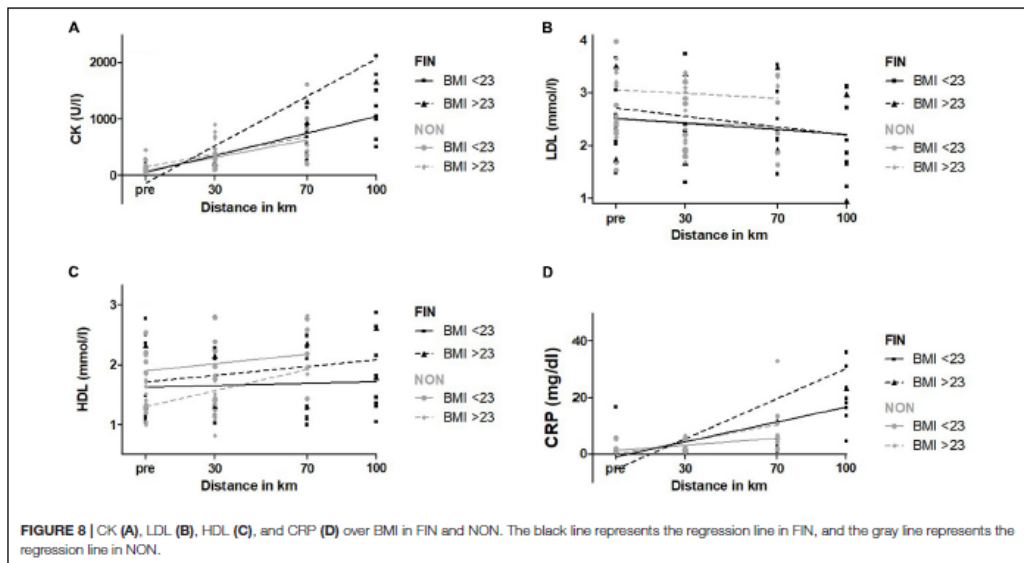
It is a noteworthy finding that despite a greater amount of distance covered on foot per week by the female subjects of our study in both FIN and NON, the self-rated endurance capability was lower as a trend among women compared with men in FIN and differed significantly between men and women in NON (8.0 ± 0.8 vs. 6.4 ± 1.3 ; $p = 0.02$). This supports previous findings that women underestimate their capabilities in general (Beyer, 1990) and their physical performance in particular (Obling et al., 2015). Further research appears warranted with regard to self-perceived gender differences among marathon and ultramarathon runners.

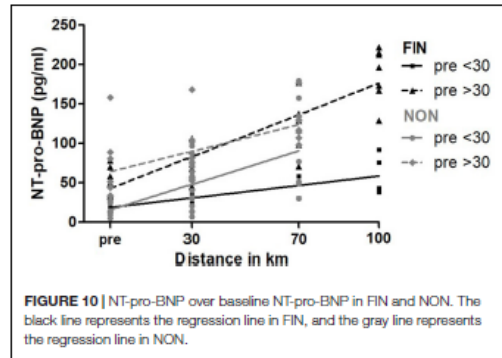
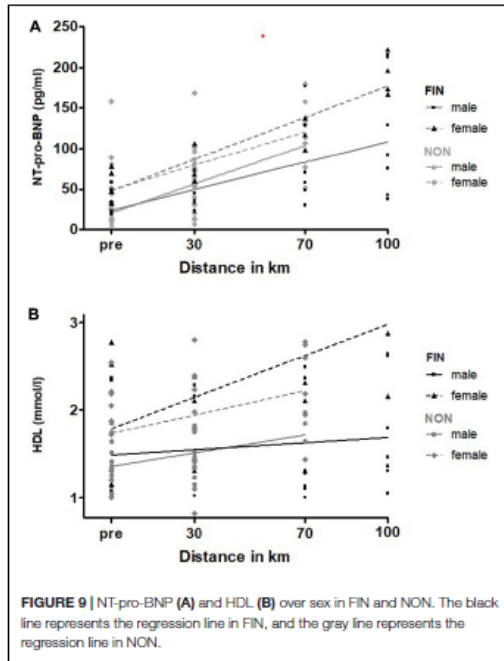
We hypothesized that the low working intensity of the evaluated “Mammutmarsch,” during which participants were

required to walk instead of running or jogging, would cause no elevation of muscle and cardiac stress markers among our study participants. However, measurements of several physiological parameters as well as testing for the various serum stress markers indicated that, opposite to our working hypothesis, significant changes in stress parameters, such as CRP, CK, CK-MB, AST, ALT, cortisol, and NT-pro-BNP, have occurred, as well as in parameters of lipid metabolism (cholesterol, LDL, HDL, and triglycerides). As further discussed below, we conclude that the distance, intensity, and most importantly duration determine the exertion and, thus, the physiological impact.

Body Composition and Hydration Status

As previously shown by other studies (Knechtle et al., 2008a; Baur et al., 2016), we observed a significant decrease in total body mass (-1% , $p < 0.01$) over the course of this low-intensity long-endurance event. In contrast to the higher intensity multistage ultramarathons described by Baur et al. (2016) and Knechtle et al. (2008a), the weight loss in our study was caused by a loss of fat-free mass (-1.6% , $p < 0.01$) and a decrease in total body water (TBW; -1.9% , $p < 0.01$), respectively. In contrast, the mentioned studies found a significant loss in fat mass [24.4% (Baur et al., 2016) and 42.7% (Knechtle et al., 2008a)] with no significant changes in TBW (Baur et al., 2016) and lean body mass or even a significant increase in TBW (Knechtle et al., 2008a). Knechtle et al. (2008b) described a correlation between intensity and loss of body fat during the Triple Iron Triathlon Germany 2006 in Lensahn. Participants with a better performance during the MM showed a moderately larger decrease in fat mass. This effect is also described in laboratory settings; in their study with 18 moderately trained cyclists taking part in continuous prolonged exercise tests,





Achten et al. (2002) found that with higher intensity, there is an increase in fat oxidation, up to a maximum fat oxidation rate at an intensity of $64 \pm 4\%$ of VO_2max . Nevertheless, Coker et al. (2017) described that during the Yukon Arctic Ultramarathon, which also takes place at lower intensities, in this case with an average speed of 2–3 mph (corresponding to 3.2–4.8 km/h), fat loss occurred. It should be mentioned that in this setting participants marched up to 430 miles (≈ 690 km) in 7–14 days in adverse climate conditions with temperatures reaching down to -45°C . Thus, participants suffered from exercise-induced caloric expenditure for a much longer period of time, with chronic exposure to extreme cold as an additional burden. Also in the studies of Baur et al. (2016) and Knechtle et al. (2008a), participants exercised 30 to more than 48 h in two to three consecutive days. Alpert (2005) described 290 kJ/kg per day the maximal transfer rate of energy from FM. With a mean FM of approximately 13.3 kg in this study, this results in a maximal possible fat loss of roughly 120 g, assuming 7,700 kcal (about 32,000 kJ) is needed to burn 1 kg of body fat (Wishnofsky, 1958). Thus, most likely the maximum duration of 24 h was not enough to exhibit a significant loss of FM, regardless of the intensity. But even under these extreme settings, several studies reported high levels of muscle preservation (Knechtle et al., 2008a; Saugy et al., 2013; Coker et al., 2017).

From the fact that the loss of body mass in our study is mainly a loss of TBW, associated with muscle preservation in even more extreme settings (Knechtle et al., 2008a; Saugy et al.,

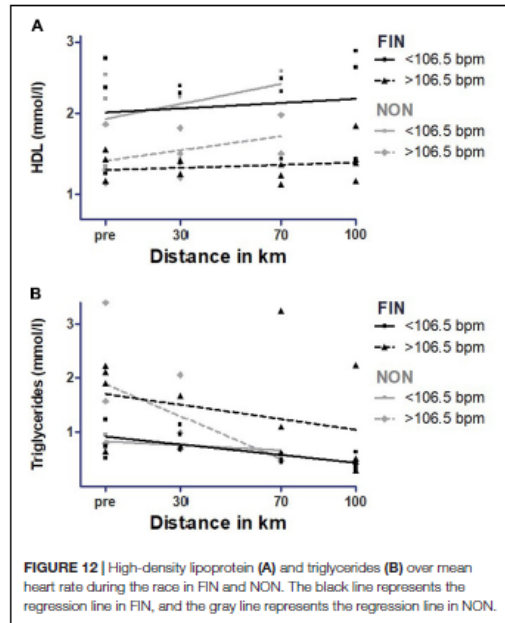
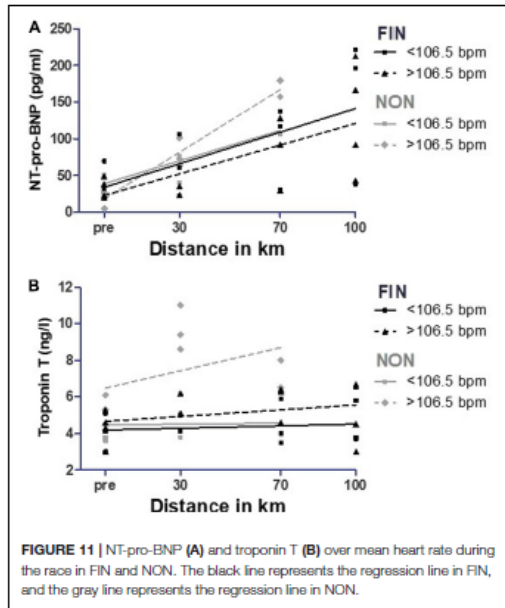
2013; Coker et al., 2017), we conclude that a loss of body mass is most likely a consequence of sweating in connection with insufficient rehydration. This assumption is supported by our data showing a decrease in serum sodium levels over the course of the MM that resulted in a mild hyponatremia in six participants (minimum: 131 mmol/L). This could be interpreted as a consequence of dehydration and rehydration with large amounts of fluids, resulting in dilution hyponatremia (Knechtle and Nikolaidis, 2018).

Nevertheless, sodium levels reached no critical values, implying adequate rehydration. Supportingly, Noakes et al. (2005) described a loss of body mass $< 3\%$ as a status of euhydration.

Linear regression analysis showed that younger participants had a stronger decrease of sodium. A possible explanation for this might be training status. In their review, Knechtle and Nikolaidis (Knechtle and Nikolaidis, 2018) suggested an age of 30–50 to be the “best” years to take part in an ultramarathon. The longer the distance, the better the achievements of the older participants were (Knechtle et al., 2014). This implies adaptation to long-term training (Knechtle and Nikolaidis, 2018). Additionally, it is scientific consensus that aging reduces the sensitivity of sweat glands to acetylcholine, leading to a reduced sudomotor function (Lee et al., 2016). Therefore, by sweating more, younger participants might have lost more sodium than older participants. Furthermore, it is widely accepted that older subjects feel less thirst and therefore drink later (Arai et al., 2014). Thus, we speculate that there was less sodium loss and blood dilution, explaining the relatively higher sodium levels in older participants.

NT-pro-BNP

Synthesis of NT-pro-BNP is triggered mechanically by ventricle stretching and neurohumoral stimulation (Nakagawa et al., 1995). Among other cardiac stress markers, NT-pro-BNP increased significantly in every single participant. Over the course of the march, there was almost a fourfold increment from 37.4 to 142.2 pg/ml. Notably, NT-pro-BNP values of > 125 pg/ml can indicate acute congestive heart failure (Maisel et al., 2002; Cowie et al., 2003).



Elevation of NT-pro-BNP after and during long-endurance events as a cardiac stress parameter is well described in several studies (Scharhag et al., 2005; Scott et al., 2009; Banfi et al., 2012; Klapcińska et al., 2013; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014). In a 48-h run with a mean distance of 170 km, NT-pro-BNP increased 10-fold in the first 24 h from 54 to 508 pg/ml (Klapcińska et al., 2013). In male athletes, Scharhag et al. described a threefold increase (40–130 pg/ml) after a marathon, a sixfold increase (40–250 pg/ml) in a 100-km ultramarathon, and a fourfold increase (20–80 pg/ml) in a 110-km mountain bike marathon (Scharhag et al., 2005). These events were running or biking events; therefore, intensity levels were higher, compared with our study. In a longer low-intensity 308-km run, Yoon et al. (2016) reported an almost 10-fold increase (27–257 pg/ml).

It is one of the main findings of our study that also a low-intensity long-endurance march like the MM leads to changes in NT-pro-BNP levels comparable to higher intensity long-endurance running events. Currently, the majority of studies (Scharhag et al., 2005, 2008; Banfi et al., 2012; Klapcińska et al., 2013) interpret increasing NT-pro-BNP levels as part of a process of myocardial adaption rather than a harmful effect (La Gerche et al., 2008). Moreover, recent studies described that the duration of the exercise might have a higher influence on NT-pro-BNP levels than exercise intensity (Legaz-Arrese et al., 2011; Serrano-Ostáriz et al., 2011). Comparing our study to longer low-intensity endurance events, showing a greater NT-pro-BNP increment, our data supports this hypothesis (Klapcińska et al., 2013; Yoon et al., 2016). A possible explanation for this phenomenon was given by Legaz-Arrese

et al.: NT-pro-BNP release is triggered by ventricle stretching and therefore preload changes. Higher intensities result in higher heart rates and shorter R-R intervals, so preload stretch is limited and intensity and preload do not increase in a linear fashion (Nakagawa et al., 1995; Legaz-Arrese et al., 2011). However, the aforementioned studies were conducted at much higher intensities at above 85% of their participant's anaerobic threshold (Legaz-Arrese et al., 2011; Serrano-Ostáriz et al., 2011).

Interestingly, participants who could only sustain a lower mean MET showed a greater increment of NT-pro-BNP. Furthermore, in the subgroup of participants exercising with a mean MET > 5, non-finishing participants showed significantly stronger increasing NT-pro-BNP values. This raises the question whether NT-pro-BNP might be a marker for cardiovascular capacity also in healthy adults. Our data indicate that NT-pro-BNP values increased stronger in participants with higher heart rates during the race (>106.5 bpm) in NON, underpinning this theory, as heart rate is inversely correlated with cardiorespiratory fitness (Kang et al., 2017). Moreover, recent studies showed that higher NT-pro-BNP levels were associated with lower cardiorespiratory fitness in patients with chronic heart disease (Nichols et al., 2018). Scharhag et al. (2006) found a similar result with a negative correlation between the increase in NT-pro-BNP and the amount of endurance training per week in healthy athletes: participants with higher training volumes showed lower increases in NT-pro-BNP, one given explanation was a better adapted myocardium on endurance exercise bouts. A greater increment for NT-pro-BNP in participants with higher

baseline NT-pro-BNP values observed in finishing participants of this study supports this hypothesis. All in all, our data suggest that even at low intensities as observed in our study, NT-pro-BNP increases take place among healthy adults that might indicate a cardiac stimulation and may thus represent possible cardiac training previously seen only at higher intensities (Vilela et al., 2015). Nevertheless, to gain unambiguous data, further studies are needed, as, e.g., the subgroup of participants with a lower mean MET did not show significant differences between FIN and NON.

Troponin T

Exercise-induced troponin elevations after prolonged physical activity have been described in several studies (Scharhag et al., 2005, 2006, 2008; Scott et al., 2009; Eijsvogels et al., 2010; Legaz-Arrese et al., 2011; Serrano-Ostáriz et al., 2011; Banfi et al., 2012; Klapcińska et al., 2013; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014; Arakawa et al., 2016; Yoon et al., 2016; Knechtle and Nikolaidis, 2018). The clinical significance is still debated. While some authors postulate exercise-induced irreversible myocardial injury, cell necrosis, or damage (Koller et al., 1999; Eijsvogels et al., 2010), others presume a reversible release of cytoplasmic troponins due to membrane leakage or changes in intracellular calcium levels without any pathological consequence (Scharhag et al., 2005, 2008; Shave et al., 2007; Benda et al., 2016). Interestingly, some studies on ultramarathons indicated no increase of troponin T (Kim et al., 2014). In this study, we observed a significant elevation of troponin T after the 30-km distance but found normal levels at the 70- and 100-km checkpoints. A similar troponin dynamic was found in a 48-h ultramarathon (Klapcińska et al., 2013). This might show an adaption process to the prolonged myocardial and volume stress. Another possible explanation might be the impact of intensity. The activity data suggests that participants started with a significantly higher mean MET in the first third of the race possibly leading to troponin T elevation. Similar observations were made in the 48-h ultramarathon, in that subjects ran with a higher mean speed in the first 12 h (8.6 km/h) compared with the next 12 h (6.0 km/h) (Klapcińska et al., 2013). With exhaustion-induced lowering of walking or running speed in the last two thirds of the race, intensity might be below the exertion level causing troponin T excretion.

This conclusion is supported by Scharhag et al. (2005). They compared a marathon, mountain bike marathon, and a 100-km ultramarathon. Median troponin T concentrations increased significantly during the marathon and the mountain bike marathon only, but not during the lower intensity 100-km ultramarathon. Supporting this theory, Shave et al. (2007) suggested a cardiac troponin correlation to intensity, as shown in their meta-analysis, where athletes in shorter long-endurance events, such as marathons, expressed the highest troponin elevations.

Our study supports the hypothesis of an intensity-related release of cardiac troponins. Furthermore, greater troponin T elevations in subjects with higher heart rate during the race support the findings of Mehta et al. of an inverse correlation to training status (Mehta et al., 2012). Further studies are warranted

to gain more understanding into the release of cardiac troponins and exercise intensity and duration.

Markers for Cell Damage

Aminotransferase, CK, and CK-MB are muscle cell enzymes, released by the breakdown of skeletal muscle (Khan, 2009). For all, levels increased significantly over the course of the MM. CK reached levels more than 10 times above the URL, which indicates severe muscular damage. CK-MB and AST increased fourfold and threefold, respectively. A generally accepted explanation is cell leakage due to mechanical tissue damage (Klapcińska et al., 2013).

Increases of muscle stress markers after long-endurance exercise were described in several studies (Scharhag et al., 2005; Banfi et al., 2012; Waśkiewicz et al., 2012; Klapcińska et al., 2013; Kim et al., 2014; Arakawa et al., 2016; Baur et al., 2016; Yoon et al., 2016; Knechtle and Nikolaidis, 2018). Training status, sex, duration, BMI, age, and intensity are considered as an impact factor for interindividual CK elevation (Neal et al., 2009; Banfi et al., 2012; Waśkiewicz et al., 2012; Klapcińska et al., 2013; Yoon et al., 2016; Kim and So, 2018; Nichols et al., 2018).

In our study, CK and CK-MB levels increased continuously over distance, reaching its maximum level at 100 km or the individual point of dropping out of the MM. Studies covering ultramarathons observed a strong variance in CK levels: Scharhag et al. (2005) and Yoon et al. (2016) described relatively moderate CK elevations after a marathon and 100 km ultramarathon, although participants ran with a higher running speed (around 10 km/h). In contrast, in a 308-km ultramarathon, CK levels reached 5,270.06 U/L, an almost 35-fold increment (Yoon et al., 2016). Waśkiewicz et al. (2012) described CK elevations up to 17,500 U/L in a 24-h ultramarathon with a mean speed of 7 km/h. Such large CK elevations were also observed by Klapcińska et al. (2013) after running 24 h with a mean speed of 7.3 km/h, reaching 18,000 U/L. It is worth mentioning that in the studies of Klapcińska et al. (2013) and Waśkiewicz et al. (2012), amateur runners were tested, while Scharhag et al. (2005) and Yoon et al. (2016) assessed experienced endurance athletes. In our study, recreational athletes were recruited and CK increased to a greater degree in all participants with a mean MET < 5. Strikingly, this contradicts the view of intensity being the relevant impact factor. Nevertheless, it can be argued that athletes who were only able to walk with a lower mean MET are possibly less trained and therefore training status has the major impact (Banfi et al., 2012).

We observed that age, BMI, and sex impact CK elevation in the low-intensity MM. Older participants with a higher BMI and males compared with females showed higher CK elevations. Males had a higher BMI in this study, so there might be a confounding effect. Nevertheless, higher BMI is described as an impact factor for CK elevation (Neal et al., 2009; Banfi et al., 2012; Kim and So, 2018). For age as an impact factor, variable results exist. As assessed in a review (Baird et al., 2012), some authors describe age as a factor contributing to greater exercise-induced damage, and others report lower CK elevations, pointing to age-related sarcopenia as a cause.

Aminotransferase is generally accepted as a marker for skeletal muscle cell damage after long-endurance exercise

(Banfi et al., 2012; Waśkiewicz et al., 2012; Kłapcińska et al., 2013). On average, AST increased approximately 2.5-fold, while ALT increased only marginally. In this study, increases of AST are interpreted as a marker for skeletal muscle cell damage and not liver cell damage, as also suggested by other studies (Banfi et al., 2012; Waśkiewicz et al., 2012; Kłapcińska et al., 2013). In our cohort, AST levels were further associated with higher age, as well as higher BMI, which supports data previously reported in the literature (Banfi et al., 2012).

Like CK, CK-MB is also known as a marker for muscle cell damage, in skeletal muscles as well as in the myocardium (Kim et al., 2014; Yoon et al., 2016; Knechtle and Nikolaidis, 2018). As it is also a marker for myocardial cell damage, it is to be discussed whether CK-MB increment in this setting is also representative for cardiac injury. Over the course of the race, mean CK-MB rose approximately 4.5-fold, while CK levels increased almost 10-fold. Studies suggested that the considerably CK increases represented predominantly a skeletal muscle damage also because in the abovementioned studies no cardiac injury was reported (Kim et al., 2014; Knechtle and Nikolaidis, 2018). Normal troponin T levels at 70 and 100 km support the hypothesis of skeletal muscle damage instead of cardiac cell damage or even necrosis.

Stress Parameters

C-reactive protein increased significantly by the end of the MM and reached values 25 times higher than the baseline. After 70 km, CRP increased from 1–2 to 7 mg/L, reaching 25 mg/L after 100 km. CRP elevation as acute phase response marker after long-endurance exercise has been described by multiple other studies (Fallon, 2001; Waśkiewicz et al., 2012; Kasprończak et al., 2013; Kłapcińska et al., 2013; Baur et al., 2016). IL-6 is widely described as the inducing element of CRP production in the liver, which plays an anti-inflammatory role (induction of anti-inflammatory cytokines) and targets and induces removal of damaged cells (Waśkiewicz et al., 2012; Kłapcińska et al., 2013). Duration and intensity are the main factors in CRP elevation (Waśkiewicz et al., 2012; Kłapcińska et al., 2013). In a 3-day multistage ultra-endurance triathlon in which subjects exercised for a total of roughly 30 h with resting periods in between the stages, CRP increased from <1 to 9 mg/L (Baur et al., 2016). Untrained subjects in the study of Kłapcińska et al. (2013) showed an increment from <1 to 30 mg/L after running for 24 h with a mean speed of roughly 7.3 km/h. Fallon (2001) observed similar dynamics in a track race: CRP increased from 1.9 to 21.9 mg/L after 24 h, covering a distance of 142.6 km/h. The greatest increment was found in a 24-h ultramarathon in which subjects ran with a mean speed of 7 km/h: CRP pre-race was 1.7 mg/L, 8.7 mg/L after 12 h, and reached 39.2 mg/L after 24 h (Waśkiewicz et al., 2012). All subjects in the cited studies ran with a higher running speed than those in this study. Nevertheless, CRP increased in a comparable fashion in this low-intensity march.

Cortisol showed a significant dynamic over the course of the march. Changing cortisol levels can be interpreted as part of its physiological circadian rhythm (Edwards et al., 2001) as serum samples have been taken over the course of 24 h. Nevertheless, values after 70 km distance of the

MM reached levels that are outside the URL, showing a neuroendocrine answer to this long-endurance low-intensity event. Studies describe cortisol elevations as a response to stress through physical exercise, inducing a neuroendocrine answer, which is necessary to conserve energy for vital functions (by suppression of the hypothalamo-pituitary-gonadal axis) and to increase substrate availability (cortisol-induced gluconeogenesis) (Popovic et al., 2019).

Lipid Profile

Triglyceride serum concentrations decreased significantly over the course of the MM in FIN and NON. Cholesterol and LDL decreased significantly in FIN. Notably, the mixed-effects ANOVA showed only nearly significant results, as cholesterol and LDL levels decreased to a large extent only after 70 km. Triglyceride levels (baseline: 1.27–1.33 mmol/L) started to decrease already after 30 km (1.05 mmol/L) and reached 0.59 mmol/L after 100 km. Paired *t*-tests showed that LDL and cholesterol significantly decreased from 70 to 100 km, dropping by roughly 20% and approximately 12%, respectively. Additionally, HDL levels (baseline: 1.61 mmol/L) increased significantly at 70 km (2.05 mmol/L) in NON, and the increment in FIN started only after 70 km rising to 1.86 mmol/L post-march. Favorable shifts in blood lipid levels during ultramarathons are well established in the literature (Ginsburg et al., 1996; Wu et al., 2004; Banfi et al., 2012; Waśkiewicz et al., 2012; Emed et al., 2016; Knechtle and Nikolaidis, 2018). We found that females showed higher elevations of HDL, corroborating the findings in the current literature (Davis et al., 1996).

In the higher intensity Hawaii Ironman Triathlon in which athletes exercised for a total of approximately 12.5 h, Ginsburg et al. (1996) observed a 9% decrease of cholesterol, a 39% decrease of triglyceride levels, and a 10% decrease of LDL. HDL did not change significantly. In a 24-h ultramarathon, in which participants ran with a mean speed of 7 km/h for almost 170 km, cholesterol decreased from 5.07 to 4.04 mmol/L, LDL from 2.86 to 1.74 mmol/L, and triglycerides from 1.73 to 0.80 mmol/L, and HDL increased from 1.43 to 2.01 mmol/L (Waśkiewicz et al., 2012).

Notably, the lipid profile changes in our study were comparable to triathlons or ultramarathons of much higher intensities.

Long-endurance events like ultramarathons cause a high caloric demand, and carbohydrates as a source of energy have limited stores in the body (Coyle et al., 1986). Hence, an increase of fat oxidation, resulting in the mobilization of storage fat, is needed to cover the energy expenditure (Waśkiewicz et al., 2012; Kłapcińska et al., 2013). Since blood lipid profile with high cholesterol levels is established as a main risk factor for chronic heart disease, it can be argued that long-endurance exercise should be considered beneficial for the prevention of cardiovascular diseases (Knechtle and Nikolaidis, 2018). Aadahl et al. (2007) described a linear correlation between moderate physical activity and cardiovascular risk factors. Mann et al. (2014) also described a linear dose-response relationship between activity levels and HDL cholesterol levels. To reduce LDL and triglyceride levels, higher intensities have been reported

to be required (Mann et al., 2014). Especially aerobic exercise at high intensities is reported to be effective in improving the LDL/HDL ratio (Mann et al., 2014). Fikenzer et al. (2018) even mentioned a minimum exercise threshold to produce beneficial effects on serum lipids. In contrast, however, a decrement in cholesterol and LDL levels was also observed after 70 km in this long-endurance low-intensity setting, suggesting that a constant low-intensity activity such as during the MM might be as effective as an influence on lipid profiles as shorter high-intensity exercises that have been previously reported.

Nevertheless, even in this 100-km march of low-intensity, participants who walked with greater speed showed more favorable lipid profiles than slower participants. A possible explanation could be a better training status in faster individuals, resulting in a higher mean walking speed, as endurance training is considered beneficial for lipid status (Knechtle and Nikolaidis, 2018), but also due to a higher rate of fat oxidation found among better trained endurance athletes (Bassett and Howley, 2000). Also in this study, FIN had a greater history of endurance training as distance covered on foot per week as a trend. In addition, the less favorable triglyceride levels among subjects with greater heart rate and the more favorable HDL levels in participants with lower heart rate during the race support this explanation. The fact that participants of FIN walked with a greater walking speed as a trend (4.39 vs. 3.79 km/h, $p = 0.19$) adds to this as well.

This study also showed the expected correlation between greater BMI and higher plasma lipid levels (Waśkiewicz et al., 2012). Eijssvogels and Maessen (2017) described striking risk reductions for all-cause and cardiovascular mortality already at low volumes of physical activity, with additional health benefits with increasing exercise volumes. Especially for subjects with a higher BMI or cardiac disabilities who are not able to train with higher intensities, low-intensity but longer endurance exercise might lead to benefits. In conclusion, our study coincides with clinical trials, suggesting health benefits concerning the lipid profile from low-intensity long-endurance exercise.

General Remarks and Limitations

Even though this study showed highly significant results, the low number of participants limits the validity, especially in FIN and in correlation analyses of subgroups. In some cases, FIN and NON-did not show the same results or did not reach the same level of significance. This might be due to the low number of participants and lower statistical power of FIN. Nevertheless, the overall number of 43 participants (32 with usable serum samples) in that kind of experimental setting in a field study conducted over 3 years in our investigation is relatively high, as most studies assessing ultramarathons covered 5–35 participants (Fallon, 2001; Wu et al., 2004; Scharhag et al., 2005; Knechtle et al., 2008a,b; La Gerche et al., 2008; Scott et al., 2009; Waśkiewicz et al., 2012; Kasprowicz et al., 2013; Kłapcińska et al., 2013; Marklund et al., 2013; Saugy et al., 2013; Kim et al., 2014; Salvagno et al., 2014; Baur et al., 2016; Emed et al., 2016; Yoon et al., 2016; Coker et al., 2017). The differentiation into FIN and NON, even though numbers in those subgroups were small, allowed us to perform a differential analysis of performance to detect possible influencing factors.

A different training status among subjects needs to be considered as a potential influencing factor as well. Even though subjects of FIN did not exhibit a statistically significant greater amount of distance covered per week, our assessment points in that direction as a trend.

Another influencing factor might be each participant's nutrition or hydration plan, which was not assessed. This could have had an influence on blood parameters. To minimize the influence, participants were instructed to neither eat nor drink at least 1 h before each checkpoint.

Both speed and MET were used for correlation analysis, as no linear correlation was to be expected because of the individuals' heterogenic conditions. A well-trained participant with low BMI can express a lower mean MET and still walk faster than an untrained, heavier person and vice versa. The different results in these analyses confirm this assumption.

Furthermore, we would like to point out that data was acquired over 3 years in three different MM events. Nevertheless, weather and GPS data show that these races took place under similar conditions, and consequently, we consider the acquired data as comparable.

Serum samples were stored for up to 24 h in a sealed cooling box before further processing. The analyzed parameters should not be affected by this; nevertheless, some serum samples were not usable due to hemolysis, thereby reducing the statistical power.

Summary

Despite the low walking speed and hence low intensity, at which the MM was conducted, our data reveal significant changes among healthy human adults in body composition, metabolism, and stress parameters that were comparable to those observed in ultramarathons of much higher intensity and different kind of athletes. Participants lost around 1% of body mass, mostly from a significant loss of body water (-1.9%), while the duration of 24 h was not long enough to reduce fat mass significantly.

NT-pro-BNP showed a significant elevation over time and distance, indicating that even at such low intensities a sufficient cardiac stimulation might have taken place. The duration of low-intensity activity turned out to be the main impact factor. Despite reaching values above the URL, no evidence for cardiac cell damage was found, as troponin T values increased only moderately in the first third of the race, later returning to baseline values. Other than for NT-pro-BNP, intensity seemed to have been the predominant factor for exercise-induced troponin T release. As performance and heart rate during the race correlated with the increment of NT-pro-BNP values, NT-pro-BNP might be a marker for cardiovascular fitness also in healthy individuals. Training status seems to have correlated with cardiac stress markers as well. Further studies are needed to confirm this hypothesis.

In addition, this low-intensity march elicited massive changes in markers for cell damage, showing skeletal muscle damage leading to an acute inflammatory response. Current literature suggests a quick cell repair and return to baseline values after exercise.

The MM triggered shifts to a favorable lipid profile comparable to endurance events of much higher intensity. Also, for cholesterol, duration seems to have the greatest influence, as LDL and cholesterol started to decrease significantly only after 70 km. It is a clinically relevant finding that a low-intensity exercise can have an impact on serum lipids, as subjects with pre-existing conditions might not be able to exercise at higher intensities.

In addition, even though none of our participants were professional endurance athletes, our results suggest that a more active lifestyle, as the trend-wise greater distance covered on foot per week among FIN, will lead to a more favorable lipid profile and better performance.

In conclusion, long-endurance marches like the 100-km MM can lead to striking increases in stress metabolism markers. Thus, such long-duration events could not be recommended for the general population to improve cardiovascular fitness. Nevertheless, in the light of increasing prevalence of metabolic diseases associated with a sedentary lifestyle (Arocha Rodulfo, 2019), which can be construed to be a negative environmental factor on the health of a large proportion of the population in western societies (Lin et al., 2020), the results of our study might help to bring about health benefits by changing the lifestyle from a sedentary to a more active one (e.g., walking instead of driving, using the stairs instead of the elevator, etc.). Since our data suggest that even exercise at low intensities such as walking can have the reported positive benefits, our study supports several recommendations already incorporated in general guidelines (Anton et al., 2011) and could further help clinicians apply lifestyle changes for the health benefits of their patients.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation.

ETHICS STATEMENT

The study was approved by the Charité Ethics Board (review number EA1/163/14). Written informed consent to

participate in this study was provided by the participants' legal guardian/next of kin.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

MJ contributed in writing the manuscript, performed the measurements, and obtained and analyzed the data. MS designed, planned and implemented the study, performed the measurements, and obtained the data. HG and MS provided the critical expertise, feedback, and revised the final manuscript. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

FUNDING

The study was supported by the Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) and the German Aerospace Center (DLR) through grants 50WB1330 and 50WB1730. The Open Access Publication Fund of Charité – Universitätsmedizin Berlin has been funding the publication fees.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to express our deepest gratitude to each athlete participating in this study, as well as the race organizers. We also acknowledge and are grateful for the support from the German Research Foundation (DFG), the Open Access Publication Fund of Charité Universitätsmedizin Berlin, as well as the Federal Ministry For Economic Affairs and Energy (BMWi), and the German Aerospace Center (DLR), all of which made this study possible.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.640710/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Aadahl, M., Kjaer, M., and Jørgensen, T. (2007). Associations between overall physical activity level and cardiovascular risk factors in an adult population. *Eur. J. Epidemiol.* 22, 369–378. doi: 10.1007/s10654-006-9100-3
- Achten, J., Gleeson, M., and Jeukendrup, A. E. (2002). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Med. Sci. Sports Exerc.* 34, 92–97. doi: 10.1097/00005768-200201000-00015
- Ainsworth, B. E., Haskell, W. L., Leon, A. S., Jacobs, D. R. Jr., Montoye, H. J., Sallis, J. F., et al. (1993). Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25, 71–80. doi: 10.1249/00005768-199301000-00011
- Allen, J., Sun, Y., and Woods, J. A. (2015). Exercise and the regulation of inflammatory responses. *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* 135, 337–354. doi: 10.1016/bs.pmbts.2015.07.003
- Alpert, S. S. (2005). A limit on the energy transfer rate from the human fat store in hypophagia. *J. Theor. Biol.* 233, 1–13. doi: 10.1016/j.jtbi.2004.08.029
- Anton, S. D., Duncan, G. E., Limacher, M. C., Martin, A. D., and Perri, M. G. (2011). How much walking is needed to improve cardiorespiratory fitness? An examination of the 2008 Physical Activity Guidelines for Americans. *Res. Q. Exerc. Sport* 82, 365–370. doi: 10.1080/02701367.2011.10599766
- Arai, S. R., Butzlaff, A., Stotts, N. A., and Puntillo, K. A. (2014). Quench the thirst: lessons from clinical thirst trials. *Biol. Res. Nurs.* 16, 456–466. doi: 10.1177/1099800413505900
- Arakawa, K., Hosono, A., Shibata, K., Ghadimi, R., Fukui, M., Goto, C., et al. (2016). Changes in blood biochemical markers before, during, and after a 2-day ultramarathon. *Open Access J. Sports Med.* 7, 43–50. doi: 10.2147/OAJSM.S97468
- Arocha Rodulfo, J. I. (2019). Sedentary lifestyle a disease from XXI century. *Clin. Investig. Arterioscler.* 31, 233–240. doi: 10.1016/j.arteri.2019.04.004

- Baird, M. F., Graham, S. M., Baker, J. S., and Bickerstaff, G. F. (2012). Creatine-kinase- and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *J. Nutr. Metab.* 2012:960363. doi: 10.1155/2012/960363
- Banfi, G., Colombini, A., Lombardi, G., and Lubkowska, A. (2012). Metabolic markers in sports medicine. *Adv. Clin. Chem.* 56, 1–54. doi: 10.1016/b978-0-12-394317-0.00015-7
- Bassett, D. R. Jr., and Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* 32, 70–84. doi: 10.1097/00005768-200001000-00012
- Baur, D. A., Bach, C. W., Hyder, W. J., and Ormsbee, M. J. (2016). Fluid retention, muscle damage, and altered body composition at the Ultraman triathlon. *Eur. J. Appl. Physiol.* 116, 447–458. doi: 10.1007/s00421-015-3291-9
- Benda, N. M., Hopman, M. T., van Dijk, A. P., Oxborough, D., George, K. P., Thijssen, D. H., et al. (2016). Impact of prolonged walking exercise on cardiac structure and function in cardiac patients versus healthy controls. *Eur. J. Prev. Cardiol.* 23, 1252–1260. doi: 10.1177/2047487316631389
- Beyer, S. (1990). Gender differences in the accuracy of self-evaluations of performance. *J. Pers. Soc. Psychol.* 59, 960–970. doi: 10.3389/fpsyg.2016.01680
- Cerqueira, E., Marinho, D. A., Neiva, H. P., and Lourenço, O. (2020). Inflammatory effects of high and moderate intensity exercise—a systematic review. *Front. Physiol.* 10:1550. doi: 10.3389/fphys.2019.01550
- Coker, R. H., Weaver, A. N., Coker, M. S., Murphy, C. J., Gunga, H. C., and Steinach, M. (2017). Metabolic responses to the yukon arctic ultra: longest and coldest in the world. *Med. Sci. Sports Exerc.* 49, 357–362. doi: 10.1249/MSS.0000000000001095
- Cowie, M. R., Jourdain, P., Maisel, A., Dahlstrom, U., Follath, F., Isnard, R., et al. (2003). Clinical applications of B-type natriuretic peptide (BNP) testing. *Eur. Heart J.* 24, 1710–1718. doi: 10.1016/s0195-668x(03)00476-7
- Coyle, E. F., Coggan, A. R., Hemmert, M. K., and Ivy, J. L. (1986). Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J. Appl. Physiol.* 61, 165–172. doi: 10.1152/jappl.1986.61.1.165
- Davis, C. E., Williams, D. H., Oganov, R. G., Tao, S. C., Rywik, S. L., Stein, Y., et al. (1996). Sex difference in high density lipoprotein cholesterol in six countries. *Am. J. Epidemiol.* 143, 1100–1106. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a008686
- Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH (2020). Available online at: <http://www.dakks.de/as/ast/d/D-ML-17085-01-00.pdf> (accessed January 06, 2020).
- Doyen, B., Matelot, D., and Carré, F. (2019). Asymptomatic bradycardia amongst endurance athletes. *Phys. Sportsmed.* 47, 249–252. doi: 10.1080/00913847.2019.1568769
- Edwards, S., Clow, A., Evans, P., and Hucklebridge, F. (2001). Exploration of the awakenin/cortisol response in relation to diurnal cortisol secretory activity. *Life Sci.* 68, 2093–2103. doi: 10.1016/s0024-3205(01)00996-1
- Eijssvogels, T., George, K., Shave, R., Gaze, D., Levine, B. D., Hopman, M. T., et al. (2010). Effect of prolonged walking on cardiac troponin levels. *Am. J. Cardiol.* 105, 267–272. doi: 10.1016/j.amjcard.2009.08.679
- Eijssvogels, T. M. H., and Maessen, M. F. H. (2017). Exercise for coronary heart disease patients: little is good, more is better, vigorous is best. *J. Am. Coll. Cardiol.* 70, 1701–1703. doi: 10.1016/j.jacc.2017.08.016
- Emed, L. G., Passaglia, D. G., Guerios, S. T., João, P. G., Moser, A. L., Abdalla, D. S., et al. (2016). Acute modification in plasma lipid levels in ultramarathon runners. *J. Sports Sci.* 34, 1657–1661. doi: 10.1080/02640414.2015.1130237
- Fallon, K. E. (2001). The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin. J. Sport Med.* 11, 38–43. doi: 10.1097/00042752-200101000-00007
- Fikenzler, K., Fikenzler, S., Laufs, U., and Werner, C. (2018). Effects of endurance training on serum lipids. *Vascul. Pharmacol.* 101, 9–20. doi: 10.1016/j.vph.2017.11.005
- Ginsburg, G. S., Agil, A., O'Toole, M., Rimm, E., Douglas, P. S., and Rifai, N. (1996). Effects of a single bout of ultraendurance exercise on lipid levels and susceptibility of lipids to peroxidation in triathletes. *JAMA* 276, 221–225.
- Global Bmi Mortality Collaboration, Di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S. H. N., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., et al. (2016). Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet* 388, 776–786. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30175-1
- International Association of Ultrarunners (2020). Available online at: <http://iaultramarathon.org> (accessed July 13, 2019).
- Jaffrin, M. Y., and Morel, H. (2008). Body fluid volumes measurements by impedance: a review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods. *Med. Eng. Phys.* 30, 1257–1269. doi: 10.1016/j.medengphy.2008.06.009
- Jensen-Urstad, K., Saltin, B., Ericson, M., Storck, N., and Jensen-Urstad, M. (1997). Pronounced resting bradycardia in male elite runners is associated with high heart rate variability. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 7, 274–278. doi: 10.1111/j.1600-0838.1997.tb00152.x
- Kang, S. J., Ha, G. C., and Ko, K. J. (2017). Association between resting heart rate, metabolic syndrome and cardiorespiratory fitness in Korean male adults. *J. Exerc. Sci. Fit.* 15, 27–31. doi: 10.1016/j.jesf.2017.06.001
- Kannel, W. B., Kannel, C., Paffenbarger, R. S. Jr., and Cupples, L. A. (1987). Heart rate and cardiovascular mortality: the Framingham Study. *Am. Heart J.* 113, 1489–1494. doi: 10.1016/0002-8703(87)90666-1
- Kasprówicz, K., Ziemann, E., Ratkowski, W., Laskowski, R., Kaczor, J. J., Dadzi, R., et al. (2013). Running a 100-km ultra-marathon induces an inflammatory response but does not raise the level of the plasma iron-regulatory protein hepcidin. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 53, 533–537.
- Khan, F. Y. (2009). Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth. J. Med.* 67, 272–283.
- Kim, J., and So, W. Y. (2018). High body mass index is associated with the extent of muscle damage after eccentric exercise. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15:1378. doi: 10.3390/ijerph15071378
- Kim, Y. J., Shin, Y. O., Lee, J. B., Lee, Y. H., Shin, K. A., Kim, A. C., et al. (2014). The effects of running a 308 km ultra-marathon on cardiac markers. *Eur. J. Sport Sci.* 14(Suppl. 1), S92–S97. doi: 10.1080/17461391.2011.654267
- Klapcińska, B., Waśkiewicz, Z., Chrapusta, S. J., Sadowska-Krępa, E., Czuba, M., and Langfort, J. (2013). Metabolic responses to a 48-h ultra-marathon run in middle-aged male amateur runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 113, 2781–2793. doi: 10.1007/s00421-013-2714-8
- Knechtle, B., and Nikolaidis, P. T. (2018). Physiology and pathophysiology in ultra-marathon running. *Front. Physiol.* 9:634. doi: 10.3389/fphys.2018.00.634
- Knechtle, B., Salas Fraire, O., Andonie, J. L., and Kohler, G. (2008a). Effect of a multistage ultra-endurance triathlon on body composition: World Challenge Deca Iron Triathlon 2006. *Br. J. Sports Med.* 42, 121–125. doi: 10.1136/bjism.2007.038034 discussion 125.
- Knechtle, B., Scheer, V., Nikolaidis, P. T., and Sousa, C. V. (2020). Participation and performance trends in the oldest 100-km Ultramarathon in the World. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17:1719. doi: 10.3390/ijerph17051719
- Knechtle, B., Schwanke, M., Knechtle, P., and Kohler, G. (2008b). Decrease in body fat during an ultra-endurance triathlon is associated with race intensity. *Br. J. Sports Med.* 42, 609–613. doi: 10.1136/bjism.2007.040956
- Knechtle, B., Valeri, F., Zingg, M. A., Rosemann, T., and Rust, C. A. (2014). What is the age for the fastest ultra-marathon performance in time-limited races from 6 h to 10 days? *Age* 36:9715. doi: 10.1007/s11357-014-9715-3
- Koller, A., Summer, P., and Moser, H. (1999). Regular exercise and subclinical myocardial injury during prolonged aerobic exercise. *JAMA* 282:1816. doi: 10.1001/jama.282.19.1816
- Koohsari, M. J., Shibata, A., Ishii, K., Kurosawa, S., Yasunaga, A., Hanibuchi, T., et al. (2020). Built environment correlates of objectively-measured sedentary behaviours in densely-populated areas. *Health Place* 66:102447. doi: 10.1016/j.healthplace.2020.102447
- La Gerche, A., Connelly, K. A., Mooney, D. J., MacIsaac, A. I., and Prior, D. L. (2008). Biochemical and functional abnormalities of left and right ventricular function after ultra-endurance exercise. *Heart* 94, 860–866. doi: 10.1136/hrt.2006.101063
- Lee, J. B., Kim, J. H., and Murota, H. (2016). Perspiration functions in different ethnic, age, and sex populations: modification of Sudomotor function. *Curr. Probl. Dermatol.* 51, 109–119. doi: 10.1159/000447370
- Legaz-Arrese, A., George, K., Carranza-García, L. E., Munguía-Izquierdo, D., Moros-García, T., and Serrano-Ostáriz, E. (2011). The impact of exercise intensity on the release of cardiac biomarkers in marathon runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 111, 2961–2967. doi: 10.1007/s00421-011-1922-3
- Lin, C. Y., Koohsari, M. J., Liao, Y., Ishii, K., Shibata, A., Nakaya, T., et al. (2020). Workplace neighbourhood built environment and workers' physically-active and sedentary behaviour: a systematic review of observational studies. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* 17:148. doi: 10.1186/s12966-020-01055-x

- Lukaski, H. C., and Bolonchuk, W. W. (1988). Estimation of body fluid volumes using tetrapolar bioelectrical impedance measurements. *Aviat. Space Environ. Med.* 59, 1163–1169.
- Maisel, A. S., Krishnaswamy, P., Nowak, R. M., McCord, J., Hollander, J. E., Duc, P., et al. (2002). Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N. Engl. J. Med.* 347, 161–167. doi: 10.1056/NEJMoa020233
- Mammutmarsch (2018). Available online at: <https://mammutmarsch.de/> (accessed July 8, 2017).
- Mann, S., Beedie, C., and Jimenez, A. (2014). Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Med.* 44, 211–221. doi: 10.1007/s40279-013-0110-5
- Marklund, P., Mattsson, C. M., Wählin-Larsson, B., Ponsot, E., Lindvall, B., Lindvall, L., et al. (2013). Extensive inflammatory cell infiltration in human skeletal muscle in response to an ultraendurance exercise bout in experienced athletes. *J. Appl. Physiol.* 114, 66–72. doi: 10.1152/jappphysiol.01538.2011
- Maggioni, M. A., Rundfeldt, L. C., Gunga, H.-C., Joerres, M., Merati, G., and Steinach, M. (2020). The advantage of supine and standing heart rate variability analysis to assess training status and performance in a walking ultramarathon. *Front. Physiol.* 11:731. doi: 10.3389/fphys.2020.00731
- Mayer-Davis, E. J., and Costacou, T. (2001). Obesity and sedentary lifestyle: modifiable risk factors for prevention of type 2 diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 1, 170–176. doi: 10.1007/s11892-001-0030-x
- Mehta, R., Gaze, D., Mohan, S., Williams, K. L., Sprung, V., George, K., et al. (2012). Post-exercise cardiac troponin release is related to exercise training history. *Int. J. Sports Med.* 33, 333–337. doi: 10.1055/s-0031-1301322
- Mendes, M. A., da Silva, I., Ramires, V., Reichert, F., Martins, R., Ferreira, R., et al. (2018). Metabolic equivalent of task (METs) thresholds as an indicator of physical activity intensity. *PLoS One* 13:e0200701. doi: 10.1371/journal.pone.0200701
- Nakagawa, O., Ogawa, Y., Itoh, H., Suga, S., Komatsu, Y., Kishimoto, I., et al. (1995). Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy. Evidence for brain natriuretic peptide as an “emergency” cardiac hormone against ventricular overload. *J. Clin. Invest.* 96, 1280–1287. doi: 10.1172/JCI118162
- Neal, R. C., Ferdinand, K. C., Ycas, J., and Miller, E. (2009). Relationship of ethnic origin, gender, and age to blood creatine kinase levels. *Am. J. Med.* 122, 73–78. doi: 10.1016/j.amjmed.2008.08.033
- Nichols, S., Taylor, C., Page, R., Kallvikbacka-Bennett, A., Nation, F., Goodman, T., et al. (2018). Is cardiorespiratory fitness related to cardiometabolic health and all-cause mortality risk in patients with coronary heart disease? A care CR Study. *Sports Med. Open* 4:22. doi: 10.1186/s40798-018-0138-z
- Noakes, T. D., Sharwood, K., Speedy, D., Hew, T., Reid, S., Dugas, J., et al. (2005). Three independent biological mechanisms cause exercise-associated hyponatremia: evidence from 2,135 weighed competitive athletic performances. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 18550–18555. doi: 10.1073/pnas.0509099102
- Obling, K. H., Hansen, A. L., Overgaard, K., Normann, K., Sandbaek, A., and Maindal, H. T. (2015). Association between self-reported and objectively measured physical fitness level in a middle-aged population in primary care. *Prev. Med. Rep.* 2, 462–466. doi: 10.1016/j.pmedr.2015.05.010
- Ohba, H., Takada, H., Musha, H., Nagashima, J., Mori, N., Awaya, T., et al. (2001). Effects of prolonged strenuous exercise on plasma levels of atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in healthy men. *Am. Heart J.* 141, 751–758. doi: 10.1067/mhj.2001.114371
- Popovic, B., Popovic, D., Macut, D., Antic, I. B., Isailovic, T., Ognjanovic, S., et al. (2019). Acute response to endurance exercise stress: focus on catabolic/anabolic interplay between cortisol, testosterone, and sex hormone binding globulin in professional athletes. *J. Med. Biochem.* 38, 6–12. doi: 10.2478/jomb-2018-0016
- Saklayen, M. G. (2018). The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr. Hypertens Rep.* 20:12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
- Salvagno, G. L., Schena, F., Gelati, M., Danese, E., Cervellini, G., Guidi, G. C., et al. (2014). The concentration of high-sensitivity troponin I, galectin-3 and NT-proBNP substantially increase after a 60-km ultramarathon. *Clin. Chem. Lab. Med.* 52, 267–272. doi: 10.1515/cclm-2013-0601
- Santos-Lozano, A., Hernández-Vicente, A., Pérez-Isaac, R., Santin-Medeiros, F., Cristi-Montero, C., Casajús, J. A., et al. (2017). Is the SenseWear Armband accurate enough to quantify and estimate energy expenditure in healthy adults? *Ann. Transl. Med.* 5:97. doi: 10.21037/atm.2017.02.31
- Sarko, J., and Pollack, C. V. Jr. (2002). Cardiac troponins. *J. Emerg. Med.* 23, 57–65. doi: 10.1016/s0736-4679(02)00463-8
- Saugy, J., Place, N., Millet, G. Y., Degache, F., Schena, F., and Millet, G. P. (2013). Alterations of Neuromuscular Function after the World’s Most Challenging Mountain Ultra-Marathon. *PLoS One* 8:e65596. doi: 10.1371/journal.pone.0065596
- Scharhag, J., George, K., Shave, R., Urhausen, A., and Kindermann, W. (2008). Exercise-associated increases in cardiac biomarkers. *Med. Sci. Sports Exerc.* 40, 1408–1415. doi: 10.1249/MSS.0b013e318172c222
- Scharhag, J., Herrmann, M., Urhausen, A., Haschke, M., Herrmann, W., and Kindermann, W. (2005). Independent elevations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponins in endurance athletes after prolonged strenuous exercise. *Am. Heart J.* 150, 1128–1134. doi: 10.1016/j.ahj.2005.01.051
- Scharhag, J., Herrmann, M., Weissinger, M., Herrmann, W., and Kindermann, W. (2007). N-terminal B-type natriuretic peptide concentrations are similarly increased by 30 minutes of moderate and brisk walking in patients with coronary artery disease. *Clin. Res. Cardiol.* 96, 218–226. doi: 10.1007/s00392-007-0491-2
- Scharhag, J., Urhausen, A., Schneider, G., Herrmann, M., Schumacher, K., Haschke, M., et al. (2006). Reproducibility and clinical significance of exercise-induced increases in cardiac troponins and N-terminal pro brain natriuretic peptide in endurance athletes. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* 13, 388–397. doi: 10.1097/01.hjr.0000219117.33038.90
- Scott, J. M., Esch, B. T., Shave, R., Warburton, D. E., Gaze, D., and George, K. (2009). Cardiovascular consequences of completing a 160-km ultramarathon. *Med. Sci. Sports Exerc.* 41, 26–34. doi: 10.1249/MSS.0b013e318181313f
- Sedaghat-Hamedani, F., Kayvanpour, E., Frankenstein, L., Mereles, D., Amr, A., Buss, S., et al. (2015). Biomarker changes after strenuous exercise can mimic pulmonary embolism and cardiac injury—a meta-analysis of 45 studies. *Clin. Chem.* 61, 1246–1255. doi: 10.1373/clinchem.2015.240796
- Segal, K. R., Van Loan, M., Fitzgerald, P. I., Hodgdon, J. A., and Van Itallie, T. B. (1988). Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am. J. Clin. Nutr.* 47, 7–14. doi: 10.1093/ajcn/47.1.7
- Serrano-Ostáriz, E., Terreros-Blanco, J. L., Legaz-Arrese, A., George, K., Shave, R., Bocos-Terraz, P., et al. (2011). The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 21, 244–249. doi: 10.1111/j.1600-0838.2009.01042.x
- Shave, R., George, K. P., Atkinson, G., Hart, E., Middleton, N., Whyte, G., et al. (2007). Exercise-induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 2099–2106. doi: 10.1249/mss.0b013e318153f78
- Sun, S. S., Chumlea, W. C., Heymsfield, S. B., Lukaski, H. C., Schoeller, D., Friedl, K., et al. (2003). Development of bioelectrical impedance analysis prediction equations for body composition with the use of a multicomponent model for use in epidemiologic surveys. *Am. J. Clin. Nutr.* 77, 331–340. doi: 10.1093/ajcn/77.2.331
- Van Hoye, K., Boen, F., and Lefevre, J. (2014). Validation of the SenseWear Armband in different ambient temperatures. *J. Sports Sci.* 33, 1007–1018. doi: 10.1080/02640414.2014.981846
- Vilela, E. M., Bettencourt-Silva, R., Nunes, J. P., and Ribeiro, V. G. (2015). BNP and NT-proBNP elevation after running—a systematic review. *Acta Cardiol.* 70, 501–509. doi: 10.2143/AC.70.5.3110509
- Wachira, L. M., Muthuri, S. K., Ochoa, S. A., Onyvera, V. O., and Tremblay, M. S. (2018). Screen-based sedentary behaviour and adiposity among school children: results from International Study of Childhood Obesity, Lifestyle and the Environment (ISCOLE) - Kenya. *PLoS One* 13:e0199790. doi: 10.1371/journal.pone.0199790
- Waśkiewicz, Z., Klapińska, B., Sadowska-Krępa, E., Czuba, M., Kempa, K., Kimsa, E., et al. (2012). Acute metabolic responses to a 24-h ultra-marathon race in male amateur runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 112, 1679–1688. doi: 10.1007/s00421-011-2135-5
- Whyte, G. (2014). Age, sex and (the) race: gender and geriatrics in the ultra-endurance age. *Extrem. Physiol. Med.* 3:1. doi: 10.1186/2046-7648-3-1
- Williams, D. P., Jarczok, M. N., Ellis, R. J., Hillecke, T. K., Thayer, J. F., and Koenig, J. (2017). Two-week test-retest reliability of the Polar®RS800CX™ to

- record heart rate variability. *Clin. Physiol. Funct. Imaging* 37, 776–781. doi: 10.1111/cpf.12321
- Wishnofsky, M. (1958). Caloric equivalents of gained or lost weight. *Am. J. Clin. Nutr.* 6, 542–546. doi: 10.1093/ajcn/6.5.542
- Wu, H. J., Chen, K. T., Shee, B. W., Chang, H. C., Huang, Y. J., and Yang, R. S. (2004). Effects of 24 h ultra-marathon on biochemical and hematological parameters. *World J. Gastroenterol.* 10, 2711–2714. doi: 10.3748/wjg.v10.i18.2711
- Yoon, J. H., Park, Y., Ahn, J., Shin, K. A., and Kim, Y. J. (2016). Changes in the markers of cardiac damage in men following long-distance and ultra-long-distance running races. *J. Sports Med. Phys. Fitness* 56, 295–301.
- Zingg, M. A., Knechtle, B., Rosemann, T., and Rüst, C. A. (2015). Performance differences between sexes in 50-mile to 3,100-mile ultramarathons. *Open Access J. Sports Med.* 6, 7–21. doi: 10.2147/OAJSM.S76490

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2021 Joerres, Gunga and Steinach. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

11 Lebenslauf

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

12 Publikationsliste

Jörres M, Gunga HC, Steinach M. Physiological Changes, Activity, and Stress During a 100-km-24-h Walking-March. *Front Physiol.* 2021 Mar 11;12:640710. doi: 10.3389/fphys.2021.640710

Maggioni MA, Rundfeldt LC, Gunga HC, Joerres M, Merati G, Steinach M. The Advantage of Supine and Standing Heart Rate Variability Analysis to Assess Training Status and Performance in a Walking Ultramarathon. *Front Physiol.* 2020 Jul 24;11:731. doi: 10.3389/fphys.2020.00731

13 Danksagung

Ohne die Unterstützung zahlreicher Personen und Institutionen hätten die Studie zum Mammutmarsch und somit auch diese Dissertation in dieser Form nicht realisiert werden können.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinem Betreuer Dr. Steinach, der die Idee für die durchgeführte Studie hatte und gemeinsam mit mir alle Untersuchungen durchführte. Über die gesamten Jahre war er jederzeit für Ratschläge und Hilfestellungen zu erreichen und hatte neben den wertvollen fachlichen Hinweisen auch durch seinen Enthusiasmus für die vorliegende Arbeit einen großen Anteil an der Fertigstellung.

Außerdem gilt mein Dank Prof. Gunga, der als Leiter unserer AG für Extreme Umwelten am Institut für Physiologie der Charité die Durchführung und Finanzierung dieser Studie erst ermöglichte. Neben dem kritischen fachlichen Feedback gab er auch wichtige organisatorische Hinweise zu der vorliegenden Publikation, ohne die diese nicht hätte veröffentlicht werden können.

Selbstverständlich gilt mein Dank auch den zahlreichen Probanden, die sich freiwillig für die Studie meldeten und mit ihrem beeindruckenden Einsatz während des 100 km langen Marsches die Basis dieser Studie schufen. Gleichzeitig danke ich den Organisatoren des Mammutmarsches, Bastian Kröhnert, Kalle Eberhardt und Philipp Laage, die uns unkompliziert bei der Suche nach Probanden und der Durchführung der Messungen während des Laufes logistisch unterstützten.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie für die gesamte Unterstützung während meines Studiums, die es mir ermöglichte, mich stets auf das Wesentliche zu fokussieren und somit auch diese Dissertation anzufertigen.