

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin der
Deutschen Sporthochschule Köln
Geschäftsführender Leiter: Universitätsprofessor Dr. med. W. Bloch

Einfluss von körperlichem Training auf die Homöostase von
regulatorischen T-Zellen

von der Deutschen Sporthochschule Köln
zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Sportwissenschaft
genehmigte Dissertation
vorgelegt von
Johannes-Maximilian Weinhold
geb. in München

Köln

2017

Erster Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. med. W. Bloch
Zweiter Gutachter:	Univ.-Prof. Dr. med. E. Faist
Vorsitzender des Promotionsausschusses:	Univ.-Prof. Dr. med. W. Bloch
Tag der mündlichen Prüfung:	20. Februar 2017

Eidesstattliche Versicherungen gem. § 7 Abs. 2 Nr. 4 und 5:

Hierdurch versichere ich:

Ich habe diese Arbeit selbständig und nur unter Benutzung der angegebenen Quellen und technischen Hilfen angefertigt; sie hat noch keiner anderen Stelle zur Prüfung vorgelegen. Wörtlich übernommene Textstellen, auch Einzelsätze oder Teile davon, sind als Zitate kenntlich gemacht worden.

Hierdurch erkläre ich, dass ich die „Leitlinien guter wissenschaftlicher Praxis“ der Deutschen Sporthochschule Köln eingehalten habe.

Ort, Datum

Johannes-Maximilian Weinhold

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. Wilhelm Bloch danke ich für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und die ausgezeichneten Möglichkeiten, es zu bearbeiten.

Besonderen Dank Herrn Dr. Alexander Shimabukuro –Vornhagen vom Zentrum Innere Medizin - Onkologie, Hämatologie Institut der Universität zu Köln, der mir zum Verständnis vieler Quellen verhalf und mir wichtige sachliche Hinweise gab.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Eugen Faist und Herrn priv. Doz. Dr. Axel Franke für die Durchsicht meiner Arbeit und die vielen Hinweise, die zur Vollendung derselben notwendig waren.

Weiter möchte ich mich bei meinem Bruder Dr. Philipp Weinhold, meiner Mutter Monika Weinhold und vor allem bei meinem Vater Prof. Dr. Christian Weinhold bedanken – der Antrieb, der Rat und die Tat waren stets wichtige Begleiter für das Gelingen dieser Arbeit.

Alles wäre jedoch nicht ohne die Unterstützung meiner Frau Lisa Weinhold möglich gewesen, die durch Ihre Geduld und Liebe, mir die nötige Kraft und Ruhe in unserer ereignisreichen Zeit, mit unseren Kindern Isabella und Justus, gab und ermöglichte.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
DANKSAGUNG	5
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	6
TABELLENVERZEICHNIS.....	7
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1 EINLEITUNG	10
1.1 Ursprung, Aufbau und Funktion des Immunsystems	12
1.2 Stellenwert und Funktion der T-regulatorischen Zellen (Treg-Zellen)	15
1.3 Einfluss von Sport auf die Ausschüttung von pro- bzw. anti- inflammatorischen Zytokinen.....	18
1.4 Einfluss von Geschlecht und individueller Anlage auf die quantitative und qualitative Immunantwort nach Belastung.....	19
1.5 Die VO ₂ max sowie VO ₂ peak als Kriterium für allgemeine Ausdauerleistungsfähigkeit.....	20
1.6 Forschungsstand und sportphysiologisches, immunologisches Erkenntnisinteresse.....	21

2 MATERIAL UND METHODE	25
2.1 Das Probandenkollektiv	25
2.2 Die Probengewinnung.....	26
2.3 Die Durchflusszytometrie	28
2.4 Bestimmung der relativen VO ₂ peak.....	29
2.5 Vorbereitung der Daten zur Auswertung.....	31
2.6 Detailansicht der dot-plot Abbildungen	32
2.7 Statistische Auswertung.....	37
3 ERGEBNISSE	38
3.1 Momentumsportarten im Verhältnis zum relativen VO ₂ peak-Wert.....	38
3.2 Vergleich Momentumsportler vs. Freizeitsportler.....	39
3.3 Vergleich der Tertile.....	40
3.4 Treg-Zellen Konzentration Female vs. Male	41
3.5 Vergleich Tertile Female vs. Male.....	42
3.6 Untersuchung am Training der Hockeynationalmannschaft.....	43
4 DISKUSSION	46
4.1 Momentumsportarten und relativer VO ₂ peak-Wert	47
4.2 Momentumsportler vs Freizeitsportler	48
4.3 Tertile <i>low</i> , <i>intermediate</i> und <i>high</i>	50
4.4 Female vs. Male	51
4.5 Hockeynationalmannschaft Pre- und Postuntersuchung	53
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	55

6 LITERATURVERZEICHNIS.....	58
7 ANHANG	67
7.1 Trainingsplan Nationalmannschaft.....	67
7.2 Publikation der Dissertation	68
8 LEBENSLAUF	69

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: Verschiebung der Zytokinkonzentration bei steigender Belastung	17
Abb. 2: Visualisierung der Arbeitsschritte Treg-Zellen Population	29
Abb. 3: Digitale Darstellung der Gesamtleukozytenanzahl.	30
Abb. 4: Darstellung der Lymphozyten Subpopulationen CD3+ und CD3.....	31
Abb. 5: Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4 und T8	31
Abb. 6: Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4	32
Abb. 7: Ergebnis I	33
Abb. 8: Ergebnis II	33
Abb. 9: Momentumsporarten	38
Abb. 10: Vergleich der Treg-Zellen-Population zwischen Momentumportlern und Kontrollgruppe	39
Abb. 11: Vergleich der Treg-Zellen Konzentration bei den Momentumportlern nach Einteilung in die Tertile: <i>Low</i> , <i>Intermediate</i> und <i>High</i>	37
Abb. 12: Geschlechtervergleich bei den Momentumportlern bezogen auf die Treg- Zellen Konzentration.....	38
Abb. 13: Geschlechtervergleich bei den Momentumportlern bezogen auf die Treg- Zellen Konzentration nach Einteilung des jeweiligen Geschlechts in Tertile	39
Abb. 14: Aufteilung der Trainingsstunden der Hockeynationalmannschaft nach Intensität.....	41
Abb. 15: Vergleich der Treg-Zellen Konzentration bei den Spielern der Deutschen Hockeynationalmannschaft vor und nach intensiver Belastung.....	41

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Belastungsprotokoll des spiroergometrischen Tests.....	28
---	----

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

APC	Antigen presenting cells
BD	Bioscience Vacutainer
CD25	Cluster of differentiation 25
CTLA4	cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
Cy	Cyanin
e.V.	eingetragener Verein
EDTA	Ethylene diamine tetraacetic acid
END	endurance-trained athletes
et al	et alii
etc	et cetera
FoxP3	Forkhead-Box-Protein P3
G	Gravitationskraft
g	Gramm
GITR	glucocorticoid-induced TNFR-related protein
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
IFN	Inteferon
IL-2	Interleukin 2
IPEX-Syndrom	immune dysregulation polyendocrinopathy enteropath, x-linked-syndrome
MHC-Klasse-II	major histocompatibility cluster Klasse II
ml/min	Milliliter pro Minute
MTA	medizinisch-technische/r Assistent/-in
NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
REC	recreationally active individuals
SED	sedentary individuals
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SPR	sprint-trained athletes
T-Zelle	Thymus-Zelle
TGF-beta	Transforming growth factor alpha
Treg-Zellen	Thymus-regulatorische Zellen
URI	Upper respiratory illness

URI	Upper respiratory illness
VO ₂ max	Maximale Sauerstoffaufnahme
VO ₂ peak	Maximale Sauerstoffaufnahme unter Berücksichtigung eines bestimmten Testdesigns
VO ₂ rel	Relative Sauerstoffaufnahme
μl	Mikroliter
vs.	versus

1 EINLEITUNG

Sportliche Aktivität steht in Relation zu körperlicher Fitness und Gesundheit. Diese Wechselwirkung beruht darauf, dass sich Struktur und Funktion des Organismus unter Belastung bzw. Trainingsaktivität verändern und anpassen. Dies betrifft in besonderem Maße auch das Immunsystem, welches hier Gegenstand der Untersuchung ist.

Erste Beobachtungen über eine belastungsinduzierte Veränderung des Immunsystems wurden bereits 1988 und früher gemacht.^{1,2} Doch erst in den letzten 15 Jahren hat sich ein eigener sportimmunologischer Arbeitsbereich etabliert, der die Zusammenhänge zwischen sportlicher Belastung und dem Immunsystem wissenschaftlich untersucht.³ Mit der vorliegenden Arbeit soll eine Interaktion zwischen sportlicher Aktivität und dem darauf reagierenden Immunstatus anhand des Verhaltens der T-regulatorischen Zellen (Treg-Zellen) bei chronischer und akuter Belastung untersucht werden.

Bis Mitte der siebziger Jahre des vorigen Jahrhunderts standen die Untersuchungen des kardiopulmonalen Systems unter dem Aspekt der Trainingsgestaltung und der Leistungssteigerung im Zentrum der sportmedizinischen Forschung. Danach verschob sich das Interesse hin zur Klärung der Frage, welchen Einfluss körperliche Aktivität auf die Stoffwechselprozesse und -erkrankungen hat. Durch diese Forschungsreihen und den daraus gewonnenen Erkenntnissen ist es möglich geworden, sportliche Aktivität und körperliche Belastung in Beruf und Freizeit sowie in Theorie und Praxis in ganzheitlichem Ansatz neu zu definieren, weiterzuentwickeln und auf die Wechselwirkung mit dem Immunsystem auszudehnen.⁴

Aus Untersuchungen an Patienten, die sich großen operativen Eingriffen unterziehen mussten oder schwere Verletzungen erlitten hatten, ist bekannt, dass die systemischen Belastungen ihres Organismus mit einer ausgeprägten Immunreaktion einhergehen können. Hier reicht das Spektrum der beschriebenen Veränderungen von übersteigter unspezifischer Immunreaktion auf den Reiz, als *systemic inflammatory response syndrome* (SIRS) bezeichnet, bis zum Versagen des

Immunsystems, der sogenannten Immunparalyse, im Verlauf einer schweren Erkrankung bei einer bakteriellen Sepsis.^{5,6,7} Ähnlich verhält sich das Immunsystem auch bei hoher Belastung, die durch einen intensiven sportlichen Reiz ausgelöst wird. Die durch intensive sportliche Belastung hervorgerufenen Gewebsverletzungen etc., bewirken im Körper ebenfalls eine ausgeprägte Immunreaktion. Auf den genannten Gebieten hat das Wissen um die regulativen Vorgänge der Immunreaktion signifikant zugenommen. Besonderes Augenmerk der aktuellen Forschung liegt hierbei auf der Erkenntnis der Funktion der Lymphozyten. Diese nehmen im Rahmen der spezifischen Immunreaktion auf bekannte Krankheitserreger oder Antigene, aber auch bei der Steuerung unspezifischer Reaktionen im Rahmen der zellulären Abwehr eine Schlüsselfunktion ein. Neue Subpopulationen dieses Zelltyps wurden entdeckt und werden bezüglich ihrer Funktion noch diskutiert.

Diese Erkenntnisse um die immunologischen Reaktionsweisen des Organismus sind auch für die Sportmedizin von weitreichender Bedeutung. Schon kleinste Veränderungen, wie eine Stimulation oder Schwächung des Immunsystems, haben Auswirkungen auf den Organismus. Während eine Stimulation zumeist positive Effekte für den Leistungssportler nach sich zieht, so stellt eine Schwächung des Immunsystems den Leistungssportler zumeist vor erhebliche Probleme. Infektionen der oberen Atemwege sind dabei die häufigsten Gesundheitsstörungen, die bei Leistungssportlern als Trainingshemmnis beschrieben werden.^{8,9} Bei Freizeitsportlern oder sportlich nicht Aktiven wird eine solche Infektion möglicherweise nur als Störung der Befindlichkeit empfunden. Beim Leistungssportler hingegen führt ein solcher Infekt zu weitreichender Konsequenz. Die Schwächung des Organismus kann eine Unterbrechung seines Trainingsplans kurativ oder vorsorglich erforderlich machen. Dies kann zur Folge haben, dass der optimale Leistungszustand des Athleten bis zum beabsichtigten Wettkampf nicht mehr erreicht oder seine Teilnahme gar unmöglich wird.⁹ Um dieser Problematik vorzubeugen, gilt es, aufkommende Infektionen möglichst frühzeitig zu erkennen. Eine gezielte Analyse der individuellen Immunsituation des Athleten kann helfen, seinen Trainingsablauf rechtzeitig dem individuellen Leistungsbild anzupassen, um einem Missverhältnis zwischen Belastung und aktueller Belastbarkeit vorzubeugen. Somit wird trotz körperlicher Belastung und Training die individuelle physiologische Immunkompetenz des Athleten respektiert und gegebenenfalls sogar verbessert.

Als prominentes Beispiel aus der Praxis dient hier der Nordische Kombinierer und Weltklasseathlet Ronny Ackermann. In seiner langen Karriere war er häufig mit starken Leistungen in die Saison gestartet. Allerdings führten immer wieder während der Saison auftretende Krankheiten dazu, dass Ackermann seine Form nicht über eine ganze Saison hindurch beibehalten konnte. So zum Beispiel auch 2010 bei der Vorbereitung auf die Olympischen Spiele in Vancouver. Ackermann berichtete seinerzeit von einer Viruserkrankung und mangelnder Fitness, welche seine Olympiaqualifikation gefährden könne, bis er am 21.01.2010 in der Frankfurter Allgemeinen Zeitung¹⁰ schließlich seinen Verzicht auf die Olympischen Spiele in Vancouver aus gesundheitlichen Gründen bekannt gab. Die daraus resultierende Formschwäche erklärte er wie folgt:

„Die Entscheidung ist mir nicht gerade leicht gefallen, schließlich habe ich die vergangenen vier Jahre auf die Olympischen Spiele hintrainiert. Aber ich muss realistisch bleiben, in meiner derzeitigen Form würde ein Start in Vancouver einfach keinen Sinn machen ... Eigentlich bin ich seit meiner Virusinfektion im vergangenen Jahr nie mehr richtig in Tritt gekommen. Ich habe zwar gehofft, dass mir mit zusätzlichen Trainingseinheiten wieder der Anschluss gelingt, aber die letzten Weltcups haben ganz einfach gezeigt, dass ich zu weit weg von der Weltspitze bin.“¹⁰

Bereits 2008 sagte Ackermann schon einmal den Weltcup in Oberhof aufgrund einer Virusinfektion ab. In Absprache mit dem Mannschaftsarzt, dem Bundeswehrarzt und dem Bundestrainer entschieden sie sich damals gegen einen Start in Oberhof. Als Begründung gaben sie an, dass die Körper von Spitzenathleten und deren Immunsystem am Grenzbereich belastet werden, was dazu führen kann, dass solche Erkrankungen sich schnell zu einer Herzmuskelentzündung und zu dauerhaften Gesundheitsschäden entwickeln.¹¹

1.1 Ursprung, Aufbau und Funktion des Immunsystems

Das Immunsystem dient dem Organismus zur Abwehr von schädigenden äußeren Einflüssen durch Viren oder sonstige Mikroorganismen sowie durch entartete eigene Körperzellen. Durch fortwährende Anpassung und Selektion bei der

Auseinandersetzung mit den Noxen der jeweiligen Umweltsituation entstand im Laufe der Evolution ein komplexes System der Immunabwehr, welches stets darauf optimiert wurde und wird, seinen Träger vor möglichst vielen immunwirksamen Pathogenen zu schützen. Seit über 400 Millionen Jahren unterhält die Evolution einen stets hochdifferenzierten und anpassungsfähigen Abwehrmechanismus, bei dem viele Reaktionen nur von begrenzter Dauer sind und ständig nachreguliert werden, auch um immunologische Überreaktionen zu vermeiden.^{12,13,14}

Das Immunsystem unterscheidet beim Eindringen von Fremdsubstanzen in für den Organismus gefährliche oder ungefährliche Fremdsubstanzen. Schädigende Eindringlinge werden durch ein komplexes System erkannt und eliminiert, nützliche, wie zum Beispiel Nahrungsmittel oder Medikamente, werden toleriert.

Die Komponenten des Immunsystems entstammen – wie alle Bestandteile des Blutes – den pluripotenten, hämatopoetischen Zellen des Knochenmarks. Aus diesen Stammzellen entwickeln sich auch die lymphatischen Progenitorzellen, die sich im weiteren Verlauf in B(bone marrow)-Lymphozyten, T(Thymus-abhängige)-Lymphozyten und natürliche Killerzellen (NK-Zellen) differenzieren. Das Knochenmark produziert täglich 7×10^{10} weiße Blutzellen (Leukozyten) und kann bei Bedarf diese Produktivität um ein Vielfaches erhöhen. Dringen Krankheitserreger in den Körper ein, werden sie zunächst von den Phagozyten (Fresszellen) identifiziert, einverleibt und abgebaut. Dabei sendet dieser Leukozyt sowohl Chemokine (Lockstoffe) aus, die weitere Leukozyten zur Hilfe holen, als auch Zytokine (Botenstoffe), die eine Entzündungskaskade auslösen und dabei das Wachstum und die Differenzierung von Zielzellen anregen. Fragmente des abgebauten Erregers werden an die Oberfläche der Makrophagen (Phagozyten) transportiert und dort den T-Helferzellen präsentiert. Hiermit setzt die Aktivierung der Zellen des adaptiven Immunsystems an. Von ihnen geht eine Vielzahl weiterer in ihrer Bedeutung noch nicht vollständig entschlüsselter Botenstoffe aus, die Informationen und Signale zwischen den am jeweiligen Abwehrprozess beteiligten Zelltypen austauschen und die spezifische humorale und zelluläre Reaktionen bewirken und steuern.¹⁵

Seit jeher besitzt der höhere Organismus ein angeborenes und ein erworbenes (adaptives) immunologisches Abwehrsystem, das im effizienten Zusammenspiel den

Körper akut und nachhaltig vor schädigenden Eindringlingen schützt. Die angeborene Immunität stellt entwicklungsgeschichtlich die ältere Form der Verteidigung dar. Sie wird unabhängig von der Vorkenntnis des jeweils eindringenden Erregers aktiv und ist genetisch darauf programmiert, invariante Merkmale von Erregern zu erkennen, wobei die Struktur der beteiligten Proteine festgelegt ist. Dieser angeborenen steht die erworbene, adaptive Immunität zur Seite, welche bereits determinierte Antigene der Erreger erkennt und gezielt spezifische zelluläre Abwehrreaktionen und molekulare Antikörper gegen sie bildet. Die Feinabstimmung der spezifischen Immunantwort erfolgt wiederum über Zytokine, die als Botenstoffe zwischen den beteiligten Lymphozytensubpopulationen Informationen austauschen, sodass eine adäquate Reaktion und ein späteres Abschalten dieser Immunreaktion nach erfolgter Immunantwort gewährleistet wird.^{16,17} Die Wirkungsweisen beider Systeme unterscheiden sich in drei wesentlichen Punkten:

- Die erregerspezifische angeborene Immunität reagiert innerhalb weniger Stunden, während die Repräsentanten der adaptiven Immunität Tage benötigen, bis sie ihre Wirkung entfalten.¹⁸
- Die erregerspezifische adaptive Immunität ist in der Lage, eine nahezu unbegrenzte Zahl an unterschiedlichen spezifischen Rezeptoren zu erzeugen, wohingegen die angeborene Immunität hierbei nur über eine eingeschränkte Vielfalt verfügt.¹⁹
- Die adaptive oder erworbene Immunität baut ein lang anhaltendes, nachhaltiges Immungedächtnis auf, das es ihr ermöglicht, bei wiederholtem Eindringen eines schon bekannten Erregers eine beschleunigte spezifische Immunantwort einzuleiten. Die angeborene Immunität besitzt diese Eigenschaft nicht.^{20, 21}

Der adaptiven Immunität liegt ein Mechanismus zu Grunde, der auf dem Vorhandensein hochspezifischer Rezeptoren an der Oberfläche der T-Zellen basiert. Mit diesen Rezeptoren, deren Herstellung auf der Verarbeitung zuvor präsentierter antigener Merkmale beruht, erkennt und bindet der T-Lymphozyt dieses spezielle Antigen passgenau nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip (zelluläre Immunantwort). Die am erworbenen Immungeschehen beteiligten B-Lymphozyten können ebenfalls Antigene erkennen, produzieren darüber hinaus aber die Antikörper für die humorale

Immunantwort. In diesem immunologischen Netzwerk spielt die Zellgruppe der Suppressor-Zellen oder T-regulatorischen Zellen (Treg-Zellen) eine wichtige Rolle. Ihre Immunmodulation bei unterschiedlichen körperlichen Belastungssituationen soll in dieser Arbeit näher beleuchtet werden.^{22, 23}

1.2 Stellenwert und Funktion der T-regulatorischen Zellen (Treg-Zellen)

Die Treg-Zellen wurden 1970 erstmals beschrieben, über ihre Oberflächenantigene als eigene Subpopulation der T-Lymphozyten identifiziert und anfangs als *Suppressor-Zellen* bezeichnet. Nach ihrer Entdeckung war zunächst nur ihre suppressive Wirkung auf die Aktivierung des Immunsystems bekannt. Später wurden sie in *regulatorische T-Zellen* (Treg-Zellen) umbenannt, nachdem die weitere Forschung entdeckte, dass die von ihnen freigesetzten Zytokine sowohl immunhemmende als auch immunaktivierende, insgesamt also immunmodulierende Wirkung zeigten. Ihre Rolle im adaptiven Immunsystem ist Gegenstand aktueller Diskussion und Forschung.²⁴

Treg-Zellen sind nach heutigem Verständnis entscheidend für die Aufrechterhaltung der Homöostase. Sie sind für eine ausgewogene und angemessene Immunreaktion verantwortlich. Durch ihre Fähigkeit, Immunreaktionen auch unterdrücken zu können, verhindern sie eine Überreaktion der immunologischen Abwehr. Die regulatorischen T-Zellen lassen sich aufgrund der Proteine auf ihrer Zellmembran, die gleichzeitig für die Funktion der Zellen wichtig sind, in natürliche und induzierte bzw. adaptierte Treg-Zellen unterteilen.

Die natürlichen CD4⁺ CD25⁺ Treg-Zellen (CD = cluster of differentiation) sind die am besten charakterisierten Zellen. Sie machen 5-15 Prozent der totalen CD4⁺ T-Zellpopulation aus. Die natürlichen Treg-Zellen sind durch die Expression des Transkriptionsfaktors FoxP3 gekennzeichnet. Der Transkriptionsfaktor FoxP3 reguliert die Expression vieler Gene, welche entscheidend für die Differenzierung und Funktion der regulatorischen T-Zellen sind. Zu den durch FoxP3 regulierten Genen zählen beispielsweise CD25, CTLA4 und GITR. Mutationen im humanen FoxP3-Gen führen zum *immune dysregulation polyendocrinopathy enteropathy, X-linked - syndrome* (IPEX-Syndrom). Patienten mit IPEX-Syndrom entwickeln

Autoimmunerkrankungen, zu denen eine Autoimmunenteropathie, eine ekzematöse Dermatitis oder weitere Autoimmunendokrinopathien gehören.

Neben der Expression von FoxP3 lassen sich regulatorische T-Zellen anhand eines erweiterten spezifischen Expressionsmusters von Oberflächenmolekülen identifizieren. So exprimieren regulatorische T-Zellen auch den T-Zellmarker CD3 und den T-Helferzellmarker CD4. Darüber hinaus exprimieren sie die alpha-Kette des IL-2 Rezeptors CD25 sowie CD127, wobei der Rezeptor für IL-7 in nur sehr geringer Präsenz vorgefunden wird. Da FoxP3 ein intrazelluläres Molekül ist und nur mittels einer aufwendigen Intrazellulärfärbung nachgewiesen werden kann, werden Treg-Zellen häufig anhand der Expression der Oberflächenmarker CD3, CD4, CD25 und CD127 durchflusszytometrisch bestimmt. Der typische Phänotyp von Treg-Zellen ist CD3+ CD4+ CD25high CD127-. Dieser exprimiert neben CD3 und CD4 hohe Mengen CD25, jedoch kein CD127.

Treg-Zellen regulieren die Aktivität von T-Effektor-Zellen, speziell die Stärke und Dauer deren Antwort. Die Antwort der T-Effektor-Zellen bedarf einer exakten Kontrolle, um möglichen Gewebeschäden oder Autoimmunkrankheiten durch immunologische Fehlsteuerung vorzubeugen. Einmal aktiviert, können die Treg-Zellen sowohl die Vermehrung und Zytokinproduktion der T-Effektor-Zellen, als auch die Funktion der APC (= antigen presenting cells), die für die T-Effektor-Antwort zuständig sind, unterdrücken. Damit werden im Organismus unerwünschte oder überschießende Immunreaktionen auf körpereigene Strukturen unterdrückt. Treg-Zellen verwenden mehrere unterschiedliche Mechanismen, um T-Zell-Antworten zu unterdrücken. Sie benutzen kontaktabhängige wie auch zytokinabhängige Mechanismen zu deren Suppression. Zu den kontaktabhängigen Suppressionsmechanismen zählt die Expression von CTLA4. Die zytokinvermittelte Suppression beruht auf der Produktion der immunsuppressiven Zytokine IL-10 und TGF-beta, sowie von IL-4 und IL-13. ^{21, 25, 26, 27, 28, 29, 30}

Grundsätzlich haben Zytokine die Aufgabe, Zellen zum Reifen, Wachsen und Teilen anzuregen, oder genau solche Entwicklungen zu hemmen. Man spricht daher unter anderem von pro-inflammatorischen Zytokinen und anti-inflammatorischen Zytokinen. Zur besseren Verdeutlichung der zytokinvermittelten Immunsuppression wird im

Folgenden kurz näher auf die oben genannten Zytokine IL-10 und TGF-beta eingegangen. Die anti-inflammatorischen Zytokine IL-10 und TGF-beta bewirken eine Suppression der Effektorzellvermehrung. Das TGF-beta ist ein zu den Zytokinen zählendes Signalmolekül. Es verhindert die Produktion von IL-2 und reguliert die Hemmstoffe hoch, wodurch es die Proliferation von CD4+-Zellen hemmt.^{31,32} Darüber hinaus bewirkt TGF-beta eine Hemmung der pro-inflammatorischen Zytokinproduktion, indem es die Aktivierung von Makrophagen stört, sowie die Verringerung der Expression von MHC-Klasse-II Molekülen auf den dendritischen Zellen, was zur Folge hat, dass diese weniger Antigene präsentieren können.³¹

Das IL-10 gehört innerhalb der Zytokine zu der Familie der Interleukine. Es ist ein Zytokin, das die Effektorfunktionen der Monozyten bzw. der Makrophagen inhibiert. Dabei steht die Inhibition der Synthese von pro-inflammatorischen Zytokinen wie TNF-alpha und IL-1, IL-6, IL-8 und GM-CSF im Vordergrund. Das IL-10 unterdrückt folglich die Präsentation von Antigenen sowie die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen.³³

Weiter spielen die Interleukine IL-4 und IL-13 eine wichtige Rolle im Immunregulierungsprozess. Das IL-4 wird auch zu den anti-inflammatorischen Zytokinen gezählt. Grund hierfür ist die hemmende Wirkung auf die Makrophagenfunktion. Die Hauptfunktion entfaltet das IL-4 innerhalb der T-Zell-Kommunikation und leitet dort verschiedene Differenzierungs- und Proliferationsreize ein.

Das IL-13 unterdrückt pro-inflammatorische Zytokine wie IL-1, IL-6, IL-8 sowie TNF-alpha.³⁴ IL-13 ist dem IL-10 in seinen anti-inflammatorischen Eigenschaften ähnlich. Beide senken die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen.³⁵

Defekte an regulatorischen T-Zellen spielen eine Rolle bei der Entstehung von Autoimmunkrankheiten. Die Anwendung von regulatorischen T-Zellen zur Behandlung vieler immunvermittelter Erkrankungen ist ein reges Forschungsfeld. Erste Behandlungserfolge am Patienten konnten auf diesem Gebiet bereits erzielt werden. Darüber hinaus wird versucht, durch Depletion (= selbstregulatorische Erschöpfung) der regulatorischen T-Zellen die antitumorale Immunantwort zu

verstärken. Eine entsprechende Beeinflussung der regulatorischen Treg-Zellen scheint hierbei ein vielversprechender therapeutischer Ansatz zu sein.³⁶

1.3 Einfluss von Sport auf die Ausschüttung von pro- bzw. anti-inflammatorischen Zytokinen

Körperliche Aktivität oder Belastung bedingt eine Veränderung der Zytokinfreisetzung. Es handelt sich hierbei sowohl um pro-inflammatorische als auch um anti-inflammatorische Zytokine, deren Produktionsniveau durch Sport oder körperliche Belastung verändert wird.³⁷ Durch die körperliche Belastung werden vor allem anti-inflammatorische Zytokine freigesetzt, was im Gegensatz zu einer bakteriellen Entzündung und der damit einhergehenden Freisetzung von pro-inflammatorischen Zytokinen steht. Die Studie von Pedersen und Goetz aus dem Jahre 2000 zeigt auf, dass die für bakterielle Entzündung typische initiale Erhöhung von TNF-alpha und IL-1-beta bei körperlicher Belastung ausbleibt bzw. nur gering ausgeprägt ist, wogegen IL-6 und das anti-inflammatorische IL-10 deutlich erhöht sind.^{37,38} Insbesondere IL-6 ist in den letzten Jahren intensiv untersucht worden, wobei der Nachweis erbracht wurde, dass körperliche Ertüchtigung zwar kurzfristig die IL-6 Ausschüttung steigert, allerdings langfristig zu einer chronischen Veränderung der IL-6 Ausschüttung führt, sodass der basale IL-6 Spiegel im Blut reduziert wird. Weitere Studien zeigen, dass zum Beispiel bei einer Gruppe von inaktiven Frauen ein moderater Trainingsload über den Zeitraum von sechs Wochen zu einer Steigerung der IL-2 führt.³⁹ Dagegen zeigen frühere Studien, bei denen ein intensiver Trainingsload veranschlagt wurde, dass dadurch ein Abfall des IL-2 zu beobachten ist.⁴⁰

Für eine Beurteilung des Einflusses von körperlicher Aktivität bzw. Sport ist es weiterhin wichtig, eine differenzierte Betrachtung bezogen auf Art, Umfang und Intensität vorzunehmen. Handzlik et al. beschreiben in ihrer 2013 erschienenen Studie, welche sich mit dem Einfluss von körperlichem Training auf die IL-10 Produktion sowie die Anzahl der Treg-Zellen im Blut befasst, dass bei hohen Trainingsbelastungen in ihrer Ausdauergruppe ein Anstieg der IL-10 Produktion sowie der Treg-Zellen Anzahl zu beobachten war. Die Ergebnisse lassen die Autoren

darauf schließen, dass dieser Zusammenhang einen möglichen Mechanismus der Immundepression bei Athleten mit hohem Trainingsaufwand darstellt.⁴¹

Körperliche Belastung verursacht eine Veränderung der pro- und anti-inflammatorischen Zytokine (wie in Abbildung 1 graphisch dargestellt), die sich in komplexen Veränderungen des Immunsystems widerspiegeln.⁴²

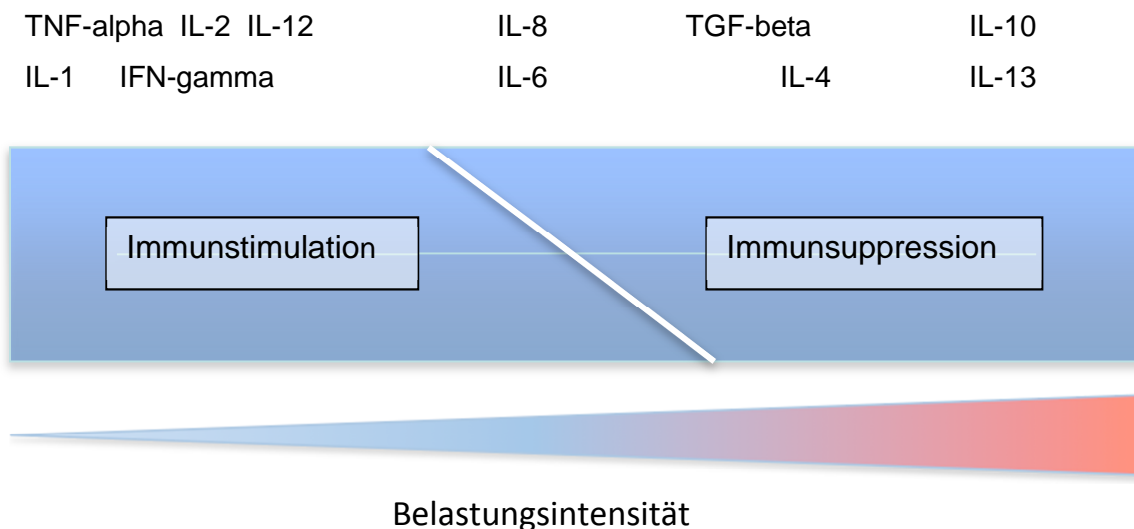


Abb. 1: Verschiebung der Zytokinkonzentration bei steigender Belastung von pro- zu anti-inflammatorischen Zytokinen. Zytokine lösen unterschiedliche Reaktionen in ihren Zielzellen aus. Sie sind Teil des Immunkreislaufes, der unter anderem aus immunstimulierenden Zytokinen sowie immunsupremierenden Zytokinen besteht (abgewandelte Darstellung)⁴³

1.4 Einfluss von Geschlecht und individueller Anlage auf die quantitative und qualitative Immunantwort nach Belastung

Durch Studien wurde nachgewiesen, dass geschlechtsspezifische Unterschiede bei der Qualität und Quantität einer provozierten Immunantwort bestehen. Dabei wurde deutlich, dass Frauen im Vergleich zu Männern unter Belastung mit einer verstärkten Immunantwort reagieren. Dies betrifft sowohl die adaptive als auch die angeborene antikörpervermittelte und zelluläre Immunantwort. Frauen sind demnach weniger infektionsanfällig als Männer, jedoch aufgrund ihrer verstärkten Immunantwort auch gefährdeter, an Autoimmunkrankheiten oder Allergien zu erkranken.^{44,45} Als Ursache hierfür werden in der Literatur differente Auswirkungen der unterschiedlichen Geschlechtshormone von Männern und Frauen diskutiert. So fungiert zum Beispiel das weibliche Sexualhormon *Östrogen* im Rahmen der Immunantwort stimulierend

auf die Produktion von proinflammatorischen Zytokinen. Diese binden sich an spezifische Oberflächenrezeptoren und beeinflussen das zelluläre Umfeld der Zielzelle, entweder auf direkt oder indirektem Wege. Testosteron hingegen vermittelt eher immunsupprimierende Effekte auf das Immunsystem und hemmt die Produktion von Antikörpern.^{44, 45, 46,47}

Eine weitere Ursache für die unterschiedliche Reaktionsweise weiblicher und männlicher Immunverarbeitung liegt in ihrer geschlechtsspezifischen genetischen Determinierung. So werden viele immunmodulatorische Faktoren durch das X-Chromosom kodiert. Jedoch gilt es bezüglich des genetischen Einflusses auf die qualitative und quantitative Immunantwort noch weitere Untersuchungen abzuwarten, um eine wissenschaftlich fundierte Bewertung vornehmen zu können.⁴⁶ Dieser ursächliche Zusammenhang wird daher auch nicht schwerpunktmäßig in dieser Arbeit abgehandelt. Dennoch werden geschlechtsspezifische Vergleiche gezogen, da – wie oben beschrieben – unterschiedliche Immunantworten auf sportliche Aktivität und Belastung gegeben sind, welche im Ergebnis berücksichtigt werden müssen.

1.5 Die $VO_2\text{max}$ sowie $VO_2\text{peak}$ als Kriterium für allgemeine Ausdauerleistungsfähigkeit

Die Ermittlung der aeroben Leistungsfähigkeit ist ein wichtiger Bestandteil der Ausdauerleistungsdiagnostik, in deren Zusammenhang die Bestimmung der maximalen Sauerstoffaufnahme ($VO_2\text{max}$) als besonders aussagekräftig gilt, da alle an der Sauerstoffzufuhr, Sauerstoffbeförderung und Sauerstoffnutzung beteiligten Organsysteme (Lunge, Herz-Kreislaufsystem und Muskulatur) mithilfe dieses einen Parameters beurteilt werden können. Der $VO_2\text{max}$ bezeichnet die Menge an Sauerstoff in ml/min, die ein Mensch unter maximaler Belastung durch die Atmung aufnehmen, durch das Herz-Kreislaufsystem transportieren und in den Zellen verwerten kann. Da dieser Wert von den eben genannten Faktoren abhängig ist, spiegelt er die kardiorespiratorische Kapazität wieder, die entscheidend für die körperliche Ausdauerfähigkeit ist.⁴⁸ In verschiedenen Arbeiten wird $VO_2\text{max}$ als wichtiges Kriterium zur Bemessung der kardiopulmonalen Kapazität und als bedeutender Indikator für die aerobe Trainingskapazität beschrieben.⁴⁹ Somit reflektiert der $VO_2\text{max}$ die Ausdauerleistungsfähigkeit und physische Fitness von

Individuen^{50,51,52} und wird im Leistungssport als Parameter für die Beurteilung des aktuellen Ausdauertrainingszustandes herangezogen.^{52, 53}

Das in dieser Arbeit durchgeführte Testdesign ermöglicht die Feststellung der relativen $VO_2\text{peak}$, die ebenso wie der $VO_2\text{max}$ als ein Parameter für die Leistungsfähigkeit des Athleten steht. Der $VO_2\text{peak}$ -Wert steht für die maximal erreichte Sauerstoffaufnahme und die aufgewendete Anstrengung des Athleten während eines bestimmten Testdesigns. Um den Ausdauertrainingszustand mit anderen Individuen zu vergleichen, sind $VO_2\text{max}$ -Wert wie auch maximaler $VO_2\text{peak}$ -Wert aber nur bedingt geeignet, da sie die unterschiedlichen anthropologischen Daten wie Gewicht und Größe der jeweiligen Person nicht berücksichtigen. Zur besseren Vergleichbarkeit erfolgt daher in vorliegender Studie eine Normierung auf das Körpergewicht. Der daraus entstehende Messwert wird als relativer $VO_2\text{peak}$ bezeichnet, in der Einheit ml/min/kg angegeben und spiegelt die relative maximale Sauerstoffaufnahme wider.⁵⁴

1.6 Forschungsstand und sportphysiologisches, immunologisches Erkenntnisinteresse

Wie unter anderem in der *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* (2002) beschrieben, gibt es viele Untersuchungen (siehe oben), die sich mit dem Thema der belastungsinduzierten Leukozytose als Reaktion des Immunsystems auf sportliche Aktivität befassen. Diese Studien kommen teilweise zu dem Ergebnis, dass die sportliche Ertüchtigung bis zu einem gewissen Ausmaß einen positiven Effekt auf den Gesundheitszustand sowie die Immunabwehr ausübt, teilweise aber auch zu einer reduzierten Immunkompetenz und damit erhöhten Infektionsanfälligkeit führt. So beschreiben Baum und Liesen⁵⁵, dass akute Belastung eine erhebliche Veränderung des peripheren Blutbildes auslöst, indem das zelluläre Immunsystem mit einer Leukozytose reagiert. Klinisch betrachtet könnte schon in diesen Veränderungen die Ursache für die erhöhte Inzidenz von Infektionskrankheiten bei Leistungssportlern liegen. Es wird davon ausgegangen, dass die beschriebenen Veränderungen als Folge der physischen und psychischen Belastung durch die direkte oder indirekte Wirkung von Stresshormonen wie Katecholamin und Cortisol ausgelöst werden. In diesem Zusammenhang wird in der Literatur von einer

belastungsinduzierten immunbiologischen Reaktion als Modell für die Stresswirkung auf das Immunsystem gesprochen.^{49, 56}

Nach Foster⁵⁷ gilt es anzunehmen, dass im Anschluss an eine körperliche oder psychische Belastung das Erkrankungsrisiko steigt. Dieses geschieht häufig, wenn Athleten ihre individuelle Trainingsschwelle überschreiten, vor allem in Hinsicht auf die Intensität des Trainings. Foster nennt diesen Prozess *Open-Window-Theorie*. Eine Erklärung hierfür könnte darin bestehen, dass durch die hohe körperliche Belastung die Immunabwehr zeitweise unterdrückt wird und in diesem Intervall der Leistungssportler einem erhöhten Risiko einer Infektion durch die reduzierte Immunkompetenz ausgesetzt ist.

Diesen Ansatz griffen Kakanis et al.⁵⁸ auf und untersuchten daraufhin 25 männliche A-Kader-Radfahrer. In der Auswertung ihrer Ergebnisse fanden sie Hinweise für eine Bestätigung der *Open-Window-Theorie*. So waren bei den Radfahrern nach einem intensiven Ausdauertraining die absolute Lymphozytenanzahl, die Anzahl der NK-Zellen im peripheren Blut sowie die phagozytische Funktion der Neutrophilen deutlich reduziert. Auch Stunden nach dem Training hatten verschiedene Parameter immer noch nicht wieder ihr Normalniveau erreicht, was möglicherweise Auswirkungen auf die Immunkompetenz gegenüber URI (*upper respiratory illness*) haben könnte.⁵⁸

Horn et al.⁵⁹ beobachteten über einen Zeitraum von 10 Jahren die Leukozytenkonzentrationen bei Leistungssportlern aus 28 verschiedenen Sportarten ohne Induzierung einer speziell vorausgehenden Belastung. Ziel der Studie war zu untersuchen, inwieweit sich welche Sportart auf die Leukozytenkonzentration des jeweiligen Organismus auswirkt. Zu Beginn wurden die verschiedenen Sportarten nach Belastungstyp definiert und sortiert, um einen besseren Rückschluss darauf ziehen zu können, ob die Sportler der jeweiligen Disziplin in einer ausdauerdominanten Sportart agieren oder in einer mechanisch *skill-based* dominierten Sportart. Dazu ließen Horn et al.⁵⁹ die 28 ausgewählten Sportarten von 13 Sportphysiologen nach der für die Sportarten typischen mechanischen und oder metabolischen Belastungen auf einer Skala von 1-5 bewerten. Im Ergebnis zeigten ihre Studien, dass Sportler von Ausdauersportarten wie Triathlon im Vergleich eine

geringere Leukozytenkonzentration aufwiesen, als Sportler aus *skill-based* Sportarten wie Wasserball.⁵⁹

Wie schon erwähnt befassten sich Handzlik et al.⁴¹ in ihrer 2013 erschienenen Studie mit dem Einfluss von körperlichem Training auf die IL-10 Produktion sowie die Anzahl der Treg-Zellen im Blut. Hierfür untersuchten sie 40 gesunde männliche Studenten, deren sportliches Leistungsvermögen von eher weniger sportlich aktiven Personen bis hin zu Olympiateilnehmern im Triathlon variierte. Die Gruppe wurde in vier Untergruppen aufgeteilt: *sprint-trained athletes* (SPR), *endurance-trained athletes* (END), *recreationally active individuals* (REC) und *sedentary individuals* (SED). Handzlik et al. zeigen unter anderem auf, dass eine hohe Trainingsbelastung in ihrer *endurance-trained athletes* (END) Gruppe in Verbindung mit einer steigenden IL-10 Produktion, sowie Treg-Zellen Anzahl zu beobachten war. Die Ergebnisse lassen die Autoren ebenfalls schließen, dass dieser Zusammenhang einen möglichen Mechanismus der Immundepression bei Athleten mit hohem Trainingsaufwand darstellt.⁴¹

Wie in der Einleitung bereits beschrieben, beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der Frage, ob durch sportliche Aktivität die Reaktionsweise des Immunsystems von Kaderathleten verändert wird. Inspiriert wurde diese Frage durch die immer wieder auftretenden gesundheitlichen Probleme bei Sportlern wie im oben genannten Fall des Ronny Ackermann. In verschiedenen Arbeiten ist diese Thematik bereits aufgegriffen und mit unterschiedlichen Methoden untersucht worden, wobei gerade Infekte der oberen Atemwege als häufigste Erkrankung protokolliert werden. Bezugspunkt für die Auswertung ist zumeist die Bestimmung der maximalen Sauerstoffaufnahme ($VO_2\text{max}$) sowie die Verlaufsbeobachtung gängiger Leukozytenparameter vor, während und nach einer akuten Belastung.^{58,59,60} In verschiedenen aktuellen Veröffentlichungen wird von Studienergebnissen berichtet, die zeigen, dass gerade die Treg-Zellen eine entscheidende Rolle im Kontext der Immunreaktion einnehmen. Daher legt die vorliegende Arbeit ein besonderes Augenmerk auf die T-regulatorischen Zellen. Insbesondere die folgenden Fragen sollen in dieser Arbeit beantwortet werden:

- F1: Haben Leistungssportler aufgrund ihrer chronischen Trainings- und Wettkampfbelastung eine höhere Konzentration an Treg-Zellen im peripheren Blut als sportlich nicht aktive Menschen bzw. Freizeitsportler?**
- F2: Hat das Geschlecht Einfluss auf die Treg-Zellen Konzentration?**
- F3: Wirkt sich die Belastungsart auf die Konzentration der Treg-Zellen im peripheren Blut aus und gibt es dabei geschlechtsspezifische Unterschiede?**
- F4: Hat eine akute und intensive Belastung einen direkten Einfluss auf die Treg-Zellen-Konzentration im peripheren Blut?**

2 MATERIAL UND METHODE

2.1 Das Probandenkollektiv

Im Rahmen der Untersuchung zum Thema *Einfluss von körperlichem Training auf die Homöostase von regulatorischen T-Zellen* wurde ein Ethikvotum bei der Deutschen Sporthochschule eingeholt. Für die Studie wurden insgesamt 295 Probanden rekrutiert und über das Prozedere der Untersuchungen aufgeklärt. Jeder Proband gab hierzu seine freiwillige schriftliche Einverständniserklärung ab. Es wurde eine Aufteilung der 295 Probanden in drei Gruppen vorgenommen:

(I) Die Basisgruppe, welche aus 256 Sportlern im Alter von 9 bis 28 Jahren besteht. Bei diesen Sportlern handelt es sich um Kaderathleten/Leistungssportler aus dem Spilsport-, Ausdauersport-, Kraft/Schnelligkeitssport- und Techniksportbereich. Sie werden von *Momentum – das Deutsche Forschungszentrum für Leistungssport Köln* – betreut und im Rahmen des in regelmäßigen Abständen stattfindenden Basischecks untersucht. Dieser Basischeck wurde zur Entwicklung und Etablierung eines standardisierten Messinstruments im Jahre 2006 installiert. Die im Basischeck durchgeführten Maßnahmen werden an einem Untersuchungstag vollzogen und für alle Athleten, unabhängig von Kader, Alter oder Sportart, nach einem festen Zeitplan mit standardisierten diagnostischen Methoden durchgeführt. Ziel dieses Basischecks ist es, reproduzierbare und vergleichbare Laborparameter der sportwissenschaftlichen Praxis und korrespondierend auch von Leistungs- und Gesundheitsrelevanz zu erfassen. Dazu gehören im Wesentlichen die kardiologisch-internistische Untersuchung, die Ausdauer- und Kraftdiagnostik, die biomechanische Funktionsdiagnostik und eine zahnmedizinische Untersuchung.⁶¹

(II) Eine Gruppe von Sportlern, die aus dem Bereich der Spilsportarten generiert wurde. Diese Gruppe stellt sich zusammen aus den Teilnehmern der Deutschen Hockeynationalmannschaft der Herren, die sich zu diesem Zeitpunkt (Stand: April 2012) auf die olympischen Sommerspiele in London vorbereiteten. Sie wurde beim Mannheimer Hockeyclub e.V. während eines in Mannheim stattfindenden Athletiklehrgangs (05.02. bis 12.02.2012) untersucht. Die Gruppe umfasste ursprünglich 28 Athleten, wobei letztlich nur 19 Hockeyspieler in diese Studie

aufgenommen wurden, da 9 Spieler wegen akuter Infekte bzw. einer das Immunsystem alterierenden Therapie, wegen Symptomen eines Überlastungssyndroms oder aus Gründen einer Verletzung von der Studie ausgeschlossen werden mussten.

(III) Eine Gruppe von 19 Probanden, welche weder einem sportbezogenen Kader angehörten, noch Leistungssport betrieben. Diese Vorgaben wurden durch eine mündliche Bestätigung der Teilnehmer verifiziert. Diese dritte Gruppe diente als normwertige Vergleichsgruppe zu den zwei oben genannten, um etwaige Unterschiede, Veränderungen oder Gemeinsamkeiten zwischen den drei Gruppen erkennen zu können. Die Untersuchungen dieser Gruppe fanden über einen Zeitraum von drei Monaten (März bis Mai 2012) statt.

2.2 Die Probengewinnung

Die Sportler der Gruppe **(I)** unterzogen sich im Zuge des Basischecks einer Abnahme von 3 ml venösen Vollbluts in ein *BD Biosciences Vacutainer* (Heidelberg), versetzt mit dem Komplexbildner EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid), welcher der Gerinnungshemmung des Blutes dient. Die Blutabnahme erfolgte im Zeitraum von 2007 bis 2010 stets mittwochs zwischen 8 und 16 Uhr und wurde von einer MTA (medizinisch-technischen Assistentin) des Institutes für Kreislaufforschung und Sportmedizin vorgenommen. Daraus wurde die Messung der Gesamtleukozytenzahl mit dem vollautomatischen Blutzellmessgerät *Sysmex KX 21N* (Digitana AG, Hamburg) durchgeführt. Die Proben wurden innerhalb von 24 Stunden markiert und fixiert und durchflusszytometrisch analysiert.

Die Gruppe **(II)** ermöglichte eine Erweiterung des methodischen Vorgehens. So wurden die Sportler im Rahmen eines 8-tägigen Athletiktrainingslagers in Mannheim betreut. Es wurden zwei Zeitpunkte zur Blutabnahme veranschlagt. Der erste zu Beginn des Trainingslagers, als Pretest (in den betreffenden Figuren als **Pre** gekennzeichnet), zur Bestimmung der Immunparameter vor der noch folgenden intensiven sportlichen Belastung.

Der zweite, als Posttest (in den betreffenden Figuren als **Post** gekennzeichnet), nach Beendigung des Athletiktrainingslagers, um erwartete signifikante Veränderungen der Immunparameter darstellen zu können. Den Probanden wurde ebenfalls 3 ml Vollblut venös entnommen und in EDTA-haltige BD Vacutainer abgefüllt. Die erste Abnahme fand zwischen 7.30 Uhr und 9.00 Uhr vor der sportlichen Belastung des Trainingslehrganges statt. Die entnommenen Blutproben wurden binnen 4 Stunden per Kurier nach Köln zum Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin, Abteilung für molekulare und zelluläre Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln, geschickt. Dort wurden sie innerhalb von 20 Stunden nach der Entnahme für die durchflusszytometrische Untersuchung mit monokularen Antikörpern markiert und fixiert. Die Messung der Gesamtleukozytenzahl wurde wiederum mit dem vollautomatischen Blutzellmessgerät *Sysmex KX 21N* durchgeführt.

Die zweite Abnahme fand sechs Tage später ebenfalls im Zeitraum von 7.30 Uhr bis 9.00 Uhr nach Beendigung des Athletiklehrganges statt. Das Blut wurde binnen 4 Stunden wieder per Kurier nach Köln zum Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin, Abteilung für molekulare und zelluläre Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln, geschickt. Dort wurde es innerhalb den verbleibenden 20 Stunden mit den monokularen Antikörpern markiert. Die Messung der Gesamtleukozytenzahl wurde mit dem vollautomatischen Blutzellmessgerät *Sysmex KX 21N* durchgeführt.

Bei der Gruppe **(III)** der sportlich nicht aktiven Teilnehmer wurde die Blutentnahme in zwei Etappen innerhalb eines Monats durchgeführt. Die Blutabnahme erfolgte im Heilig-Geist-Krankenhaus Köln. Diesen Probanden wurde ebenfalls 3 ml Vollblut venös entnommen und in *BD EDTA-Vacutainer* abgefüllt. Auch diese Proben wurden ins Labor des Instituts für Kreislaufforschung und Sportmedizin, Abteilung für molekulare und zelluläre Sportmedizin der Deutschen Sporthochschule Köln, gebracht und dort innerhalb der 24 Stunden mit den monokularen Antikörpern markiert. Die Messung der Gesamtleukozytenzahl wurde zur Wahrung gleicher Bedingungen wieder mit dem vollautomatischen Blutzellmessgerät *Sysmex KX 21N* durchgeführt.

2.3 Die Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie erlaubt die Analyse unterschiedlicher Zellpopulationen aufgrund ihrer unterschiedlichen Zellgröße, Granularität und Färbung mittels monoklonaler fluoreszenzmarkierter Antikörper, die gegen Oberflächenantigene oder intrazelluläre Antigene gerichtet sind. Je Probe wurden 50 µl Vollblut verwendet. Diese wurden mit dem *Mastermix Treg*, bestehend aus den Antikörpern: *CD3 PE-Cy7*, *CD4 APC-Cy7*, *CD127 PE*, *CD25 APC (BD, Heidelberg)* bei Raumtemperatur zwischen 20 und 30 Minuten im dunklen Raum inkubiert. Zur Fixierung der Leukozyten wurde 50 µl *Cal-Lyse Lysing Solution (Invitrogen Corporation, Camillo)* zugegeben und nach vorsichtigem Vortexen mit dem *Vortex Genie II (Scientific Industries Inc., New York)* die Probe abermals 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von 500 µl H₂O zur Hämolyse der Erythrozyten. Die Zellen wurden unter Ausschluss von Licht erneut 3 bis 5 Minuten inkubiert und anschließend bei 300 G 5 Minuten lang in der *Rotixa RS120-Zentrifuge (Andreas Hettich GmbH und Co. Kg, Tuttlingen)* zentrifugiert. Der daraus resultierende Überstand wurde abpipettiert und die Pellets resuspendiert (vereinzelt). Als nächster Schritt wurden die Zellen 2-mal mit 800 µl *BD Cell Wash* gewaschen und bei 200 G 5 Minuten lang zentrifugiert. Auch hier wurde der Überstand abpipettiert. Weiter wurden 250 µl *BD Cell Wash* zur Resuspendierung der Zellen dazugegeben. Das Endvolumen der so gewonnenen Substanz ergab eine Menge von 250 µl. Die Aufbereitung der Proben wurde in 1,2 ml fassenden unsterilen *Corning Tubes (OLS Omni Science, Bremen)* durchgeführt.

Die Substanzen wurden abpipettiert und aus jeder Probe wurden 200 µl in eine 96 *Well-Platte* gegeben. Die Zellen wurden unter Verwendung der *FACSDiva Software (BD, Heidelberg)* mit einem *FACScan Durchflusszytometer (BD, Heidelberg)* gemessen.

Die durchflusszytometrischen Daten wurden mithilfe der *Kaluza (Beckman Coulter GmbH, Krefeld) Software* ausgewertet und anschließend manuell in eine Excel Tabelle übertragen. Dabei wurden nur diejenigen Proben weiter analysiert, die zuvor definierte Qualitätskriterien erfüllten. Proben, bei denen der Anteil an apoptotischen Zellen im FCS/SSC-Plot größer als 10% war, wurden von der weiteren Analyse

ausgeschlossen. Weiterhin durfte die Anzahl der gemessenen Ereignisse im Treg-Gate 100 Events nicht unterschreiten

2.4 Bestimmung der relativen VO₂peak

In dieser Arbeit wurde der Trainingszustand anhand der relativen VO₂peak bestimmt. Die Einteilung der Sportarten bezüglich Ausdauer und Nicht-Ausdauersportarten erfolgte entsprechend der mittleren relativen VO₂peak und der anzunehmenden Trainingsbelastung. Die Ermittlung der relativen VO₂peak bei den Momentumsporlern erfolgte im Rahmen des oben beschriebenen Basischecks. Zur Quantifizierung der kardio-pulmonalen und metabolischen Leistungsfähigkeit wurde eine Atemgasanalyse, eine Blutlaktatkonzentrationsmessung und eine Herzfrequenzbestimmung durchgeführt. Die Sportler absolvierten auf dem Laufband (*Woodway ELG 90*, Riehl am Rhein) einen standardisierten Stufentest nach einem Messprotokoll von Mader (1976). Das zur Anwendung gekommene Belastungsprotokoll des spiroergometrischen Tests kann der Tabelle 1 entnommen werden.

	Laufbandergometrie
Belastungssteigerung	Änderung der Geschwindigkeit
Anfangsbelastung	2,4 m/s
Belastungsabstufung	0,4 m/s
Stufendauer	5 min.
Belastungsabbruch	Subjektive maximale Ausbelastung
Weitere	Laufbandsteigung 1 %

Tabelle 1: Belastungsprotokoll des spiroergometrischen Tests nach Engelmeyer 2012⁵⁴

Zur Ermittlung der relativen VO₂peak wurde den Athleten eine luftdichte Silikonmaske über Mund und Nase angelegt. Die sich ableitenden Atemgase und deren Bestimmung erfolgte durch den Analysator *ZAN 600* (*ZAN MESSGERÄTE GmbH*, Oberthulba). Die Analyse erfolgte nach der *Breath by Breath* Methode. Vor

jeder Messung wurde an dem Analysegerät eine Volumen-Gaskalibration durchgeführt und die Werte für Temperatur und Luftfeuchtigkeit gespeichert. Die im Test ermittelten Werte stellen aufgrund des Testdesigns nicht die maximal erreichbare (relative oder absolute) Sauerstoffaufnahme dar.⁶² Grundsätzlich handelt es sich um einen systematischen Unterschied, der alle Athleten betrifft und daher keine Relevanz hat.⁵⁴

2.5 Vorbereitung der Daten zur Auswertung

In der Vorbereitung für die statistische Auswertung galt es, die Zellpopulationen zu erfassen und darzustellen. Abbildung 2 verdeutlicht das Vorgehen und Eingrenzen der für diese Arbeit wichtigen Treg-Zell-Populationen.

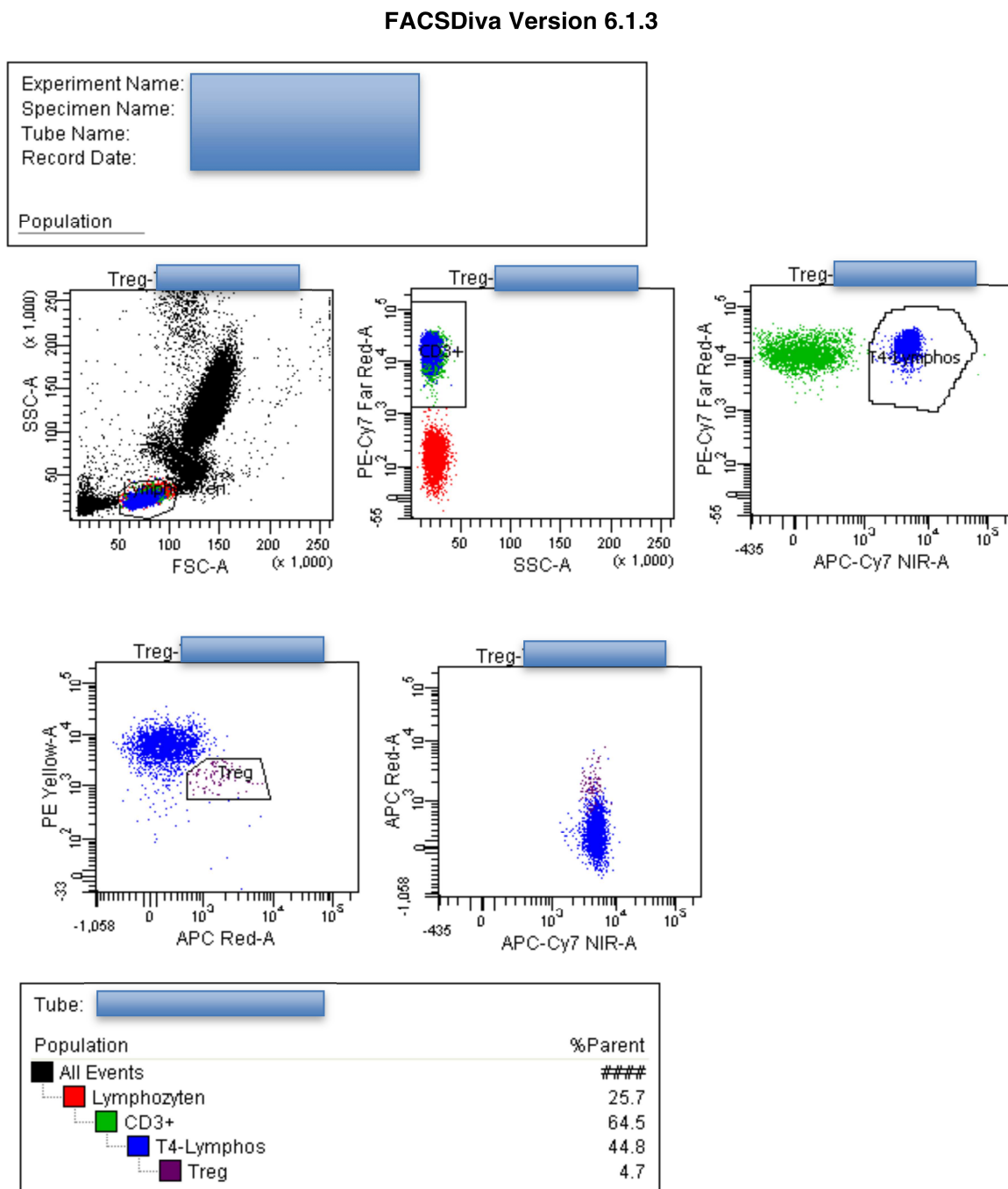


Abb. 2: Visualisierung der Arbeitsschritte zur Erfassung der Treg-Zellen Population

In einer Vollblutprobe sind verschiedene Zellpopulationen vorhanden. Um die für diese Arbeit wichtigen Lymphozytenpopulationen zu generieren und zu erfassen,

wurden sie durchflusszytometrisch analysiert. Mithilfe der Eigenschaften oder Parameter (Zellgröße, Zellgranulität) eines Partikels basierend auf seiner durch einen oder mehrere Laser verursachten Lichtstreuung und den Fluoreszenzmerkmalen können die Zellpopulationen digital dargestellt werden. Um eine genaue Abgrenzung der Populationen zu erlangen und spezifischer auf die Subpopulationen eingehen zu können, müssen in verschiedenen Arbeitsschritten *Gates* gesetzt werden, welche die im Fokus befindlichen Populationen eingrenzen und in einer weiteren dot-plot darstellen. Die in Abbildung 2 dargestellten dot-plot Abbildungen spiegeln den Prozess zur Erfassung der Lymphozytenpopulation und ihrer Subpopulationen wider.

2.6 Detailansicht der dot-plot Abbildungen

Schritt 1

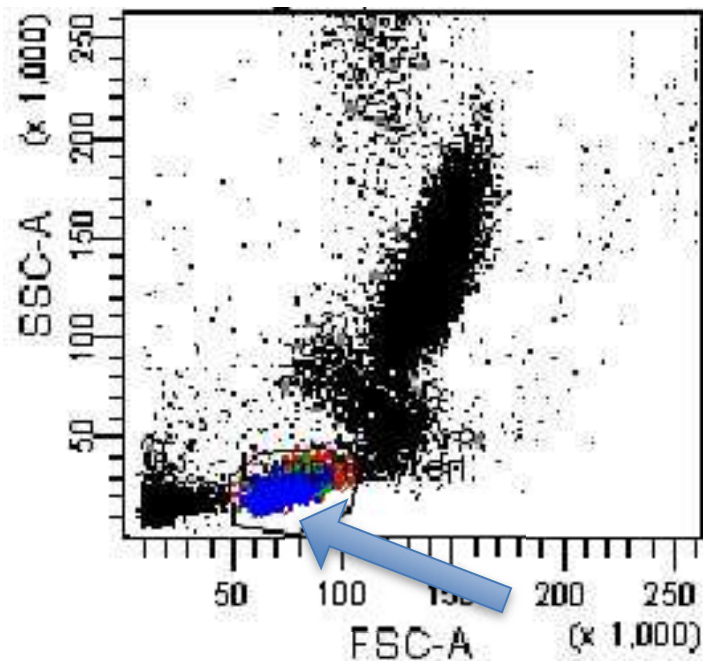


Abb. 3: Digitale Darstellung der Gesamtleukozytenanzahl.

Der Pfeil verweist auf das gesetzte Gate zur Eingrenzung/Erfassung der Lymphozytenpopulation.

Schritt 2

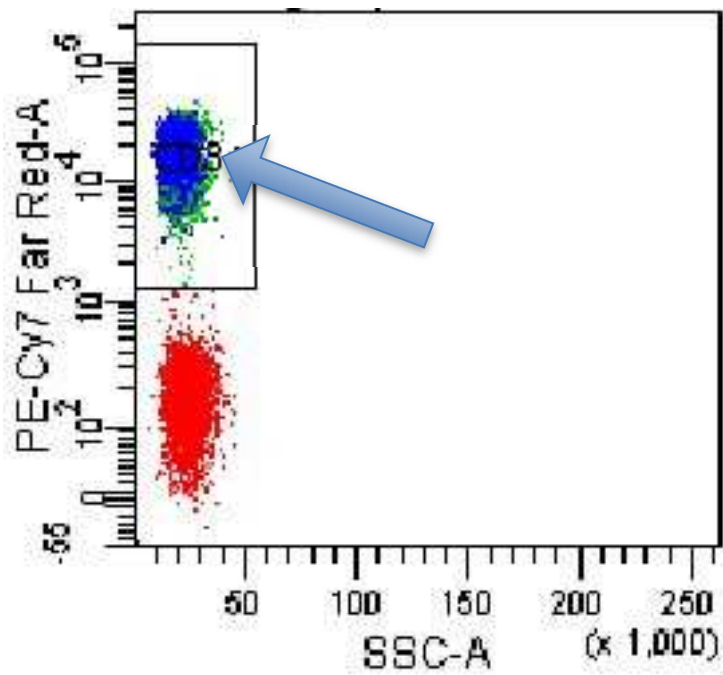


Abb. 4: Darstellung der Lymphozyten Subpopulationen CD3+ und CD3-

Abbildung 4 zeigt die digitale Darstellung der in Schritt 1 gegateten Lymphozyten und der daraus resultierenden Darstellung der Lymphozyten in die Subpopulationen CD3+ und CD3-. Der Pfeil verweist auf das gesetzte Gate zur Eingrenzung/Erfassung der CD3+ Lymphozyten subpopulation.

Schritt 3

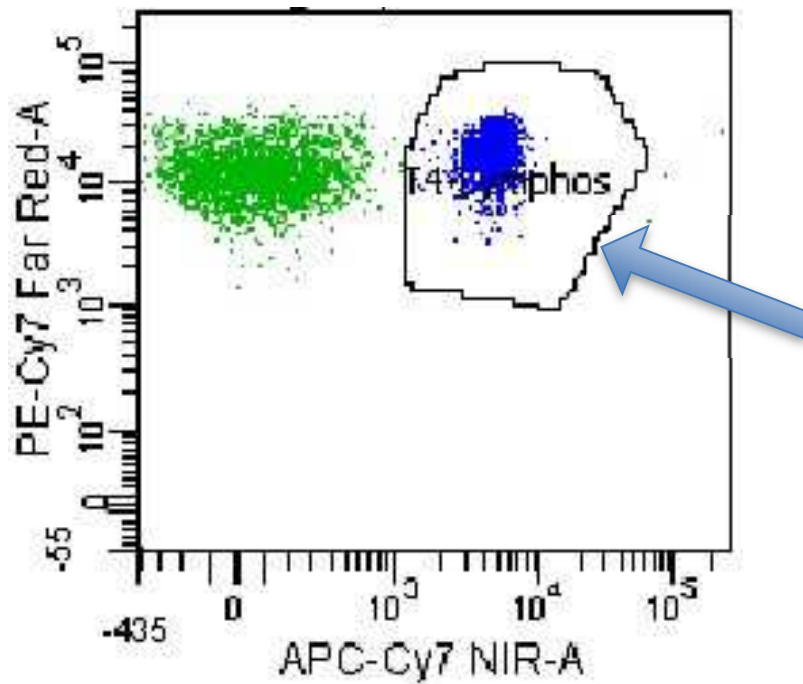


Abb. 5 Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4 und T8

Abbildung 5 zeigt die digitale Darstellung der in Schritt 2 gegateten CD3+ Lymphozytensubpopulation mit der daraus resultierenden Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4 und T8. Der Pfeil verweist auf das gesetzte Gate zur Eingrenzung/Erfassung der T4 Lymphozytensubpopulation.

Schritt 4

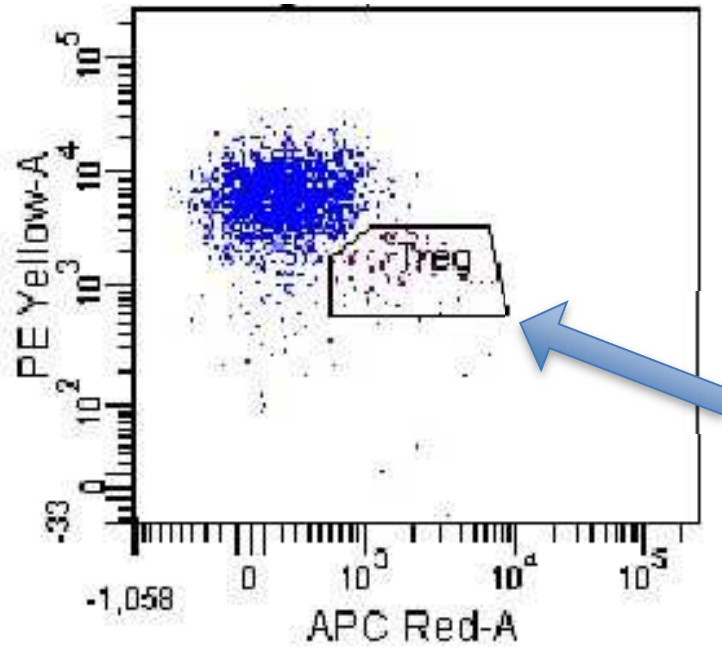


Abb. 6: Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4

Abbildung 6 zeigt die digitale Darstellung der in Schritt 3 gegateten T4 Lymphozytensubpopulation mit der daraus resultierenden Darstellung der Lymphozytensubpopulationen T4. Der Pfeil verweist auf das gesetzte Gate zur Eingrenzung/Erfassung der Treg Lymphozytensubpopulation.

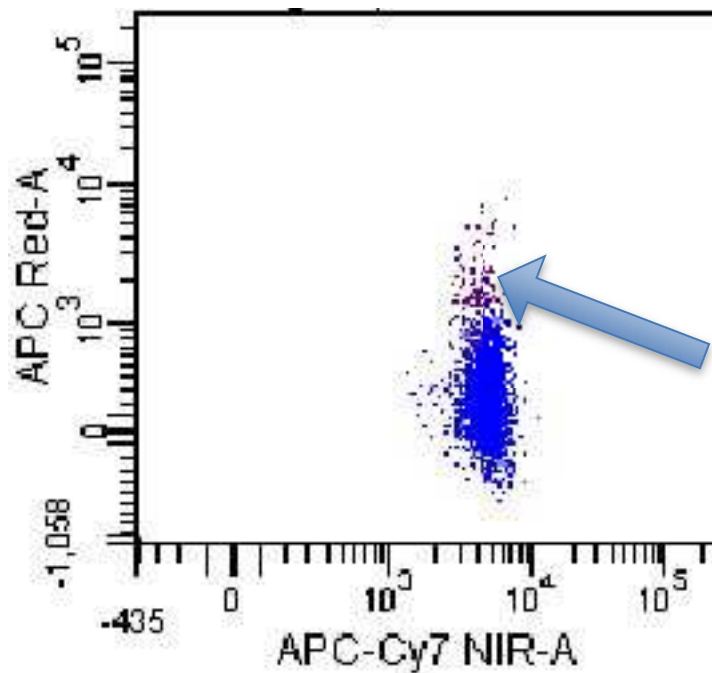


Abb. 7: Ergebnis I

Abbildung 7 zeigt die digitale Darstellung der in Schritt 4 gegateten Treg Lymphozytensubpopulation. Die lila gefärbten Partikel repräsentieren die Treg-Zellen Population.



Abb. 8: Ergebnis II

Abbildung 8 zeigt die Prozentuale Darstellung der in Schritt 1-4 bearbeiteten Lymphozyten und ihrer Subpopulationen.

2.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe der *Graphpad Prism Software Version 6.0* (Graphpad Software Inc. Ja Lolla, USA). Die Daten wurden als Box- and Whiskers-Plot dargestellt. Der Paarvergleich zwischen den Hockeyspielern vor und nach dem Trainingslager erfolgte mit einem gepaarten t-Test nach Student. Zum Vergleich mehrerer Gruppen wurde die einfaktorielle Varianzanalyse (one-way ANOVA) mit nachfolgendem Posttest für multiple Vergleiche verwendet. Unterschiede mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $P < 0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

3 ERGEBNISSE

3.1 Momentumsportarten im Verhältnis zum relativen VO_2 peak-Wert

Um den Begriff der körperlichen Beanspruchung besser zu verdeutlichen, wurde in dieser Arbeit der relative VO_2 peak-Wert als Parameter für sportliche Beanspruchung benannt. Der relative VO_2 peak-Wert hat die Eigenschaft, die maximal erreichte Sauerstoffaufnahme und die aufgewendete Anstrengung des Athleten während eines bestimmten Testdesigns unter Berücksichtigung von Körpergröße und Gewicht im Blut zu messen und darzustellen. In dieser Arbeit wird davon ausgegangen, dass ein hoher relativer VO_2 peak-Wert gleichbedeutend für einen guten körperlichen Ausdauerleistungszustand steht, der wiederum nur durch einen großen Trainingsaufwand erreicht werden kann.

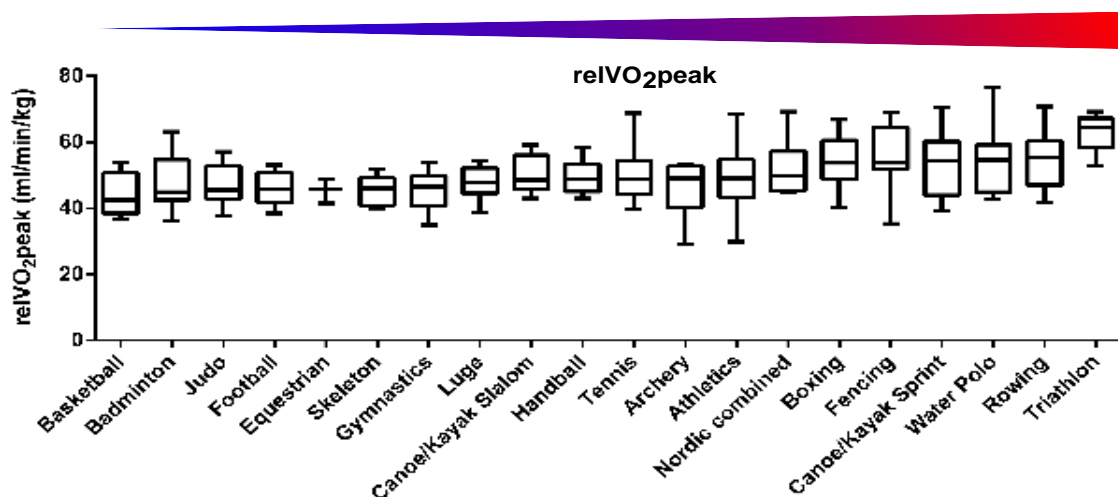


Abb. 9: Momentumsportarten*

Die Gruppe der Momentumsportler setzt sich aus den verschiedensten Sportarten zusammen. Auch wenn jeder dieser Sportler seine Sportart auf Leistungsniveau betreibt, so sind die trainingsmethodischen und metabolischen Belastungen dennoch sehr unterschiedlich.

* aufgereiht nach den Mittelwerten der von den Sportlern der jeweiligen Sportart erbrachten relativen VO_2 peak Leistung

Der Box-and-Whisker-Plot zeigt die in der Momentum-Gruppe vorkommenden Sportarten aufgereiht nach dem Mittelwert der von den Sportlern der jeweiligen Sportart erbrachten relativen VO_2 peak Leistung. Sportarten, die durch weniger als drei Sportler vertreten waren, wurden in Abbildung 9 nicht berücksichtigt. Es ist klar zu erkennen, dass Sportler typischer Ausdauersportarten, wie Triathlon oder Rudern, aufgrund ihrer sportartspezifischen Ausdaueranforderung auch hohe relative VO_2 peak-Werte aufweisen. Sportler deren sportartspezifische Belastung eher in anderen Bereichen liegen (Technik, Kraft), wie zum Beispiel beim Judo, erreichen geringere relative VO_2 peak-Werte. Durch Abbildung 9 wird auf plastische Art und Weise die in dieser Studie vertretene Annahme dargestellt, dass intensives Ausdauertraining auch zu hohen relativen VO_2 peak-Werten führen kann.

3.2 Vergleich Momentumsporler vs Freizeitsportler

In dieser Arbeit wurden 256 Momentumsporler mit der Gruppe der 19 Nicht-Sportler bzw. Freizeitsportler (Kontrollgruppe) bezüglich ihrer Treg-Zellen Konzentration im peripheren Blut verglichen (Abb. 10). Im Vorfeld wurde festgehalten, dass jeder der Probanden nach persönlichem subjektivem Empfinden gesund ist. Der Testung ging keine spezielle Belastung voraus, sodass es sich bei den ermittelten Werten um Basiswerte handelt. Der aktuelle Trainingszustand der Probanden wurde nicht dokumentiert.

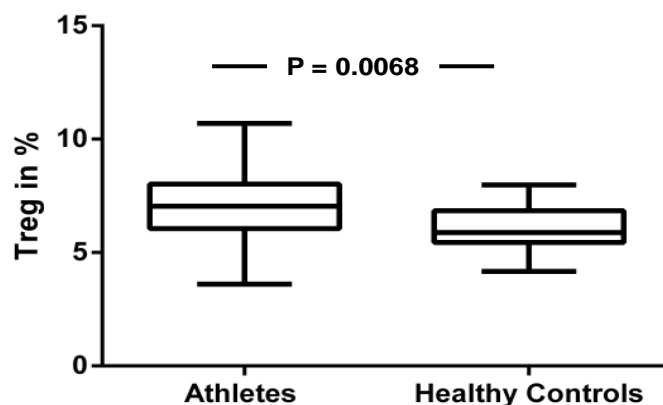


Abb. 10: Vergleich der Treg-Zellen-Population zwischen Momentumsporlern und Kontrollgruppe

Die Auswertung gelangt zu dem Ergebnis, dass die Momentumsporler einen

signifikant höheren Prozentsatz an zirkulierenden CD3⁺CD4⁺CD25^{hi}CD127^{dim} Treg-Zellen im peripheren Blut aufweisen als die der Kontrollgruppe, also die der Nicht-Sportler bzw. Freizeitsportler ($p < 0,0068$).

3.3 Vergleich der Tertile

In Hinblick auf die unterschiedlichen Sportarten der Momentumsporler und die dadurch gegebenen unterschiedlichen Trainingsanforderungen und metabolischen Belastungen in den Sportarten wurde die Gruppe der Momentumsporler in Tertile, bezogen auf ihren relativen VO₂peak-Wert, aufgeteilt. Die Sportler wurden tabellarisch, beginnend bei dem Sportler mit dem höchsten relative VO₂peak-Wert und abschließend mit dem Sportler mit dem niedrigsten relative VO₂peak-Wert, aufgelistet (n=256). Anschließend wurden die Athleten nach gleichen Gruppenstärken in Tertile aufgeteilt. Sportler, deren relativer VO₂peak-Wert sich im unteren Tertil ansiedelte, wurden der Gruppe *Low* (n=86) zugeteilt, Sportler, deren relativer VO₂peak-Wert sich im mittleren Tertil ansiedelte, der Gruppe *Intermediate* (n=85) und Sportler, deren relativer VO₂peak-Wert sich im oberen Tertil ansiedelte, der Gruppe *High* (n=85) zugeteilt. Die Einteilung der Gruppen und der damit einhergehende Vergleich führte zu folgendem Ergebnis (Abb. 11):

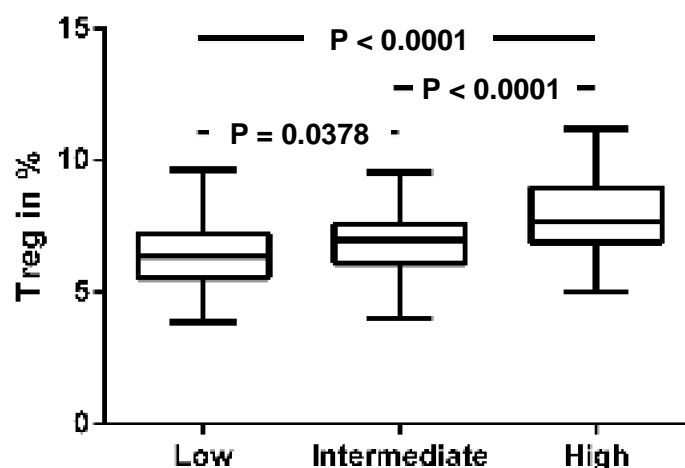


Abb. 11: Vergleich der Treg-Zellen Konzentration bei den Momentumsporlern nach Einteilung in die Tertile: *Low*, *Intermediate* und *High*

Die Auswertung zeigt, dass Sportler mit einem höheren relativen VO_2 peak-Wert auch eine signifikant höhere Treg-Zellen Konzentration im peripheren Blut aufweisen als Sportler mit einem niedrigeren relativen VO_2 peak-Wert. Der one-way ANOVA Test zeigt, dass der Prozentsatz an Treg-Zellen in allen drei Gruppen signifikant unterschiedlich ist. Ebenso zeigt der Tukey post-hoc Test dieses Ergebnis auf. Die *Intermediate*-Gruppe (6.84%, 95% CI [6.55-7.14]) hat eine signifikant höhere durchschnittliche Konzentration an Treg-Zellen als die der *Low*-Gruppe (6.33%, 95% CI [6.05-6.62]). Mit einer durchschnittlichen Treg-Zellen Konzentration von 7.80% (95% CI [7.49-8.12]) zeigt die *High*-Gruppe eine signifikant höhere Treg-Zellen Konzentration als die beiden anderen Gruppen *Low* und *Intermediate* auf.

3.4 Treg-Zellen Konzentration Female vs. Male

In Abbildung 12 wurden aus der Gruppe der Momentumsportler, Männer (n=64) und Frauen (n=64) mit nahezu identischen relativen VO_2 peak-Werten anhand ihrer Treg-Zellen Konzentration miteinander verglichen:

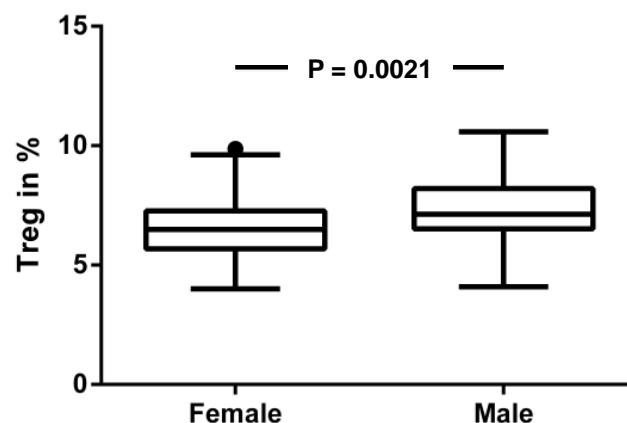


Abb. 12: Geschlechtervergleich bei den Momentumsportlern bezogen auf die Treg-Zellen Konzentration

Es wurde ein signifikanter geschlechtsspezifischer Unterschied im Bezug auf die Treg-Zellen Konzentration zwischen Mann und Frau beobachtet. Es zeigt sich, dass weibliche Athleten eine signifikant niedrigere Treg-Zellen Konzentration aufweisen

als die männlichen Athleten mit nahezu identischem relativen VO_2 peak-Werten ($p=0,0021$). Es kann davon ausgegangen werden, dass es einen genderspezifischen Unterschied in der Treg-Zellen Konzentration gibt.

3.5 Vergleich Tertile Female vs. Male

In Abbildung 13 wurden die drei Intensitätsgruppen *Low*, *Intermediate* und *High* nach Geschlecht aufgeteilt und miteinander verglichen:

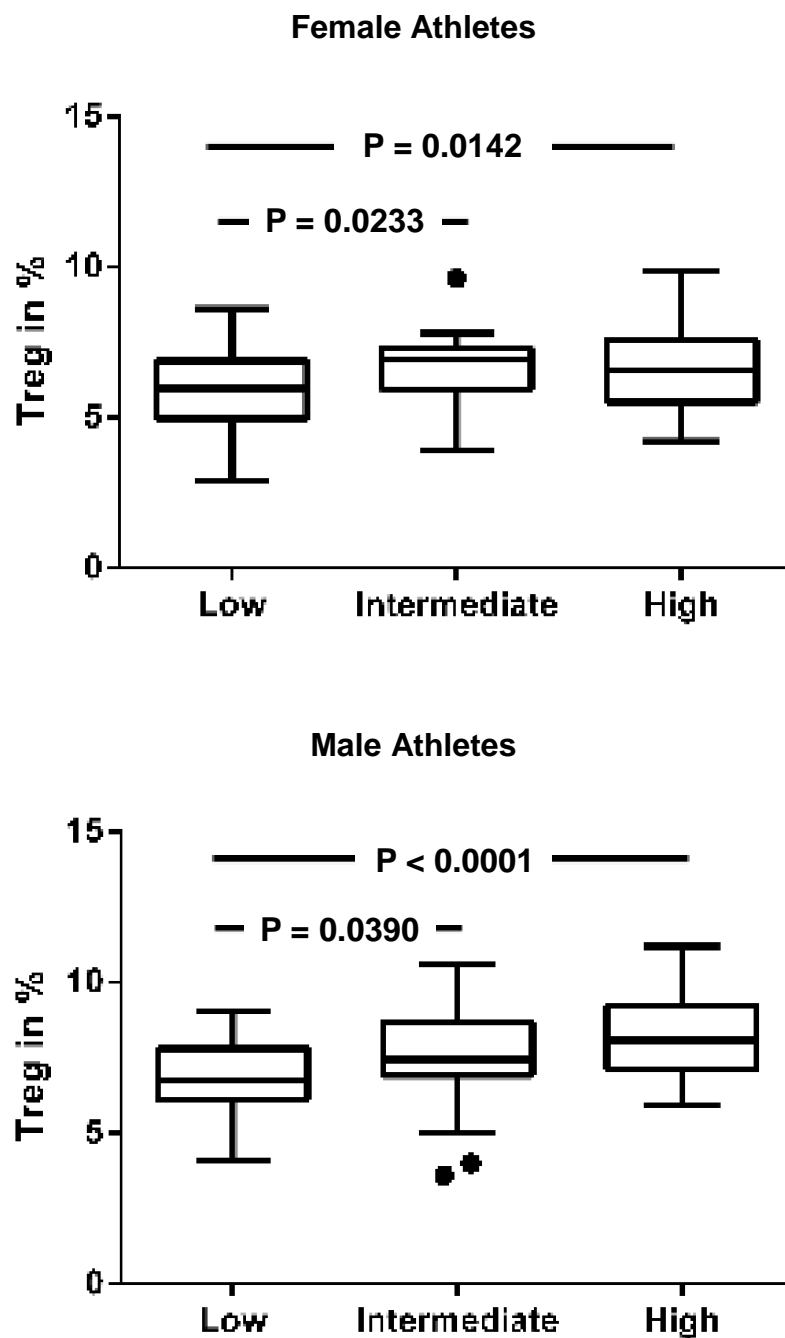


Abb. 13: Geschlechtervergleich bei den Momentumssportlern bezogen auf die Treg-Zellen Konzentration nach Einteilung des jeweiligen Geschlechts in Tertile

Es zeigte sich, dass sowohl weibliche als auch männliche Athleten eine relative VO_2 peak-Abhängigkeit der zirkulierenden regulatorischen T-Zellen aufweisen, was auf eine genderunabhängige Wirkung von Bewegung auf die regulatorische T-Zell-Homöostase hindeutet.

3.6 Untersuchung am Training der Hockeynationalmannschaft

Ein weiterer Schritt war, den Vergleich einer **Pre**-Belastungs- und **Post**-Belastungsuntersuchung darzustellen. Um dieses Untersuchungsdesign zu ermöglichen, galt es, eine leistungshomogene Sportgruppe zu generieren, die unter gleichen Voraussetzungen (Training, Ort, etc.) für eine bestimmte Zeit die identischen Anforderungen zu bewerkstelligen hatte. Diese Voraussetzung erfüllte die deutsche Hockeynationalmannschaft der Herren, welche sich im Zuge der Vorbereitung auf die Olympischen Spiele 2012 in London zu einem Athletiktrainingslager in Mannheim einfand und sich für diese Studie zur Verfügung stellte. Es bleibt festzuhalten, dass es sich zu diesem Zeitpunkt um den Beginn des Vorbereitungszyklus handelte, sodass davon ausgegangen werden kann, dass sich alle der 19 untersuchten Hockeyspieler auf einem ähnlichen, aufgrund der geringen Trainingsbelastung in den Vorwochen, niedrigen Trainingsniveau und Leistungsniveau befanden. Die Belastung wurde durch den Athletiktrainer der Nationalmannschaft gesteuert und in einem Trainingsplan (s. Anhang) dokumentiert. Die Analyse des Trainingsplans ergibt, dass im Zeitraum von sieben Tagen, 13 (44%) Stunden intensives Training (hohe Belastung), 11 (38%) Stunden extensives Training (mittlere Belastung), 3 Stunden (11%) regeneratives Training (erholende Belastung), sowie 2 Stunden (7%) Training mit geringer Belastung durchgeführt wurden. Die Analyse ist in Abbildung 14 graphisch dargestellt:

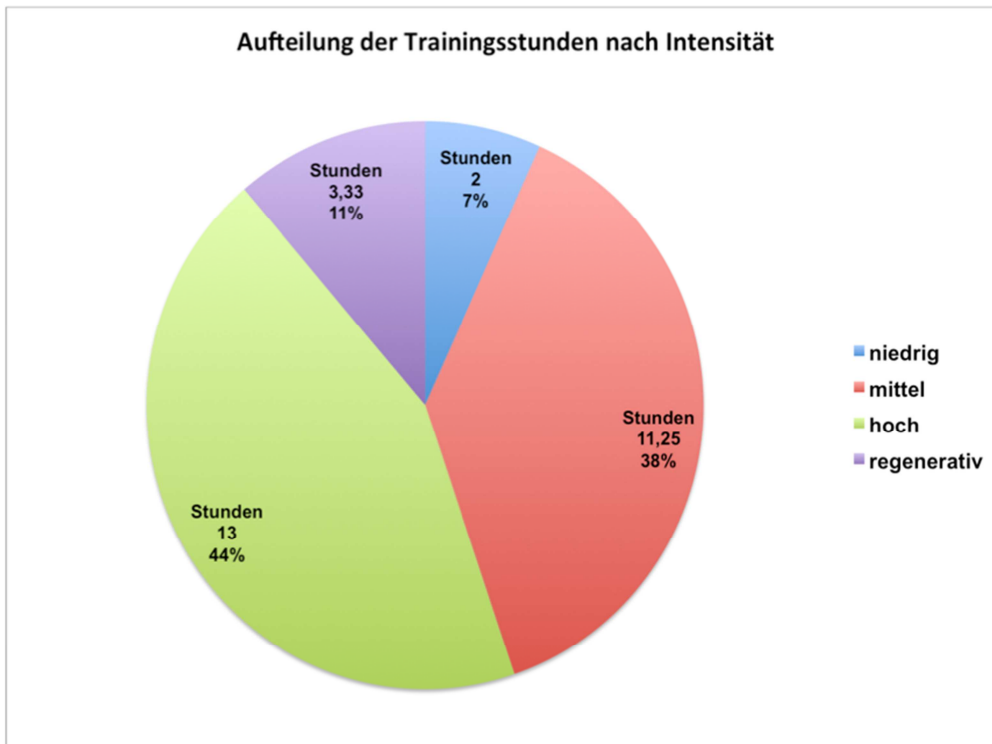


Abb. 14: Aufteilung der Trainingsstunden der Hockeynationalmannschaft nach Intensität

Um den direkten Einfluss dieser Belastung auf die Treg-Zellen Konzentration zu messen, wurden ein **Pretest** (vor Beginn des Lehrgangs) und ein **Posttest** (nach Beendigung des Lehrgangs) durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen dieser beiden Tests wurden miteinander verglichen (Abbildung 15):

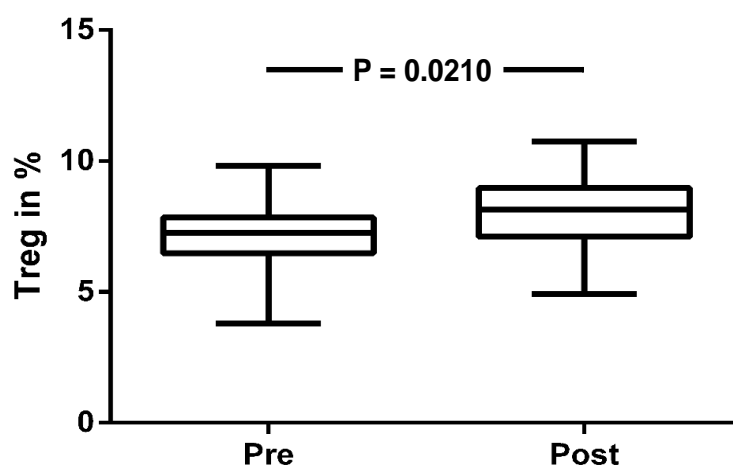


Abb. 15: Vergleich der Treg-Zellen Konzentration bei den Spielern der Deutschen Hockeynationalmannschaft vor und nach intensiver Belastung

Es besteht ein signifikanter Unterschied in den Werten zwischen *Hockey Pre* und *Hockey Post* (7,21% vs. 8,14% $p=0,0210$). Es wird deutlich, dass sportliche Aktivität eine messbare Reaktion des Immunsystems provoziert und weiter, dass akute Belastung, einen direkten Einfluss auf die Konzentration der Treg-Zellen im peripheren Blut bewirkt.

4 DISKUSSION

Sportliche Aktivität steigert nicht nur das Wohlbefinden, sondern besitzt darüber hinaus eine gesundheitsfördernde Wirkung. So hat regelmäßige körperliche Aktivität eine Reihe von positiven Effekten auf die Gesundheit. Sport reduziert das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, regt den Kreislauf an und bildet den Muskelapparat aus.⁶³ Weiterhin beugt Sport der Entstehung von Diabetes und manchen Krebserkrankungen vor. Allen diesen Krankheitsbildern ist gemeinsam, dass chronisch entzündliche Prozesse eine wichtige Rolle in ihrer Pathogenese spielen. Andererseits gibt es aber auch Hinweise, dass intensive körperliche Belastung zu einer Schwächung des Immunsystems führt und das Risiko für Infektionen steigert.^{64,}
65, 66

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung, ob und in welchem Maße sportliches Training die Homöostase von regulatorischen T-Zellen, die eine der wesentlichsten immunregulatorischen und entzündungshemmenden Immunzellpopulationen darstellen, beeinflusst.

Die Beobachtung, dass intensives körperliches Training zu einer dosisabhängigen Erhöhung des Anteils an regulatorischen T-Zellen führt, könnte auch eine mögliche Erklärung für das gehäufte Auftreten von respiratorischen Infektionen bei Hochleistungssportlern liefern. Jedoch ist es verwunderlich, weshalb Sportler, wie in der Einleitung beschrieben, über auftretende Infektionskrankheiten klagen, wobei im Volksmund davon ausgegangen wird: *Sport ist und macht gesund*. Die Fragestellung, ob körperliche Belastung oder intensives Training Auswirkungen auf das Immunsystem haben, ist vielfältig bearbeitet worden. Niemann et al. haben im Jahre 2000 in *Exercise Immunology: Current perspectives for athletes* über die Ergebnisse von 66 wissenschaftlichen Arbeiten zu diesem grundsätzlichen Thema berichtet. Eine der wesentlichen Fragestellungen war dabei, ob durch gezielte Ernährung eine Beeinflussung des Immunsystems während körperlicher Belastung erreicht werden kann. Bei den Untersuchungen zum Immunsystem wurde von allen immunologischen Parametern im Wesentlichen die Aktivität der NK-Zellen (natural killer cells) als beständiger Indikator für die Charakterisierung der Immunfunktion von Sportlern und Nicht-Sportlern dargestellt. Bislang haben die vorliegenden Untersuchungen zur

Immunfunktion von Sportlern und Nicht-Sportlern in Ruhe, trotz zwingender epidemiologischer Daten, keine klinisch relevanten Veränderungen der Immunität nachweisen können. Die Anzahl der untersuchten Probanden, Sportler und Nicht-Sportler, war jeweils relativ gering. So wurden 44 Marathonläufer mit 48 ehemaligen Marathonläufern verglichen. Eine Gruppe untersuchter Triathleten war auf 10 Personen begrenzt. Ruderinnen mit 1,6-fach erhöhten NK-Zellen-Werten wurden ebenfalls in überschaubarer Gruppengröße getestet.⁶⁷

4.1 Momentumsportarten und relativer VO_2 peak-Wert

Es wurden 256 Momentumsportler bzw. Kaderathleten anhand ihrer relativen VO_2 peak-Werte verglichen (siehe 3.1). Verschiedene Arbeiten, wie auch diese, ziehen die Sauerstoffaufnahmekapazität als wichtigstes Kriterium des kardiopulmonalen Leistungsvermögens heran, weil diese ein bedeutender Indikator für die aerobe Trainingskapazität darstellt. Somit reflektiert zum Beispiel der VO_2 max-Wert die Ausdauerleistungsfähigkeit, also die physische Fitness von Individuen, und wird im Leistungssport als Parameter für die Beurteilung des aktuellen Ausdauertrainingszustandes herangezogen.^{48,49,50,51,52,53}

Um den Begriff der körperlichen Beanspruchung besser zu verdeutlichen, wurde in dieser Arbeit der relative VO_2 peak-Wert als Parameter für sportliche Beanspruchung benannt. Der relative VO_2 peak-Wert hat die Eigenschaft, die maximal erreichte Sauerstoffaufnahme im Blut und die aufgewendete Anstrengung des Athleten während eines bestimmten Testdesigns unter Berücksichtigung von Körpergröße und Gewicht zu messen und darzustellen.⁵⁴

In dieser Arbeit wurde angenommen, dass ein hoher relativer VO_2 peak-Wert gleichbedeutend für einen guten körperlichen Ausdauerleistungszustand steht, da dieser wiederum nur durch einen großen Trainingsaufwand erreicht werden kann.

Die Gruppe der Momentumsportler setzt sich aus den verschiedensten Sportarten zusammen. Auch wenn jeder dieser Sportler seine Sportart auf einem hohen Leistungsniveau betreibt, so sind die trainingsmethodischen und metabolischen Belastungen dennoch sehr unterschiedlich.

Der Box-and-Whisker-Plot zeigt die in der Momentum Gruppe vorkommenden Sportarten aufgereiht nach dem Mittelwert der von den Sportlern der jeweiligen Sportart erbrachten relativen VO_2 peak Leistung. Sportarten vertreten durch weniger als drei Sportler, wurden in dieser Abbildung nicht berücksichtigt. Darin ist klar zu erkennen, dass Sportler typischer Ausdauersportarten wie Triathlon oder Rudern aufgrund ihrer sportartspezifischen Ausdaueranforderung auch hohe relative VO_2 peak-Werte aufweisen. Sportler, deren sportartspezifische Belastung eher in anderen Bereichen liegt (Technik, Kraft) wie zum Beispiel beim Judo, erreichen geringere relative VO_2 peak-Werte. Abbildung 9 macht auf plastische Art und Weise deutlich, dass intensives Ausdauertraining auch zu hohen relativen VO_2 peak-Werten führt.

Bassett und Howley (2000)⁶⁸ unterstützen die dargestellten Ergebnisse. Sie beschreiben den VO_2 max-Wert als wichtige Variable, die die Obergrenze der Ausdauerleistung darstellt. Dies bedeutet, dass die Sauerstoffaufnahmekapazität und daher die Ausdauerleistungsfähigkeit umso höher ist, je höher die VO_2 max Grenze ist.⁶⁸ Ebenso verstehen Lortie et al. (1984)⁵⁰ die maximale Sauerstoffaufnahme als einen der entscheidenden Indikatoren für die aerobe Trainingskapazität und folglich für die Ausdauerleistungsfähigkeit.⁵⁰ Wer sich viel im Ausdauerbereich belastet und trainiert, erlangt auch einen höheren VO_2 max-Wert. Im Umkehrschluss lässt sich somit folgern, dass Athleten, die aufgrund ihrer sportartspezifischen Anforderungen die Ausdauerbelastung nicht in den Vordergrund stellen müssen, eher niedrigere Werte aufweisen.

4.2 Momentumssportler vs. Freizeitsportler

In Kapitel 3.2 wurden die 256 Momentumssportler mit der Gruppe der 19 Nicht-Sportler bzw. Freizeitsportler (Kontrollgruppe) bezüglich ihrer Treg-Zellen Konzentration im peripheren Blut verglichen. Im Vorfeld wurde festgehalten, dass jeder der Probanden nach persönlichem subjektivem Empfinden gesund ist. Der Testung ging keine spezielle Belastung voraus, sodass es sich bei den ermittelten Werten um *Basiswerte* handelt. Das in Abbildung 10 dargestellte Ergebnis zeigt im Vergleich zur Kontrollgruppe (Nicht- bzw. Freizeitsportlern) eine höhere Treg-Zellen Konzentration bei den Momentumssportlern auf. Die Gründe hierfür bleiben zu diesem

Zeitpunkt spekulativ. Jedoch kann festgehalten werden, dass die ständige (chronische) Belastung auf den Organismus durch den Sport zu einem erhöhten Treg-Zellen Konzentrationsniveau führen kann. Zu dieser Einschätzung kommen auch Handzlik et al.⁴¹ in ihrer Studie von 2013 *The influence of exercise training status on antigen-stimulated IL-10 production in whole blood culture and numbers of circulating regulatory T cells*. Hierfür untersuchten sie 40 gesunde männliche Studenten, deren sportliches Leistungsvermögen von *eher weniger sportlich aktiven Personen* bis hin zu *Olympiateilnehmern im Triathlon* variierte. Die Gruppe wurde in vier Untergruppen aufgeteilt: *sprint-trained athletes* (SPR), *endurance-trained athletes* (END), *recreationally active individuals* (REC) und *sedentary individuals* (SED). Handzlik et al. beobachten, dass sportlich aktivere Individuen eine höhere Konzentration an Treg-Zellen, eine höhere Anzahl der Gesamtleukozyten und der CD4+ Zellen haben. Weiter führen sie aus, dass in der *endurance-trained athletes* (END) Gruppe eine höhere IL-10 Produktion im Vergleich zu den anderen Gruppen (*sprint-trained athletes* (SPR), *recreationally active individuals* (REC) und *sedentary individuals* (SED)) zu beobachten war. Diese Beobachtung lässt die Verfasser schließen, dass intensivere Trainingsbelastungen zu einem grundsätzlich höheren Treg-Zellen Konzentrationsniveau führen, was eine Antigenstimulation bedingt. Dies lässt Handzlik et al. wiederum zu der Schlussfolgerung kommen, dass der höhere prozentuale Anteil an Treg-Zellen eine chronische Adaption auf die intensive Trainingsbelastung ist. Weiter wird beschrieben, dass die höhere IL-10 Produktion bei der *endurance-trained athletes* (END) Gruppe impliziert, dass diese eine größere Kapazität an den Gesamtblutkulturen besitzen, um anti-inflammatorische Zytokine zu sezernieren. Diese Annahme basiert darauf, dass eine steigende Treg-Zellen Konzentration mit einer steigenden IL-10 Produktion korreliert.⁴¹ Denn befindet sich eine CD4+ T-Zelle in einer Umgebung, die reich an TGF-beta und arm an pro-inflammatorischen Zytokinen ist, fördert TGF-beta FOXP3, was zu einer Sekretion von IL-10 und TGF-beta führt und die regulatorische Wirkung aktiviert.⁶⁹

Der Organismus passt sich dem Belastungsniveau an und reagiert, indem er die Treg-Zellen Konzentration steigert, um so die Immunreaktion auszugleichen bzw. zu regulieren. Durch die zunehmende Treg-Zellen Konzentration entwickelt der Körper eine erhöhte Inflammationstoleranz, welche unter anderem auf Grund des erhöhten Regulierungspotenzials den positiven Effekt einer stärkeren Immunität gegen

Autoimmunkrankheiten, chronische Entzündungen, Krebs oder Arteriosklerose haben kann.⁷⁰ Jedoch führt eine stark regulierte Immunabwehr zu einer erhöhten Infektionsanfälligkeit, die wiederum ein Erklärungsansatz für die im Einleitungsteil beschriebene Problematik eines Hochleistungssportlers wie Ronny Ackermann wäre.

4.3 Tertile *low, intermediate und high*

In Hinblick auf die unterschiedlichen Sportarten der Momentumsporler und der dadurch gegebenen unterschiedlichen Trainingsanforderungen und metabolischen Belastungen in den Sportarten wurde die Gruppe der Momentumsporler, wie in Kapitel 3.3 gezeigt, in Tertile, bezogen auf ihre relativen VO₂peak-Werte, aufgeteilt.

Anhand dieser Ergebnisse ist zu erkennen, dass sportliche Belastung im Allgemeinen die Treg-Zellen Konzentration im peripheren Blut ansteigen lässt. Weiter bleibt es spekulativ, welche Art oder Intensität der Belastung für ein Ansteigen der Treg-Zellen Population verantwortlich ist. Jedoch kann festgehalten werden, dass Probanden mit einem höheren Ausdauerleistungszustand auch signifikant höhere Treg-Werte aufweisen. Weiter gilt, dass eine bessere körperliche Fitness nur durch ein entsprechendes Ausdauertraining erreicht werden kann.⁷¹ Diese Aussagen werden durch die oben beschriebenen Ergebnisse von Handzlik et al.⁴¹ im Jahre 2013 unterstützt. Auch sie kommen zu dem Ergebnis, dass eine dauerhafte, sprich chronische Belastung zu einer höheren Treg-Zellen Konzentration im Blut führt. Ihre Studie zeigt weiter auf, dass im Vergleich zur *sedentary individuelles* (SED) Gruppe die *sprint-trained athletes* (SPR) Gruppe höhere Werte der Treg CD4 Zellen aufweisen, wogegen wiederum nur die *endurance-trained* (END) Gruppe bei den zirkulierenden Treg-Zellen und der IL-10 Produktion höhere Werte zeigt. Sie argumentieren, dass die Differenz mit der unterschiedlichen Trainingsbelastungsform zusammenhängt: *long-lasting, predominantly aerobic (SPR) versus high-intensity, short bursts of relatively more anaerobic (END) exercise.*⁴¹

Das bedeutet wiederum, dass eine kontinuierliche Belastung im intensiven Bereich nötig ist. Diese Aussagen lassen die Folgerung zu, dass Ausdauerbelastung im Speziellen zu einer erhöhten Treg-Zellen Konzentration führen kann, als es bei anderen Belastungszuständen der Fall ist. Die Arbeit von Horn et al.⁵⁹ unterstreicht

diese Annahme. Darin wurde über einen Zeitraum von 10 Jahren die Leukozytenkonzentration bei Leistungssportlern aus 28 verschiedenen Sportarten ohne Induzierung einer speziell vorausgehenden Belastung beobachtet. Die 28 ausgewählten Sportarten wurden von 13 Sportphysiologen nach der für die Sportarten typischen mechanischen und/oder metabolischen Belastungen auf einer Skala von 1 bis 5 bewertet. Im Ergebnis zeigten ihre Studien, dass Sportler von Ausdauersportarten wie Triathlon im Vergleich eine geringere Leukozytenkonzentration aufwiesen als Sportler aus *skill-based* Sportarten wie Wasserball.⁵⁹ Wenn man die Ergebnissen der Arbeit von Horn et al. mit den in dieser Arbeit generierten Ergebnissen sowie den Ergebnissen aus der Studie von Handzlik et al. diskutiert, so verweist die geringere Leukozytenkonzentration bei den Ausdauersportarten (Horn et al.) auf der einen Seite und die erhöhte Treg-Zellen Konzentration (Handzlik et al; vorliegende Arbeit) auf der anderen Seite auf eine Korrelation von sportlicher Belastung und supprimierender Wirkung auf das Immunsystem hin.

Somit scheint es, dass insbesondere die Ausdauerbelastung zu einer verstärkten Immunreaktion des Körpers führt, der darauf mit einer Steigerung der supprimierenden Zellen reagiert, um die Immunreaktion zu regulieren bzw. zu kontrollieren.⁶⁷

4.4 Female vs. Male

Die in Kapitel 3.4 dargestellten Ergebnisse weisen hier einen signifikanten Unterschied zwischen männlichen und weiblichen Probanden auf. Weibliche Athleten haben eine ca. 10%ig geringere Treg-Zellen Konzentration als die männlichen Athleten. Es scheint daher, dass ein hormoneller Einfluss bei der Treg-Zellen Homöostase gegeben ist, der einen genderspezifischen Unterschied in der Treg-Zellen Konzentration bedingt. Als Ursache hierfür werden, wie in Abschnitt 1.4 beschrieben, differente Auswirkungen der unterschiedlichen Geschlechtshormone von Männern und Frauen diskutiert. So fungiert zum Beispiel das weibliche Sexualhormon *Östrogen* im Rahmen der Immunantwort stimulierend auf die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen. Diese binden sich an spezifische Oberflächenrezeptoren und beeinflussen das zelluläre Umfeld der Ziel-Zelle,

entweder auf direktem oder indirektem Wege. Testosteron hingegen vermittelt eher immunsupprimierende Effekte auf das Immunsystem und hemmt die Produktion von Antikörpern.^{44, 45, 46, 47}

Zandmann-Goddard et al.⁷² (2007) sind in einer Übersichtsarbeit in *Autoimmun Reviews*, in der die Ergebnisse von mehr als 30 wissenschaftlichen Publikationen zum Thema Autoimmunkrankheiten unter besonderer Berücksichtigung der Verlaufsformen des *Lupus erythematoses* dargestellt wurden, zu dem Ergebnis gekommen, dass Frauen häufiger an Autoimmunerkrankungen leiden bzw. unterschiedlichere Verlaufsformen aufweisen als Männer.⁷²

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten stützen diese Erkenntnisse. Frauen reagieren im Vergleich zu Männern bei Belastung mit einer verstärkten Immunantwort, die das Infektionsrisiko verringert. Jedoch wird bei Frauen aufgrund der verstärkten Immunantwort das Auftreten einer Autoimmunkrankheit begünstigt. Weiter wird als mögliche Ursache für die unterschiedliche Reaktionsweise weiblicher und männlicher Immunverarbeitung, die geschlechtsspezifische genetische Determinierung herangezogen. So werden viele immunmodulatorische Faktoren durch das X-Chromosom kodiert. Diese Aussage sollte im Gesamtkontext nicht vernachlässigt werden, auch wenn es bezüglich des genetischen Einflusses auf die qualitative und quantitative Immunantwort noch weitere Untersuchungen abzuwarten gilt, um eine wissenschaftlich fundierte Bewertung vornehmen zu können.⁴⁶

Klein (2004) vom *Department of Molecular Microbiology and Immunology* (Baltimore, USA) hat ebenfalls in einer Übersichtsarbeit mit zitierten 240 Veröffentlichungen wiedergegeben, dass eine geschlechtsspezifische Immunabwehr nicht nur beim Menschen, sondern auch bei Tieren besteht.⁴⁴ Ebenso fasste Oertel-Prigione (2012) den derzeitigen Wissensstand der Geschlechtsunterschiede in der Immunantwort zusammen und schließt in ihr Review 45 Veröffentlichungen mit ein. Das Vorhandensein und die Wirksamkeit einer Immunabwehr sollte ihrer Ansicht nach möglichst immer unter geschlechtsspezifischen Gesichtspunkten beurteilt werden.^{39, 45, 47}

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass sportliche Aktivität eine messbare Reaktion des

Immunsystems hervorruft, und einen direkten Einfluss auf die Steigerung der Treg-Zellen Konzentration hat. So wird hier festgestellt, dass das unterschiedliche Konzentrationsniveau bei Mann und Frau nicht auf die Belastung (relative VO_2 peak), sondern auf den Geschlechtsunterschied zurückzuführen ist (siehe 3.5). Der trotz analoger Belastung hervorgerufene unterschiedlich hohe Anstieg des Treg-Zellen Konzentrationsniveaus bei Mann und Frau kann dabei die Intensität der Immunabwehr beeinflussen. Die Erklärung hierfür ist (abgesehen von oben beschriebenen Hinweisen) bisher unklar. Es ist möglich, dass der Weg über die Beobachtung der T-regulatorischen Zellen zur Beantwortung dieser Fragestellung führt.

4.5 Hockeynationalmannschaft Pre- und Postuntersuchung

Um weitere Erkenntnisse im Zusammenhang zwischen sportlicher Aktivität und der Treg-Zellen Konzentration zu schaffen, galt es, nach der chronischen sportlichen Belastung auch den Einfluss von akuter sportlicher Belastung auf den Organismus zu untersuchen. Dies fand in Form einer Pre-Belastungsuntersuchung und Post-Belastungsuntersuchung statt.

Nach Foster⁴ ist anzunehmen, dass im Anschluss an eine körperliche oder psychische Belastung das Erkrankungsrisiko steigt. Dieses geschieht meistens, wenn die Athleten ihre individuelle Trainingsschwelle überschreiten, vor allem in Hinsicht auf die Intensität. Foster nennt diesen Prozess *Open-Window-Theorie*. Die Ergebnisse vorliegender Arbeit stützen Fosters Theorie. Im Ergebnisteil ist dargestellt, dass auch bzw. gerade die akute Belastung eine Steigerung der Treg-Zellen Konzentration bewirkt. Dies erklärt, dass es bei (Spitzen-) Belastung zu einer Steigerung der Treg-Zellen Konzentration kommt, die wiederum dazu führt, dass das Immunsystem supprimiert/reguliert wird. Folglich steigt damit die Gefahr einer Infektion.

Eingangs stellte sich die Frage, warum Spitzensportler nicht immer in der Lage sind, den Erfolg ihrer Trainingsbemühungen zu jedem beliebigen Zeitpunkt abzurufen. Beim Nordischen Kombinierer Ronny Ackermann beispielsweise trat es mehrfach auf, dass bei ihm zum Saisonhöhepunkt oder im Laufe der Saison Erkrankungen, die

eine Leistungsminderung zur Folge hatten, diagnostiziert wurden. Warum es zu solchen Abwärtsbewegungen kommt, konnte bisher nicht erklärt werden. Untersuchungen an verschiedenen medizinischen und sportwissenschaftlichen Instituten auf der ganzen Welt haben immer wieder unterschiedlichste Sportlergruppen auch im Hochleistungsbereich beobachtet und analysiert. Die Anzahl der untersuchten Probanden war im Vergleich zu der in dieser Arbeit erfassten Kohorten vergleichsweise gering. Auch der Ansatz in der Fragestellung war unterschiedlich, und infolgedessen nicht mit diesem Arbeitsansatz zu vergleichen. Letztlich sind in dieser Arbeit ausreichende Belege dafür gefunden worden, dass die Interaktion von T-regulatorischen Zellen und Belastung ein Schlüssel zur Beantwortung der Ausgangsfrage sein kann. Weitere wissenschaftliche Untersuchungen zu dem Thema, dass (Spitzen-) Belastung zu einer erhöhten supprimierenden Wirkung auf das Immunsystems führt, sind erforderlich für weiterführende Erkenntnisse, nicht nur in sportwissenschaftlicher Hinsicht, sondern auch in der immunologischen Forschung im Allgemeinen. Hierbei sind durchaus auch die geschlechtsspezifischen Unterschiede zu berücksichtigen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Haskell et al.⁶³ hat 2007 in seiner Arbeit *Physical activity and public health* die Vorteile eines regelmäßigen körperlichen Trainings in verschiedenen Belastungsstufen über einen Verlauf von zehn Jahren veröffentlicht. Das kardiovaskuläre System wurde gestärkt, das Herzinfarktrisiko nahm ab, der Muskelaufbau wurde strukturierter und die Fettleibigkeit reduziert. Das Risiko zunehmender körperlicher Belastung hat er im Wesentlichen mit einem erhöhten Verletzungsrisiko durch den Sport beschrieben.⁶³ Schottenfeld weist ebenfalls in seiner Arbeit *Chronic Immflammation* (2006) darauf hin, dass die Lebensführung und der Entwicklungsstand eines Landes das Gesundheitsrisiko beeinflussen können.⁷³

Eigene Untersuchungen haben gezeigt, dass sportliche Aktivität bzw. körperliche Belastung mit einer Steigerung der Treg-Zellen Konzentration einhergeht. Dies ist ein völlig neuer Ansatz, die Auswirkungen sportlicher Aktivität zu beurteilen.

Aus evolutionsgeschichtlicher Sicht ist das Aktivitätsniveau der Bevölkerung in den Industriestaaten innerhalb weniger Jahrzehnte dramatisch abgefallen. Der Tagesablauf eines durchschnittlichen Einwohners in den Industrienationen ist gekennzeichnet durch Inaktivität und Bewegungsmangel. Naturvölker, die einen Lebensstil pflegen, wie ihn unsere Vorfahren geführt haben, und der durch einen deutlich höheren Grad an Bewegung gekennzeichnet ist, erreichen deutlich höhere VO₂max-Werte als heutige Menschen in den industrialisierten Ländern. Die VO₂max-Werte, die bei Naturvölkern wie den Massai oder den Inuits beobachtet werden, liegen im Bereich von Spitzensportlern.⁷³

Die evolutionäre Selektion der idealen immunologischen Homöostase fand unter Bedingungen statt, bei denen die Menschen körperlich deutlich aktiver waren.

Die raschen Veränderungen in der körperlichen Aktivität, die in der relativ kurzen Zeit der Industrialisierung stattgefunden haben, könnten somit zum Teil die Zunahme an Autoimmunerkrankungen und chronisch entzündlichen Erkrankungen erklären, die in den letzten Jahrzehnten zu verzeichnen waren. Die körperliche Aktivität spielt dabei sicherlich nicht die einzige Rolle, sondern trägt neben anderen Lebensstilfaktoren wie

Ernährung, Körpergewicht und Zigarettenkonsum etc. zur Entstehung der sogenannten Wohlstandskrankheiten bei, deren gemeinsamer ätiologischer Faktor chronisch entzündliche Prozesse sind. Wie diese Arbeit zeigt, könnte ein wesentlicher Mechanismus für die entzündungshemmende Wirkung von Sport, auf der bewegungsabhängigen Regulation der Homöostase von regulatorischen T-Zellen beruhen. Eine Steigerung des generellen Bewegungsumfangs in der Gesamtbevölkerung wäre daher ein erstrebenswertes und gesundheitspolitisches Ziel und könnte zu einer deutlichen Verbesserung der Volksgesundheit führen, solange die Aktivität in Maßen betrieben und nicht dauerhaft an der persönlichen Leistungsgrenze trainiert wird.

Die alleinige Charakterisierung der regulatorischen T-Zellen gibt Tendenzen wieder, reicht aber nicht aus. In diesem Kontext müssen auf jeden Fall auch Th17-Zellen hinzugezogen werden. Entscheidend ist das Verhältnis Treg- zu Th17-Zellen, da zwischen diesen beiden potentiell antagonistischen pro-inflammatorischen Zellsubtypen (Th17-Zellen und Treg-Zellen) ein streng reguliertes Gleichgewicht herrscht.⁷³ Wird dieses Gleichgewicht zu Gunsten der IL10- bzw. IL17-Produktion (Th17-Zellen) verschoben, kommt es zu einer empfindlichen Störung der Balance zwischen Immuntoleranz und Inflammation. Es deuten diesbezüglich immer mehr Studien darauf hin, dass Treg-Zellen und Th17-Zellen entwicklungsstechnisch sehr eng verwoben sind, da derselbe naive T-Zell Precursor Pool, aus dem sich die Treg-Zellen entwickeln, auch in der Lage zu sein scheint, IL17 produzierende Th17-Zellen hervorzubringen⁷⁵. Hinzu kommt, dass Treg-Zellen über eine hohe Plastizität verfügen, das heißt induzierte Treg-Zellen (iTreg) können auch ihre suppressive Eigenschaft (im Zusammenspiel von IL6 und TGF-beta) verlieren und zu Th17 Zellen umprogrammiert werden, sodass die alleinige Aussage über das Vorhandensein von Treg-Zellen nichts über ihre Funktionalität aussagt⁷⁶.

Zu diesem Zeitpunkt ist noch keine weitere Studie bekannt, die den Einfluss von körperlichem Training auf die Homöostase von regulatorischen T-Zellen anhand einer so großen Basiskohorte (Momentum) verglichen mit einer auf höchstem sportlichen Niveau agierenden Leistungssportmannschaft (Hockey-Nationalmannschaft) untersucht hat. Vorliegende Arbeit versteht sich als wissenschaftlicher Beitrag, auf dessen Grundlage weitere Untersuchungen in diese

Richtung aufbauen können. Auch eine Trainingsdokumentation durch die in die Studie einbezogenen Sportler wäre aufschlussreich. Diese und weitere Studien in einem solchen Design sind sehr aufwendig. Jedoch könnten dadurch Aussagen requiriert werden, die in der Sportwelt und speziell in der Trainingswissenschaft von großer Bedeutung sind. Wenn über die Kenntnis der jeweiligen Treg-Zellen Werte eine Risikoabschätzung vorgenommen werden könnte, die einen Wert darstellt, der widerspiegelt, wie stark belastet das Individuum durch den geleisteten Trainingsaufwand ist, wäre es möglich, für jeden Sportler einen optimalen Trainingsplan zu erarbeiten, den man den individuellen Bedürfnissen seines Organismus entsprechend steuern (justieren) kann. So würde der Sportler unter der Auswertung von physiologischen Fakten optimal Richtung Wettkampf gesteuert werden können, ohne Gefahr zu laufen, den Körper überzustrapazieren, oder sich einer erhöhten Infektionsanfälligkeit aufgrund einer geschwächten Immunabwehr auszusetzen. Man könnte somit bei einer gewissen Erfahrung im Umgang mit den Daten sicherstellen und steuern, dass der Athlet im ausgeruhten, gesundheitlich robusten Zustand zum Wettkampf bereit steht. Bis dieser Zustand jedoch erreicht ist gilt es, jeden Athleten individuell zu untersuchen und zu testen um seinen ihm eigenen Treg-Zellen Schwellenwert festlegen zu können. Es wäre daher wünschenswert, regulatorische T-Zellen als Parameter der Immunkompetenz zur Beurteilung der Trainingseffizienz bzw. zur Trainingssteuerung einsetzen zu können.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- 1 Keats, D., Cameron, K., Morton, A. R. (1988). Exercise and the immune response. *Sports Medicine* 5, S. 248-267.
- 2 Córdova, A., Sureda, A., Tur, J. A., Pons, A., (2010). Immune response to exercise in elite sportsmen during the competitive season. *Journal of physiology and biochemistry*, 66 (1), S. 1-6.
- 3 Mooren, F. C. (2003). *Immunology and Sport Akt Rheumatol*, 28, S. 187-195.
- 4 Foster, C. (1998). Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc*, 30, S. 1164-1168.
- 5 Miller, A. C., Rashid, R. M., Elamin, E. M. (2007). The "T" in trauma: The helper T-cell response and the role of immunomodulation in trauma and burn patients. *The Journal of trauma*, 63, S.1407-1417.
- 6 Jaffer, U., Wade, R. G., Gourlay, T. (2010). Cytokines in the systemic inflammatory response syndrome: A review. *HSR proceedings in intensive care & cardiovascular anesthesia*, 2, S. 161-175.
- 7 Kimura, F., Shimizu, H., Yoshidome, H., Ohtsuka, M., Miyazaki, M. (2010). Immunosuppression following surgical and traumatic injury. *Surgery today*, 40, S. 793-808.
- 8 Davis, J. M., Kohut, M. L., Colbert, L. H., Jackson, D.A., Ghaffar, A., Mayer, E. P. (1997). Exercise, alveolar macrophage function, and susceptibility to respiratory infection. *J Appl Physiol.*, 83, S. 1461-1466.
- 9 König, D., Grathwohl, D., Berg, A., Deibert, P., Weinstock, C., Northoff, H. (2000). Sport und Infekte der oberen Atemwege – Epidemiologie, Immunologie und Einflussfaktoren. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin*. 51 (7+8), S. 244-250.

- 10 FAZ-Online. Zugriff 20.02.2013
<http://www.faz.net/themenarchiv/2.1035/nordische-kombination-ackermann-verzichtet-auf-olympia-1908675.html>
- 11 Homepage Ackermann. Zugriff 27.02.2013
<http://www.ronnyackermann.de/newsdetails+M5470a900e41.html>
- 12 Usharauli, D., (2010). Chronic infection and the origin of adaptive immune system. *Medical Hypotheses* 75, S. 241-243.
- 13 Pezzutto, A., Ullrichs, T., Burmester, G.-R. (2007) Taschenatlas der Immunologie, Thieme, Stuttgart, S.1.
- 14 Flajnik, M. F., Kasahara, M., (2010). Origin and evolution of the adaptive immune system: Genetic events and selective pressures. *Nature Reviews Genetics*, 11, S. 47-49.
- 15 Powolny-Budnicka, I., Riemann, I., Tänzer, S., Schmid, R. M., Hehlhans, T., Weih, F. (2011). RelA and RelB transcription factors in distinct thymocyte populations control lymphotoxin-dependent interleukin-17 production in yo Tcells. *Immunity*, 34 (3), S. 364-374.
- 16 Iwasaki, A., Medzhitov, R. (2010) Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. *Science*, 327 (5963), S. 291-295.
- 17 Janeway, C. A. (1989). Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 54, S. 1.
- 18 Hedrick, S. M. (2004) The acquired immune system: A vantage from beneath. *Immunity*, 21, S. 607-615.
- 19 Bretscher, P., Cohn, M. (1970). A theory of self-nonself discrimination. *Science*, 169, S. 1042-1049.

- 20 Zinkernagel, R. M., Bachman, M. F., Kundig, T. M., Oehen, S., Pirchet, H., Hengartner, H. (1996) On immunological memory. *Annual Review of Immunology*, 14, S. 333-367.
- 21 Usharauli, D., (2010). Chronic infection and the origin of adaptive immune system. *Medical Hypotheses*, 75, S. 241-243.
- 22 Asseman, C., Herrath von, M. (2002). About CD4+ CD25+ regulatory cells. *Autoimmunity Reviews*, 1, S. 190-197.
- 23 La Cava, A. (2008). Tregs are regulated by cytokines: Implication for autoimmunity. *Autoimmunity Reviews*, 8, S. 83-87.
- 24 Sakaguchi, S. (2011). Regulatory T cells: History and perspective. *Methods in Molecular Biology*, 707, S. 3-17.
- 25 Reviewed in van Maren, W. W. C., Jacobs, J. F. M., De Vries, I. J. M., Nierkens, S., Adema, G. J. (2008). Toll-like receptor signalling on Tregs: To suppress or not to suppress? *Immunology*, 124 (4), S. 445-452.
- 26 Gallimore, A. M. et al. (2008). Positive and negative influences of regulatory T cells on tumor immunity. *Oncogene*, 27, S.5586-5593.
- 27 Gershon, R. K. (1975), A disquisition on suppressor T cells. *Transplantation Reviews*, 26, S. 170-185.
- 28 Reviewed in Walker, L. S. K. (2009). Regulatory T cells overturned: The effectors fight back. *Immunology*, 126 (4), S. 466-474.
- 29 Sakaguchi, S. (2011). Regulatory T cells: History and perspective. *Methods in Molecular Biology*, 707, S. 3-17.

- 30 Greten, T. F., Manns, M. P., Korangy, F. (2011) Myeloid derived suppressor cells in human diseases. *Int Immunopharmacol.* 11 (7) S. 802-807.
- 31 Gorelik, L., Flavell, R. A. (2002). Transforming growth factor-beta in T-cell biology. *Nat Rev Immunol*, 2, S.46-53.
- 32 Heath, V. L., Murphy, E. E., Crain, C., Tomlinson, M. G., O'Garra, A. (2000). TGF-beta1 down-regulates Th2 development and results in decreased IL-4-induced STAT6 activation and GATA-3 expression. *Eur J Immunol*, 30, S. 2639-2649.
- 33 Asadullah, K., Sterry, W., Volk, H. D. (2003). Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev*, 55, S. 241-269.
- 34 Woods, J. M., Katschke, K. J., Tokuhira, M., Kurata, H., Arai, K., Campbell, P. L., Koch, A. E. (2000). Reduction of inflammatory cytokines and prostaglandin E2 by IL-13 gene therapy in rheumatoid arthritis synovium. *J. Immunol*, 165, S. 2755-2763.
- 35 Lentsch, A. B., Czermak, B. J., Jordan, J. A., Ward, P. A. (1999). Regulation of acute lung inflammatory injury by endogenous IL-13. *J. Immunol*, 162, S. 1071-1076.
- 36 Perry, C., Pick, M., Bdoach, N., Hazan-Halevi, I., Kay, S., Berr, I., Reches, A., Harishanu, Y., Grisaru, D. (2013) Endurance exercise diverts the balance between Th17 cells and regulatory T Cells. *PLoS ONE* 8 (10): e74722. doi:10.1371/journal.pone.0074722
- 37 Pedersen, B. K. (2009). The disease of physical inactivity – and the role of myokines in muscle-fat cross talk. *J Physiol*, 587 (Pt 23), S. 5559-5568.
- 38 Pedersen, B. K., Hoffmann-Goetz, L. (2000). Exercise and the immune system; regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev* 80 (3), S. 1055-1081.

- 39 Leelarungrayub, D., Saidee, K., Pothongsunun, P., Pratanaphon, S., YanKai, A., Bloomer, R. J. (2011) Six weeks of aerobic dance exercise improves blood oxidative stress status and increases interleukin-2 in previously sedentary women. *J Bodyw Mov Ther*, 15 (3), S.355–362.
- 40 Gleeson, M., Bishop, N. C. (2005). The T cell and NK cell immune response to exercise. *Ann transplant*, 10 (4), S. 43-48.
- 41 Handzlik, M. K., Shaw, A .J., Dungey, M., Bishop, N. C., Gleeson, M. (2013) The influence of exercise training status on antigen-stimulated IL-10 production in whole blood culture and numbers of circulating regulatory T cells. *Eur J appl Physiol*, 113, S. 1839-1848.
- 42 Baumann, F., Jäger, E., Bloch, W. (2012). *Sport und körperliche Aktivität in der Onkologie*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- 43 Pabst, G. M. (2004) Experimentelle Untersuchungen zum Einfluß von Interleukin 13 auf Neutrophile Granulozyten unter inflammatorischen Bedingungen. Monographie, vorgelegt an der Justus-Liebig-Universität Gießen.
- 44 Klein, S. L. (2004). Hormonal and immunological mechanisms mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology*, 26 (6-7), S. 247-246.
- 45 Oertel-Prigione, S., Parol, R., Krohn, S., Preissner, R., Regitz-Zagrosek, V. (2010). Analysis of sex and gender-specific research reveals a common increase in publications and marked differences between disciplines. *BMC Med*.
- 46 McClelland, E. E, Smith, J. M. (2011). Gender specific differences in the immune response to infection. *Archivum immunologiae et therapiea experimentalis*, 59 (3), S. 203-213.
- 47 Oertel-Prigione, S. (2012) The influence of sex and gender on the immune response. *Autoimmunity Reviews*, S. 479-485.

- 48 Basseted, jr. & Howley, E.T. (2000) Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. [Review] [89 refs]. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 32, S. 70-84.
- 49 Kindermann, W., Meyer, T., Gabriel, H. (1999). Is determination of exercise intensities as percentages of O₂max or HRmax adequate. *Deutsche Zeitung für Sportmedizin*, 31, S. 1342-1345.
- 50 Lortie, G. et al. (1984). Responses of maximal aerobic power and capacity to aerobic training. *International Journal of Sports Medicine*, 5, S. 232-236.
- 51 Lars, H., Lange, A. (1965) Aerobic work capacity in young Norwegian men and women. *J. of Applied Physiology*, 20 (3), S. 425–431.
- 52 Aziz, A.R., Chia, M., The, K.C. (2000). The relationship between maximal oxygen uptake and repeated sprint performance indices in field hockey and soccer players. *J Sport Med Phys Fit*, 40 (3), S. 195-200.
- 53 Funke, S. (2003). Genetische Determinanten des Renin-Angiotensin-Systems und ihre Bedeutung für die maximale Sauerstoffaufnahme bei hochtrainierten Ausdauerathleten und Normalpersonen. Dissertation – Vorgelegt an der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br., S.1-73.
- 54 Engelmeyer, E. (2012). Analyse des Gesundheits- und Leistungsstatus von Kaderathleten olympischer Sportarten. *Schriften zur Sportwissenschaft*, 102, S. 66-67. Verlag Dr. Kovač, Hamburg
- 55 Baum, M., Liesen, H. (1998). Sport und Immunsystem. *Deutsches Ärzteblatt* 95 (10), S. A-538 - A540.
- 56 Baum, M., Liesen, H., Enneper, J. (1994). Leucocytes, lymphocytes, activation parameters and cell adhesion molecules in middle-distance runners under different training conditions. *Int J Sports Med*, 15, S. 122-126.

- 57 Foster, C. (1998) Monitoring training in athletes with reference to overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc*, 30, S. 1164-1168.
- 58 Kakanis, M. W., Peake, J., Brenu, E. W., Simmonds, M., Gray, B., Hooper, S. L., Marshall-Gradisnik, S. M (2010). The open window of susceptibility to infection after acute exercise in healthy young male elite athletes. *Exerc Immunol Rev*, 16, S. 119-137.
- 59 Horn, D. B., Pyne, W. G., Hopkins, C. J., Barnes P. L. (2010) Lower white blood cell counts in elite athletes training for highly aerobic sports, *European Journal of Applied Physiology*, 110 (5), S. 925-932.
- 60 Baum, M., Liesen, H. (1998.) Sport und Immunsystem. *Deutsches Ärzteblatt* 95 (10), S. A-538-A540.
- 61 Engelmeyer, E. (2012). Analyse des Gesundheits- und Leistungsstatus von Kaderathleten olympischer Sportarten. *Schriften zur Sportwissenschaft*, 102, S. 34-35. Verlag Dr. Kovač, Hamburg
- 62 Astorino, T. A., Rietschel, J. C., Tam, P. A., Taylor, K., Johnson, S. M., Freedman, T. P., Sakaray, C. E. (2004). Reinvestigation of optimum duration of VO_2 max testing. *Journal of Exercise Physiology*, S. 1-8.
- 63 Haskell, W. L., Lee, I.-M., Pate, R. R., et al. (2007) Physical activity and public health: Updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation*, 116 (9), S. 1081–1093.
- 64 Nieman, C. D., Johannsen, L. M., Lee, J. W. (1989). Infectious episodes in runners before and after a roadrace. *J Sports Med Phys Fit*, 29, S. 289-296.
- 65 Nieman, C. D., Johannsen, L. M., Lee, J. W., Arabatzis, K. (1990) Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *J Sports Med Phys Fit*, 30, S. 316-328.

- 66 Nieman, C. D., Nehlsen-Cannarella, S. L., Markoff, P. A., et al. (1990) The effects of moderate exercise training on natural killer cells and acute upper respiratory tract infections. *Int J Sports Med*, 11, S. 467-473.
- 67 Nieman, C. D. (1999) Nutrition, exercise and immune system function. *Clin Sports Med*, 18, S. 537-548.
- 68 Bassett, D. R., JR. & Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. [Review] [89 refs]. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32, S. 70-84.
- 69 Carbo, A., Hontecillas R., Andrew, T., Eden, K., Mei, Y., Hoops, S., Bassaganya-Riera, J. (2014). Computational modeling of heterogeneity and function of CD4+ T cells. *Cell and Developmental Biology*, 2 (31), S. 1-11.
- 70 Weinhold, M., Shimabukuro-Vornhagen, A. et al. (2016). Physical exercise affects homeostasis of human regulatory T cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 137 (5), S. 1607- 1610.e8.
- 71 Caspersen, C. J., Powell, K. E., Christenson, G. M. (1985). Physical activity, exercise, and physical fitness: Definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* Mar-Apr; 100 (2), S. 126–131.
- 72 Zandman-Goddard, G., Peeva, E., Shoenfeld, Y. (2007). Gender and autoimmunity. *Autoimmun Rev*;6 (6), S.366–372.
- 73 Schottenfeld, D., Bebe-Dimmer, J. (2006). Chronic inflammation: A common and important factor in the pathogenesis of neoplasia. *Cancer Journal for Clinicians*, 56 (2), S. 69-83.
- 74 Lochner, M., et al. (2008). In vivo equilibrium of proinflammatory IL-17+ and regulatory IL-10+ Foxp3+ RORgamma t+ T cells. *J Exp Med*, 205 (6), S. 1381-1393.

75 Perry, C., et al. (2013). Endurance exercise diverts the balance between Th17 cells and regulatory T cells. PLoS One, 8 (10), S. e74722.

76 Chen, X.a.O., Joost, J. (2009). Regulatory T Cells, Th17 Cells, and TLRs: Crucial roles in Inflammation, autoimmunity, and cancer. Pathways, Cover Story (10).

7.1 Trainingsplan der Hockeynationalmannschaft

Lehrgang Mannheim 5.-12.2.2012

	Sonntag	Montag	Dienstag	Mittwoch	Donnerstag	Freitag	Samstag	Sonntag
	5.2.	6.2.	7.2.	8.2.	9.2.	10.2.	11.2.	12.2.
0800-0830		Reg_Lauf	Reg_Lauf	Reg_Lauf	Reg_Lauf	Reg_Lauf	Reg_Lauf	
0830-0900								FS
0900-0930								Reg_30'
0930-1000								20' FMS-Bewe
1000-1030		Hockey (Te)	Sprint	Hockey (Te)	Sprint	Hockey	Sprint	
1030-1100			Int. hoch		Int. hoch	Int. hoch	Int. hoch	
1100-1130		A_ext 45'		A_int				
1130-1200								
1200-1230								
1230-1300				frei				
1300-1330								
1330-1400								
1400-1430								
1430-1500			Kraft		Kraft			
1500-1530	Reg_35'	FMS-	Int. Mittel		Int. Mittel	Reg_35'		
1530-1600	FMS	Stabi/Bew.				FMS-Bewegl.	Hockey	
1600-1630		Int. mittel					Int. mittel	
1630-1700								
1700-1730						frei		
1730-1800								
1800-1830								
1830-1900	Hockey		Hockey-Te/KE				spez. Ausd.	
1900-1930	Int. hoch	Hockey	Int. niedrig		Hockey		Int. hoch	
1930-2000		Int. hoch			Int. mittel			
2000-2030								
2030-2100								
2100-2130								
2130-2200								
2200-2230								
2230-2300								

7.2 Publikation der Dissertation

Die vorliegenden Ergebnisse wurden im "Journal of Allergy and Immunology" veröffentlicht: Weinhold, M., Shimabukuro-Vornhagen, A. et al. (2016). Physical exercise affects homeostasis of human regulatory T cells. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 137 (5), S. 1607- 1610.e8.

8 LEBENS LAUF

PERSONALIEN

Vor und Zuname: Johannes-Maximilian Weinhold
Geburtsdatum: 30.04.1982 in München
Familienstand: verheiratet mit Lisa

SCHULBILDUNG

1993 – 1996 Thomas – Mann Gymnasium in München
1996 – 2002 Gymnasium auf dem Asterstein in Koblenz (Abitur)

WEHRDIENST

Apr. 2002 – Sep. 2003 Wehrdienst bei der Sportfördergruppe in Köln & München
(Dienstgrad: Hauptgefreiter)

STUDIUM

2003 – 2007 Studium der Sport/ Medien- & Kommunikationswissenschaften
an der Technischen Universität München
2007 – 2010 Studium der Sport/ Medien- & Kommunikationswissenschaften
an der Deutschen Sporthochschule Köln
2010 Diplom (Note: gut)
2011 Promotionsstudent an der Deutschen Sporthochschule Köln

SPORTLICHE TÄTIGKEIT

seit 2000 Leistungssport: Hockey
2003 – 2013 Vereinerfolge mit dem Münchner Sportclub und dem KTHC
Stadion Rot-Weiß Köln:
mehrfacher Deutscher Meister & Europacupsieger
2003 – 2012 Nationalmannschaftserfolge:
Europameister (2006 & 2011), Weltmeister (2007),
2008 & 2012 Olympische Spiele:
Gold in Peking (2008),
Gold in London (2012)

ABSTRACT

Deutsch

Sportliche Aktivität hat eine Reihe positiver Effekte auf die Gesundheit. Sport reduziert das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, regt den Kreislauf an und bildet den Muskelapparat aus. Andererseits gibt es aber auch Hinweise, dass intensive körperliche Belastung zu einer Schwächung des Immunsystems führt und das Infektionsrisiko steigert. Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung, ob und in welchem Maße sportliches Training die Homöostase von regulatorischen T-Zellen, die eine der wesentlichsten immunregulatorischen und entzündungshemmenden Immunzellpopulationen darstellen, beeinflusst. Um weitere Erkenntnisse im Zusammenhang zwischen sportlicher Aktivität und der Treg-Zellen Konzentration zu schaffen, wurden Blutproben von der deutschen Hockeynationalmannschaft vor und nach einem Belastungszyklus analysiert. Diese Arbeit zeigt eine Korrelation zwischen der Treg-Zellen Konzentration und der Intensität von sportlicher Belastung, dargestellt durch den relativen VO₂peak Wert, welcher als Indikator für körperliche Fitness gilt. Sportliche Aktivität führt zu einer signifikanten Steigerung der Treg-Zellen Konzentration im peripheren Blut. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass körperliche Aktivität die Homöostase von Treg-Zellen in gesunden Individuen moduliert. Diese Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung von körperlicher Aktivität auf die Beibehaltung eines gesunden, ausgeglichenen Immunsystems und stellen die regulierende Rolle von körperlicher Bewegung heraus.

English

The strong influence of physical activity on health benefits is a matter of common knowledge. Since biological effects of physical activity are partly mediated through the amelioration of chronic inflammation, the impact of physical activity on the number of regulatory T cells, the central regulators of adaptive immunity and inflammation, requires further investigations. To determine whether there is a causal relation between physical activity and the number of regulatory T cells, blood samples from the German Olympic Hockey Team before and after a training camps were analysed. In the present study the number of regulatory T cells in athletes correlated with exercise intensity determined by the relative VO₂peak, a measure of aerobic physical fitness. Physical exercise led to a significant increase in regulatory T cells. To summarize it can be noted, physical activity modulates regulatory T cell homeostasis in healthy individuals. These results suggest that intensity depending physical exercise, promotes anti-inflammatory immunity. Considering the large number of patients, suffering from chronic low-grade inflammation disease, a strong influence on clinical treatments should be taken into account. These outcomes highlight the importance of physical activity maintaining a healthy immune system balance and reinforce the role of physical exercise reducing chronic low-grade inflammation.