

Aus dem Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin

Abteilung für Molekulare und Zelluläre Sportmedizin

der Deutschen Sporthochschule Köln

Geschäftsführender Leiter: Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Bloch

Akuteffekte verschiedener körperlicher Belastungsmodalitäten auf den Tryptophan- Kynurenin-Metabolismus

An der Deutschen Sporthochschule Köln

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Sportwissenschaft

angenommene Dissertation

vorgelegt von

Niklas Joisten

aus

Bergisch-Gladbach

Köln 2021

Erste/r Gutachter/in:

Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Bloch

Zweite/r Gutachter /in:

Junior-Prof. Dr. Dr. Philipp Zimmer

Vorsitzende/r des Promotionsausschusses:

Univ.-Prof. Dr. Mario Thevis

Datum der Disputation:

01.03.2021

Eidesstattliche Versicherungen gem. § 7 Abs. 2 Nr. 4 und 5 der Promotionsordnung
der Deutschen Sporthochschule Köln, 20.02.2013:

Hierdurch versichere ich:

Ich habe diese Arbeit selbstständig 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.

Datum, Unterschrift

Danksagung

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Doktorvater Univ.-Prof. Dr. Wilhelm Bloch, der mir während meiner Tätigkeit in seiner Abteilung großes Vertrauen entgegengebracht und meine wissenschaftliche Arbeit inspiriert hat.

Insbesondere möchte ich mich bei Junior-Prof. Dr. Dr. Philipp Zimmer bedanken, der die Umsetzung meines Promotionsvorhabens durch äußere Rahmenbedingungen wie inhaltliches Mentoring in dieser Form ermöglichte. Herzlichen Dank für die intensive Begleitung, die stets äußerst wertvoll und zielführend für mich war.

Ich möchte mich recht herzlich bei der gesamten Arbeitsgruppe „Sport- (Neuro-) Immunologie“ für das harmonische Arbeitsklima bedanken, das dafür gesorgt hat, den zum Teil zeitaufwendigen Arbeitsalltag sehr angenehm und heiter zu erleben.

Ich bedanke mich bei Dr. Alexander Schenk, Herrn David Walzik und Frau Annette Rademacher für Ihre persönliche Unterstützung und den inhaltlich wertvollen Input.

Darüber hinaus bedanke ich mich recht herzlich bei Dr. Andre Knoop für die unverzichtbare Unterstützung bei den Analysen und bei Dr. Eva Zopf für die Gelegenheit der persönlichen Weiterentwicklung, die wissenschaftliche Inspiration, sowie für die Möglichkeit einer zielorientierten Arbeitsweise im Rahmen meines Promotionsvorhabens.

Ferner geht mein Dank an das gesamte Institut für Kreislaufforschung und Sportmedizin, welches mir durch sehr gute Rahmenbedingungen und eine tolle Arbeitsatmosphäre die reibungslose Umsetzung meines Promotionsvorhabens ermöglicht hat.

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|-----|
| Abkürzungsverzeichnis | I |
| Zusammenfassung | II |
| Abstract..... | III |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 2 Wissenschaftlicher Hintergrund | 4 |
| 2.1 Kynureninpfad | 4 |
| 2.1.1 Interaktionen mit dem Immunsystem | 6 |
| 2.1.1.1 Inflammationsvermittelte Einflüsse..... | 6 |
| 2.1.1.2 Immunmodulatorische Eigenschaften | 7 |
| 2.1.2 Neuroaktive Wirkweisen..... | 8 |
| 2.1.2.1 Neurotoxizität | 9 |
| 2.1.2.2 Neuroprotektion..... | 9 |
| 2.2 Kynureninpfad und körperliche Belastungen..... | 9 |
| 3 Hypothesen..... | 11 |
| 4 Methoden und Ergebnisse..... | 12 |
| 5 Diskussion | 17 |
| 5.1 Ergebnisdiskussion..... | 17 |
| 5.2 Methodendiskussion..... | 25 |
| 6 Kontextualisierung und Perspektive | 29 |
| 7 Fazit | 30 |
| 8 Literaturverzeichnis..... | 32 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|---------------------------------|
| AhR | Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor |
| IDO | Indolamin 2,3-Dioxygenase |
| IL | Interleukin |
| INF- γ | Interferon-gamma |
| KATs | Kynurenin-Aminotransferasen |
| kg | Kilogramm |
| KMO | Kynurenin 3-Monooxygenase |
| KYN/TRP Ratio | Kynurenin/Tryptophan Ratio |
| mg | Milligramm |
| NMDA | N-Methyl-D-Aspartat |
| NAD ⁺ | Nicotinamidadenindinukleotid |
| PD-1 | Programmed cell death protein-1 |
| Tregs | regulatorische T-Zellen |
| TDO | Tryptophan 2,3-Dioxygenase |
| TGF- β | Transforming growth factor-beta |
| TH-Zellen | T-Helfer-Zellen |
| TNF- α | Tumornekrosefaktor-alpha |
| u.a. | unter anderem |
| ZNS | zentrales Nervensystem |
| z.B. | zum Beispiel |

Zusammenfassung

Der Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus ist der primäre Stoffwechselweg der essentiellen Aminosäure Tryptophan und in vielfältige physiologische und pathophysiologische Mechanismen involviert. Akute (einmalige) wie chronische (mehrwöchige) körperliche Belastungen können den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus in verschiedenen Populationen beeinflussen. Obwohl in chronischen Interventionsstudien oftmals keine Effekte beobachtet wurden, zeigen sich nach akuten Belastungen in Form von Ausbelastungstests robuste Effekte, welche eine initiale Aktivierung sowie einen erhöhten metabolischen Fluss zur Kynureninsäure als Endprodukt widerspiegeln. In dieser Arbeit wurde untersucht, inwiefern sich die Akuteffekte verschiedener körperlicher Belastungsmodalitäten auf den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus bei jungen gesunden Männern unterscheiden. Insbesondere Ausdauerbelastungen, jedoch auch Hypertrophietrainingsreize scheinen den metabolischen Fluss in Richtung der Kynureninsäure zu erhöhen. Da die Kynureninsäure ein endogener Ligand des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors ist, kann durch den im Blutserum gemessenen Anstieg nach Belastung eine erhöhte Ligandenverfügbarkeit des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors auf systemischer Ebene angenommen werden. Aufgrund seiner immunsuppressiven Eigenschaften, könnte die Aktivierung des Aryl-Hydrocarbon-Rezeptors eine wichtige Rolle in der Interaktion von belastungsinduzierten Akuteffekten und längerfristigen Anpassungserscheinungen des Immunsystems spielen. Weitere Studien sind notwendig, um die Ergebnisse dieser Arbeit auf andere Stichproben (z.B. Frauen, Ältere) und klinische Populationen zu übertragen. Basierend auf den Erkenntnissen der vorliegenden Arbeit können zielgerichtete chronische Sportinterventionen gestaltet werden, welche möglicherweise das Potential haben, einen fehlregulierten Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus bei verschiedenen chronischen Erkrankungen zu normalisieren.

Abstract

The tryptophan-kynurenine metabolism is the primarily metabolic pathway of the essential amino acid tryptophan degradation and is involved in various physiologic and pathophysiologic mechanisms. Acute (single) and chronic (multiple) bouts of physical exercise impact the tryptophan-kynurenine metabolism in different populations. While effects of chronic intervention studies have been scarcely observed, acute exercise in terms of incremental exercise tests until exhaustion show robust effects, especially concerning an activation and an increased metabolic flux towards kynurenic acid as end product. The present work aims to investigate whether different exercise modalities provoke different acute effects on the tryptophan-kynurenine metabolism in young healthy males. Aerobic exercise modalities, in particular, but also hypertrophic strength loads seem to augment the metabolic flux towards kynurenic acid. Since kynurenic acid is an endogenous ligand of the aryl-hydrocarbon-receptor, the increase measured in blood serum suggests a systemically greater ligand availability of the aryl-hydrocarbon-receptor. Due to its immunosuppressive properties, an activation of the aryl-hydrocarbon-receptor may represent an important link between exercise-induced acute effects and longer-term adaptations of the immune system. Future studies are needed to confirm the present findings in other samples (e.g., women, older people) and clinical populations. Targeted chronic exercise interventions that may have the potential to normalize a deregulated tryptophan-kynurenine-metabolism in different chronic diseases can be designed based on the present results.

1 Einleitung

Umfassende Evidenz belegt den therapeutischen Nutzen regelmäßiger körperlicher Bewegung bei einer Vielzahl chronischer Erkrankungen, zu denen unter anderem kardiovaskuläre, neurodegenerative sowie internistische Erkrankungen zählen (Pedersen & Saltin, 2015). Während eine gute Evidenzlage die positiven Effekte von chronischem Training auf verschiedenste Symptome beschreibt, weist eine zunehmende Anzahl an Studien darauf hin, dass ebenfalls das Fortschreiten bzw. der Verlauf chronischer Erkrankungen (z.B. Multiple Sklerose, Tumorerkrankungen) gelindert bzw. verbessert werden kann (Dalgas, Langeskov-Christensen, Stenager, Riemenschneider, & Hvid, 2019; Eschke et al., 2019). Bislang größtenteils unklar sind die durch Bewegung ausgelösten zugrunde liegenden Mechanismen, welche das Fortschreiten bzw. den Verlauf chronischer Erkrankungen modulieren und möglicherweise gleichzeitig für eine bewegungsbedingte Symptomlinderung verantwortlich sind. Basierend auf der Beantwortung der Frage, warum regelmäßige körperliche Bewegung mit einer symptomlindernden und krankheitsmodulierenden Wirkung assoziiert ist, können zielgerichtete Bewegungsempfehlungen entwickelt oder optimiert werden.

Ein potentiell zugrunde liegender Mechanismus ist die bewegungsinduzierte Modulation des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus (kurz "Kynureninpfad"), welche für eine Vielzahl von chronischen Erkrankungen relevant sein könnte. Der Kynureninpfad beschreibt den vorrangigen metabolischen Pfad, über den die essentielle Aminosäure Tryptophan abgebaut wird. Die Regulation des Kynureninpfads ist eng mit verschiedenen immunologischen und neuroaktiven Eigenschaften verknüpft (Cervenka, Agudelo, & Ruas, 2017; Schwarcz & Stone, 2017). Interessanterweise wird der Kynureninpfad durch kurz- und/oder langzeitige inflammatorische Stimuli hochreguliert, während zentrale Enzyme sowie Metabolite entlang des Kynureninpfads suppressiv auf das Immunsystem wirken (Cervenka et al., 2017). Als Beispiel hierfür kann das Gleichgewicht von T-Helfer (TH)-17-Zellen zu regulatorischen T-Zellen (Tregs) genannt werden, welches sich durch eine verstärkte Aktivierung des Kynureninpfads in Richtung der immunsuppressiv wirkenden Tregs verschiebt (Baban et al., 2009). Innerhalb des zentralen Nervensystems gehen

verschiedene Metabolite mit neurotoxischen bzw. neuroprotektiven Eigenschaften einher. Etliche chronische Erkrankungen (z.B. Tumorerkrankungen, Diabetes, Multiple Sklerose, Alzheimer Krankheit) weisen einen deregulierten Kynureninpfad auf (Lovelace et al., 2017; Platten, Nollen, Rohrig, Fallarino, & Opitz, 2019).

Erste Human- und Tierstudien deuten darauf hin, dass akute sowie regelmäßige (chronische) körperliche Belastungen die Regulation des Kynureninpfads beeinflussen können. Während akute körperliche Belastungen häufig mit Effekten auf die Regulation des Kynureninpfads einhergehen, zeigen Humanstudien mit mehrwöchigen Trainingsinterventionen mehrheitlich keine Veränderungen (Joisten, Kummerhoff et al., 2020). Vor einer explorativen Annäherung hinsichtlich des Designs mehrwöchiger Trainingsinterventionen, ist ein tiefgründiges Wissen zu den Effekten einmaliger Akutbelastungen von großer Relevanz, da diese durch repetitive Ausführung den Kern chronischer Trainingsinterventionen darstellen, wenngleich divergente Effekte erwartet werden können. In diesem Kontext sei auch zu erwähnen, dass belastungsbedingte Akuteffekte mit kurzzeitigen physiologischen Veränderungen einhergehen können, die möglicherweise jedoch keine längerfristigen funktionellen oder strukturellen Anpassungserscheinungen nach sich ziehen (z.B. erhöhte NK-Zell Zytotoxizität nach einmaligen Belastungen (Zimmer et al., 2017)). Existierende Studien zu den Akuteffekten körperlicher Belastungen auf den Kynureninpfad widmeten sich bislang nahezu ausschließlich Extrem- und Ausdauerbelastungsmodalitäten und lassen mangels implementierter Messzeitpunkte keine Aussagen zu Kinetiken der Tryptophanmetabolite nach Beendigung der Belastungen zu (Joisten, Kummerhoff et al., 2020).

Vor diesem Hintergrund widmet sich die vorliegende Arbeit dem Einfluss akuter körperlicher Belastungen auf den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus, wobei im Detail verschiedene Belastungsmodalitäten erstmalig untersucht und miteinander verglichen werden. Neben der Frage, inwieweit die Regulation des Kynureninpfads durch verschiedene akute Belastungsstimuli im peripheren Blut bei gesunden Erwachsenen beeinflusst wird, soll außerdem die Interaktion mit dem Immunsystem näher betrachtet werden. In diesem Zusammenhang werden sowohl potentielle Mechanismen, die einem belastungsinduzierten Einfluss auf den Kynureninpfad

zugrunde liegen, als auch nachfolgende immunologische Adaptionen explorativ untersucht. Das übergeordnete Ziel dieser Arbeit ist es, den Wissensstand zu den Effekten verschiedener akuter Belastungsmodalitäten auf den Kynureninpfad zu erweitern, um anschließend spezifische, längerfristige Trainingsinterventionen entwickeln zu können, die auf eine Modulation des Kynureninpfads abzielen. Darüber hinaus soll die Arbeit eine notwendige Wissensgrundlage für die zukünftige Untersuchung und Interpretation belastungsinduzierter Effekte auf den Kynureninpfad bei verschiedenen klinischen Populationen schaffen.

2 Wissenschaftlicher Hintergrund

2.1 Kynureninpfad

Das Ausgangsprodukt des Kynureninpfads ist die essentielle Aminosäure Tryptophan, welche über Nahrungsmittel wie z.B. Fleisch, Fisch, Schokolade oder Milchprodukte aufgenommen wird. Die durchschnittliche Menge an täglich aufgenommenem Tryptophan beträgt 3,5-6,0 mg pro kg des Körpergewichts (Richard et al., 2009). Ein Großteil des Tryptophans wird über den Gastrointestinaltrakt aufgenommen, während der im Darm verbleibende Anteil durch Mikrobiota verstoffwechselt wird. Das durch den Gastrointestinaltrakt aufgenommene Tryptophan wird hauptsächlich in der Leber metabolisiert. Der restliche Anteil gelangt in die periphere Zirkulation. Zu den Zielorganen zählt neben der Leber u.a. das Herz, der Skelettmuskel sowie das Gehirn (Cervenka et al., 2017). Tryptophan wird im Körper für verschiedene physiologische Prozesse genutzt und kann in gebundenem oder in freiem Zustand im Blutplasma transportiert werden. Etwa 90-95% werden gebunden an das Plasmaprotein Albumin transportiert und lediglich 5-10% des gesamten Tryptophans im Blutplasma befinden sich unter physiologischen Basalbedingungen im freien Zustand (Badawy, 2017).

Lediglich ein geringfügiger Anteil von etwa einem Prozent des freien Tryptophans wird für die Proteinbiosynthese verwendet. Die wohl populärsten Tryptophanmetabolite stellen Serotonin und Melatonin dar, welche insbesondere wichtige Funktionen als Neurotransmitter im zentralen Nervensystem (ZNS) zur Regulation von Stimmung bzw. Schlaf übernehmen. Etwa 5% des freien Tryptophans werden unter Basalbedingungen zu Serotonin (und anschließend ggf. zu Melatonin) metabolisiert. Mit über 90% wird ein Großteil des freien Tryptophans zu Kynurenin und anschließend zu weiteren Metaboliten katabolisiert (Badawy, 2017). Dieser Stoffwechselweg wird als sogenannter „Kynureninpfad“ bezeichnet. Die Umwandlung von Tryptophan zu Kynurenin kann durch zwei Enzyme vermittelt werden, der Tryptophan 2,3-Dioxygenase (TDO) oder der Indolamin 2,3-Dioxygenase (IDO). Die TDO wird häufig als leberspezifisch beschrieben, kann jedoch auch in anderen Geweben exprimiert werden, wie z.B. dem Knochenmark, Immunzellen, Skelettmuskel oder dem Gastrointestinaltrakt. Die Expression der TDO wird hauptsächlich durch Tryptophankonzentrationen und Kortikosteroide reguliert (Cervenka et al., 2017). Im

Kontrast dazu wird die IDO geringfügig in fast allen Zellen exprimiert, wobei die Expression vor allem durch das Immunsystem reguliert wird (Badawy, 2017). Es existieren zwei Isoformen der IDO, die seit längerem bekannte IDO1 und die eher kürzlich entdeckte IDO2. Während die IDO1 als „klassische“ IDO gilt, in einer Vielzahl an Zelltypen exprimiert werden kann und insbesondere in verschiedenen Immunzellpopulationen vorkommt (siehe z.B. Jones et al. (2015)), ist über IDO2 weitaus weniger bekannt. Die IDO2 Expression ist im Menschen für die Niere, die Leber und das Gehirn beschrieben, scheint jedoch auch eine Rolle bei der Interaktion des Kynureninpfads mit dem Immunsystem zu spielen (Badawy, 2017).

Kynurenin sowie weitere Metabolite entlang des Kynureninpfads gehen mit einer ganzen Reihe immunmodulatorischer Eigenschaften einher und wirken zudem teilweise stark neuroaktiv. Ausgehend von Kynurenin spaltet sich der Kynureninpfad auf und es werden verschiedene Endprodukte erzielt. Neben der initialen Aktivierung des Kynureninpfads ist ebenfalls der weitere Verlauf abhängig von der Aktivität einiger Enzyme, welche die Umwandlung des Vorprodukts zum Endprodukt sowie einige Zwischenschritte vermitteln (Cervenka et al., 2017).

Die primären und am meisten erforschten Endprodukte des Kynureninpfads sind Nicotinamidadenindinucleotide (NAD^+) und Kynureninsäure (Cervenka et al., 2017). Aufgrund der physiologischen Relevanz und des bisherigen Wissensstands, wird nachfolgend ausschließlich auf die beiden Zweige des Kynureninpfads eingegangen, welche zu NAD^+ bzw. zu Kynureninsäure als Endprodukt führen. Darüber hinaus können ausgehend von Kynurenin mit der Anthranilsäure, der Xanthurensäure und der Picolinsäure weitere Endprodukte entstehen, die jedoch lediglich zu geringfügigen Anteilen entstehen und/oder bislang nur wenig erforscht wurden. Das bevorzugte Endprodukt des Kynureninpfads stellt NAD^+ dar. Dieser metabolische Zweig wird primär durch das Enzym Kynurenin 3-monooxygenase (KMO) reguliert, welches Kynurenin zunächst zu 3-Hydroxykynurenin katabolisiert. Ein weiterer metabolischer Zweig ausgehend vom Kynurenin ergibt die Kynureninsäure als Endprodukt. Der Abbauschritt von Kynurenin zu Kynureninsäure wird durch die Isoenzymgruppe der Kynurenin-Amino-Transferasen (KAT) 1-4 vermittelt und verläuft ohne Zwischenprodukte (Badawy, 2017; Cervenka et al., 2017).

2.1.1 Interaktionen mit dem Immunsystem

Der Kynureninpfad interagiert an mehreren Punkten eng mit dem Immunsystem. In Zuständen der Immunaktivierung erfolgt ebenfalls eine Aktivierung des Kynureninpfads, welche über die Bestimmung von Metabolitkonzentrationen im Blutplasma sichtbar wird. In einer Vielzahl inflammationsvermittelter chronischer Erkrankungen ist ein überaktivierter Kynureninpfad mit dem Schweregrad oder dem Fortschreiten der Erkrankung assoziiert (Platten et al., 2019). In diesem Kontext wird die Aktivierung des Kynureninpfads vor allem durch die Ratio aus Kynurenin und Tryptophan (KYN/TRP Ratio) bestimmt (Badawy & Guillemin, 2019). Da zentrale Enzyme und Metabolite entlang des Kynureninpfads jedoch markante immunsuppressive Eigenschaften aufweisen, wird eine Aktivierung des Kynureninpfads z.B. bei Multiple Sklerose aktuell auch als endogener gegenregulierender Mechanismus zur Hemmung Krankheitsprogresses beschrieben (Fakan, Szalardy, & Vecsei, 2019). In vielen Tumorerkrankungen ist die lokale wie systemische Regulation des Kynureninpfads ebenfalls als prognostischer Marker sowie therapeutisches Target im Blickpunkt der aktuellen Forschungsinteresse (Platten et al., 2019). Anschließend werden inflammationsvermittelte Einflüsse auf den Kynureninpfad sowie immunmodulatorische Wirkweisen zentraler Enzyme und Metabolite kurz dargelegt.

2.1.1.1 Inflammationsvermittelte Einflüsse

Unter physiologischen Basalbedingungen wird der Umsatz von Tryptophan zu Kynurenin zu einem deutlichen Großteil durch die TDO vermittelt. Bei lokalen oder systemischen Inflammationszuständen wird die IDO1 jedoch verstärkt exprimiert. Insbesondere mononukleare Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) wurden als potente IDO1 Produzenten in Folge inflammatorischer Stimuli beschrieben (Jones et al., 2015). Im Detail stellt das pro-inflammatorische Zytokin Interferon (IFN)- γ den primären IDO1- Induktor dar, wobei in das komplexe Inflammationsgeschehen zur IDO1-Induktion auch weitere pro-inflammatorische Zytokine, wie das Interleukin (IL)-6 oder der Tumornekrosefaktor (TNF)- α , involviert sind (Fujigaki et al., 2001; Prendergast, Malachowski, Mondal, Scherle, & Muller, 2018). Inflammationsmediatoren scheinen den Kynureninpfad nicht nur initial zu aktivieren,

sondern auch die Regulation des weiteren Verlaufs entscheidend beeinflussen zu können. Einige Arbeiten weisen darauf hin, dass KMO ebenfalls sensitiv auf humorale Inflammationsmediatoren reagiert und infolgedessen hochreguliert wird (Connor, Starr, O'Sullivan, & Harkin, 2008; Walker et al., 2013). Als ratenlimitierendes Enzym führt eine gesteigerte KMO-Aktivität zu einem höheren metabolischen Fluss des Kynureninpfads über Quinolinsäure als Intermediärprodukt in Richtung des Endprodukts NAD⁺.

2.1.1.2 Immunmodulatorische Eigenschaften

Entlang des Kynureninpfads werden verschiedene immunmodulatorische Eigenschaften beschrieben, welche insbesondere eine suppressive Wirkung auf das Immunsystem haben. So zeigen Ergebnisse aus der Grundlagenforschung, dass eine erhöhteIDO-Aktivität und Kynureninkonzentration die Proliferation von CD8⁺ zytotoxischen T-Zellen und NK-Zellen supprimiert (Fallarino et al., 2002; Frumento et al., 2002). Ob zytokinproduzierende CD56^{bright} und zytotoxische CD56^{dim} NK-Zellen möglicherweise unterschiedlich mit dem Kynureninpfad interagieren, ist bislang nicht erforscht. Auch wenn die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen der immunmodulierenden Eigenschaften von zentralen Enzymen und Metaboliten noch nicht vollständig entschlüsselt sind, stellt der Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AhR) ein wesentliches Bindeglied zwischen dem Kynureninpfad und dem Immunsystem dar. Sowohl Kynurenin als auch die Kynureninsäure sind endogene Liganden des AhR und können diesen somit aktivieren (DiNatale et al., 2010; Opitz et al., 2011). Vor allem die über den Kynureninpfad induzierte Differenzierung von naiven TH-Zellen zu Tregs ist eine gut erforschte Signalkaskade, welche durch den AhR vermittelt wird (Rothhammer & Quintana, 2019).

Der AhR ist ein ligandenabhängiger Transkriptionsfaktor und kann in nahezu allen Zellen des menschlichen Körpers exprimiert werden, wobei insbesondere Immunzellen hohe Expression aufweisen (Stockinger, Di Meglio, Gialitakis, & Duarte, 2014). Im inaktiven Zustand befindet sich der AhR im Zytoplasma an ein Aktinfilament gebunden. Bindet ein Ligand an den AhR, so wird dieser aktiviert und es erfolgt eine Translokation in den Zellkern, wo schließlich die Transkription der Zielgene durch die Bindung an der Genomstruktur beeinflusst wird. Die Zielgene umfassen die Enzyme

CYP1A1, CYP1B1, Indolamin 2,3-dioxygenase 1, Tryptophan 2,3-dioxygenase sowie das AhR Repressor-Gen (Rothhammer & Quintana, 2019). Es folgen verschiedene molekulare Signalkaskaden, welche ihrerseits neben der Zellzykluskontrolle und der Hormonregulation vor allem inflammatorische Reaktionen modulieren (für Review siehe Stockinger et al. (2014)). Die Auswirkungen auf die Immunhomöostase äußern sich insbesondere durch die Kontrolle der Funktion und des Metabolismus von T-Zellen. In naiven CD4⁺ T-Helferzellen fördert die Aktivierung des AhR die frühzeitige Differenzierung zu Tregs, welche ihrerseits die Immunaktivität durch die Produktion der anti-inflammatorischen Zytokine Transforming growth factor beta (TGF-β) und IL-10 regulieren (Rothhammer & Quintana, 2019). Hinsichtlich CD8⁺ zytotoxischer T-Zellen konnte kürzlich gezeigt werden, dass der AhR die Expression des Programmed cell death protein (PD)-1 steuert (Liu et al., 2018). PD-1 ist ein inhibierender Rezeptor auf T-Zellen, welcher Apoptose und funktionelle Entkräftigung vermittelt und somit zur Immunsuppression beiträgt (Shi, Chen, Yang, & Li, 2013).

2.1.2 Neuroaktive Wirkweisen

Ausgehend von Kynurenin haben einige nachfolgend entstehende Metabolite neuroaktive Eigenschaften innerhalb des ZNS. Ein Großteil der neurodegenerativen Erkrankungen, beispielsweise Multiple Sklerose oder die Parkinson Erkrankung, weist eine Dysbalance des Kynureninpfads auf (Lovelace et al., 2017). Diese Dysbalance äußert sich meist mit einer pathologischen Erhöhung des „neurotoxischen“ Zweigs des Kynureninpfads (über Quinolinsäure zu NAD⁺) und trägt durch vermittelte neuronale Exzitotoxizität einhergehend mit neuroinflammatorischen Zuständen zur fortschreitenden Neurodegeneration bei. Es gibt jedoch auch neuroprotektive Eigenschaften entlang des Kynureninpfads. Da nicht alle Metabolite des Kynureninpfads die Blut-Hirn-Schranke passieren können, muss zwischen der Regulation des Kynureninpfads innerhalb des ZNS und in der Peripherie unterschieden werden (Vecsei, Szalardy, Fulop, & Toldi, 2013). Einige Studien zeigen jedoch, dass zwischen den meisten Metabolitkonzentrationen im Blutplasma und im Liquor hohe Korrelationen bestehen (Hestad, Engedal, Whist, & Farup, 2017; Lim et al., 2017; Sorgdrager et al., 2019). Inwiefern diese Korrelationen nach

(ernährungsbedingten, pharmakologischen oder körperlichen Belastungs-) Reizen auf den Kynureninpfad beständig sind, ist allerdings unklar.

2.1.2.1 Neurotoxizität

Insbesondere zwei Metabolite entlang des Kynureninpfads, die Quinolinsäure und 3-Hydroxykynurenin, wirken stark neurotoxisch. Dabei gilt die Quinolinsäure hinsichtlich Neurotoxizität als prädominant und am meisten erforscht (Vecsei et al., 2013). Die Quinolinsäure schädigt verschiedene Nervenzellen vor allem durch ihre Wirkung als N-Methyl-D-Aspartat (NMDA) Rezeptor-Agonist (Lugo-Huitron et al., 2013). Eine pathologische Akkumulation der Quinolinsäure im ZNS führt bis hin zu einer Kalzium-induzierten Apoptose. Erhöhte Konzentrationen der Quinolinsäure sind in vielen neurodegenerativen Erkrankungen zu beobachten, unter anderem in Multiple Sklerose, der Huntington oder Parkinson Erkrankung (Lovelace et al., 2017). Da die KMO das Enzym darstellt, welches den metabolischen Fluss in Richtung der Quinolinsäure reguliert, ist es ein aktuelles und vielversprechendes therapeutisches Target in der Pharmakotherapie mehrerer neurodegenerativer Erkrankungen (Smith, Jamie, & Guillemin, 2016).

2.1.2.2 Neuroprotektion

Im Kontrast zu der Quinolinsäure wirkt die Kynureninsäure vor allem durch ihre Wirkung als NMDA Rezeptor Antagonist stark neuroprotektiv. Durch ihre Bindungsaffinität verhindert die Kynureninsäure, dass die Quinolinsäure neuronale Schädigung über den NMDA Rezeptor vermittelt. Darüber hinaus verfügt die Kynureninsäure über weitere neuroprotektive Mechanismen, z.B. als Antagonist des $\alpha 7$ -Nikotin-Acetylcholin Rezeptors (für Review siehe Vecsei et al. (2013)).

2.2 Kynureninpfad und körperliche Belastungen

Der bisherige Wissensstand zu der Thematik Kynureninpfad und körperliche Belastungen wurde in der ersten Veröffentlichung, die dieser Dissertation zugrunde liegt, ausführlich zusammengefasst. An dieser Stelle wird daher auf die entsprechende Publikation 1 verwiesen, deren Vollversion dem Anhang dieser Arbeit beigefügt ist. Eine Zusammenfassung der Veröffentlichung befindet sich im Teil der Methodik und Ergebnisse (Kapitel 4), weil neben der Darstellung des bisherigen Wissenstandes

ebenfalls Originaldaten berichtet werden. Eine kurze Ergänzung zu der gegenwärtigen Wissenslage soll der Aktualität dieser Dissertation dienen.

Seit der Veröffentlichung des eigenen Übersichtsartikels (Joisten et al., 2020) wurde der Wissensstand um eine im Kontext dieser Arbeit relevanten Publikation erweitert. Nachdem bislang in keiner Humanstudie mit chronischer Trainingsintervention Effekte auf den Kynureninpfad beobachtet wurden, zeigten Zimmer et al. (2019) erstmalig eine Reduktion pathologisch erhöhter Kynureninkonzentrationen (im Vergleich zu gesunden Kontrollprobanden) durch mehrwöchiges körperliches Training (Zimmer et al., 2019). Im Rahmen einer Sekundäranalyse einer randomisierten, kontrollierten Studie mit Krafttrainingsintervention bei Brustkrebspatientinnen während der Strahlentherapie war Kynurenin und die KYN/TRP Ratio, sowohl bei Beendigung der Strahlentherapie als auch bei Beendigung der 12-wöchigen Trainingsintervention, im Vergleich zur Kontrollgruppe reduziert. Die Autoren konkludieren, dass nicht nur pharmakologische IDO-Inhibitoren einen pathologisch/therapiebedingten aktivierten Kynureninpfad normalisieren können, sondern ggf. auch chronisches körperliches Training. Die äußerst vielversprechenden Ergebnisse sind durch die verwendete Analytik zur Bestimmung der Kynureninpfadmetabolite (enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)) sowie durch die fehlende Kontrolle der Nahrungsaufnahme der Probanden limitiert (Zimmer et al., 2019).

Publikation 1

Joisten N, Kummerhoff F, Koliymitra C, Schenk A, Walzik D, Hardt L, Knoop A, Thevis M, Metcalfe JA, Bloch W, Zimmer P. Exercise and the kynurenine pathway: Current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exercise Immunology Review* 2020, 26: 24-42.

3 Hypothesen

Vor dem Hintergrund der breiten physiologischen Relevanz des Kynureninpfads, des dargelegten aktuellen Wissensstands und der theoretischen Rationalen wurden folgende Hypothesen formuliert, die in der gegenwärtigen Arbeit untersucht werden:

- 1) Akutes Ausdauer- bzw. Krafttraining ruft differenzielle Veränderungen des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervor.
- 2) Akute Hypertrophie- bzw. Maximalkrafttrainingsreize rufen differenzielle Veränderungen des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervor.
- 3) Belastungsinduzierte Effekte auf den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus bleiben bis zu 60 Minuten nach Belastungsende bestehen.
- 4) Akutes Ausdauer- bzw. Krafttraining ruft eine differenzielle Veränderung des zytoplasmatischen AhR Levels sowie des PD-1 Oberflächenlevels bei CD8+ T-Zellen hervor.

4 Methoden und Ergebnisse

Dieser Teil der Dissertation wird durch die nachfolgend aufgeführten Veröffentlichungen ersetzt, welche der Arbeit zugrunde liegen und als Vollversion dem Anhang zu entnehmen sind. Die Publikationen werden im Folgenden zusammengefasst.

Publikation 1

Joisten N, Kummerhoff F, Koliymitra C, Schenk A, Walzik D, Hardt L, Knoop A, Thevis M, Metcalfe JA, Bloch W, Zimmer P. Exercise and the kynurenine pathway: Current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exercise Immunology Review* 2020; 26: 24-42.

Zusammenfassung:

Einleitung: Die essentielle Aminosäure Tryptophan wird hauptsächlich über den Kynureninpfad abgebaut, welcher in verschiedenen chronischen Erkrankungen fehlgesteuert ist. Metabolite des Kynureninpfads haben immun- und neuromodulatorische Eigenschaften und sind in die de novo Synthese von NAD⁺ involviert. Aktuell zeigt erste Evidenz, dass körperliches Training den Kynureninpfad beeinflusst. Unterschiede zwischen akuten und chronischen Trainingsstimuli sowie den Einfluss von verschiedenen Belastungsmodalitäten gilt es jedoch noch zu erforschen. In dieser Arbeit stellen wir eine Übersicht zu bislang existierenden Studien bereit und präsentieren Ergebnisse einer randomisierten cross-over Studie, welche die Effekte einer einmaligen Kraft- und Ausdauerbelastung untersucht.

Methodik: 24 gesunde, männliche Erwachsene führten eine einmalige Kraft- und Ausdauertrainingseinheit durch. Blutproben wurden jeweils vor, unmittelbar nach sowie eine Stunde nach Beendigung der beiden Trainingseinheiten gesammelt. Die Endpunkte umfassten die Serumkonzentrationen von Tryptophan, Kynurenin, Kynureninsäure, Quinolinsäure sowie daraus kalkulierte Ratios. Die Genexpression der Enzyme IDO1 und KAT4 wurde in mononuklearen Zellen des peripheren Blutes

(PBMCs) bestimmt. Darüber hinaus wurden die Serumkonzentrationen der potentiellen Mediatoren des Kynureninpfads IL-6 und Cortisol gemessen. Baseline Korrelationen zwischen Häufigkeit und Anzahl von verschiedenen Immunzellsubpopulationen, potentiellen Mediatoren und Parametern der initialen Aktivierung des Kynureninpfads wurden ebenfalls untersucht.

Ergebnisse: Die KYN/TRP Ratio korrelierte positiv mit IL-6 und CD56^{bright} NK-Zellen, sowie negativ mit CD56^{dim} NK-Zellen. Die IDO1 Expression korrelierte positiv mit IL-6, regulatorischen T-Zellen und CD56^{bright} NK-Zellen, wohingegen negative Korrelationen von IDO1 mit CD8⁺ zytotoxischen T-Zellen sowie mit CD56^{dim} NK-Zellen aufgedeckt wurden. Eine signifikante Erhöhung der KYN/TRP Ratio durch die Krafttrainingseinheit wurde festgestellt, wobei diese bis zum 1h follow-up Messzeitpunkt wieder signifikant absank. Hinsichtlich Kynureninsäure und der Kynureninsäure/Kynurenin Ratio wurde eine Erhöhung unmittelbar nach der Ausdauertrainingseinheit festgestellt, welche ebenfalls von einer signifikanten Abnahme bis zum 1h follow-up Messzeitpunkt gefolgt wurde. Die KAT4 Expression stieg nach der Ausdauertrainingseinheit ebenfalls an. Darüber hinaus wurden auch erhöhte Konzentrationen der Quinolinsäure nach der Ausdauertrainingseinheit beobachtet.

Fazit: Im Kontrast zu chronischen Trainingsinterventionen scheinen akute Ausdauerbelastungen deutliche Veränderungen der Regulation des Kynureninpfads hervorzurufen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine akute Ausdauerbelastung den Kynureninpfad stärker beeinflusst als eine akute Kraftbelastung. Ein erhöhter Umsatz von Kynurenin zu Kynureninsäure sowie zu Quinolinsäure lässt auf eine verstärkte Kynurenin-„Bereinigung“ in der Peripherie schließen, welche eine pathologische Akkumulation des Kynurenins innerhalb des ZNS verhindern könnte. Zukünftige Studien werden benötigt, um ein besseres Verständnis über die Rolle der NAD⁺ de novo Synthese und Aktivierungen des Kynureninpfads zu generieren, und um mittel- bis langfristige immunologische Modulationen im Kontext von belastungsinduzierten Veränderungen des Kynureninpfads zu verstehen. Auch ein möglicher Zusammenhang zwischen der jeweiligen Interaktion der beiden NK-Zellsubpopulationen und belastungsinduzierten Veränderungen des Kynureninpfads, sollte in zukünftigen Studien näher betrachtet werden.

Publikation 2

Joisten N*, Schumann M*, Schenk A, Walzik D, Freitag N, Knoop A, Thevis M, Bloch W, Zimmer P. Impact of acute strength loadings on the kynurenine pathway. *European Journal of Applied Physiology* 2020; 120(6): 1429-1436.

*shared first authorship

Zusammenfassung:

Einleitung: Wachsendes Forschungsinteresse widmet sich belastungsinduzierten Veränderungen des Kynureninpfads aufgrund vielfältigen immun- und neuromodulatorischen Eigenschaften in gesunden und klinischen Populationen. Bislang ist jedoch wenig über den Einfluss von verschiedenen Krafttrainingsmodalitäten auf den Kynureninpfad bekannt. Aus diesem Grund haben wir die Akuteffekte eines Hypertrophie- und eines Maximalkrafttrainingsreizes auf den Kynureninpfad untersucht.

Methodik: In einem randomisierten cross-over Studiendesign wurden Blutproben von zwölf gesunden Männern (Mittelwert \pm Standardabweichung von Alter und Gewicht: $23,5 \pm 3,2$ Jahre; $77,5 \pm 7,5$ kg) vor (T0), nach (T1) und eine Stunde nach (T2) einem Hypertrophie- (HYP) und einem Maximalkrafttrainingsreiz (MAX) gesammelt. HYP bestand aus fünf Sätzen mit jeweils zehn Wiederholungen bei 80% des Einwiederholungsmaximums, während MAX aus 15 Sätzen bei 100% des Einwiederholungsmaximums bestand. Serumkonzentrationen von Tryptophan, Kynurenin, Kynureninsäure und Quinolinsäure wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie bestimmt.

Ergebnisse: In HYP stieg die Kynureninsäure/Kynurenin Ratio von T0 zu T1 an ($p = 0,01$) und fiel von T1 zu T2 ab ($p = 0,011$), während in MAX keine signifikanten Veränderungen beobachtet wurden. Im Vergleich zu MAX waren die Serumkonzentrationen von Kynureninsäure in HYP signifikant höher zu T1 ($p = 0,014$). Des Weiteren war die Quinolinsäure/Kynureninsäure Ratio in HYP signifikant niedriger zu T1 als bei MAX ($p = 0,002$).

Fazit: Ein akuter Hypertrophietrainingsreiz führte zu einem erhöhten metabolischen Fluss in Richtung des Endprodukts Kynureninsäure, wodurch möglicherweise immunmodulatorische sowie neuroprotektive Eigenschaften induziert werden. Die Ergebnisse betonen das Potential von akutem Hypertrophietraining als kurzzeitiger Modulator des Kynureninpfads zu Kynureninsäure in gesunden Männern und müssen

Publikation 3

Schenk A*, Joisten N*, Koliyamitra C, Walzik D, Schoser D, Bloch W, Zimmer P. Acute exercise impacts AhR and PD-1 levels of CD8⁺ T-cells - Exploratory results from a randomized cross-over trial comparing endurance and resistance exercise. *European Journal of Applied Physiology* 2021; 121: 637-644. doi:10.1007/s00421-020-04552-w.

*shared first authorship

Zusammenfassung:

Einleitung: Das programmed death protein 1 (PD-1) ist ein vielversprechendes Target in der Immuntherapie bei Tumorerkrankungen. Die PD-1 Expression bei CD8⁺ T-Zellen könnte vermutlich durch AhR Aktivierung in Folge einer gesteigerten Verfügbarkeit der endogenen Liganden KYN und KA erhöht sein. Da akute körperliche Belastungen Metabolitkonzentrationen entlang des Kynureninpfads erhöhen, haben wir explorativ den Einfluss von akuten Belastungen auf AhR und PD-1 Leveln bei CD8⁺ T-Zellen untersucht.

Methodik: In dieser Studie absolvierten 24 junge, gesunde, männliche Probanden (Alter: 24 ± 3,9 Jahre; Gewicht: 83,9 ± 10,5 kg; Größe: 182,1 ± 6,2 cm) eine akute Ausdauer- und Krafttrainingseinheit an separaten Testtagen in randomisierter Reihenfolge. Blutproben wurden vor (t0), unmittelbar nach (t1) sowie 1h nach (t2) beiden Trainingseinheiten entnommen. Die Anzahl und Häufigkeiten von T-Zell

Populationen, AhR Level im Zytoplasma und das Oberflächenlevel von PD-1 bei CD8⁺ T-Zellen wurden mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

Ergebnisse: Die absolute Anzahl der CD3⁺ T-Zellen erhöhte sich nach dem Ausdauertraining ($p < .001$) und nach dem Krafttraining ($p = .036$). Zudem erhöhte sich die Anzahl der PD-1⁺ CD8⁺ T-Zellen nach dem Ausdauertraining ($p = .021$). Die Häufigkeit der CD3⁺ CD8⁺ T-Zellen änderte sich nur in Folge des Ausdauertrainings (t0-t2: $p = .029$; t1-t2: $p = .006$). Das zytoplasmatische AhR Level war unmittelbar nach beiden Belastungsmodalitäten im Vergleich zur Baseline reduziert (EE: $p = .009$; RE: $p = .036$). Die Oberflächenlevel von PD-1 waren eine Stunde nach Beendigung der Ausdauerbelastung im Vergleich zur Baseline reduziert ($p = .005$).

Fazit: Dies ist die erste Studie, welche den Einfluss akuter körperlicher Belastungen auf das PD-1 Oberflächenlevel sowie das zytoplasmatische Level des AhR bei CD8⁺ T-Zellen untersuchte. Insbesondere die akute Ausdauerbelastung beeinflusste sowohl AhR als auch PD-1 Level, sodass eine Modulation der AhR-PD1-Achse durch akutes Ausdauertraining angenommen werden kann. Diese Ergebnisse liefern neue Erkenntnisse zum Einfluss von körperlicher Belastung auf die AhR-Signalkette, welche für verschiedene chronische Erkrankungen relevant sein könnte.

5 Diskussion

Das Kapitel der Diskussion gliedert sich in eine Ergebnisdiskussion und eine nachfolgende Diskussion der verwendeten Methoden. In der Ergebnisdiskussion werden zunächst die formulierten Hypothesen basierend auf den Ergebnissen der durchgeführten Studien beantwortet und in den Kontext der aktuellen Studienlage gesetzt.

5.1 Ergebnisdiskussion

1) Akutes Ausdauer- bzw. Krafttraining ruft differenzielle Veränderungen des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervor.

Die in Publikation 1 berichteten Ergebnisse zum Vergleich von akutem Ausdauer- und Krafttraining auf den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus zeigen signifikante Veränderungen verschiedener Metabolitkonzentrationen und kalkulierter Ratios innerhalb sowie zwischen beiden Interventionen. Im Kontrast zur bestehenden Literatur (Bansi et al., 2018; Koliamitra et al., 2019; Strasser et al., 2016) führte die Ausdauerbelastung zu keiner initialen Aktivierung des Kynureninpfads, da keine signifikanten Veränderungen von Tryptophan, Kynurenin und der KYN/TRP Ratio beobachtet wurden. Ein Grund könnten die gewählten Belastungsnormative bei der Gestaltung des Ausdauertrainings sein. Während in existierenden Akutstudien, die eine initiale Aktivierung des Kynureninpfads zeigen, ausschließlich Ausbelastungen untersucht wurden (Bansi et al., 2018; Koliamitra et al., 2019; Strasser et al., 2016), bestand die Ausdauerbelastung in Publikation 1 aus einer moderaten bis intensiven Dauerbelastung. Möglicherweise, vor allem mit Blick auf die in Kapitel 2.2 dargestellten potentiellen Mechanismen, sind höhere Belastungsintensitäten notwendig, um eine initiale Aktivierung des Kynureninpfads zu induzieren. Auf der anderen Seite zeigen die Ergebnisse einen deutlichen Anstieg von IL-6 durch das Ausdauertraining, welches im Verdacht steht, den Kynureninpfad durch die Induktion der IDO1 initial zu aktivieren. Die ausbleibenden Effekte des Ausdauertrainings auf Tryptophan, Kynurenin und die KYN/TRP Ratio sprechen jedoch gegen einen IL-6 Boost als ausschlaggebend für einen verstärkten Umsatz des Tryptophans über den Kynureninpfad. Ebenfalls denkbar wäre allerdings, dass eine initiale Aktivierung des Kynureninpfads durchaus induziert wurde, jedoch nur kurzzeitig andauert und aufgrund des Post-Messzeitpunkts

nach der 50-minütigen Belastungsdauer in Publikation 1 nicht beobachtet wurde. Da der weitere metabolische Fluss des Kynureninpfads durch die Ausdauerbelastung hochreguliert (siehe unten) und Kynurenin nicht reduziert wurde, kann indirekt vermutet werden, dass auch eine initiale Aktivierung vor dem Post-Messzeitpunkt erfolgte und Kynurenin anschließend verstärkt weiter katabolisiert wurde.

Der Einfluss von akutem Krafttraining auf den Kynureninpfad wurde bislang nicht untersucht. Lediglich eine Studie untersuchte 100 Drop-Jumps als Intervention, es konnten jedoch keine Veränderungen der gemessenen Metabolite Quinolinsäure und Kynureninsäure beobachtet werden (Schlittler et al., 2016). Interessanterweise zeigten die Ergebnisse aus Publikation 1 eine signifikante Reduktion von Tryptophan und einen signifikanten Anstieg der KYN/TRP Ratio durch das Krafttraining. Der Anstieg der KYN/TRP Ratio legt nahe, dass der Kynureninpfad durch das Krafttraining initial aktiviert wurde. Dies wäre in der Tat eine neuartige Erkenntnis von hoher physiologischer Relevanz. Fraglich bleibt jedoch, ob das Krafttraining tatsächlich zu einer initialen Aktivierung des Kynureninpfads führt, welche auf einer erhöhten Aktivität der Enzyme IDO oder TDO beruht, oder ob ein erhöhter Bedarf an Aminosäuren im Skelettmuskel für die Tryptophanreduktion verantwortlich ist. Die Tryptophanreduktion könnte ausschlaggebend für den Anstieg der KYN/TRP Ratio sein. Dass weder für die IDO1 Enzymexpression in PBMCs, noch für Kynurenin signifikante Anstiege durch das Krafttraining beobachtet wurden, spricht für die Hypothese des erhöhten Tryptophanbedarfs im Skelettmuskel. Hinsichtlich einer möglichen belastungsinduzierten Modulation der IDO1 Enzymexpression wäre ohnehin fragwürdig, in welchem Zeitrahmen eine erhöhte Expression auch tatsächlich zu einem verstärkten Umsatz von Kynurenin zu Tryptophan führte. Vielmehr sollte zukünftig ebenfalls die IDO1 Enzymaktivität näher betrachtet werden, auch wenn eine Bestimmung dergleichen mit verschiedenen methodischen Fallstricken verbunden ist (siehe Badawy & Guillemin, 2019). Mechanistische Folgestudien sollten die IDO Enzymexpression und Aktivität in Folge akuter körperlicher Belastungen in verschiedenen Gewebe- bzw. Zelltypen näher untersuchen und neben IDO1 ebenfalls die IDO2 Isoform berücksichtigen.

Hinsichtlich des weiteren Verlaufs des Kynureninpfads in Richtung Quinolinsäure und Kynureninsäure zeigten sich in Publikation 1 signifikante Interaktionseffekte zwischen Kraft- und Ausdauertraining für die Parameter Kynureninsäure, sowie für die Quinolinsäure/Kynurenin Ratio. Im Vergleich zum Krafttraining, durch das sich keiner der genannten Parameter signifikant erhöhte, sorgte das Ausdauertraining jeweils für Anstiege der genannten Parameter. Dass akutes Ausdauertraining den metabolischen Fluss in Richtung Kynureninsäure erhöht, steht im Einklang mit bestehender Literatur (Lewis et al., 2010; Mudry et al., 2016; Schlittler et al., 2016). Erstmals konnte in Publikation 1 gezeigt werden, dass, neben den im Blutserum gemessenen Parametern Kynureninsäure und der Kynureninsäure/Kynurenin Ratio, auch die KAT4 Enzymexpression in PBMCs durch das Ausdauertraining signifikant ansteigt. Eine nähere Charakterisierung spezifischer Immunzellsubpopulationen vor der Bestimmung der KAT4 Enzymexpression sollte in Folgestudien Aufschluss über die für den beobachteten Anstieg verantwortlichen Zelltypen geben. Auch der ausdauertrainingsinduzierte Anstieg der Quinolinsäure steht im Einklang mit bisherigen Studien, wurde bislang jedoch lediglich mit Extrembelastungen (150km Straßenradrennen (Schlittler et al., 2016), Marathon (Lewis et al., 2010)) als Interventionen untersucht. Somit ist Publikation 1 die erste, welche einen erhöhten metabolischen Fluss des Kynureninpfads in Richtung Kynureninsäure sowie in Richtung Quinolinsäure in Folge einer moderaten bis intensiven Dauerbelastung zeigen konnte.

Beide beobachteten Effekte sind vor allem mit Blick auf das ZNS interessant. Innerhalb des ZNS wirkt die neurotoxische Quinolinsäure als Agonist des NMDA-Rezeptors, während die Kynureninsäure als Antagonist des NMDA-Rezeptors Neuroprotektion vermittelt. Bei Betrachtung der Ratio aus Quinolinsäure und Kynureninsäure ist jedoch festzustellen, dass sowohl das Krafttraining als auch das Ausdauertraining einen ähnlichen Verlauf aufweisen. Dieser Verlauf weist rein deskriptiv auf eine leichte Verschiebung der Ratio zu Gunsten der Kynureninsäure hin, was besonders für Personen mit neuroinflammatorischen Erkrankungen von hoher Relevanz sein könnte. Allerdings zeigen die Ergebnisse in Publikation 1 weder signifikante Veränderungen der Ratio aus Quinolinsäure und Kynureninsäure innerhalb oder zwischen den beiden Interventionen, noch wurden die Metabolitkonzentrationen im Liquor bestimmt. Da

lediglich Tryptophan und Kynurenin die Blut-Hirn-Schranke passieren können, verbleibt eine Aussage über neuroaktive Konsequenzen von im Blutserum gemessenen Konzentrationsveränderungen der Quinolinsäure und der Kynureninsäure spekulativ. Aus mechanistischer Perspektive ist der durch die Ausdauerbelastung induzierte Anstieg der Quinolinsäure jedoch auch aus einem weiteren Grund hochinteressant: Die Quinolinsäure stellt den Vorläufer des primären Endprodukts des Kynureninpfads, dem NAD^+ , dar. Das NAD^+ ist seinerseits ein essentieller Co-Faktor für die zelluläre Energiehomöostase. Möglicherweise wird der Kynureninpfad vor allem während oder nach akuten Belastungen mit höheren metabolischen Anforderungen aktiviert, um zu der Aufrechterhaltung der Energiehomöostase in beanspruchten (Skelettmuskel) oder aktivierten (Immunzellen) Gewebe- bzw. Zelltypen beizutragen. Dieser Gedanke ist im Detail in der vierten Publikation dieser Arbeit dargelegt (siehe Kapitel 6).

Insgesamt zeigen die in Publikation 1 berichteten Ergebnisse deutlich, dass akutes Ausdauer- bzw. Krafttraining eine differenzielle Veränderung des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervorruft. Während das Krafttraining eine Tryptophanreduktion und eine Erhöhung der KYN/TRP Ratio induziert, erhöht das Ausdauertraining den metabolischen Fluss zur Kynureninsäure und ebenfalls, wenngleich geringfügiger, in Richtung Quinolinsäure.

2) Akute Hypertrophie- bzw. Maximalkrafttrainingsreize rufen differenzielle Veränderungen des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervor.

Basierend auf der Erkenntnis aus Publikation 1, dass ein akutes Krafttraining möglicherweise zu einer initialen Aktivierung des Kynureninpfads führt, wurde der Einfluss von verschiedenen Krafttrainingsmodalitäten (Hypertrophie- versus Maximalkrafttraining) auf den Kynureninpfad in Publikation 2 näher betrachtet und miteinander verglichen. Darüber hinaus war die Rationale für die Studie, welche Publikation 2 zugrunde liegt, im Rahmen des Krafttrainings den Einfluss eines vorwiegend metabolischen Reizes (Hypertrophietraining) und eines vorwiegend neuronalen Reizes (Maximalkrafttraining) auf den Kynureninpfad zu untersuchen.

Während sowohl für Kynurenin als auch für die KYN/TRP Ratio ein deskriptiver Anstieg durch den Hypertrophietrainingsreiz beobachtet wurde, blieben beide Parameter durch das Maximalkrafttraining nahezu auf Baseline-Niveau. Nichtsdestotrotz wurden weder hinsichtlich einer initialen Aktivierung des Kynureninpfads noch mit Blick auf den weiteren Verlauf in Richtung Quinolinsäure statistisch signifikante Zeit- oder Interaktionseffekte gezeigt. Basierend auf den Studienergebnissen, die in Publikation 2 veröffentlicht wurden, scheint demnach weder ein Hypertrophietrainingsreiz noch ein Maximalkrafttrainingsreiz den Kynureninpfad initial zu aktivieren oder den metabolischen Fluss in Richtung Quinolinsäure zu erhöhen. Beide Interventionen unterschieden sich hinsichtlich der Effekte auf die genannten Parameter zudem nicht voneinander. Potentielle methodische Ursachen werden in Kapitel 5.2 diskutiert.

Im Kontrast zu den ausbleibenden signifikanten Effekten hinsichtlich einer initialen Aktivierung und des metabolischen Flusses in Richtung Quinolinsäure steht der metabolische Fluss in Richtung Kynureninsäure. Die Kynureninsäure/Kynurenin Ratio stieg lediglich durch den Hypertrophietrainingsreiz an. Darüber hinaus bestätigt ein signifikanter Interaktionseffekt für die Kynureninsäure den unterschiedlichen Einfluss des Hypertrophietrainingsreizes im Vergleich zu dem Maximalkrafttrainingsreiz. Die berechneten Effektstärken zeigen eine starke Erhöhung der Kynureninsäure durch den Hypertrophietrainingsreiz. Der unterschiedliche Einfluss beider Krafttrainingsreize auf den Kynureninpfad wird ebenfalls durch den Interaktionseffekt der Quinolinsäure/Kynureninsäure Ratio betont, welche nach dem Hypertrophietrainingsreiz abnahm. Diese Beobachtung kann offensichtlich als eine Folge des Anstiegs der Kynureninsäure interpretiert werden. Eine Erhöhung des metabolischen Flusses in Richtung Kynureninsäure durch einen akuten Hypertrophietrainingsreiz stellt eine neuartige Erkenntnis in diesem Forschungszweig dar; es fehlt an ähnlichen Trainingsinterventionsstudien zur Kontextualisierung. Während das Ganzkörper-Hypertrophietraining in Publikation 1 zu einer Tryptophanreduktion und einem Anstieg der KYN/TRP Ratio führte, konnte dieses Ergebnis in Publikation 2 durch den isolierten Hypertrophietrainingsreiz an der Beinpresse nicht reproduziert werden. Im Kontrast zu den ausbleibenden Effekten des Ganzkörper-Hypertrophietrainings auf den weiteren Verlauf des Kynureninpfads in Publikation 1, führte der Hypertrophietrainingsreiz in Publikation 2 zu einem erhöhten

metabolischen Fluss in Richtung Kynureninsäure und stellt somit eine Parallele zu den ausdauertrainingsinduzierten Effekten aus Publikation 1 dar. Methodische Gründe, vor allem mit Blick auf die Belastungsnormative und Messzeitpunkte, müssen berücksichtigt werden und sind in Kapitel 5.2 näher diskutiert. Eine gemeinsame mechanistische Basis für einen erhöhten metabolischen Fluss in Richtung der Kynureninsäure durch das Ausdauertraining in Publikation 1 und durch den Hypertrophietrainingsreiz in Publikation 2 stellt die PGC-1 α vermittelte KAT-Expression im Skelettmuskel dar. Sowohl Hypertrophietraining (Ruas et al., 2012) als auch Ausdauertraining erhöhen PGC-1 α (Baar et al., 2002) im Skelettmuskel und die regulierende Wirkung von PGC-1 α auf die KAT-Expression im Skelettmuskel ist gut beschrieben (Agudelo et al., 2014). Es erscheint naheliegend, dass die Signalkaskade von PGC-1 α über KAT zu erhöhten Konzentrationen der Kynureninsäure im Blutserum führt und demzufolge sowohl das Ausdauertraining als auch der Hypertrophietrainingsreiz einen erhöhten metabolischen Fluss zur Kynureninsäure induzieren. Dennoch müssen unbedingt die verschiedenen PGC-1 α Isoformen berücksichtigt und im Gesamtkontext von belastungsinduzierten Veränderungen des Kynureninpfads mituntersucht werden. Eine weiterführende Diskussion potentiell zugrunde liegender Mechanismen und nachfolgender physiologischer Konsequenzen bietet die Publikation 4 (siehe Kapitel 6).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass akute Hypertrophie- und Maximalkrafttrainingsreize differenzielle Veränderungen des Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus hervorrufen. Während der Kynureninpfad durch den Maximalkrafttrainingsreiz nicht beeinflusst wurde, führte der Hypertrophietrainingsreiz zu einer Erhöhung des metabolischen Flusses in Richtung Kynureninsäure.

3) Belastungsinduzierte Effekte auf den Tryptophan-Kynurenin-Metabolismus bleiben bis zu 60 Minuten nach Belastungsende bestehen.

In bestehenden Studien zu den Effekten akuter körperlicher Belastungen auf den Kynureninpfad existierte bislang keine Untersuchung, die follow-up Messzeitpunkte während der Regenerationsphase nach Beendigung der akuten Belastung in das Studiendesign integrierte. In allen existierenden Studien wurde lediglich vor und nach der jeweiligen akuten Belastung gemessen, sodass unklar bleibt, inwiefern

beobachtete Effekte auf den Kynureninpfad nach Belastungsende andauern (für Review siehe Joisten, Kummerhoff et al., 2020). Aus diesem Grund wurde die oben genannte Hypothese im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Die Ergebnisse aus den beiden Originalstudien zum Vergleich verschiedener körperlicher Belastungsmodalitäten auf den Kynureninpfad (Publikation 1 & 2) zeigen, dass nahezu alle signifikant veränderten Parameter 60 Minuten nach Belastungsende wieder auf Baseline-Niveau zurückgekehrt sind. Die einzige Ausnahme stellt die Kynureninsäure/Kynurenin Ratio dar, welche durch die Ausdauertrainingsintervention (Publikation 1) bei dem 1h follow-up Messzeitpunkt im Vergleich zur Baseline signifikant erhöht ist. Dieses Ergebnis zeigt, dass ausdauertrainingsinduzierte Effekte auf den metabolischen Fluss in Richtung Kynureninsäure sogar noch eine Stunde nach Belastungsende sichtbar sind. Weitere signifikante Effekte, die vor allem für Kynureninsäure erfasst wurden, zeigen jedoch weder in Publikation 1 noch in Publikation 2 signifikante Veränderungen im Vergleich zur Baseline, trotz signifikanter Erhöhungen unmittelbar bei Belastungsende. Neben dem verstärkten Ausscheiden der Kynureninsäure über den Urin, könnte auch die Bindung der Kynureninsäure an den AhR für den Rückgang der Konzentration im Blutserum in Frage kommen. Möglicherweise führt eine erhöhte Ligandenverfügbarkeit im Blutserum dazu, dass der AhR verstärkt durch die Bindung der Kynureninsäure aktiviert wird und infolgedessen die Konzentration letzterer im Blutserum sinkt. Diese Vermutung führte zur vierten und abschließenden Hypothese im Rahmen dieser Arbeit.

4) Akutes Ausdauer- bzw. Krafttraining ruft eine differenzielle Veränderung des zytoplasmatischen AhR Levels sowie des PD-1 Oberflächenlevels bei CD8⁺ T-Zellen hervor.

Der Liganden-aktivierte AhR stellt durch seine immunmodulatorischen Wirkweisen ein aussichtsreiches therapeutisches Target in einer ganzen Reihe chronischer Erkrankungen dar. Insbesondere bei Tumor- und neurodegenerativen Erkrankungen erscheinen Modulationen der AhR Aktivierung vielversprechend (Rothhammer & Quintana, 2019). Dass die beiden endogenen AhR Liganden Kynurenin und Kynureninsäure durch akute körperliche Belastungen hochreguliert werden können, zeigen eigene Arbeiten und die Arbeiten anderer (für Review siehe Joisten,

Kummerhoff et al. (2020)). In der Sekundäranalyse, welche in Publikation 3 beschrieben ist, wurde der Einfluss von körperlichen Belastungen auf den AhR erstmalig untersucht. Die Ergebnisse zeigen eine Abnahme des zytoplasmatischen AhR Proteinlevels in CD8⁺ zytotoxischen T-Zellen, sowohl durch akutes Kraft- als auch durch akutes Ausdauertraining. Indirekt kann vermutet werden, dass die Abnahme im Zytoplasma durch eine Aktivierung und somit einer Translokation des AhR in den Zellkern bedingt ist, in dem anschließend die Regulation der Zielgenexpression erfolgt. Eine klare Aussage über eine tatsächliche AhR Aktivierung kann aufgrund methodischer Limitationen jedoch nicht getroffen werden (siehe Kapitel 5.2). Die beobachtete Abnahme des PD-1 Oberflächenproteinlevels durch das Ausdauertraining zum 1h follow-up Messzeitpunkt steht im Kontrast zur Annahme einer belastungsinduzierten Aktivierung des AhR. Nichtsdestotrotz stellt eine PD-1 Abnahme bei CD8⁺ zytotoxischen T-Zellen einen interessanten Befund dar, welcher ein potentieller Mechanismus für die positiven Effekte von regelmäßiger körperlicher Belastung auf das Tumorstadium (siehe z.B. (Eschke et al., 2019) sein könnte. Bei gesamtheitlicher Betrachtung der Ergebnisse aus Publikation 3 kann festgestellt werden, dass ein ausdauertrainingsinduzierter Anstieg der absoluten PD-1⁺ CD8⁺ T-Zellzahlen im Einklang mit bestehenden Untersuchungen zur Thematik Sport und PD-1 bei T-Zellen steht (Gustafson et al., 2017; Wadley et al., 2020). Wenngleich mögliche belastungsinduzierte Effekte auf die Interaktion zwischen AhR Aktivität und PD-1 Leveln in mechanistischen Folgestudien näher untersucht werden sollten, unterstreichen die Ergebnisse aus Publikation 3, dass akutes Ausdauertraining die PD-1 Homöostase bei CD8⁺ T-Zellen beeinflussen kann.

Die in Publikation 3 präsentierten Ergebnisse zeigen zwar, dass in der Tat beide untersuchten Belastungsmodalitäten das zytoplasmatische AhR Proteinlevel reduzieren, eine differenzielle Veränderung zwischen Kraft- und Ausdauertraining hinsichtlich des AhR- sowie PD-1 Proteinlevels bei CD8⁺ T-Zellen jedoch ausbleibt. Die in Publikation 3 dargelegten Ergebnisse liefern neuartige und vielversprechende Erkenntnisse, sind allerdings methodisch stark limitiert, weshalb weitere, qualitativ hochwertige Studien der Hypothese einer AhR Aktivierung durch akute körperliche Belastungen nachgehen sollten. Ebenfalls bleibt die Frage offen, welchen Einfluss die AhR-Regulation auf die Ligandenwirkung hat. Es ist anzunehmen, wenngleich

spekulativ, dass der AhR infolge wiederkehrender erhöhter Ligandenverfügbarkeit nach mehrmaligen akuten Belastungen unterschiedlich reguliert wird als wenn regelmäßige Belastungsreize ausbleiben. Zukünftige Forschungsansätze, z.B. zunächst eine Querschnittsuntersuchung zwischen ausdauertrainierten und untrainierten Personen auf das AhR Level und dessen Aktivität in bestimmten Immunzellsubpopulationen (beispielsweise CD4⁺ T-Helfer-Zellen), sollten Aufschluss über diese Fragestellung liefern.

5.2 Methodendiskussion

Eine zentrale Limitation dieser Arbeit ist die Übertragbarkeit der Erkenntnisse auf andere Stichproben. In den Originalstudien wurden lediglich junge, gesunde Männer im Alter von 18-35 Jahren eingeschlossen. Die Einschlusskriterien hinsichtlich des Geschlechts und des Alters der Probanden wurden jedoch bewusst gewählt, um eine möglichst homogene Population zu untersuchen. Bislang ist wenig bekannt über die Auswirkungen demographischer Variablen, wie dem Alter oder dem Geschlecht, auf den Kynureninpfad. Die Untersuchung einer homogenen Population ermöglichte somit eine größere Standardisierung hinsichtlich der Beobachtung potentieller Akuteffekte infolge verschiedener körperlicher Belastungen auf den Kynureninpfad, welche mit Blick auf die Generierung neuen Grundlagenwissens in diesem Forschungszweig von hoher Relevanz ist. Nichtsdestotrotz sollten zukünftige Studien die hier gewonnenen Erkenntnisse in anderen Stichproben überprüfen.

Nicht nur die Charakteristika der untersuchten Stichproben, sondern auch ihre Größe spielt eine entscheidende Rolle für die methodische Qualität empirischer Untersuchungen. Während in der ersten Studie (Kraft- versus Ausdauertraining), deren Biomaterial Publikation 1 und Publikation 3 zugrunde lag, eine a priori Powerkalkulation durchgeführt wurde und die Stichprobe mit N=24 für ein cross-over Studiendesign in diesem Forschungsbereich verhältnismäßig groß ist, stellt die Stichprobengröße der Studie aus Publikation 2 mit N=12 eine klare methodische Limitation dar.

Neben den Stichproben sollten auch die verwendeten Studiendesigns bzw. insbesondere das Matching sowie die Messzeitpunkte der Originalarbeiten kritisch

diskutiert werden. Die angewendeten cross-over Studiendesigns stellen den Goldstandard zum Vergleich zweier verschiedener Interventionen dar, wenn vor der statistischen Analyse der Endpunkte auf Sequenz- sowie Periodeneffekte überprüft wird. Somit können die angewendeten cross-over Studiendesigns zur Untersuchung der gegenwärtigen Hypothesen als eine methodische Stärke dieser Arbeit betrachtet werden. Bezüglich des Matchings der jeweiligen Interventionen wäre eine höhere Standardisierung wünschenswert, da sich sowohl die beiden Interventionen in Studie 1 also auch in Studie 2 gleich in mehreren Belastungsnormativen unterschieden (z.B. totaler workload, time under tension, Pausenzeiten zwischen den Sätzen). Generell sollte bei dem Vergleich zweier Belastungsmodalitäten jedoch berücksichtigt werden, dass eine stärkere Standardisierung durch die Angleichung bestimmter Belastungsnormativen häufig mit einer Entfernung zu den tatsächlich in der Praxis angewendeten Belastungsmodalitäten führt. Eine vollständige Hypertrophietrainingseinheit unterscheidet sich grundsätzlich hinsichtlich der Belastungsnormative von einer vollständigen Maximalkrafttrainingseinheit. Die künstliche Angleichung dieser Unterschiede zwischen den beiden Krafttrainingsmodalitäten zu Gunsten einer höheren experimentellen Standardisierung sorgt somit für eine geringe Übertragbarkeit in die Praxis. Da es ein Ziel dieser Arbeit war, Grundlagenwissen zu generieren, welches anschließend für das Design von mehrwöchigen Trainingsinterventionen in verschiedenen, vor allem klinischen Populationen genutzt werden kann, stand hier die Übertragbarkeit gegenüber eines exakten Matchings der Belastungsmodalitäten im Vordergrund. Verschiedene Belastungsmodalitäten künstlich anzupassen, um eine höhere Standardisierung zu erreichen, stellt kein realistisches Trainingsszenario dar. Nichtsdestotrotz werden folglich aus diesem Grund unterschiedliche Effekte beobachtet, wie beispielsweise zwischen dem Ganzkörper-Hypertrophietraining aus Publikation 1 und dem isolierten Hypertrophietrainingsreiz aus Publikation 2. Neben einer anderen Stichprobe als Unterschied (wenn auch nahezu identische Einschlusskriterien), sei hier insbesondere auf die unterschiedliche Dauer der Interventionen (20 min versus 50 min) und die Beanspruchung verschieden großer Skelettmuskelanteile als potentielle Ursache für inkonsistente Effekte der Hypertrophietrainingsreize verwiesen.

Mit Blick auf die generelle Anwendungsrelevanz, sollten zukünftige Studien, neben isolierten Kraft- oder Ausdauertrainingsmodalitäten, auch kombiniertes Training sowie die Effekte komplexerer (Spiel-)Sportbelastungen auf den Kynureninpfad untersuchen, welche zunehmend nachhaltige Anwendung im Gesundheitssport finden.

Die verwendeten molekularbiologischen Analyseverfahren zur Bestimmung der Endpunkte stellen allesamt den aktuellen Goldstandard dar, was die hohe methodische Qualität dieser Arbeit unterstreicht. Allerdings muss die Wahl der Messmethodik zur Bestimmung des AhR Proteinlevels kritisch betrachtet werden. Zwar ist das Verfahren der Durchflusszytometrie zur Bestimmung des zytoplasmatischen AhR-Proteinlevels sehr gut geeignet, ermöglicht in dieser Form jedoch keinerlei Aufschluss über das AhR-Proteinlevel im Zellkern, welches zusätzlich benötigt wird, um eine Aussage über die mögliche Translokation des AhR in Folge von akuter körperlicher Belastung zu treffen. Folgestudien werden benötigt, die den AhR sowohl zytoplasmatisch als auch im Nukleus bestimmen, um so eine Aktivierung durch akute Belastungen valide nachzuweisen können.

Schließlich muss die Bestimmung der untersuchten Tryptophanmetabolite auf systemischer Ebene im Blutserum sowie die Wahl der Immunzelltypen für die Messung der Enzymexpression und der Bestimmung des AhR und PD-1 Levels diskutiert werden. Die Bestimmung der Tryptophanmetabolite im Blutserum bietet zwar keinen Aufschluss über potentiell zugrundeliegende Mechanismen für belastungsinduzierte Veränderungen des Kynureninpfads, ist jedoch dafür von größerer physiologischer Relevanz für neuro- und immunmodulatorische Konsequenzen (z.B. AhR-Ligandenverfügbarkeit, Verfügbarkeit von Tryptophan und Kynurenin zum Eintritt in das ZNS). Vor diesem Hintergrund ist eine Messung im Blutserum auch perspektivisch für den Transfer in klinische Populationen interessanter. Dennoch sind zukünftige Studien notwendig, um zugrunde liegende molekulare Mechanismen vor allem im Skelettmuskel aber auch in anderen Gewebe- und Zelltypen (Fettgewebe, Endothelzellen, verschiedene Immunzellsubpopulationen) zu untersuchen. Hinsichtlich der gemessenen Enzymexpression von IDO1 und KAT4 in Studie 1 ist eine methodische Limitation, dass die Genexpression lediglich global in PBMCs gemessen wurde. Eine Bestimmung dergleichen in isolierten

Immunzellsubpopulationen (z.B. Monozyten, T-Helferzellen) wäre wünschenswert gewesen, um spezifischere Aussagen treffen zu können. Nichtsdestotrotz wurde im Rahmen dieser Dissertation erstmalig die Expression ausgewählter Enzyme entlang des Kynureninpfads abseits des Skelettmuskels im Kontext körperlicher Belastung untersucht und stellt somit neuartiges Wissen bereit, welches es durch anknüpfende Studien zu erweitern gilt.

Zukünftige Forschungsvorhaben sollten optimaler Weise nicht nur verschiedene Gewebetypen zur Bestimmung der Aktivität und Expression zentraler Enzyme entlang des Kynureninpfads (IDO1+2, TDO, KAT1-4, KMO) berücksichtigen, sondern auch akute und chronische Effekte innerhalb einer Stichprobe untersuchen. Im Rahmen einer großangelegten randomisierten kontrollierten Studie mit zugrunde liegender Stichprobenkalkulation und mehrwöchiger Trainingsintervention (> 6 Wochen) könnten beispielsweise bei der ersten Trainingseinheit, sowie bei Trainingseinheiten in der Mitte und am Ende der Intervention, Akuteffekte miterhoben werden. Über derartige Studiendesigns von integrativer Natur kann das Zusammenspiel verschiedener Zell- und Gewebetypen sowie die Interaktion zwischen einmaligen Belastungsreizen und mehrwöchigem Training auf die Regulation des Kynureninpfads und den damit einhergehenden physiologischen Konsequenzen aufgeschlüsselt werden. Basierend auf den Erkenntnissen dieser Arbeit empfiehlt sich als Belastungsart in der Intervention entweder ein moderat bis intensives Ausdauertraining oder ein Hypertrophietraining. In diesem Kontext sollten zukünftige cross-over Studien ansetzen und ebenfalls Erkenntnisse zu den Akuteffekten von hochintensivem Intervalltraining als aufkommende Belastungsart und von kombinierten Kraft- und Ausdauerbelastungen sammeln, die zunehmend Anwendung in klinischen Populationen finden.

6 Kontextualisierung und Perspektive

Dieser Teil der Dissertation wird durch die vierte Publikation ersetzt. Aufgrund der vielversprechenden Ergebnisse der dieser Dissertation zugrundeliegenden Originalarbeiten wurden neuauftkommende Forschungsfragen sowie die breitgefächerte Relevanz mit Blick auf chronische Erkrankungen in einer separaten Veröffentlichung perspektivisch dargestellt. Der vollständige Artikel ist dem Anhang dieser Arbeit beigefügt und im Folgenden kurz zusammengefasst.

Publikation 4

Joisten N, Walzik D, Metcalfe AJ, Bloch W, Zimmer P. Physical exercise as kynurenine pathway modulator in chronic diseases – Implications for immune and energy homeostasis. *International Journal of Tryptophan Research* 2020; 13, 1-9. doi: 10.1177/1178646920938688.

Zusammenfassung:

Aufkommende Evidenz belegt die beträchtliche Rolle des Kynureninpfads in verschiedenen physiologischen Systemen und pathologischen Bedingungen. Körperliches Training kann den Kynureninpfad in Folge von akuten und chronischen Belastungen beeinflussen. In dieser „Perspektive“ legen wir kurz den aktuellen Wissenstand zu belastungsinduzierten Modulationen entlang des Kynureninpfads dar und diskutieren zugrundeliegende Mechanismen. Weiterhin stellen wir die potentielle Beteiligung von belastungsinduzierten Modulationen entlang des Kynureninpfads an der Energiehomöostase heraus und weisen auf, wie diese Modulationen zu sportbedingten Vorteilen in der Prävention und Behandlung von chronischen Erkrankungen beitragen.

7 Fazit

Nachdem erste Humanstudien den Einfluss von akuten und chronischen körperlichen Belastungen auf den Kynureninpfad untersuchten, liefert diese Arbeit i) einen ausführlichen Überblick des aktuellen Wissensstands, ii) neue Erkenntnisse durch Originalstudien zum Einfluss verschiedener akuter Belastungsmodalitäten sowie iii) vielversprechende Forschungsperspektiven insbesondere mit Blick auf Modulationen des Immunsystems und der Relevanz für verschiedene chronische Erkrankungen.

Der direkte Vergleich einer akuten Kraft- und Ausdauerbelastung zeigte, dass beide Belastungsmodalitäten den Kynureninpfad beeinflussen, die Ausdauerbelastung jedoch den stärkeren Stimulus darstellt. Während ein akuter Hypertrophietrainingsreiz den Kynureninpfad in Richtung Kynureninsäure erhöht, wurden nach einem akuten Maximalkrafttrainingsreiz keine Effekte beobachtet. Die Erhöhung des metabolischen Flusses zur Kynureninsäure, welche sowohl nach einer akuten Ausdauerbelastung als auch nach einem akuten Maximalkrafttrainingsreiz beobachtet wurde, steht im Einklang mit bisherigen Studien zu dieser Thematik und schlägt eine erhöhte systemische Verfügbarkeit an endogenen AhR Liganden vor. In Folge der akuten Ausdauerbelastung wurde durch eine Sekundäranalyse in der Tat eine Abnahme des AhR Proteinlevels im Zytoplasma von CD8⁺ T-Zellen beobachtet. Die verwendete Methodik lässt jedoch nicht eindeutig auf eine Aktivierung des AhR schließen.

Zukünftige Forschungsansätze können an den Erkenntnissen dieser Arbeit anknüpfen und sollten sich, neben der belastungsinduzierten Aktivierung des AhR und potentiell nachfolgenden immunologischen Adaptation, vor allem dem Einfluss von körperlichen Belastungen auf die NAD⁺ de novo Synthese über den Kynureninpfad widmen, um Grundlagenwissen zu generieren. Eine zentrale Frage bleibt die Rolle verschiedener Gewebetypen bzw. Zellarten. Basierend auf dem bisherigen Wissensstand und den in dieser Arbeit gewonnen Erkenntnissen, empfiehlt sich zunächst eine tiefgründige Untersuchung des Einflusses körperlicher Belastungen auf die Enzymaktivitäten entlang des Kynureninpfads im Skelettmuskel und in bestimmten Immunzellpopulationen (dendritische Zellen, Makrophagen, T-Zellen, NK-Zellen). Darüber hinaus wäre eine Bestimmung der Metabolitkonzentrationen im Liquor in Folge akuter und chronischer Belastungen hilfreich, um konkrete Aussagen über

belastungsinduzierte Effekte auf die systemische Regulation des Kynureninpfads im ZNS treffen zu können. Schließlich werden längerfristige Trainingsinterventionsstudien bei chronisch erkrankten Populationen zur Erforschung eines möglichen Bezugs zu klinischen Endpunkten (bspw. Fatigue, kognitive Beeinträchtigungen) benötigt, sodass potentiell krankheitsmodulierende Effekte durch belastungsinduzierte Veränderungen des Kynureninpfads beleuchtet werden.

8 Literaturverzeichnis

- Baar, K., Wende, A. R., Jones, T. E., Marison, M., Nolte, L. A., Chen, M., . . . Holloszy, J. O. (2002). Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB J*, *16*(14), 1879-1886. doi:10.1096/fj.02-0367com
- Baban, B., Chandler, P. R., Sharma, M. D., Pihkala, J., Koni, P. A., Munn, D. H., & Mellor, A. L. (2009). IDO activates regulatory T cells and blocks their conversion into Th17-like T cells. *J Immunol*, *183*(4), 2475-2483. doi:10.4049/jimmunol.0900986
- Badawy, A. A. (2017). Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *Int J Tryptophan Res*, *10*, 1178646917691938. doi:10.1177/1178646917691938
- Badawy, A. A., & Guillemin, G. (2019). The Plasma [Kynurenine]/[Tryptophan] Ratio and Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Time for Appraisal. *Int J Tryptophan Res*, *12*, 1178646919868978. doi:10.1177/1178646919868978
- Bansi, J., Koliymitra, C., Bloch, W., Joisten, N., Schenk, A., Watson, M., . . . Zimmer, P. (2018). Persons with secondary progressive and relapsing remitting multiple sclerosis reveal different responses of tryptophan metabolism to acute endurance exercise and training. *J Neuroimmunol*, *314*, 101-105. doi:10.1016/j.jneuroim.2017.12.001
- Cervenka, I., Agudelo, L. Z., & Ruas, J. L. (2017). Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. *Science*, *357*(6349). doi:10.1126/science.aaf9794
- Connor, T. J., Starr, N., O'Sullivan, J. B., & Harkin, A. (2008). Induction of indoleamine 2,3-dioxygenase and kynurenine 3-monooxygenase in rat brain following a systemic inflammatory challenge: a role for IFN-gamma? *Neurosci Lett*, *441*(1), 29-34. doi:10.1016/j.neulet.2008.06.007
- Dalgas, U., Langeskov-Christensen, M., Stenager, E., Riemenschneider, M., & Hvid, L. G. (2019). Exercise as Medicine in Multiple Sclerosis-Time for a Paradigm Shift: Preventive, Symptomatic, and Disease-Modifying Aspects and Perspectives. *Curr Neurol Neurosci Rep*, *19*(11), 88. doi:10.1007/s11910-019-1002-3
- DiNatale, B. C., Murray, I. A., Schroeder, J. C., Flaveny, C. A., Lahoti, T. S., Laurenzana, E. M., . . . Perdew, G. H. (2010). Kynurenic acid is a potent endogenous aryl hydrocarbon receptor ligand that synergistically induces interleukin-6 in the presence of inflammatory signaling. *Toxicol Sci*, *115*(1), 89-97. doi:10.1093/toxsci/kfq024

- Eschke, R. K., Lampit, A., Schenk, A., Javelle, F., Steindorf, K., Diel, P., . . . Zimmer, P. (2019). Impact of Physical Exercise on Growth and Progression of Cancer in Rodents-A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*, 9, 35. doi:10.3389/fonc.2019.00035
- Fakan, B., Szalardy, L., & Vecsei, L. (2019). Exploiting the Therapeutic Potential of Endogenous Immunomodulatory Systems in Multiple Sclerosis-Special Focus on the Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs) and the Kynurenines. *Int J Mol Sci*, 20(2). doi:10.3390/ijms20020426
- Fallarino, F., Grohmann, U., Vacca, C., Bianchi, R., Orabona, C., Spreca, A., . . . Puccetti, P. (2002). T cell apoptosis by tryptophan catabolism. *Cell Death Differ*, 9(10), 1069-1077. doi:10.1038/sj.cdd.4401073
- Frumento, G., Rotondo, R., Tonetti, M., Damonte, G., Benatti, U., & Ferrara, G. B. (2002). Tryptophan-derived catabolites are responsible for inhibition of T and natural killer cell proliferation induced by indoleamine 2,3-dioxygenase. *J Exp Med*, 196(4), 459-468. doi:10.1084/jem.20020121
- Fujigaki, S., Saito, K., Sekikawa, K., Tone, S., Takikawa, O., Fujii, H., . . . Seishima, M. (2001). Lipopolysaccharide induction of indoleamine 2,3-dioxygenase is mediated dominantly by an IFN-gamma-independent mechanism. *Eur J Immunol*, 31(8), 2313-2318. doi:10.1002/1521-4141(200108)31:8<2313::aid-immu2313>3.0.co;2-s
- Gustafson, M. P., DiCostanzo, A. C., Wheatley, C. M., Kim, C. H., Bornschlegl, S., Gastineau, D. A., . . . Dietz, A. B. (2017). A systems biology approach to investigating the influence of exercise and fitness on the composition of leukocytes in peripheral blood. *J Immunother Cancer*, 5, 30. doi:10.1186/s40425-017-0231-8
- Hestad, K. A., Engedal, K., Whist, J. E., & Farup, P. G. (2017). The Relationships among Tryptophan, Kynurenine, Indoleamine 2,3-Dioxygenase, Depression, and Neuropsychological Performance. *Front Psychol*, 8, 1561. doi:10.3389/fpsyg.2017.01561
- Joisten, N., Kummerhoff, F., Koliymitra, C., Schenk, A., Walzik, D., Hardt, L., . . . Zimmer, P. (2020). Exercise and the Kynurenine pathway: Current state of knowledge and results from a randomized cross-over study comparing acute effects of endurance and resistance training. *Exerc Immunol Rev*, 26, 24-42.
- Jones, S. P., Franco, N. F., Varney, B., Sundaram, G., Brown, D. A., de Bie, J., . . . Brew, B. J. (2015). Expression of the Kynurenine Pathway in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells: Implications for Inflammatory and Neurodegenerative Disease. *PLoS One*, 10(6), e0131389. doi:10.1371/journal.pone.0131389
- Koliymitra, C., Javelle, F., Joisten, N., Shimabukuro-Vornhagen, A., Bloch, W., Schenk, A., & Zimmer, P. (2019). Do Acute Exercise-Induced Activations of the Kynurenine Pathway Induce Regulatory T-Cells on the Long-Term? - A

- Theoretical Frame Work Supported by Pilot Data. *J Sports Sci Med*, 18(4), 669-673.
- Lewis, G. D., Farrell, L., Wood, M. J., Martinovic, M., Arany, Z., Rowe, G. C., . . . Gerszten, R. E. (2010). Metabolic signatures of exercise in human plasma. *Sci Transl Med*, 2(33), 33ra37. doi:10.1126/scitranslmed.3001006
- Lim, C. K., Bilgin, A., Lovejoy, D. B., Tan, V., Bustamante, S., Taylor, B. V., . . . Guillemain, G. J. (2017). Kynurenine pathway metabolomics predicts and provides mechanistic insight into multiple sclerosis progression. *Sci Rep*, 7, 41473. doi:10.1038/srep41473
- Liu, Y., Liang, X., Dong, W., Fang, Y., Lv, J., Zhang, T., . . . Huang, B. (2018). Tumor-Repopulating Cells Induce PD-1 Expression in CD8(+) T Cells by Transferring Kynurenine and AhR Activation. *Cancer Cell*, 33(3), 480-494 e487. doi:10.1016/j.ccell.2018.02.005
- Lovelace, M. D., Varney, B., Sundaram, G., Lennon, M. J., Lim, C. K., Jacobs, K., . . . Brew, B. J. (2017). Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*, 112(Pt B), 373-388. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.03.024
- Lugo-Huitron, R., Ugalde Muniz, P., Pineda, B., Pedraza-Chaverri, J., Rios, C., & Perez-de la Cruz, V. (2013). Quinolinic acid: an endogenous neurotoxin with multiple targets. *Oxid Med Cell Longev*, 2013, 104024. doi:10.1155/2013/104024
- Mudry, J. M., Alm, P. S., Erhardt, S., Goiny, M., Fritz, T., Caidahl, K., . . . Wallberg-Henriksson, H. (2016). Direct effects of exercise on kynurenine metabolism in people with normal glucose tolerance or type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 32(7), 754-761. doi:10.1002/dmrr.2798
- Opitz, C. A., Litzgenburger, U. M., Sahm, F., Ott, M., Tritschler, I., Trump, S., . . . Platten, M. (2011). An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature*, 478(7368), 197-203. doi:10.1038/nature10491
- Pedersen, B. K., & Saltin, B. (2015). Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases. *Scand J Med Sci Sports*, 25 Suppl 3, 1-72. doi:10.1111/sms.12581
- Platten, M., Nollen, E. A. A., Rohrig, U. F., Fallarino, F., & Opitz, C. A. (2019). Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond. *Nat Rev Drug Discov*, 18(5), 379-401. doi:10.1038/s41573-019-0016-5
- Prendergast, G. C., Malachowski, W. J., Mondal, A., Scherle, P., & Muller, A. J. (2018). Indoleamine 2,3-Dioxygenase and Its Therapeutic Inhibition in Cancer. *Int Rev Cell Mol Biol*, 336, 175-203. doi:10.1016/bs.ircmb.2017.07.004

- Richard, D. M., Dawes, M. A., Mathias, C. W., Acheson, A., Hill-Kapturczak, N., & Dougherty, D. M. (2009). L-Tryptophan: Basic Metabolic Functions, Behavioral Research and Therapeutic Indications. *Int J Tryptophan Res*, 2, 45-60. doi:10.4137/ijtr.s2129
- Rothhammer, V., & Quintana, F. J. (2019). The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 19(3), 184-197. doi:10.1038/s41577-019-0125-8
- Ruas, J. L., White, J. P., Rao, R. R., Kleiner, S., Brannan, K. T., Harrison, B. C., . . . Spiegelman, B. M. (2012). A PGC-1 α isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. *Cell*, 151(6), 1319-1331. doi:10.1016/j.cell.2012.10.050
- Schlittler, M., Goiny, M., Agudelo, L. Z., Venckunas, T., Brazaitis, M., Skurvydas, A., . . . Andersson, D. C. (2016). Endurance exercise increases skeletal muscle kynurenine aminotransferases and plasma kynurenic acid in humans. *Am J Physiol Cell Physiol*, 310(10), C836-840. doi:10.1152/ajpcell.00053.2016
- Schwarcz, R., & Stone, T. W. (2017). The kynurenine pathway and the brain: Challenges, controversies and promises. *Neuropharmacology*, 112(Pt B), 237-247. doi:10.1016/j.neuropharm.2016.08.003
- Shi, L., Chen, S., Yang, L., & Li, Y. (2013). The role of PD-1 and PD-L1 in T-cell immune suppression in patients with hematological malignancies. *J Hematol Oncol*, 6(1), 74. doi:10.1186/1756-8722-6-74
- Smith, J. R., Jamie, J. F., & Guillemin, G. J. (2016). Kynurenine-3-monooxygenase: a review of structure, mechanism, and inhibitors. *Drug Discov Today*, 21(2), 315-324. doi:10.1016/j.drudis.2015.11.001
- Sorgdrager, F. J. H., Vermeiren, Y., Van Faassen, M., van der Ley, C., Nollen, E. A. A., Kema, I. P., & De Deyn, P. P. (2019). Age- and disease-specific changes of the kynurenine pathway in Parkinson's and Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 151(5), 656-668. doi:10.1111/jnc.14843
- Stockinger, B., Di Meglio, P., Gialitakis, M., & Duarte, J. H. (2014). The aryl hydrocarbon receptor: multitasking in the immune system. *Annu Rev Immunol*, 32, 403-432. doi:10.1146/annurev-immunol-032713-120245
- Strasser, B., Geiger, D., Schauer, M., Gatterer, H., Burtscher, M., & Fuchs, D. (2016). Effects of Exhaustive Aerobic Exercise on Tryptophan-Kynurenine Metabolism in Trained Athletes. *PLoS One*, 11(4), e0153617. doi:10.1371/journal.pone.0153617
- Vecsei, L., Szalardy, L., Fulop, F., & Toldi, J. (2013). Kynurenines in the CNS: recent advances and new questions. *Nat Rev Drug Discov*, 12(1), 64-82. doi:10.1038/nrd3793

- Wadley, A. J., Cullen, T., Vautrinot, J., Keane, G., Bishop, N. C., & Coles, S. J. (2020). High intensity interval exercise increases the frequency of peripheral PD-1+ CD8(+) central memory T-cells and soluble PD-L1 in humans. *Brain Behav Immun Health*, 3, 100049. doi:10.1016/j.bbih.2020.100049
- Walker, A. K., Budac, D. P., Bisulco, S., Lee, A. W., Smith, R. A., Beenders, B., . . . Dantzer, R. (2013). NMDA receptor blockade by ketamine abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in C57BL/6J mice. *Neuropsychopharmacology*, 38(9), 1609-1616. doi:10.1038/npp.2013.71
- Zimmer, P., Schmidt, M. E., Prentzell, M. T., Berdel, B., Wiskemann, J., Kellner, K. H., . . . Steindorf, K. (2019). Resistance Exercise Reduces Kynurenine Pathway Metabolites in Breast Cancer Patients Undergoing Radiotherapy. *Front Oncol*, 9, 962. doi:10.3389/fonc.2019.00962
- Zimmer, P., Schenk, A., Kieven, M., Holthaus, M., Lehmann, J., Lövenich, L., & Bloch, W. (2017). Exercise induced alterations in NK-cell cytotoxicity - methodological issues and future perspectives. *Exerc Immunol Rev*, 23, 66-81.