



universität
wien

MAGISTERARBEIT

Titel der Magisterarbeit

„NanoViTM – Inhalation bei Sportlern zur Verbesserung
des oxidativen Schutzes“

verfasst von

Sandra Hartmann, Bakk.rer.nat

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Wien, Mai 2015

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 066 826

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Magisterstudium Sportwissenschaft

Betreut von:

Ass.-Prof. DI Dr. Barbara Wessner

VORWORT

Das Ziel dieser empirischen Studie ist es, die Auswirkungen der bioidentischen Signatransduktion bei körperlicher Belastung auf unseren Organismus mithilfe mechanischer und leistungsbezogener Parameter zu beschreiben.

Dieses Projekt entstand in Kooperation mit der Firma Müller (Medizinische Labormesstechnik Ges.m.b.H.), die das NanoViTM-Inhalationsgerät und die finanziellen Mittel für die Laboranalysen zur Verfügung stellte.

An dieser Stelle möchte ich mich bei meiner Betreuerin Dipl.-Ing. Dr. Barbara Wessner bedanken, die mir bei diesem Projekt fachlich und persönlich beiseite stand.

Mein Dank gilt vor allem meiner Familie, die mir das Studium ermöglichte und mich während meiner gesamten Studienzeit unterstützte, aber auch meinen Freunden bzw. Freundinnen, die mich in diesem Abschnitt begleitet haben.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund: Intensive körperliche Belastung führt einerseits zu einer erhöhten Produktion von freien Radikalen und andererseits zu einer Beeinflussung des Immunsystems. Durch die Messung des oxidativen Stresses und der Anzahl der Leukozyten kann das Ausmaß der Belastung bestimmt werden. Regenerationsmaßnahmen sollen die Wiederherstellung der Homöostase beschleunigen.

Zielsetzung: Ziel der vorliegenden Studie war es, die Auswirkung der bioidentischen Signaltransduktion induziert durch die NanoViTM-Inhalation (Eng3 Corp) nach einer akuten sportlichen Aktivität (Laufen) auf mechanistischer Ebene (oxidative Stressparameter und Immunstatus) und anhand von Leistungsparametern bei Sportlern zu untersuchen.

Methodik: 21 männliche Probanden (18-35 Jahre) absolvierten jeweils 2 Ausbelastungstests am Laufband. Vor und nach jeder Einheit inhalierten sie für jeweils 15 Minuten mittels NanoViTM- (Intervention) bzw. Placebo-Gerät (Placebo) im randomisierten Cross-over Design. Venöse Blutproben zur Messung des Immunstatus und der oxidativen Belastung wurden zu den Zeitpunkten t(-30) (Baseline), t0 (nach 1. Inhalation), t55 (nach All-Out Test), t85 (nach 2. Inhalation) und t205 (Regeneration) entnommen. Kapillarblut zur Laktatbestimmung wurde zu den Zeitpunkten t(-30), t0 und t55 sowie jeweils in der 1., 3., 5., 7. und 10. Minute nach der Belastung entnommen. Das subjektive Befinden wurde unmittelbar nach der Belastung mittels BORG Skala erfragt. Statistische Auswertungen wurden mit SPSS 22.0 und der Tabellenkalkulation für vollständig kontrollierte Crossover-Studien nach Hopkins in MS Office „Excel“ (2005) durchgeführt.

Resultate: Die Zahl der Leukozyten war bei NanoViTM-Inhalation zum Zeitpunkt t85 signifikant höher ($p < 0,05$). Gleichzeitig war die Laktatkonzentration nach dem All-Out-Test signifikant erniedrigt ($p < 0,01$). Es konnte jedoch kein Einfluss der Inhalation in Bezug auf oxidativen Stress (GSH, GSSG und GSH/GSSG), auf das subjektive Belastungsempfinden und die Zeit bis zum Abbruch des All-Out Tests gezeigt werden.

Conclusio: In dieser Studie wurde die bioidentische Signaltransduktion mittels NanoViTM-Inhalationsgerät erstmals wissenschaftlich mit Fokus auf körperliche Betätigung untersucht. Das Ergebnis zeigt einen möglichen leistungsphysiologischen Effekt der NanoViTM-Inhalation auf den Organismus. Der genaue Mechanismus sollte jedoch in einer Nachfolgestudie geklärt werden.

ABSTRACT

Purpose: Intensive physical activity leads to an enhanced production of free radicals on the one hand and affects the immune system on the other hand. Therefore, the magnitude of oxidative stress and the change in the number of leukocytes indicates the severity of the exercise load. Regeneration measures should lead to a fast restoration of the homeostasis.

Objectives: The aim of the current study was to investigate the effects of bioidentical signal transduction induced by the NanoVi™-device (Eng3 Corp) on athletes after an acute exercise session (running), both at the mechanistic level (oxidative stress parameter and immune status) and the performance level.

Methods: 21 male subjects (18-35 years) performed two all-out tests on a treadmill. Before and after the respective exercise session they used either the NanoVi™- (intervention) or the placebo-device for inhalation (15 minutes) in a randomized cross-over study design. Venous blood samples for measurement of oxidative stress and immune parameters were taken at t(-30) (baseline), t0 (after 1st inhalation), t55 (after all-out test), t85 (after 2nd inhalation) and t205 (regeneration). At time points t(-30), t0 und t55 as well as in the 1st, 3rd, 5th, 7th and 10th minute after the exercise capillary blood was taken for lactate measurements. Exercise-induced subjective fatigue was assessed using the BORG scale. Statistical evaluations were performed using SPSS 22.0 and Microsoft Office Program „Excel“ with a spreadsheet for fully controlled crossovers of Hopkins (2005).

Results: After NanoVi™-inhalation the number of leukocytes was significantly enhanced at t85 (after 2nd inhalation) ($p < 0.05$). At the same time lactate concentrations were lower after the acute exercise ($p < 0.01$). We did not detect any influence of the verum-inhalation on oxidative stress (GSH, GSSG, GSH/GSSG), on subjective fatigue and on time to abort the exercise.

Conclusion: This was the first study to investigate the effects of bioidentical signal transduction using the NanoVi™-device with a special focus on physical exercise. The results show a possible exercise physiological effect of NanoVi™-inhalation on the human body. However, the exact mechanism should be investigated in a follow-up study.

INHALT

VORWORT	III
ZUSAMMENFASSUNG	IV
ABSTRACT	V
1 EINLEITUNG.....	11
1.1 Persönlicher Zugang.....	11
1.2 Problembeschreibung.....	11
1.3 Forschungsfrage	12
1.4 Überblick über die Kapitel.....	13
1.5 Vorgangsweise	13
1.6 Relevanz in der Forschung.....	14
1.7 Relevanz in der Praxis.....	15
2 OXIDATIVER STRESS	16
2.1 Definition	16
2.2 Freie Radikale	17
2.2.1 Reaktive Stickstoffradikale (reactive nitrogen species, RNS)	18
2.2.2 Reaktive Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS).....	18
2.3 Entstehung	19
2.4 Auswirkung.....	21
2.5 Antioxidative Systeme	26
2.6 Messung des oxidativen Stress.....	30
2.6.1 Direkte Messmethoden	30
2.6.2 Indirekte Messmethoden	31
2.6.3 Messung der antioxidativen Kapazität	32
2.7 Oxidativer Stress und körperliche Belastung	33
3 IMMUNSYSTEM	36
3.1 Immunabwehr – Zelluläre Bestandteile (Leukozyten).....	37
3.1.1 Granulozyten	37
3.1.2 Monozyten	38
3.1.3 Lymphozyten	38
3.1.4 Phagozytose	39
3.2 Effekte von körperlicher Belastung auf die Immunität.....	40
4 REGENERATION	43
4.1 Bedeutung von Regeneration.....	43
4.1.1 „Übertraining“	45
4.2 Regeneration und oxidativer Stress	46
4.3 Regenerationsmaßnahmen	48
5 BIOIDENTISCHE SIGNALTRANSDUKTION.....	50
6 METHODE.....	53
6.1 Studienteilnehmer	53
6.1.1 Anzahl der Studienteilnehmer	53
6.1.2 Rekrutierung	53

6.1.3	Ein- und Ausschlusskriterien.....	53
6.2	Studiendesign	54
6.2.1	Zeitlicher Ablauf.....	54
6.2.2	Voruntersuchung	55
6.2.3	Randomisierung und Verblindung.....	57
6.2.4	Intervention.....	57
6.2.5	Blutabnahmen	61
6.2.6	GSH/GSSG	61
6.2.7	Immunfunktion	65
6.2.8	Laktat.....	65
6.2.9	Subjektives Belastungsempfinden (modifiziert nach Borg)	66
6.3	Datenverarbeitung und Aufzeichnung	66
6.3.1	Datenaufzeichnung	66
6.3.2	Auswertungsmethoden	67
7	RESULTATE	69
7.1	Studienbeteiligung	69
7.2	Deskriptive Beschreibung der Studienteilnehmer	70
7.3	Auswertung des Trainingstagebuch.....	70
7.4	Leistungsphysiologische Parameter	71
7.4.1	Herzfrequenz.....	71
7.4.2	Laktat.....	72
7.4.3	Sauerstoffaufnahme	73
7.4.4	Subjektives Belastungsempfinden	74
7.4.5	Abbruchszeit.....	75
7.5	Blutparameter	76
7.5.1	Weiße Blutkörperchen (Leukozyten)	76
7.5.2	Granulozyten	76
7.5.3	Lymphozyten	77
7.5.4	Monozyten	78
7.5.5	Hämatokrit	79
7.5.6	Hämoglobin	79
7.6	Oxidativer Stress – Parameter	80
7.6.1	GSH total (GSH und GSSG)	80
7.6.2	GSSG (oxidierte Form)	81
7.6.3	GSH (reduzierte Form).....	81
7.6.4	GSH/GSSG	82
7.7	Leistungsphysiologische Parameter	83
7.7.1	Herzfrequenz.....	83
7.7.2	Laktat.....	83
7.7.3	Sauerstoffaufnahme	84
7.7.4	Subjektives Belastungsempfinden	85
7.7.5	Abbruchszeit.....	86
7.8	Blutparameter	87
7.8.1	Weiße Blutkörperchen.....	87
7.8.2	Granulozyten	87
7.8.3	Lymphozyten	88
7.8.4	Monozyten	89

7.8.5	Hämatokrit	89
7.8.6	Hämoglobin.....	90
7.9	Oxidativer Stress – Parameter	91
7.9.1	GSH total (GSH und GSSG)	91
7.9.2	GSSG (oxidierte Form).....	91
7.9.3	GSH (reduzierte Form).....	92
7.9.4	GSH/GSSG.....	93
8	DISKUSSION	94
9	CONCLUSIO.....	101
	LITERATURVERZEICHNIS.....	103
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	109
	TABELLENVERZEICHNIS.....	113
	ANHANG.....	114

1 EINLEITUNG

1.1 PERSÖNLICHER ZUGANG

Die Auswirkungen von körperlicher Bewegung im trainingswissenschaftlichen Kontext war für mich immer schon ein wichtiger Aspekt. Ich bin im Trainingsbereich mit Kindern, Jugendlichen, Erwachsenen und Senioren tätig und vermittele hier oft und gerne die positiven Effekte von Bewegung und Sport. Die Personen können diese durch Gewichtsreduktion, Muskelzuwachs, höheres Wohlbefinden, Stressabbau, etc. meist am eigenen Körper erfahren und werden dadurch motiviert, sich regelmäßig zu bewegen.

Da mir somit die physischen und psychischen Auswirkungen der körperlichen Bewegung bekannt waren, lernte ich durch eine Lehrveranstaltung während des Sportwissenschaftsstudiums die molekulare Leistungsphysiologie kennen. Hier fasziniert mich die Möglichkeit, das Ausmaß von Trainingsreizen auf molekularer und zellulärer Ebene zu erforschen. Bereits eine einmalige Trainingseinheit löst im Organismus ein Ungleichgewicht der Homöostase aus, was man von außen betrachtet, nicht feststellen kann und nur durch aufwändige Erarbeitung analysiert werden kann.

Erfreulicherweise ergab sich während der Mitarbeit in einem Projekt in dieser Arbeitsgruppe, die Gelegenheit in einem neuen Forschungsprojekt aktiv zu werden. Ich nahm die Herausforderung an und konnte somit von Beginn an diese Studie planen, durchführen und auswerten. Das Ergebnis dieser Studie wird nun in folgender Arbeit vorgestellt.

1.2 PROBLEMBESCHREIBUNG

Regelmäßige körperliche Aktivität wirkt sich auf die körperliche und seelische Gesundheit positiv aus. Es findet beispielsweise eine Verbesserung des Herzkreislaufsystems, des Immunsystems bzw. der Körperzusammensetzung statt, Angst und Depression werden reduziert und das Wohlbefinden wird gesteigert. (Weineck, 2010; Nielsen, 2013; Heyward & Gibson, 2014). Ist die Belastung jedoch intensiver bzw. deren Dauer länger, führt dies zu einer erhöhten Produktion von reaktiven Sauerstoffmolekülen (ROS). Es entsteht oxidativer Stress, der Biomolekülen, wie Lipiden, Proteinen und DNA schadet, wodurch physiologische Funktionen gestört werden können. (Radak & Goto, in Radak, 2000; Kruk, 2011; Radak et al., 2013; Krüger & Mooren, 2014) Zurückzuführen ist dies auf eine

Einleitung

erhöhte Sauerstoffaufnahme während der körperlichen Belastung. Es kommt zu einer gesteigerten Umsatzrate in der Mitochondrien-Transportkette, was unter anderem zu einer erhöhten Produktion freier Radikale führt (Radak & Goto, in Radak, 2000; Kruk, 2011; Radak et al., 2013; Krüger & Mooren, 2014). Zur Messung des oxidativen Stresses wird empfohlen, eine Auswahl an Markern zu treffen, die die totale antioxidative Kapazität, einzelne Antioxidantien sowie die Messung der Schäden an Lipiden, Proteinen und DNA beinhaltet (Prior & Cao, 1999; Halliwell & Gutteridge, 2007). Von Interesse ist hier besonders der zeitliche Verlauf dieser Parameter, um die Effekte von körperlicher Belastung und die Änderungen der Parameter durch intensives Training besser beschreiben zu können (Nikolaidis & Jamurtas, 2009; Nikolaidis et al., 2012).

Durch intensive körperliche Belastung wird auch die Funktion des Immunsystems beeinträchtigt, was zu einem erhöhten Infektionsrisiko führen kann. In vielen Studien wurde eine Veränderung der Leukozytenanzahl festgestellt, wodurch deren Messung Auskunft über den Immunstatus gibt. (Nielsen, 2013)

Wie hoch das Ausmaß dieser stress-induzierten Veränderungen tatsächlich ist, hängt von der Regenerationsfähigkeit der Sporttreibenden ab. Dabei werden nicht nur im Spitzensport verschiedenste Techniken wie Massage, Kryotherapie oder alternative Methoden angewandt, um die Regenerationsphase speziell nach hoch-intensiven Episoden (Wettkampf, Trainingslager, etc.) zu verkürzen. Ein bereits im Wellness- und Sportsektor benutztes Verfahren der bioidentischen Signaltransduktion (NanoVi™, Eng3 Corporation) wurde speziell für diesen Bereich konzipiert. Dieses soll für eine gesteigerte Sauerstoffaufnahme von den Zellen, eine schnellere Erholungszeit, eine verbesserte körperliche Leistungsfähigkeit, eine erhöhte Zellenergie bzw. ATP-Produktion, weniger Laktat in den Muskeln, eine niedrigere Ruheherzfrequenz und eine bessere Herzvariabilität sorgen (Gutsch, 2013; www.eng3corp.com).

1.3 FORSCHUNGSFRAGE

Ziel der vorliegenden Interventionsstudie ist es, die Auswirkung der bioidentischen Signaltransduktion mittels NanoVi™-Inhalation nach einer akuten sportlichen Aktivität (Laufen) auf mechanistischer Ebene (oxidative Stressparameter und Immunstatus) bei Sportlern zu untersuchen.

Einleitung

Daraus ergibt sich folgende Forschungsfrage:

Wie wirkt sich eine Inhalation mit dem NanoVi™-Gerät auf die Regenerationsfähigkeit – gemessen an Änderungen des Redox-Gleichgewichts, des Immunstatus und des subjektivem Ermüdungsempfindens – nach einer intensiven Trainingseinheit aus?

1.4 ÜBERBLICK ÜBER DIE KAPITEL

Die vorliegende Arbeit besteht aus einem Theorie- und einen Praxisteil.

Der Theorieteil beinhaltet die Einleitung mit dem persönlichen Zugang zu diesem Thema und die nähere Erläuterung der Problemstellung der Arbeit. Auch werden die Vorgangsweise der Studie, die vordergründige Forschungsfrage und die Relevanz in der Forschung und Praxis kurz erläutert. Im Weiteren wird im Theorieteil auf die Bedeutung des oxidativen Stresses eingegangen und die Verbindung zur Regeneration, dem Immunsystem und dem NanoVi™-Inhalationsgerät geschaffen. Diese Kapitel sind hermeneutisch ausgearbeitet. Somit kann der aktuelle Forschungsstand näher beleuchtet und der Zusammenhang zwischen körperlicher Ausbelastung, oxidativem Stress, Immunsystem und Regeneration betrachtet werden.

Im Praxisteil wird das Studiendesign bzw. der methodische Aufbau erläutert. Im Anschluss daran werden die Resultate der Studie statistisch beschrieben und graphisch dargestellt.

Abschließend erfolgt eine Diskussion über die vorliegenden Resultate und der ausgearbeiteten Theorie, wobei in der Conclusio die Verbindung zur Forschungsfrage die Arbeit abrundet.

1.5 VORGANGSWEISE

Die Literaturrecherche fand vorwiegend mit Hilfe der Literatur-Datenbank PUBMED, SPOLIT, google scholar, den Fachbereichsbibliotheken der Universität Wien und der Homepage von Eng3 (Herstellerfirma des NanoVi™-Geräts) statt. Dabei wurde auf Aktualität und Objektivität der Zeitschriften und Autoren Rücksicht genommen.

Die randomisierte, doppelt blinde, kontrollierte Cross-over Studie wurde mit einer 1-2-wöchigen Wash-Out Phase durchgeführt. Die Probanden (21 Männer im Alter von 18-35 Jahren) führten zwei intensive Trainingseinheiten am Laufband bis zur subjektiven Erschöpfung durch. Vor und nach der Trainingseinheit inhalierten sie für 15 Minuten das im NanoVi™ erzeugte Aerosol. Beim Verum-Gerät waren die Photodioden zur Aktivierung

Einleitung

des Aerosols eingeschaltet, beim Placebo-Gerät waren diese Dioden nicht aktiv. Die Zuteilung in eine der beiden Studiengruppen (A (zuerst Kontrolle, dann Intervention) oder B (zuerst Intervention, dann Kontrolle)) erfolgte randomisiert mittels Ziehung aus verdeckten Karten.

Im Rahmen dieser Studie wurden sowohl leistungsbezogene Parameter, als auch Blutparameter und oxidative Stressmarker untersucht, wie aus dem weiteren Verlauf dieser Arbeit entnommen werden kann. Der primäre Endpunkt war das GSH/GSSG-Gleichgewicht, das normalerweise durch diese Belastungsintensität sinkt. Dazu wurden immunologische Parameter (Weiße Blutkörperchen, wie Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten) und das subjektive Belastungsempfinden beobachtet. Die empirisch erhobenen Daten wurden in ein Datenverarbeitungsprogramm übertragen und folglich graphisch dargestellt.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS 22.0 und dem Microsoft Office Programm „Excel“ mit Hilfe der Tabellenkalkulation für vollständig kontrollierte Crossover-Studien nach Hopkins (2005).

1.6 RELEVANZ IN DER FORSCHUNG

Die physiologischen, psychologischen und biochemischen Auswirkungen von körperlicher Belastung auf den Organismus, wie zum Beispiel oxidativer Stress und Veränderung im Immunsystem, sind bereits durch viele Studien erforscht. Die in der Trainingswissenschaft vertretenen Prinzipien des sportlichen Trainings sollen zu einer optimalen Leistungssteigerung führen. Dabei spielt das „Prinzip der optimalen Relation von Belastung und Erholung“ eine große Rolle. (Weineck, 2010) Hier wird zwischen Belastungsphase und Regenerationsphase unterschieden. Weineck (2010; S. 51) betont, *„Die Erholungsprozesse [...] ermöglichen damit eine biologische Adaption und bereiten den Organismus auf höhere Leistung vor.“*

Werden die Erholungsprozesse nur ungenügend berücksichtigt, kann dies zu „Übertraining“ führen, wodurch die Leistungsfähigkeit stagniert oder sogar vermindert wird. Dabei muss jedoch auf den individuell unterschiedlichen Zeitbedarf von Erholung Rücksicht genommen werden, der wiederum bei der Trainingsbelastung eine limitierende Größe darstellt. (Weineck, 2010) Einige Regenerationsmaßnahmen, wie Massage, aktive Regeneration, Dehnen, Elektrostimulation, etc. werden angewendet, um die individuelle Erholungszeit zu verkürzen und somit die Leistungsfähigkeit gezielt zu steigern. Das Ziel ist die Erlangung einer möglichst schnellen Regeneration der verschiedenen biologischen Teilsysteme, sowie die Anpassung des Organismus an die Belastung. Einige Studien

Einleitung

zeigten jedoch, dass diese Maßnahmen die Rückkehr zum Ausgangsleistungsniveau der Interventionsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht wesentlich beschleunigten. Da Regenerationsmaßnahmen immer breitere Akzeptanz im Sportbereich gewinnen, sind weitere wissenschaftliche Untersuchungen notwendig. (Barnett, 2006; Weineck, 2010; Leeder et al., 2011; Pournot et al., 2011; Nedelec et al., 2013)

1.7 RELEVANZ IN DER PRAXIS

Bei der effektiven Trainingsplanung müssen die Prinzipien des sportlichen Trainings in jeder Hinsicht berücksichtigt werden. In den meisten Sportarten spielt das kombinierte Training der konditionellen und koordinativen Fähigkeiten eine große Rolle und wird somit sehr zeitintensiv. Auf Regeneration wird dafür weniger Rücksicht genommen. Auf Dauer gesehen kann sich dies zur chronischen physischen und psychischen Überforderung entwickeln, was bis zu „Übertraining“ führen kann. (Reilly & Ekblom, 2005; Pournot et al., 2011; Leeder et al., 2011) Es gilt, entsprechende Erholungsphasen einzuhalten, die durch Regenerationsmaßnahmen verkürzt werden können. Kellmann (2010) unterstreicht, dass diese dem Athleten bzw. der Athletin die Möglichkeit geben, ihren Trainingszustand (aerob und Kraft), ihre Technik und die Effizienz zu verbessern. Dadurch kann eine erneute Trainingsbelastung zu einem früheren Zeitpunkt erfolgen und der Weg zu einer besseren Leistungsfähigkeit wird ermöglicht. (Leeder et al., 2011; Pournot et al., 2011)

Sowohl in der Wissenschaft als auch in der Praxis hat die physische und mentale Regeneration hohe Relevanz (Montgomery et al., 2008; Richardson et al., 2008; Vaile et al., 2008; Kellmann, 2010). Die meisten Trainer und Trainerinnen sehen „Regeneration“ als unerlässlich an. Ihr Wissen über Regenerationsmaßnahmen und Überwachungsinstrumente ist allerdings meist begrenzt. (Simjanovic et al., 2009; Kellmann, 2010)

Somit sollen die Auswirkungen einer NanoViTM-Inhalation wissenschaftlich aufgezeigt werden, um diese als eine mögliche neue Regenerationsmaßnahme auch im Sportbereich anwenden zu können.

2 OXIDATIVER STRESS

2.1 DEFINITION

Der Begriff „Oxidativer Stress“ wurde erstmals im Jahre 1985 als *„ein Ungleichgewicht zwischen der Produktion von Oxidantien und Antioxidantien, zugunsten der Oxidantien“*, definiert (Sies, 1985). Der Schwerpunkt lag beim zellulären Redoxstatus, der nur die Momentaufnahme in einer Zelle unter normalen Bedingungen beschreibt (Valko et al., 2007). Das Problem war jedoch, dass dabei die einzelnen Signale und die Kontrolle der Redoxreaktion nicht mit einbezogen waren. Somit wurde durch Jones im Jahr 2006 diese Bezeichnung weiterentwickelt und neu definiert. Er bestätigte die Bedeutung der Redoxsignale und deren Kontrolle (Jones, 2006) und definiert oxidativen Stress als *„a disruption of redox signaling and control“*.

Im Weiteren wurde diese Definition durch Sies und Jones (2007) ausformuliert, indem beide Formulierungen zusammengefasst wurden:

„Oxidative Stress is defined as an imbalance between oxidants and antioxidants in favor of the oxidants, leading to a disruption of redox signaling and control and/or molecular damage.“ (Sies & Jones, 2007)

Diese Auslegung wird heutzutage größtenteils in der Literatur angeführt. Geringe Abweichungen werden jedoch immer wieder beschrieben, wie etwa von Nielsen (2013):

„Oxidative stress is a result of an imbalance between the production of ROS and the body's ability to detoxify the reactions (producing antioxidants).“ (Nielsen, 2013)

Zusammengefasst inkludieren diese Definitionen drei Themen (Preiser, 2012):

- die Produktion von reaktiven oder aktivierten Formen von Sauerstoff (ROS) und/oder Stickstoff (RNS)
- eine mögliche Toxizität
- die Anwesenheit von Abwehrsystemen

2.2 FREIE RADIKALE

Ein Atom besteht aus einem Kern und Elektronen. Der Kern ist aus Protonen und Neutronen zusammengesetzt, die Elektronen sind im Atomorbital. Wenn ein Molekül gebildet wird, indem sich Atome binden, sind die Orbitale für gewöhnlich organisiert, und jedes ist mit einem Elektronenpaar besetzt. Wenn nun ein ungepaartes Elektron im Atomorbital existiert, wird dieses Molekül als freies Radikal bezeichnet. Somit sind freie Radikale Oxidantien, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen in der äußeren Schale aufweisen. Durch dieses ungepaarte Elektron bzw. ungepaarte Elektronen ist ein Radikal sehr reaktionsfreudig, da es versucht sich mit einem anderen Elektron zu stabilisieren. (Matsuo & Kaneko, in Radák, 2000; Halliwell & Gutteridge, 2007; Powers & Jackson, 2008; Fisher-Wellmann & Bloomer, 2009). Ein Radikal ($A^\bullet$) reagiert mit einem Elektron eines anderen Moleküls (B), und es entsteht ein neues Radikal: $A^\bullet + B \rightarrow A + B^\bullet$. Dieses neu-produzierte Radikal ist normalerweise labil und kann mit einem dritten Molekül (C) reagieren, wodurch ein drittes Radikal ($C^\bullet$) entsteht: $B^\bullet + C \rightarrow B + C^\bullet$. Dieses dritte Radikal reagiert wiederum mit dem ersten Molekül, wobei wieder das „ursprüngliche“ Radikal hergestellt wird. Dadurch kann eine Kettenreaktion initiiert werden: $C^\bullet + A \rightarrow C + A^\bullet$. Diese Kettenreaktion wird solange fortgeführt, bis eine Endreaktion stattfindet. Wenn die Kettenreaktion jedoch nicht mehr kontrolliert werden kann, wird das biologische System geschädigt. Die Endreaktion erfolgt dann, wenn die Radikale ($R^\bullet$) miteinander reagieren und eine nicht-radikale Spezies bilden: $R^\bullet + R^\bullet \rightarrow RR$. Dieser Prozess wird von Antioxidantien begünstigt. (Matsuo & Kaneko, in Radák, 2000)

Freie Radikale sind für den Organismus im Prinzip nicht schädlich. Es existiert eine große Anzahl von Studien, die bestätigen, dass der Organismus sich nicht nur an die Existenz der freien Radikale anpasst, sondern auch eine Vielzahl an Mechanismen entwickelt, die die freien Radikale in verschiedenen physiologischen Funktionen beeinflussen können. (Valko et al., 2007) Freie Radikale werden in Untergruppen unterteilt (s. Tab. 1). Der Begriff „reaktive Sauerstoffradikale“ (ROS) ist ein allgemeiner Begriff, der sich sowohl auf sauerstoff-zentrierte Radikale als auch auf Nicht-Radikale und reaktive Derivate, wie beispielsweise Hydrogenperoxide, bezieht (Halliwell & Gutteridge, 2007; Powers & Jackson, 2008). Die reaktiven Stickstoffradikale (RNS) stellen Stickstoffradikale zusammen mit anderen reaktiven Molekülen dar, bei denen das reaktive Zentrum Stickstoff ist. (Powers & Jackson, 2008; Powers, Nelson & Hudson, 2011). Beide Begriffe werden mit der Bezeichnung „reactive oxygen and nitrogen species“ (RONS) zusammengefasst. (Powers & Jackson, 2008; Powers, Nelson & Hudson, 2011)

Oxidativer Stress

Tabelle 1: Klassifikation und wesentliche Wirkungen der freien Radikale (Finaud, Lac & Filaire, 2006)

Free Radical	Contraction	Half-life	Main effects
Reactive oxygen species	ROS		
Superoxide ion	$O_2^{\bullet-}$	10^{-5} sec	Lipid oxidation and peroxidation Protein oxidation DNA damage
Ozone	O_3	Stable	
Singlet oxygen	1O_2	1 μ sec	
Hydroxyl radical	$OH^{\bullet}$	10^{-9} sec	
Hydrogen peroxide	H_2O_2	Stable	
Hypochlorous acid	$HOCl$	Stable	
Alkoxy radical	$RO^{\bullet}$	10^{-6} sec	
Peroxy radical	$ROO^{\bullet}$	7 sec	
Hydroperoxy radical	$ROOH^{\bullet}$		
Reactive nitrogen species	RNS		
Nitric oxide	$NO^{\bullet}$		Lipid peroxidation DNA damage Proteins oxidation
Nitric dioxide	$NO_2^{\bullet}$	1–10 sec	
Peroxynitrite	$ONOO^{\bullet-}$	0.05^{-1} sec	
Reactive sulphur species	RSS		
Thiyl radical	$RS^{\bullet}$		Proteins oxidation DNA damage ROS production

2.2.1 REAKTIVE STICKSTOFFRADIKALE (REACTIVE NITROGEN SPECIES, RNS)

Stickstoffmonoxid, $NO^{\bullet}$, ist ein freies Radikal. Es kann mit anderen freien Radikalen Verbindungen eingehen. Wenn es sich beispielsweise mit Sauerstoff (O_2) verbindet, kann es zu Sauerstoffdioxid ($NO_2^{\bullet}$) übergehen. (Halliwell & Gutteridge, 2007) Eine Überproduktion dieser reaktiven Stickstoffradikale wird als nitrosativer Stress bezeichnet (Ridnour et al., 2004) und kann Schäden an Biomolekülen auslösen (Finaud, Lac & Filaire, 2006). $NO^{\bullet}$ spielt aber auch eine wichtige Rolle bei der oxidativen biologischen Signalübertragung. Es ist für viele physiologische Prozesse im Organismus verantwortlich, wie zum Beispiel für die Neurotransmission, die Regulation des Blutdrucks, verschiedene Abwehrreaktionen, die Muskelentspannung und die Immunregulation, sowie den Schutz der Gefäßsysteme. (Bergendi et al., 1999; Halliwell & Gutteridge, 2007; Vanhautte, 2009; Firuzi et al., 2011)

2.2.2 REAKTIVE SAUERSTOFFRADIKALE (REACTIVE OXYGEN SPECIES, ROS)

Reaktive Sauerstoffradikale (ROS) sind Produkte der Zellatmung (Finaud, Lac & Filaire, 2006). Im Organismus haben sie eine Vielzahl von Aufgaben, wie beispielsweise die Signalübertragung, die Abwehr körperfremder Stoffe, das Auslösen von Wachstum und Zelltod und die Stimulation von Antioxidantien und diverse Reparaturmechanismen (Carmeli, Lavian & Reznick in Radak 2000; Pani, 2000; Fehrenbach & Northoff, 2001;

Oxidativer Stress

Firuzi et al., 2011; Tsukahara, 2014). Eine unkontrollierte Bildung von ROS oxidiert Biomoleküle, wie Nukleinsäuren, Proteine und Lipide. Dadurch werden einerseits Veränderungen der genetischen Information hervorgerufen, andererseits Proteinen geschädigt, Enzyme werden inaktiviert und Biomembranen zerstört (s. Abb. 1). (Matsuo & Kaneko, in Radák, 2000; Winterbourn, 2007; Powers & Jackson, 2008; Ulrich et. al, 2011; Kunwar & Priyadarsini, 2011; Jaganjac et al., 2012)

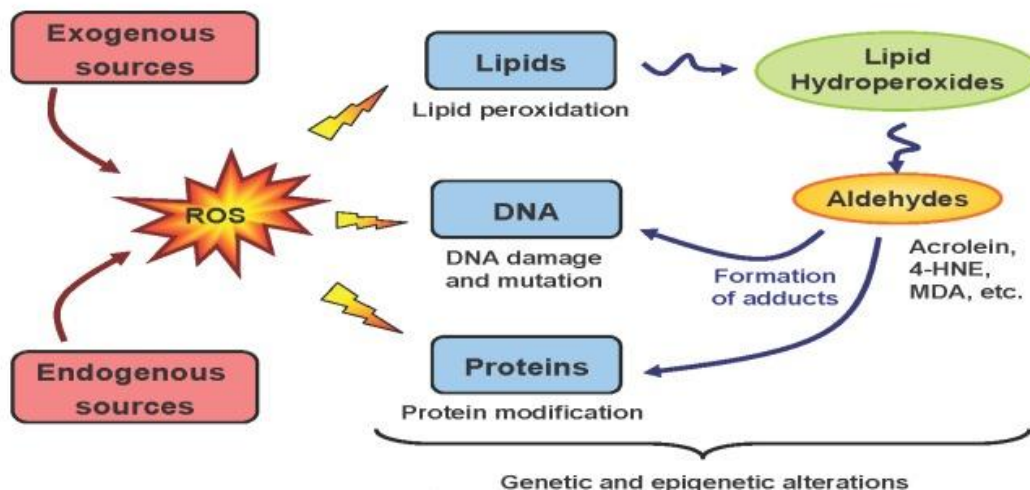


Abbildung 1: Reaktive Sauerstoffradikale (ROS) und deren Schädigung von Biomolekülen, wie Lipiden, DNA und Proteinen, was folglich genetische und epigenetische Veränderungen hervorrufen kann (Jaganjac et al., 2012)

ROS zählen, wie bereits erwähnt, zu einer Untergruppe der freien Radikale (s. Tab. 1). Zu den wichtigsten ROS gehören das Hydroxyl-Radikal ($\text{OH}^\bullet$), das reaktivste sauerstoffenthaltende Radikal, das Peroxyl-Radikal ($\text{ROO}^\bullet$), das häufigste Radikal in biologischen Systemen, sowie das Alkoxyl-Radikal ($\text{RO}^\bullet$) und das Superoxid ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (Asmus & Bonifacic in Sen, Packer & Hänninen 2000; Powers & Jackson, 2008; Kunwar & Priyadarsini, 2011).

2.3 ENTSTEHUNG

Elstner (1990) teilt die Entstehung der reaktiven Sauerstoffspezies in vier Kategorien ein (Tab. 2):

- Auto-oxidationsreaktionen
- Enzymatische Reaktionen und Proteine
- Zelluläre Quellen
- Umweltfaktoren

Oxidativer Stress

Tabelle 2: Mögliche Quellen und Produktionsorte aktivierter Sauerstoffspezies (Elstner, 1990; S. 269)

1. Auto-oxidationsreaktionen (inkl. „Redox cycling“)
Chinone Aromatische Nitroverbindungen, aromatische Hydroxylamine Redoxfarbstoffe (z.B.: Paraquat) Melanin Thiole Tetrahydropteridine Flavine (FADH ₂ , FMNH ₂) Eisenkomplexe
2. Enzymatische Reaktionen und Proteine
Aldehydoxidase Cytochrom P-450 Ferredoxin Hämoglobin Indolamin-Dioxygenase NADH-Cytochrom-b5-Reduktase NADPH-Cytochrom-P450-Reduktase NADPH-Oxidase Peroxidase Tryptophan-Dioxygenase Xanthin-Oxidase
3. Zelluläre Quellen
Mitochondriale Elektronentransportkette (Atmungskette) Mikrosomale Elektronentransportkette (Drogenoxidation) Chloroplasten (Photosystem I) Leukozyten und Makrophagen Bakterielle Elektronen-Transportketten
4. Umweltfaktoren
Ultraviolettes Licht Ultraschall Röntgenstrahlen Gammastrahlen Toxische Chemikalien Metallionen

Auto-oxidationsreaktionen finden beispielsweise nach einer Vergiftung durch Herbizide oder Antibiotika statt. Chinone, bestimmte Flavine, Eisenkomplexe, Thiole, etc. können somit autooxidieren und die erwünschten bzw. unerwünschten Sauerstoffaktivierungen katalysieren. Enzymatische Reaktionen, die zweite angeführte Quelle, katalysieren die Sauerstoffreduktion. Solange in der Zelle die produzierten Sauerstoffspezies ihrem eigentlichen Zweck zugeführt werden, entstehen keine Schäden. Erst wenn sie ihre Funktionen nicht erfüllen, können Schädigungen hervorgerufen werden. Diese Enzyme bilden unter bestimmten Bedingungen reaktive Sauerstoffspezies, wie Superoxid (O_2^-), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), OH-Radikale oder reaktive Übergangsmetallsauerstoff-

Oxidativer Stress

komplexe, die zu Schadsymptomen führen. Eine weitere Quelle stellen komplexe Elektronentransportsysteme in den Zellen dar. Auch sie sind für die Aktivierung von Sauerstoff verantwortlich. (Elstner, 1990) Beispielsweise führt während sportlicher Betätigung der erhöhte Elektronenfluss durch die Atmungskette in den Mitochondrien zu einer erhöhten Bildung von ROS (Di Meo, & Venditti, 2001; Radak et al., 2013). Als vierte Quelle werden die Umweltfaktoren, wie UV-Licht, Röntgenstrahlen, Gammastrahlen, etc., angeführt. Diese aktivierten Sauerstoffspezies sind vor allem bei verschiedenen Krankheitsbildern ausschlaggebend. (Elstner, 1990)

2.4 AUSWIRKUNG

Bei gesunden aeroben Zellen wird die Produktion von freien Radikalen durch antioxidative Abwehrsysteme im Gleichgewicht gehalten. Oxidativer Stress kann prinzipiell entstehen durch (Halliwell & Gutteridge, 2007):

- Verminderte Konzentration an Antioxidantien: z.B. durch Mutationen, die den Spiegel der antioxidativen Abwehr vermindern, wie GSH oder SOD, oder durch die Ausschöpfung von Antioxidantien und anderen wesentlichen Bestandteilen aus der Nahrung
- Erhöhte Produktion von freien Radikalen: z.B. durch einen erhöhten O₂-Umsatz, durch die Gegenwart von Giftstoffen, die freie Radikale produzieren, oder durch die exzessive Aktivierung der „natürlichen“ Systeme, die freie Radikale produzieren

Die Zelle kann nun auf diesen oxidativen Stress unterschiedlich reagieren, was vom Zelltyp und dem Schweregrad des oxidativen Stresses abhängig ist (Halliwell & Gutteridge, 2007):

- Erhöhte Proliferation
- Anpassung
- Zellschäden
- Seneszenz
- Zelltod

Im Allgemeinen gibt es in der Zelle Kompartimente mit reduzierendem Milieu (z.B. Mitochondrien, Cytosol). Einige Kompartimente, wie das endoplasmatische Retikulum, können oxidiert sein. Bei geringem oxidativen Stress wird die Proliferation einiger Zelltypen angeregt. Steigt der oxidative Stress an, findet man auch einen erhöhten Spiegel der oxidativen Schädigung vor. Hier läuft der Prozess der Anpassung ab. Durch die Hochregulierung der Abwehrsysteme ist die Zelle bzw. der Organismus entweder

Oxidativer Stress

komplett gegen den Schaden geschützt, nur teilweise, oder sozusagen „überbehütet“, wodurch die Zelle dann gegen größeren oxidativen Stress resistent ist. Sobald eine weitere Erhöhung des oxidativen Stresses stattfindet, können Zellschäden, beispielsweise an Lipiden, DNA, Proteinen, Kohlenhydraten, etc. folgen. Teilweise können solche Schäden aber auch die Adaptation im Organismus auslösen. Halliwell & Gutteridge (2007, S. 188) betonen: *„Not all damage caused by oxidative stress is oxidative damage“*. Folgeschäden an Biomolekülen können beispielsweise Veränderungen im Ionenspiegel hervorrufen. Sie weisen hier auf die Funktion von Kalzium (Ca^{2+}) hin. Eine vorübergehende Erhöhung der Ca^{2+} -Konzentration reguliert einige physiologische Prozesse, wie die Zellproliferation oder die Freisetzung von Neurotransmittern. Weiters führt ein sehr hoher Spiegel an freien Radikalen zur Seneszenz: Die Zelle überlebt zwar, aber eine Zellteilung ist nicht mehr möglich. Nach einer Schädigung durch chemische oder physiologische Reize hat die Zelle die Möglichkeit sich entweder vom oxidativen Schaden zu erholen, indem sie die geschädigten Moleküle repariert bzw. austauscht, oder weiterhin zu überleben. Wenn sie jedoch dem oxidativen Schaden nicht mehr Stand halten kann, stirbt sie ab. (s. Abb. 2)

Oxidativer Stress

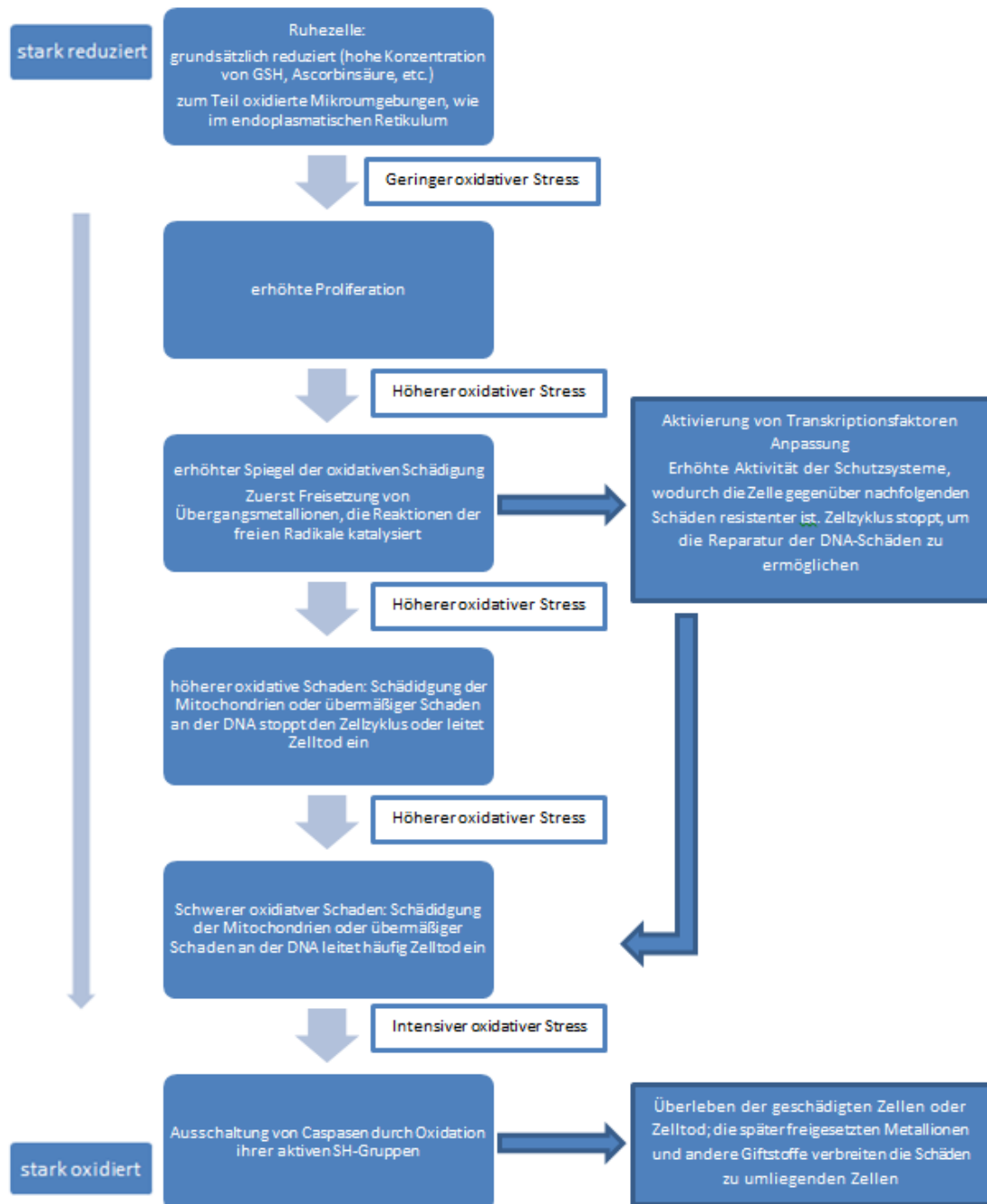


Abbildung 2: Auswirkung des oxidativen Stresses auf die Zellen (modifiziert nach Halliwell & Gutteridge, 2007, S. 189)

Die Störung des Gleichgewichts von Pro- und Antioxidantien kann folglich Schäden an Biomolekülen, wie an Lipiden, Proteinen und an der DNA anrichten, was die normale Funktion beeinträchtigt. Dadurch entstehen einerseits physiologische Veränderungen, wie Alterungsprozesse, andererseits pathologische Veränderungen, wie Diabetes, Herz-Kreislauferkrankungen, Krebs, Gelenksrheuma, Ischämie, neurologische Beschwerden,

Oxidativer Stress

wie zum Beispiel Alzheimer und Parkinson, u.v.m. (Powers & Jackson, 2008; Valko et al., 2007). Im Weiteren wird auf die Schädigung der Biomoleküle näher eingegangen.

2.4.1.1 SCHÄDIGUNG DER BIOMOLEKÜLE

LIPIDE – LIPIDPEROXIDATION

Die Lipidperoxidation ist die oxidative Schädigung von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (Powers & Jackson, 2008; Halliwell, 2007; Kunwar & Priyadarsini, 2011). Sie läuft wie eine Kettenreaktion ab (Sachdev & Davies, 2008) und beginnt, sobald freie Radikale Wasserstoffatome von veresterten ungesättigten Fettsäuren in den Zellmembranen, von Lipoproteinen oder von freien Fettsäuren abstrahieren. Das ursprüngliche freie Radikal ($\text{OH}^\bullet$) ist zwar neutralisiert, aber ein Lipidradikal ($\text{L}^\bullet$) wird gebildet. Es entstehen Alkoxy- oder Peroxyl-Radikale ($\text{LOO}^\bullet$) (s. Abb. 3). Die reaktiven Zwischenprodukte können weitere Reaktionen verursachen und die Ausbreitung der Lipidperoxidation wird fortgesetzt. (Radak & Goto, in Radak, 2000; Sachdev & Davies, 2008; Powers & Jackson, 2008) Dies führt zur Schädigung der Zellmembrane (Sachdev & Davies, 2008). Der Prozess kann beendet werden, sobald sich zwei freie Radikale treffen und miteinander reagieren, wodurch nicht-radikale Spezies entstehen (Radak & Goto, in Radak, 2000).

Mechanism and Products of Lipid Peroxidation

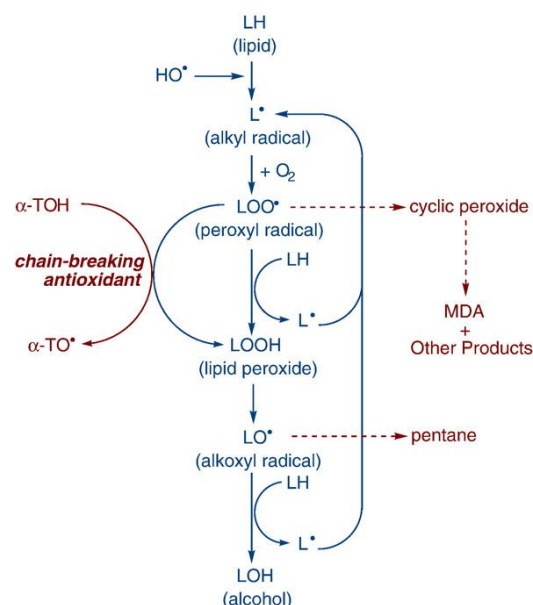


Abbildung 3: Mechanismus und Produkte der Lipidperoxidation. Die freie Radikalkettenreaktion führt zu Produkten der Lipidperoxidation, mit MDA (Malonyldialdehyd), Ethan und Pentan. (LH: Lipide (ungesättigte Fettsäuren; $\text{L}^\bullet$: Alkyl-Radikal, $\text{LOO}^\bullet$: Lipid-Peroxyl-Radikal (ketten-verbreitende Spezies; $\text{LO}^\bullet$: Lipid-Akoxyl Radikal; $\alpha\text{-TOH}$: α -Tocopherol (ketten-brechendes Antioxidans) (Sachdev & Davies, 2008)

Oxidativer Stress

PROTEINE – PROTEINOXIDATION

Die Proteinoxidation kann die Folge von Entzündungen, körperlicher Betätigung oder Ischaemische Reperfusion sein (Stadtman & Levine, 2000). Die Veränderung eines Proteins kann einerseits durch die direkte Oxidation einer spezifischen Aminosäure ausgelöst werden, andererseits kann sich dadurch das Protein spalten. Es kommt zu einer verminderten physiologischen Aktivität und zu Veränderungen in der Sekundär- und Tertiärstruktur des Proteins (s. Abb. 4). Somit können pathologische Störungen und Alterungsprozesse begünstigt werden. (Tirosh & Reznick, in Sen, Packer & Hänninen, 2000)

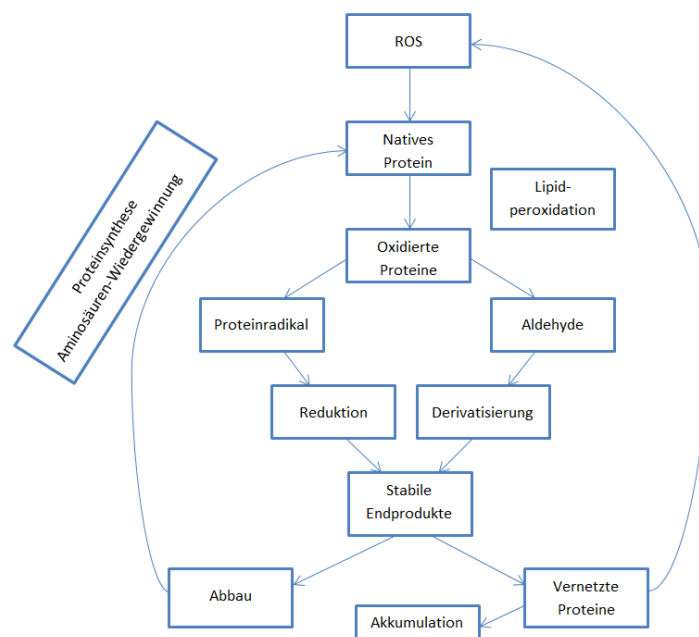


Abbildung 4: Mechanismen der oxidativen Proteinschädigung und Akkumulation (Ansammlung defekter oxidierte Proteine in der Zelle). Eine Vielzahl von Wechselwirkungen ist in jedem Schritt möglich. (modifiziert nach Radak & Goto, in Radak 2000)

DNA – DNA-OXIDATION

Die Deoxyribonukleinsäure (DNA) enthält die Erbinformation und ist aus vier Bausteinen (Basen: Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin) aufgebaut. Die genetische Information ist durch die spezifische Abfolge der Nukleotide gespeichert und wird über Basenpaarung in die neu synthetisierte DNA kopiert. Die Replikation der DNA ist ein kontrollierter Prozess mit sehr hoher Genauigkeit. Selten wird bei diesem Replikations-Mechanismus ein Nukleotid ausgelassen oder hinzugefügt bzw. Basen verändert. Solche Veränderungen werden Mutationen genannt. Sie rufen die falschen Protein-Sequenzen hervor und leiten strukturelle oder funktionelle Veränderungen, wie Dysfunktionen, ein. (Radak & Goto, in Radak, 2000; Kunwar & Priyadarsini, 2011)

Oxidativer Stress

Zusammenfassend kann zu den Auswirkungen der ROS gesagt werden, dass die Balance zwischen förderlichen und schädlichen Effekten der freien Radikale eine äußerst wichtige Rolle für den Organismus spielt. Dies wird durch die sogenannte Redox-Regulation erlangt (s. Abb. 5). (Dröge, 2002)

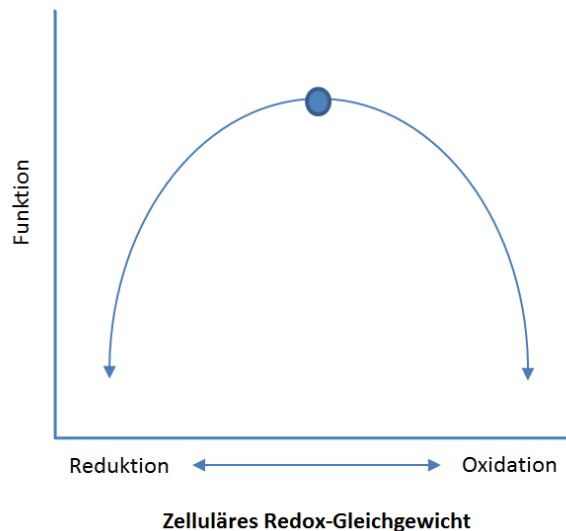


Abbildung 5: Schema der physiologischen Funktion und dem zellulären Redox-Gleichgewicht bzw. –Status. Die Form der Kurve besagt, dass es einen Redox-Status gibt, der für eine gewisse Funktion optimal ist (●). Die Position der Reduktion und Oxidation ist willkürlich und vermutlich zum geregelten Prozess spezifisch. (Carmeli, Lavian & Reznick, in Radak 2000)

2.5 ANTIOXIDATIVE SYSTEME

Da Sauerstoff für Lebewesen giftig ist, können sie nur durch die entwickelten antioxidativen Systeme überleben. Ein Antioxidans ist jede Substanz, die oxidativen Schaden an einem Zielmolekül verzögert, verhindert oder beseitigt. Diese Antioxidantien können *in vivo* synthetisiert oder durch Nahrung aufgenommen werden. (Halliwell & Gutteridge, 2007) Jede Zelle enthält ein komplexes System dieser antioxidativen Verbindungen und Enzyme. Sie können die Zellen einerseits vor chemischen Schäden durch Oxidation, also einer hohen Menge von freien Radikalen, schützen. Andererseits können sie den Schweregrad des oxidativen Stresses reduzieren, indem sie ein weniger aktives Radikal bilden oder die bereits erklärte Schädigung der freien Radikale auf Biomoleküle dämpfen. (Carmeli, Lavian & Reznick in Radak 2000; Halliwell, 2007; Powers & Jackson, 2008; Nielsen, 2013)

Antioxidative Systeme sind somit „darauf ausgerichtet, potentiell toxische Sauerstoffspezies oder deren Derivate auf verschiedenen Stufen ihrer Entstehung oder

Oxidativer Stress

ihre Reaktion mit Biomolekülen zu hemmen oder zu blockieren“ (Elstner, 1990, S. 273) (Abb. 6).

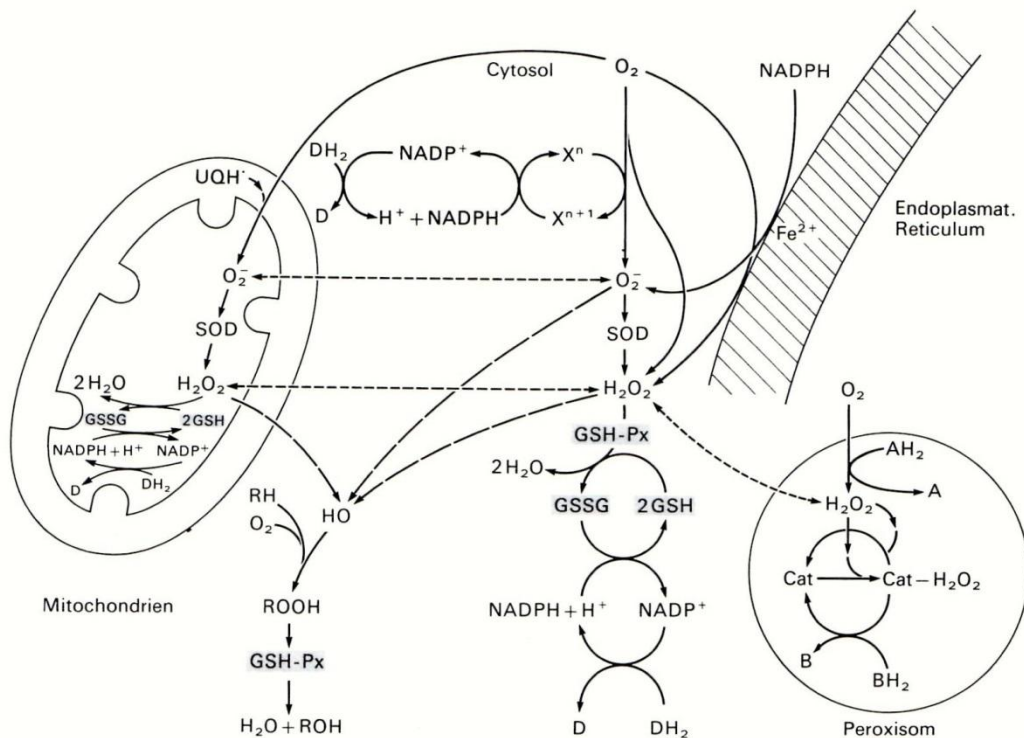


Abbildung 6: Verknüpfung sauerstoffaktivierender und detoxifizierender Enzym-Substrat-Interaktionen in verschiedenen Kompartimenten der aeroben Zelle (Elstner, 1990, nach Sies, 1989)

In der Literatur findet man unterschiedliche systematische Unterteilungen der Antioxidantien vor. So gibt es die Klassifizierung in wasserlösliche und nicht wasserlösliche oder in intra- und extrazelluläre Antioxidantien. Die Einteilung in enzymatische und nicht-enzymatische Antioxidantien ist heutzutage sehr geläufig (Elstner, 1990; Carmeli, Lavian & Reznick in Radak 2000; Ji & Hollander, in Radák 2000; Mates, 2000; Valko et al., 2007, Powers & Jackson, 2008; Kunwar & Priyadarsini, 2011; Nielsen, 2013). Zu den enzymatischen Antioxidantien zählen Superoxid-Dismutase (SOD), Glutathionperoxidase, Katalase, Thioredoxin, u.v.m. Zu den nicht-enzymatischen Antioxidantien gehören lebensnotwendige Nährstoffe, wie Vitamin C, Vitamin E und Vitamin A, Glutathion, Flavonoide, Coenzym Q10, Liponsäure, etc. (Ji & Hollander, in Radák 2000; Powers & Jackson, 2008; Kunwar & Priyadarsini, 2011; Nielsen, 2013)

Halliwell und Gutteridge (2007) verweisen hier auf die verschiedenen antioxidativen Abwehrstrategien der Zellen:

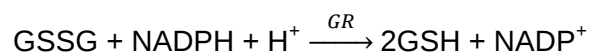
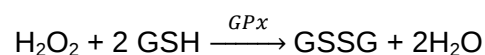
- Stoffe, die freie Radikale katalytisch entfernen, wie Superoxid-Dismutase (SOD), Superoxid-Reduktase, Katalase (Cat) und Peroxidasen

Oxidativer Stress

- b. Stoffe, die die Produktion der freien Radikale reduzieren, wie mitochondriale „Entkopplungsproteine“ („Uncoupling Proteins“). Hierzu zählen Proteine, die das Vorhandensein von Pro-Oxidantien minimieren, wie Eisenione, Kupferione oder Häm (z.B. Transferrin, Albumin)
- c. Proteine, die durch andere Mechanismen die Biomoleküle gegen oxidativen Schaden schützen, wie z.B. Chaperone
- d. Physikalisches Abfangen („Quenchen“) von freien Radikalen, wie z.B. von Singulett-Sauerstoff ($O_2^{\cdot}$) durch Carotinoide
- e. Austausch von Molekülen, die gegenüber oxidativem Schaden empfindlich sind, mit Molekülen, die gegenüber diesen resistent sind
- f. „Sacrificial agents“ („Aufopfernde Stoffe“), die durch freie Radikale vorzugsweise oxidieren, wodurch wichtigere Biomoleküle geschont werden, wie z.B. Glutathion (GSH), α -Tocopherol, Ascorbat (z.B. Vitamin C), Albumin, Urat und Plasmalogene.

Die antioxidativen Abwehrsysteme sind nicht zu 100% im Organismus wirksam. Dies kann anhand der Messung der oxidativen Schäden an der DNA, an Proteinen, an Lipiden, sowie bei anderen Molekülen gezeigt werden. Da freie Radikale auch als Botenstoffe agieren, haben die antioxidativen Abwehrsysteme die Aufgabe, diese Funktion bei gleichzeitiger Minimierung der oxidativen Schäden zu ermöglichen. Als antioxidative Abwehrstrategien hat die Zelle somit Schutz- und Reparaturmechanismen zur Verfügung. (Halliwell & Gutteridge, 2007)

Am Beispiel des Glutathions (GSH), welches ein wichtiges Antioxidans im menschlichen Gewebe ist, sollen diese Mechanismen verdeutlicht werden. Es zählt zu dem bekanntesten Vertretern der Thiolproteine (Sen, 2000; Radak et al., 2013), und ist ein Tripeptid aus Glycin, Glutaminsäure und Cystein (s. Abb. 7) (Krohne-Ehrich & Untucht-Grau, 1976; Wu et al., 2004). GSH kann mit fast allen reaktiven Spezies reagieren. Dabei oxidieren freie Radikale das GSH mit Hilfe der Glutathion-Peroxidase (GPx) zu GSSG. (s. Abb. 6 & 7). Die GSH/GSSG Ratio stellt somit einen Indikator des Redoxgleichgewichtes dar. (Meister, 1983; Dalle Donne et al., 2006; Powers & Jackson, 2008; Sachdev & Davies, 2008)



Oxidativer Stress

GSH spielt bei einigen physiologischen Funktionen eine wichtige Rolle, wie zum Beispiel beim Abfangen von freien Radikalen und anderen reaktiven Spezies, sowie bei der Immunfunktion (Wu et al., 2004; Halliwell & Gutteridge, 2007).

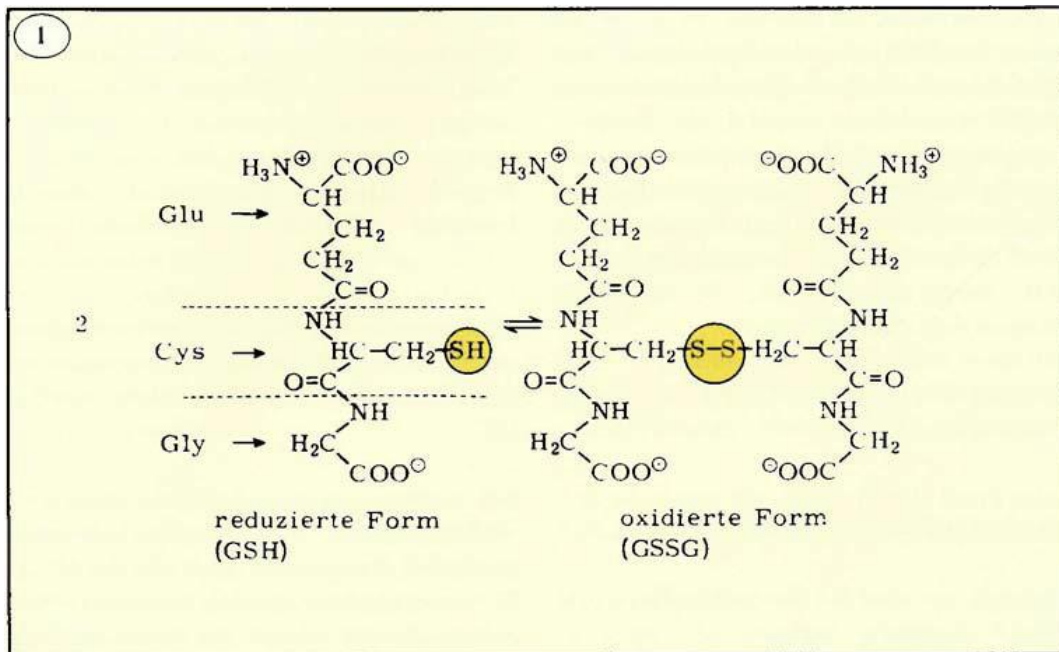


Abbildung 7: Glutathion. Da Glutathion freie, reaktive SH-Gruppen besitzt, kann die reduzierte Form, GSH, unter Abgabe von Wasserstoff in die oxidierte Form, Glutathion-Disulfid (GSSG), übergehen. (Krohne-Ehrich & Untucht-Grau, 1976)

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass unter normalen Bedingungen ein Gleichgewicht zwischen der Aktivität der freien Radikale und dem intrazellulären Spiegel dieser Antioxidantien herrscht (Dröge, 2002; Tsukahara, 2014). Dies ist für das Überleben und die Gesundheit des Organismus essentiell (Dröge, 2002). Das Optimum wird durch eine gleichgroße Produktion von freien Radikalen mit einer gleichgroßen Produktion von Antioxidantien erreicht (s. Abb. 8) (Nielsen, 2013). Ein Ungleichgewicht führt zu einer Zerstörung von wichtigen Biomolekülen und Zellen, was eine Auswirkung auf den ganzen Organismus haben kann (Durackova, 2010; Kunwar & Priyadarsini, 2011).

Oxidativer Stress

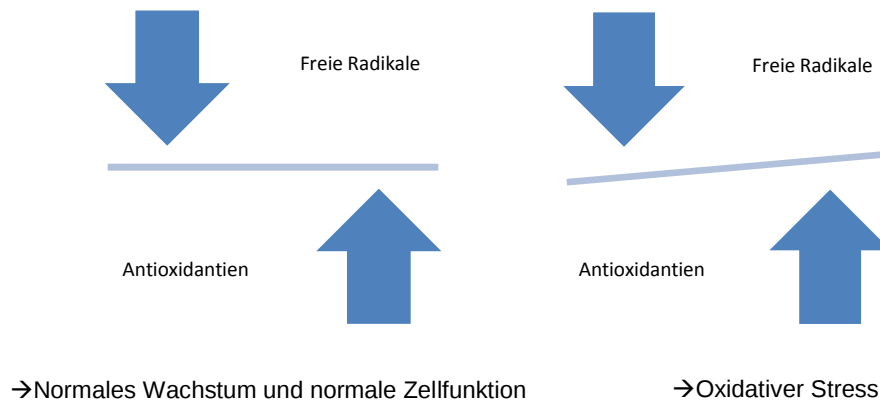


Abbildung 8: Gleichgewicht zwischen Antioxidantien und freien Radikale (modifiziert nach Nielsen, 2013)

2.6 MESSUNG DES OXIDATIVEN STRESS

Um nun ein zuverlässiges und valides Ergebnis zu erhalten, muss eine passende Messmethode herangezogen werden (Nielsen, 2013). Freie Radikale sind sehr schwer erfassbar, da sie hoch reaktiv und extrem kurzlebig sind. Somit werden zur Bestimmung vorwiegend Nebenprodukte und Endprodukte herangezogen. Hier gibt es verschiedene Messmethoden (Finaud, Lac & Filaire, 2006; Powers & Jackson, 2008; Kruk, 2011; Powers et al., 2011):

1. die direkte Methode (die Messung der freien Radikalen)
2. die indirekte Methode (die Messung der durch die Radikale ausgelösten Schäden an Biomoleküle)
3. die Messung der antioxidativen Enzymaktivität bzw. -konzentration

In Bezug auf die Messung des oxidativen Stresses bei körperlicher Aktivität wird auf die Veränderungen des Redox-Gleichgewichts großen Wert gelegt, wobei hier auch die Zeitkinetik eine wichtige Rolle spielt (Nikolaidis & Jamurtas, 2009; Nikolaidies et al., 2012).

2.6.1 DIREKTE MESSMETHODEN

Zu den direkten Messmethoden zählt die Elektronenspinresonanz oder paramagnetische Elektronenresonanz (ESR oder EPR), welche *in vitro*, *in vivo* und *ex vivo* durchgeführt werden kann. Für die *ex vivo* Methode werden Blutproben in Röhrchen gesammelt, die eine Lösung mit Spin-Trapping Reagenzien enthalten, die die ROS stabilisieren. Nach dem Zentrifugieren wird das Serum durch ein flammenatomabsorptionsspektroskopisches

Oxidativer Stress

Verfahren analysiert. (Rimbach et al., 1999) Häufig wird diese Methode in Kombination mit anstrengendem Training verwendet, wobei erhöhte ESR-Signale darauf hinweisen, dass eine gesteigerte Produktion der freien Radikale stattfindet (Sachdev & Davies, 2008).

2.6.2 INDIREKTE MESSMETHODEN

Indirekte Methoden sind analytische Techniken, die nicht die freien Radikale selbst sondern die Veränderungen bzw. Schädigungen von Lipiden (MDA (Malondialdehyde), Hydrocarbongase oder F2-Isoprostane), von Proteinen, (Proteincarbonyle oder 3-nitrotyrosine), und der DNA (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) aufzeigen. (Rimbach et al., 1999) Im Weiteren wird darauf näher eingegangen.

LIPIDE – LIPIDPEROXIDATION

Um das Ausmaß der Lipid-Peroxidation zu messen, werden beispielsweise Isoprostane gemessen, welche Produkte dieses Prozesses sind. Sie werden durch die Peroxidation von Phospholipiden gebildet. Wenn eine erhöhte Produktion festgestellt wird, geht man von einem gesteigerten oxidativen Stress aus. (Halliwell & Gutteridge, 2007, S. 250) Weitere Marker sind Pentane, die in der ausgeatmeten Atemluft gemessen werden können, oder MDA (Malondialdehyde), die als Nebenprodukte der Lipidperoxidation entstehen (Sachdev & Davies, 2008). Die gebräuchlichste Messmethode für MDA ist die TBARS Methode (thiobarbituric acid-reactive substances). Diese wird häufig bei Studien in Bezug zu körperlicher Aktivität verwendet. (Sachdev & Davies, 2008)

PROTEINE - PROTEINOXIDATION

Eine Veränderung der Proteine durch freie Radikale verursacht die Bildung von Carbonylgruppen in Aminosäuren, den Bausteinen der Proteine. Somit stellt ein Anstieg von Carbonylproteinen eine messbare Größe für oxidativen Stress dar. (Stadtman & Levine, 2000; Kunwar & Priyadarsini, 2011).

DNA – DNA-OXIDATION

Es gibt eine große Anzahl an Messmethoden der DNA-Veränderungen. Beispielsweise wird der Marker 8-OHdG (8-hydroxy-2'-deoxyguanosin), der durch die von freien Radikale hervorgerufene Oxidation von Guanin erzeugt wird, verwendet. Die oxidierte DNA wird kontinuierlich repariert und die oxidierten Nukleotide, wie 8-OHdG, werden durch das Blut und den Urin ausgeschieden. Dadurch sind sowohl invasive, als auch nicht invasive Testmethoden möglich. (Dizdaroglu et al., 2002)

2.6.3 MESSUNG DER ANTIOXIDATIVEN KAPAZITÄT

Als Index des oxidativen Stresses kann auch die Veränderung der Konzentration von Antioxidantien oder deren Oxidationsprodukten (z.B. GSSG, Ascorbylradikale) herangezogen werden. Die Erschöpfung der Antioxidantien muss nicht heißen, dass eine oxidative Schädigung vorherrscht. Sie weist nur auf die Abwehrmechanismen hin, die die freien Radikale entfernen und das System schützen. (Halliwell & Gutteridge, 2007) Zur Messung der antioxidativen Kapazität gibt es mehrere Möglichkeiten.

ANTIOXIDATIVE ENZYMAKTIVITÄT

Die enzymatische antioxidative Aktivität von Enzymen wie SOD, CAT und GPX, wird in zahlreichen Studien gemessen. Diese Methode kann sowohl die Qualität des antioxidativen Schutzes in Ruhe, als auch die Bedeutung des oxidativen Stresses, speziell nach körperlicher Betätigung, evaluieren. Die antioxidative Enzymaktivität kann unterschiedlich sein: eine Steigerung zu Beginn, aufgrund von Adaptation, oder eine Senkung bei hohem oder langandauernden oxidativen Stress, aufgrund von andauernder Beanspruchung. (Finaud, Lac & Filaire, 2006)

VITAMINE

Die Messung der Konzentration von antioxidativen Vitaminen stellt eine weitere Möglichkeit dar: Die Konzentration der antioxidativen Vitamine wird aufgrund von oxidativem Stress verändert und kann daher als indirekter Marker eingesetzt werden. (Rimbach et al., 1999)

GSH/GSSG

Anhand der Messung von Thiolproteinen kann die antioxidative Kapazität des Organismus bzw. der oxidative Stress bestimmt werden. Der Verlust von Thiolproteinen kann während eines langen Einwirkens von oxidativem Stress entstehen. (Dalle Donne et al., 2006) Wie bereits erwähnt, gehört das GSH zu den Thiolproteinen. Der GSH-Spiegel wird üblicherweise im Blut, in der Leber und im Muskelgewebe gemessen. (Meister, 1983; Dalle Donne et al., 2006; Powers & Jackson, 2008; Sachdev & Davies, 2008) Die Messung des GSSG-Spiegels bzw. die Bestimmung der GSH/GSSG-Ratio ist ein nützlicher Indikator des oxidativen Stresses und kann als Kontrolle zur Messung der Effektivität von antioxidativen Interventionsstrategien verwendet werden. Wenn menschliche Zellen einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt sind, sinkt das Verhältnis von GSH/GSSG als Folge von GSSG-Ansammlung und der Erniedrigung des GSH. (Sen, 2000; Radak et al., 2013)

Oxidativer Stress

Durch zahlreiche Studien wurde belegt, dass während und nach körperlicher Aktivität der GSH-Spiegel sinkt. Dies wird darauf zurückgeführt, dass das GSH einerseits gegen freie Radikale genutzt wird, andererseits versucht es die Ascorbinsäure und das α -Tocopherol zu regenerieren. (Finaud et al., 2006; Michailidis et al., 2007; Nikolaidis et al., 2012) Nikolaidis et al. (2012) belegen somit, dass die Messung von GSH im Blut ein verlässlicher Biomarker des Redox-Gleichgewichts ist. (Nikolaidis et al., 2012)

TOTALE ANTIOXIDATIVE KAPAZITÄT (TAC)

Da eine große Anzahl an Antioxidantien im Gewebe und in Flüssigkeiten des Menschen existiert, ist es schwierig jedes Antioxidans gesondert zu bestimmen (Ashton et al., 1998). Abhilfe bietet die Messung der totalen antioxidativen Kapazität (TAC), die die gemeinsame Wirkung aller Antioxidantien aufzeigen soll (Ashton et al., 1998; Prior et al. 1999; Janaszewska & Bartosz, 2002).

Prinzipiell hat jede Methode für sich seine Vorzüge, aber auch seine Limits. Aufgrund dieser Komplexität ist keine einzelne Messung des oxidativen Stresses oder des antioxidativen Status ausreichend. Bereits die Interpretation der Werte eines einzelnen Markers könnte eine Fehlerquelle ergeben. Somit wird empfohlen eine Auswahl von Markern zu treffen, die die TAC, einzelne Antioxidantien und Marker der freien radikal-induzierten Schäden an Lipiden, Proteinen und DNA beinhaltet. Daraus ergibt sich eine verlässliche, jedoch kostspielige, Methode den oxidativen Stress bestimmen zu können. (Prior et al. 1999; Halliwell, 2007)

2.7 OXIDATIVER STRESS UND KÖRPERLICHE BELASTUNG

Körperliche Bewegung verbessert die Gesundheit und die Lebensqualität. Insbesondere wird im Organismus durch regelmäßige Bewegung eine Anpassung an den – durch körperliche Anstrengung induzierten – Stress hervorgerufen, was zur Muskelanpassung, besserer Herzfunktion, niedrigerer Ruhe-Herzfrequenz, verbesserter Glukoseaufnahme und besserer Ausdauerleistungsfähigkeit führt. (Radak & Goto, in Radak, 2000)

Diese Anpassung kann auch in Bezug auf den oxidativen Stress festgestellt werden: Eine einmalige Trainingseinheit führt meist zu oxidativem Schaden (Kruk, 2011; Radak et al., 2013). Zurückzuführen ist dies auf eine erhöhte Sauerstoffaufnahme während der körperlichen Belastung. Hier liegt eine gesteigerte Umsatzrate in der Mitochondrien-Transportkette vor und es kommt somit zu einer erhöhten Produktion freier Radikale, die letztlich (noch) nicht abgefangen werden können (Radak & Goto, in Radak, 2000; Kruk, 2011; Radak et al., 2013; Krüger & Mooren, 2014). Die Hauptquelle für die Bildung von freien Radikalen stellt hier die Skelettmuskulatur dar. Während der Belastung steigt der

Oxidativer Stress

Stoffwechsel signifikant an und somit auch die ROS-Produktion. Dies kann auch in anderen Organen und anderem Gewebe, wie Herz, Lunge oder weißen Blutkörperchen, beobachtet werden. (Powers & Jackson, 2008; Radak et al., 2013) Es kommt zu einer Hochregulierung von Antioxidantien und verschiedenen Mechanismen, die oxidative Schäden an Lipiden, Proteinen und DNA reparieren sollen. Der Schutz und die Widerstandsfähigkeit gegen oxidativen Stress werden somit verbessert. Dadurch wird auch der Alterungsprozess verlangsamt und die Gesundheit durch gesteigerte körperliche Belastbarkeit gefördert. (Radak & Goto, in Radak, 2000; Radak et al., 2013) Die Produktion von ROS durch körperliche Belastung begünstigen weiters, laut Powers et al. (2011), die Signalwege, die zur Anpassung bzw. zur Adaptation der Skelettmuskulatur führen. Sie unterstützen damit die Angiogenese, die Hypertrophie und die mitochondriale Biogenese (Gomes, Silva & Oliveira, 2012).

Im Gegensatz dazu wird durch intensives Training, speziell bei Untrainierten, das Gleichgewicht zwischen der Produktion von freien Radikalen und deren Abbau durch die antioxidativen Abwehrmechanismen stark beeinflusst (Krüger & Mooren, 2014). Bei körperlicher Belastung mit langer Dauer bzw. hoher Intensität und/oder mit mangelndem Training werden vermehrt ROS gebildet. Die Menge der zellulären antioxidativen Abwehr wird somit überschritten, was zum Beispiel eine Muskelschädigung hervorruft (Kruk, 2011). Dadurch können sich wiederum aus leichten Verletzungen chronische und starke Formen von Gewebsverletzungen entwickeln (Smith, 2004; Nikolaidies et al., 2007).

Jegliche Art von körperlicher Aktivität regt die Produktion von freien Radikalen an (s. Abb. 9). In einem gewissen Ausmaß kommt es somit zu Muskelschäden. Die antioxidativen Abwehrsysteme passen sich aber diesen Umständen an. Somit kann regelmäßige körperliche Aktivität als ein milder Stressor wirken, der die physiologischen Funktionen verbessert. (Halliwell & Gutteridge, 2007; Radak et al., 2013)

Oxidativer Stress

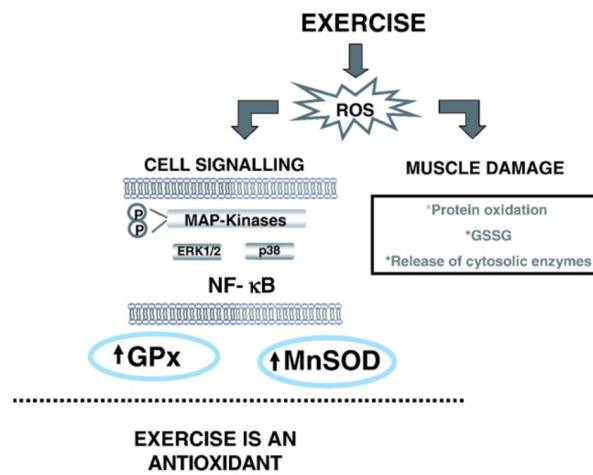


Abbildung 9: Körperliche Aktivität als Antioxidans (Gomez-Cabrera, Domenech & Viña, 2008)

3 IMMUNSYSTEM

Der Organismus wird ständig von Bakterien und Viren angegriffen. Das Immunsystem schützt ihn davor und kann diese körperfremden Elemente erkennen, bekämpfen und zerstören. Das Immunsystem ist somit sehr umfassend und komplex und hat eine breitgefächerte Funktion für den Organismus. Folglich können Störungen des Immunsystems zu Krankheiten und Infektionen führen. Beeinflusst wird seine alltägliche Funktion durch das Alter, das Geschlecht, die Nahrungsgewohnheiten, den medizinischen Status, das Training und den Fitnesszustand. (Gleeson, 2006; Nielsen, 2013)

Das Immunsystem wird in zwei funktionelle Bereiche unterteilt, die synergistisch arbeiten (s. Tab. 3): die angeborene Immunität, die zuerst die angreifenden Krankheitserreger verteidigt, und die erworbene Immunität, die auf jeden Krankheitserreger eine spezifische Reaktion auslösen kann und in der sich das immunologische Gedächtnis befindet (Graf & Rost, 2012; Nielsen, 2013).

Tabelle 3: Angeborene und erworbene Immunität (nach Gleeson, 2006; Mackinnon, 1999, in Nielsen, 2013)

Angeborene Immunität		Erworbene Immunität	
Physische Barrieren	Haut Schleimhäute (Darm und Respirationstrakt)	Humoral	B-Lymphozyten (Plasmazellen) Antikörperbildung
Chemische Barrieren	Komplementsystem Lysozyme pH von Körperflüssigkeiten Akut-Phase-Proteine	Zelluläre Bestandteile	T-Lymphozyten (T-Helfer- & T-Suppressor-Zellen)
Zelluläre Bestandteile	Phagozyten (Makrophagen und Neutrophile) Natürliche Killerzellen		

Sobald ein Krankheitserreger versucht, den Organismus anzugreifen, wird zunächst das angeborene System aktiviert. Es hat drei grundlegende Mechanismen zur Verfügung, um das Eindringen dieser Mikroorganismen einzuschränken: physische bzw. strukturelle Barrieren, chemische Barrieren und zelluläre Bestandteile, die die Mikroorganismen abtöten und/oder infizierte Wirtszellen beseitigen. Schafft es das angeborene Immunsystem nicht, wird aufgrund der resultierenden Infektionen das erworbene Immunsystem aktiviert. Dieses hilft bei der Ausheilung der Infektion. Es reagiert mit einer Zellproliferation der Immunzellen, um entweder direkt die Eindringlinge anzugreifen oder um spezifische Abwehrproteine zu erzeugen. Diese Abwehrproteine sind Antikörper, die

den Krankheitserregern (auch bei künftigen Infektionen) entgegenwirken. Hier tragen die Rezeptoren an der Zelloberfläche der Lymphozyten dazu bei, die Antigene zu erkennen und die Spezifität zu erzeugen. Somit ist das Immunsystem dank des immunologischen Gedächtnisses in der Lage, verstärkt auf eine erneute Infizierung desselben Erregers zu reagieren. (Gleeson, 2006)

3.1 IMMUNABWEHR – ZELLULÄRE BESTANDTEILE (LEUKOZYTEN)

Weiße Blutkörperchen bzw. Leukozyten sind Bestandteile des Blutes und werden vorrangig im Knochenmark gebildet. Als Teil des Immunsystems unterstützen sie den Körper dabei, sich gegen infektiöse Erkrankungen und Fremdkörper zu verteidigen. Normalerweise befinden sich in einem Liter Blut eines erwachsenen Menschen circa 4×10^9 bis 11×10^9 weiße Blutkörperchen. (Roitt, 2001 in Nielsen, 2013) Zu den Hauptgruppen zählen die Granulozyten, die Monozyten und die Lymphozyten (s. Abb. 10) (Gleeson, 2006).

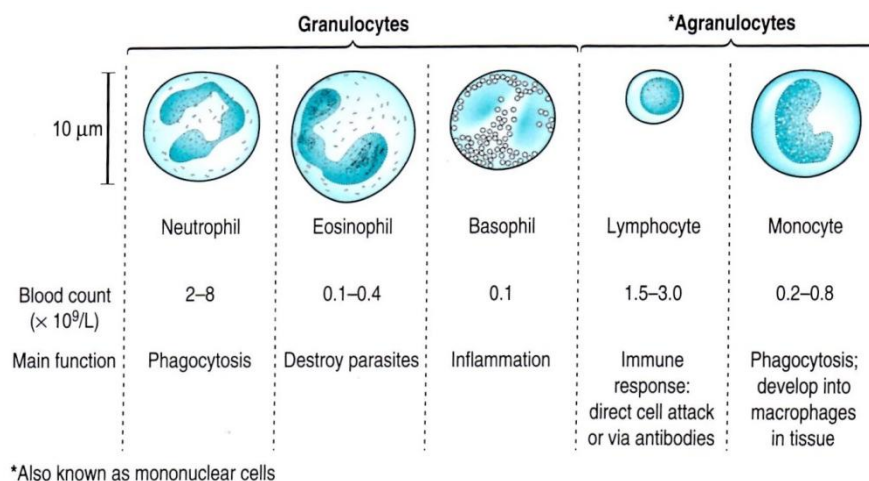


Abbildung 10: Hauptgruppen der Leukozyten und ihre Funktionen (Gleeson, 2006, S. 17)

3.1.1 GRANULOZYTEN

Die Granulozyten machen den größten Anteil, zwischen 65% und 70% der weißen Blutkörperchen, aus (Roitt, 2001 in Nielsen, 2013). Sie setzen sich aus den Neutrophilen (>90%), Eosinophilen (2-5%) und Basophilen (0-2%) zusammen. Die neutrophilen Granulozyten spielen eine große Rolle bei der Phagozytose. Sie schützen den Organismus vor Krankheitserregern. (Gleeson, 2006) Wenn eine bakterielle Infektion aufkommt, eilen die Neutrophile zur infizierten Stelle und neutralisieren die eindringenden Bakterien. In diesem Fall ist die Anzahl der neutrophilen Granulozyten hoch. (Nielsen,

Immunsystem

2013) Die eosinophilen Granulozyten zerstören die Krankheitserreger. Die basophilen Granulozyten haben ihre Hauptfunktion bei Entzündungen (s. Abb. 11). (Gleeson, 2006) Granulozyten sind kurzlebig. Sobald sie vom Knochenmark freigesetzt werden, zirkulieren sie für vier bis acht Stunden im Blutkreislauf. Dann verlassen sie das Blut und treten in das Gewebe ein. Dort können sie drei bis vier Tage überleben. Wenn der Körper Infektionen ausgesetzt ist, leben sie jedoch kürzer. Die Anzahl der Granulozyten im Blut hängt einerseits von der Freisetzung der gereiften Granulozyten des Knochenmarks, andererseits von der Beanspruchung des Körpers der Granulozyten, wie zum Beispiel während einer Infektion, ab. (Nielsen, 2013)

3.1.2 MONOZYTEN

Monozyten machen 3% bis 8% der Leukozyten aus (Roitt, 2001 in Nielsen, 2013). Sie zirkulieren für ein bis drei Tage im Blutkreislauf, bevor sie ins Gewebe gelangen. Sie dienen zur Bekämpfung körperfremder Substanzen (Nielsen, 2013). Wenn sie im Gewebe angelangt sind, differenzieren sie sich zur ausgereiften Form, den Makrophagen. Diese fungieren als Schutz des Gewebes vor Fremdkörpern. (Gleeson, 2006; Nielsen, 2013)

3.1.3 LYMPHOZYTEN

Das erworbene Immunsystem wird während unseres gesamten Lebens entwickelt. Es besteht aus den Lymphozyten, die 20-25% der Leukozyten ausmachen. Zu Beginn sind alle Lymphozyten gleich. Erst nach der Zirkulation im Blut reifen sie entweder zu B-Lymphozyten, im Knochenmark, oder zu T-Lymphozyten, in der Thymusdrüse, heran. Das Knochenmark und die Thymusdrüse werden als die primären lymphatischen Organe bezeichnet. Die Lymphozyten entwickeln dann die sogenannte Immunkompetenz: Jede Zelle bekommt die Fähigkeit, ein spezifisches Antigen zu erkennen und darauf eine bestimmte Immunantwort auszulösen. Dann gelangen die naiven T- und B-Zellen in den Blutstrom und wandern zu den sekundären lymphatischen Organen, wie Milz oder Lymphknoten. Sie können nun Antigene und fremde Proteine erkennen und dagegen spezifisch Antikörper entwickeln. Dadurch werden die eingedrungenen Antigene zerstört (primäre Immunantwort). Wenn ein erneuter Kontakt mit dem gleichen Antigen stattfindet, kann das Immunsystem schneller reagieren (sekundäre Immunantwort), wodurch Infektionen schwächer werden oder gar nicht mehr ausbrechen können (erworbene Immunität). (Emminger, 2005; Gleeson, 2006)

3.1.4 PHAGOZYTOSE

Phagozytose ist jener Prozess, bei dem Bakterien, Viren oder andere Zelltrümmer durch Zellen aufgenommen werden (Gleeson, 2006). Die Zellen, die an der Phagozytose beteiligt sind, werden Phagozyten genannt. Dazu gehören beispielsweise die Neutrophile, die Monozyten, die Makrophagen oder die dendritischen Zellen (DC). (Nielsen, 2013) Neutrophile und Monozyten befinden sich im Blut und können sich bei Infektionen oder Gewebsschädigungen aus dem Kreislauf zum Gewebe bewegen. Makrophage und DC sind in den meisten Geweben, vor allem aber in lymphatischen Geweben, vorhanden. Phagozyten haben die Fähigkeit, Mikroorganismen aufzunehmen und abzubauen. Die aufgenommenen Mikroorganismen werden innerhalb einer Vakuole des Zytoplasmas der Zelle gehalten. Die Granula verschmelzen mit der Vakuole und setzen ihre zytotoxischen Substanzen auf den Fremdkörper frei (Degranulation). Zur selben Zeit beginnt ein respiratorischer bzw. oxidativer Burst, der hoch reaktive Sauerstoffspezies, wie $O_2^{\cdot-}$ und H_2O_2 bildet. Dies unterstützt somit das Abtöten bzw. den Abbau der Bakterien (s. Abb. 11). (Gleeson, 2006)

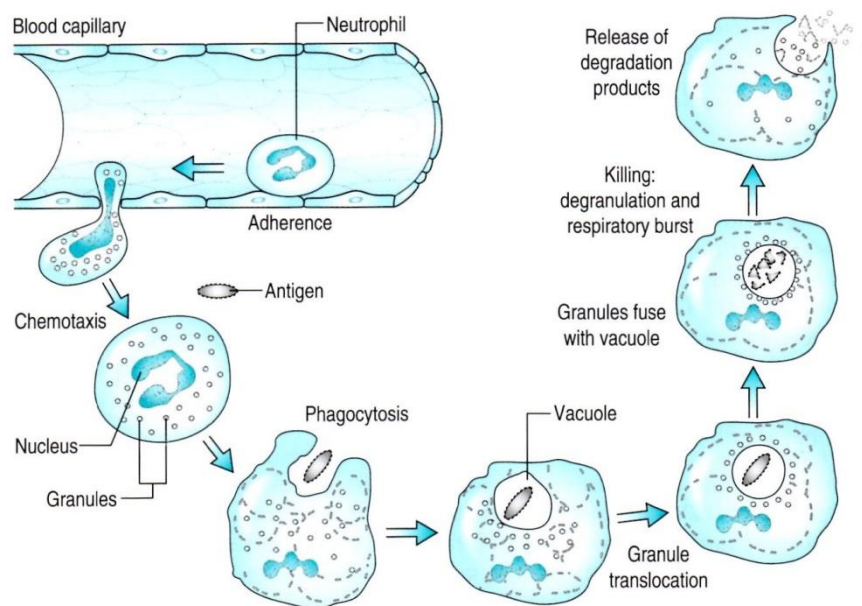


Abbildung 11: Phagozytose: Der Eliminierungsprozess in den Phagozyten. (Gleeson, 2006, S. 22)

3.2 EFFEKTE VON KÖRPERLICHER BELASTUNG AUF DIE IMMUNITÄT

Körperliche Betätigung stellt eine Herausforderung an die Homöostase des Organismus dar. Wie einige andere physiologische Systeme weist das Immunsystem erhebliche Störungen bereits durch eine einzelne körperliche Belastung auf. (Koch, 2010) Eine akute, intensive Trainingseinheit bewirkt eine vorübergehende Unterdrückung der Immunfunktion. Dies ist durch eine Änderung der Anzahl der Leukozyten beobachtbar. Unmittelbar nach der Belastung findet eine Leukozytose, ein Einstieg in der Anzahl der Leukozyten, statt. In Ruhe haften die Leukozyten an den Blutgefäßwänden. Erst während der Belastung, beispielsweise aufgrund der erhöhten Herzpumpleistung, werden diese gelöst und treten in den Blutkreislauf ein. Das Ausmaß ist von der Trainingsintensität und Trainingsdauer abhängig. (Gleeson, 2006) Nach intensiver aerober Belastung (<60 Minuten bei >60% der $VO_2\text{max}$) zeigen die zirkulierenden Leukozyten die charakteristische biphasische Verschiebung: unmittelbar nach der Belastung kommt es zu einem Anstieg in der Gesamtleukozytenzahl. Dies wird vor allem bei den Neutrophilen und Lymphozyten und in geringerer Ausprägung auch bei den Monozyten nachgewiesen. Dieser Anstieg befindet sich 50-100% oberhalb des Wertes vor der Belastung. Innerhalb einer 30-minütigen Regenerationsphase sinkt die Lymphozyten-Anzahl auf 30-50% unterhalb des Wertes vor der Belastung ab. Nach circa zwei bis vier Stunden findet erneut eine Leukozytose, die sogenannte „verzögerte Leukozytose“, statt. Diese ist auf den Anstieg der Neutrophile, die aus dem Knochenmark freigesetzt werden, zurückzuführen (s. Abb. 12). (McCarthy & Dale, 1988; Pedersen & Toft, 2000; Gleeson, 2006; Koch, 2010)

Längere Trainingseinheiten (>60 Minuten bei 55% der $VO_2\text{max}$) hingegen, zeigen keine biphasische Verschiebung. Hier steigt zwar die Leukozytenzahl wesentlich höher an, als bei kurzen Einheiten, jedoch sinkt diese in der Erholungsphase kontinuierlich ab. Dieser hohe Anstieg kommt wiederum durch die Freisetzung der Neutrophile aus dem Knochenmark zustande. (Pedersen & Toft, 2000; Gleeson, 2006)

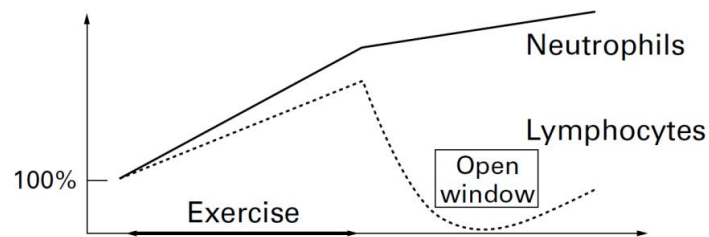


Abbildung 12: Modell neuroendokriner Mechanismen: Immunologische Veränderungen - „Open Window“ - durch körperliche Belastung (Pedersen & Toft, 2000, Fig. 2)

Durch die akuten immunologischen Veränderungen aufgrund starker körperlicher Belastung ist das Immunsystem geschwächt. Dieses Phänomen wird „Open Window“ genannt. Nach anstrengendem Training findet eine kurze sogenannte Immunsuppression, also die Unterdrückung der Immunfunktion, statt. (Koch, 2010; Graf & Rost, 2012) Diese kann circa drei bis 24 Stunden andauern, wobei sie von der Intensität und der Dauer der Belastung abhängt (s. Abb. 13). Beispielsweise können trainingsintensive Perioden, die mindestens sieben Tage dauern, eine chronische Unterdrückung der Immunfunktion hervorrufen. Die Fähigkeit des Immunsystems gegen Bakterien und Viren anzukämpfen ist somit reduziert, und das Risiko Infektionen zu bekommen erhöht. Diese Infektanfälligkeit zeigt sich vor allem bei Infektionen der oberen Atemwege (URTI = upper respiratory tract infection). (Gleeson, 2006; Radak et al. 2008; Nielsen, 2013)

Um dies vorzubeugen, spielt die Trainingsplanung zwischen Training, Aktivität, Wettkampf und Regeneration eine äußerst wichtige Rolle und soll individuell an den Athleten bzw. an die Athletin angepasst werden (Nielsen, 2013).

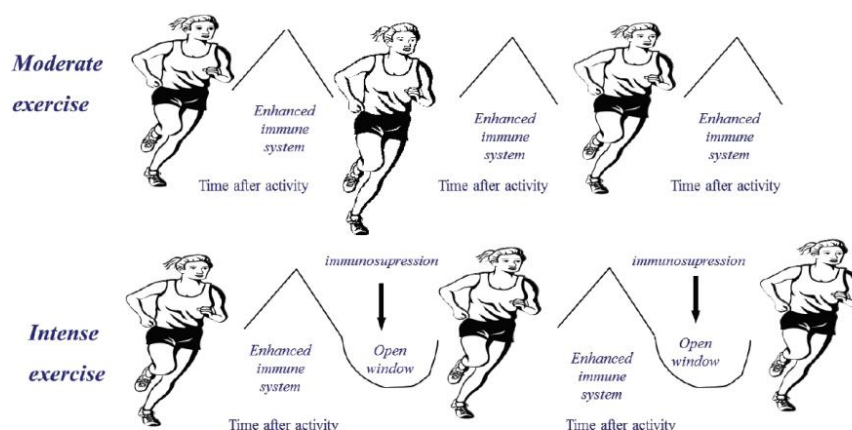


Abbildung 13: Die „Open Window“ Theorie (nach Pedersen & Ullum, 1994 aus Nielsen, 2013)

Immunsystem

Abschließend soll anhand der sogenannte U-Kurve der Zusammenhang zwischen Immunsystem, körperlicher Aktivität und oxidativem Stress gezeigt werden (s. Abb. 14) (Radak et al., 2008). Ein moderates, regelmäßiges Training wirkt sich sowohl beim oxidativen Stress, als auch im Immunsystem positiv auf die physiologischen Funktionen aus. Beim oxidativen Stress wird die Funktion der Reparaturmechanismen gegen oxidative Schäden an Biomolekülen verbessert und das antioxidative System hochreguliert. (Radak & Goto, in Radak, 2000; Radak et al., 2013) Beim Immunsystem wird die immunsuppressive Wirkung verstärkt (Koch, 2010; Graf & Rost, 2012; Nielsen, 2013).

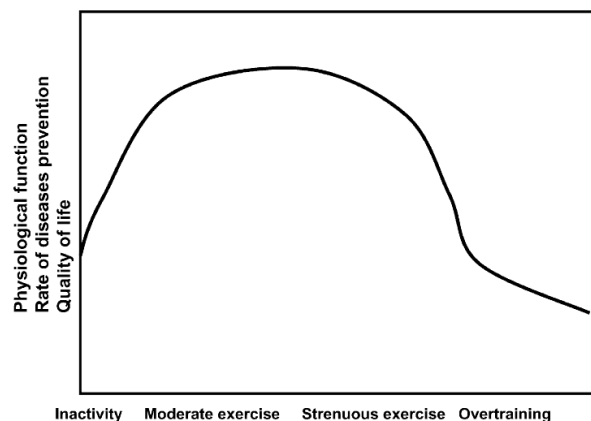


Abbildung 14: Typische Kurve der Hormesis und die Wirkungen von körperlicher Betätigung. Moderate körperliche Belastung steigert die physiologische Funktion in verschiedenen Organen, trägt zur Prävention von Erkrankungen bei und verbessert die Lebensqualität. Große Bewegungsumfänge und anstrengendes Training, sowie Übertraining erhöhen das Risiko von Erkrankungen und reduzieren physiologische Funktionen. (Radak et al., 2008)

Ist jedoch die Trainingsbelastung sehr intensiv, sollen Regeneration bzw. regenerative Maßnahmen, wie Entmüdungsbäder, Entspannungsmaßnahmen, etc. die durch die Belastung hervorgerufene verminderte Immunabwehr reduzieren und auch zu einer schnelleren Wiederherstellung der sportlichen Leistungsfähigkeit führen (Weineck, 2010, S. 266).

4 REGENERATION

4.1 BEDEUTUNG VON REGENERATION

Wie bereits in den Kapiteln 2 und 3 näher erläutert wurde, wird die Verbesserung der physiologischen Funktionen auf das Stoffwechselsystem, Herz-Kreislauf-System, etc., vorrangig bei moderater körperlicher Belastung erreicht. In Abhängigkeit der Trainingsbelastung, des Trainingsausmaßes, etc. kommt es im Anschluss eines Trainings zur Ermüdung bzw. Erschöpfung (Weineck, 2010, S. 955). Für Athleten und Athletinnen ergibt sich aus diesem Zusammenhang die Planung eines optimalen Trainingszyklus, der sich aus Belastungs- und Erholungsphasen zusammensetzen muss. In den Erholungsphasen findet die biologische Anpassung an den Trainingsreiz statt und der Organismus kann sich auf höhere Belastung vorbereiten. Unmittelbar nach der Belastung nimmt die sportliche Leistungsfähigkeit ab, was mit einer Reduzierung des energetischen Potenzials einhergeht. Im Anschluss, das heißt in der Wiederherstellungsphase, kommt es zu einem Anstieg der Leistungsfähigkeit, wobei sich die energetische Leistungsfähigkeit nun über dem Ausgangsniveau befindet. Dies wird häufig als „Superkompensation“ bezeichnet (s. Abb. 15). (Weineck, 2010, S. 52)

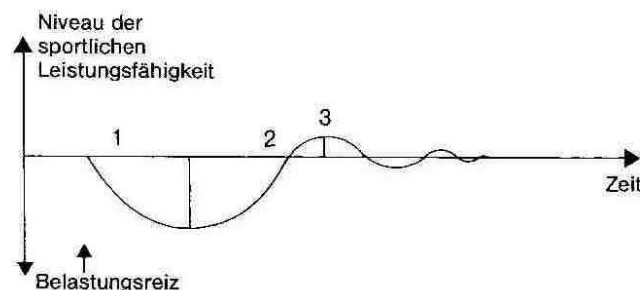


Abbildung 15: Phasen der Veränderung der Leistungsfähigkeit nach einem Belastungsreiz (Weineck, 2010, S. 52, Abb. 13):

- 1= Phase der Abnahme der sportlichen Leistungsfähigkeit
- 2= Phase des Wiederanstieges der sportlichen Leistungsfähigkeit
- 3= Phase der Superkompensation bzw. der erhöhten sportlichen Leistungsfähigkeit

Diesen Zustand kann man einerseits bei Stoffwechselprozessen, also bei der Resynthese energetischer Stoffe erkennen, andererseits bei enzymatischen und strukturellen Proteinen, bei Phospholipiden, bei der Mitochondrienzahl in den Muskelfasern, bei zerebralen Anpassungsvorgängen, sowie bei allen Substanzen, die beeinflusst und im Anschluss resynthetisiert werden (s. Abb. 16). Daraus ergibt sich nun, dass für eine Leistungssteigerung bzw. für die Optimierung des Trainingsprozesses sowohl die richtige

Regeneration

Trainingsbelastung als auch die Regeneration vorausgesetzt werden. (Weineck, 2010, S. 51)

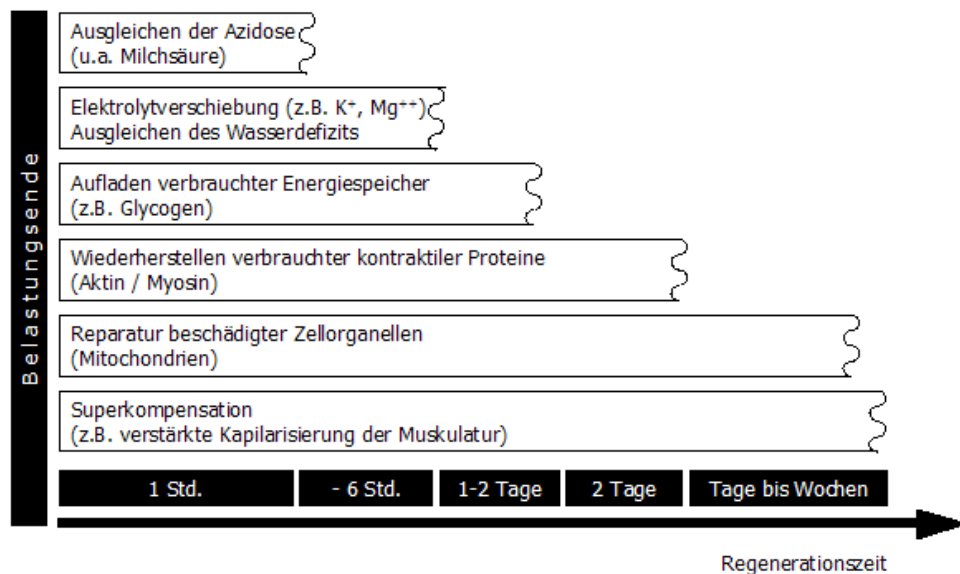


Abbildung 16: Die unterschiedlichen Regenerationszeiten biologischer Teilsysteme (Weineck, 2010, S. 54)

An dem Superkompensationsmodell wird jedoch auch Kritik geübt. Folgende Aspekte werden diskutiert (Viru, 1996; Friedrich & Möller, 1999; Olivier, 2001):

- Der Geltungsbereich dieses Modells wird oftmals überzogen dargestellt. Die beanspruchten Funktionssysteme (Nervensystem, Muskelzellen, etc.) brauchen zur Regeneration unterschiedlich lang. Beispielsweise konnten bei der Konzentration von ATP und KP keine Superkompensationseffekte nachgewiesen werden (Viru, 1996). Gegenwärtige leistungsphysiologische, sportmedizinische und sportwissenschaftliche Erkenntnisse lassen sich mit diesem Modell somit nicht vereinbaren. (Friedrich & Möller, 1999)
- Es findet keine Differenzierung zwischen den Altersgruppen sowie dem Geschlecht statt. Auch das Trainingsniveau wird nicht berücksichtigt. (Friedrich & Möller, 1999)
- Ein linearer Formanstieg der Leistungsfähigkeit ist faktisch nicht möglich. Ausprägungen der Anpassung sind weder kurz-, noch langfristig grenzenlos ausbaubar. (Friedrich & Möller, 1999)

Daher findet man in der Literatur auch andere Rahmenkonzepte (z.B. Belastungs-Beanspruchungs-Konzept oder Modell der Anpassungskapazität), die für Trainingsinterventionen von Relevanz sind. Hier stehen für einen gezielten, langfristigen

Regeneration

Leistungsaufbau jene Trainingsmethoden, die, unter Berücksichtigung von Belastung, Beanspruchung, Regeneration und Adaptation, unterschiedliche Leistungsfaktoren individuell einbeziehen. Die Grundlage für die Entwicklung dieser Modelle hat das Modell der Superkompensation geschaffen. (Froehlich, 2012)

Aus diesen Konzepten heraus kann geschlossen werden, dass von einer intensiven Trainingseinheit zur nächsten entsprechende Zeit für Regeneration eingeplant werden muss. In diesem Zeitraum werden die entleerten Energiespeicher, Proteine, beschädigte Zellorganellen, etc. wieder hergestellt und die Strukturen können sich an die Belastung adaptieren. Dabei spielt das Belastungsprotokoll wie Belastungsart, Belastungsintensität, Belastungsdauer, Belastungsfolge, Belastungshäufigkeit, Trainingszustand, Konstitution des Athleten bzw. der Athletin und Umweltfaktoren eine große Rolle. (Fisher-Wellmann & Bloomer, 2009; Weineck, 2010; Powers et al., 2011; Nedelec et al., 2013)

Der Begriff *„Regeneration bezeichnet Prozesse, die zur Wiederherstellung eines physiologischen Gleichgewichtszustandes führen. Sie stehen immer in Bezug zu einer vorausgehenden Belastung und haben (wieder-)vorsorgende Funktionen.“* (Schurr, 2013, S. 12)

Diese Prozesse finden im Herz-Kreislaufsystem, im Stoffwechsel, in hormonellen und immunologischen Regulationsmechanismen, sowie im zentralen und vegetativen Nervensystem statt, wobei jedes dieser Funktionssysteme eine unterschiedlich lange Regenerationszeit braucht (s. Abb. 16) (Weineck, 2010; Schurr, 2013).

4.1.1 „ÜBERTRAINING“

Jedes Trainingsprogramm zielt auf die optimale individuelle bzw. kollektive Leistungsfähigkeit ab (Finaud et al., 2006). Speziell im Hochleistungs- und Wettkampfsport wird versucht ein passendes Training zur Steigerung der sportlichen Leistungsfähigkeit durchzuführen. Wird jedoch die Erholung vernachlässigt bzw. findet ein Ungleichgewicht zwischen Training und Erholung statt, kann dies zu „Übertraining“ führen. (Weineck, 2010; Reilly & Ekblom, 2005; Pournot et al., 2011; Leeder et al., 2011)

Der Begriff „Übertraining“ wird definiert als *„eine Anpassungsstörung der organischen und vegetativen Regulation“* und *„entsteht durch ein Missverhältnis der Summe aller Belastungen und der aktuellen Erholungsfähigkeit“*. (Tomasits & Haber, 2011, S. 181)

Dies kann sich sowohl physisch als auch psychisch auswirken. Das Ausmaß des Übertrainings ist immer vom Athleten bzw. von der Athletin abhängig, da jeder bzw. jede,

Regeneration

wie Weineck (2010, S. 969) betont, *„eine objektiv gleiche Belastung völlig unterschiedlich verarbeitet [...] Eine Vielzahl unterschiedlicher endogener und exogener Faktoren beeinflusst die individuelle Belastungsverarbeitung maßgeblich“*. Die subjektive Empfindung eines „Übertrainings“ können beispielsweise „schwere Beine“, depressive Stimmung oder Müdigkeit sein. Die Folge ist ein Leistungsabfall trotz Training. Als Indikatoren werden Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität, Hormonbestimmung, Glykogenverarmung, Immunschwäche, Überlastung des Skelettsystems, etc. herangezogen. (Weineck, 2010, S. 969f)

Um „Übertraining“ nun zu vermeiden bzw. zu beheben, werden, laut Weineck (2010, S. 973), Maßnahmen vorgeschlagen, die *„die Balance zwischen Beanspruchung und Erholung optimieren“* sollen. Neben der Reduktion des Trainingsumfanges und der vollwertigen Ernährung, wird auch hier der Schwerpunkt auf Regenerationsmaßnahmen, wie Massage, Bäder, Saunagänge, Licht- und Wetterreize, etc. gelegt. (Weineck, 2010, S. 973; Tomasits & Haber, 2011; Graf & Rost, 2012).

4.2 REGENERATION UND OXIDATIVER STRESS

Wie schon erwähnt, werden freie Radikale bei normalen physiologischen Prozessen gebildet und verursachen Schäden an Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren. Aerobes, anaerobes und gemischtes Training ruft einen erhöhten oxidativen Stress hervor, der mit der reduzierten Effektivität des antioxidativen Systems und der darauffolgenden erhöhten Produktion von freien Radikalen einhergeht. (Finaud et al., 2006) Es finden somit Veränderungen des Redox-Gleichgewichts statt, die je nach Belastungsintensität von Stunden bis Tagen andauern. Diese Veränderungen können in allen Flüssigkeiten, Zellen, Geweben und Organen nachgewiesen werden. (Nikolaidis et al., 2012)

Hier ist es notwendig, biologische Variable zu analysieren. Damit kann einerseits der Grad der Auswirkung der Belastung auf den Organismus aufgezeigt, andererseits „Übertraining“ vorgebeugt bzw. beurteilt werden. (Fry et al., 1991; Petibois et al., 2003; Finaud et al., 2006) Wie bereits näher erläutert, kann ein Set an Markern von freien Radikalen, wie GSH, und von Muskelschäden, wie Kreatinkinase (CK), sowie das Blutbild, zum Beispiel Leukozyten, herangezogen werden. Die Änderungen dieser Parameter in der Zeitkinetik, also in der Regenerationsphase, sind hier von Bedeutung. (Nikolaidis et al., 2007; Bouzid et al., 2014)

Anhand der Studie von Nikolaidis et al. (2012) können diese Veränderungen des Redox-Gleichgewichts auch während der Regeneration gezeigt werden. Sie untersuchten die GSH-Konzentration in den Erythrozyten nach einer Belastung, die in einer Gruppe mit und

Regeneration

in der anderen Gruppe ohne Muskelschäden erfolgte. Hier konnte bei jenen Personen, die keine muskelschädigende Belastung (45 Minuten Laufen bei 70-75% der $VO_2\text{max}$ und dann 90% der $VO_2\text{max}$ bis zur Ausbelastung) ausübten, ein signifikanter Anstieg unmittelbar nach der Belastung, sowie eine Stunde später festgestellt werden. Bei den Personen mit muskelschädigender Belastung hingegen fiel dieser Wert signifikant bis 48 Stunden nach der Belastung ab. Bei beiden Gruppen unterschieden sich die Ergebnisse der späteren Zeitpunkte nicht von den Baseline-Werten (s. Abb. 17). (Nikolaidis et al., 2012)

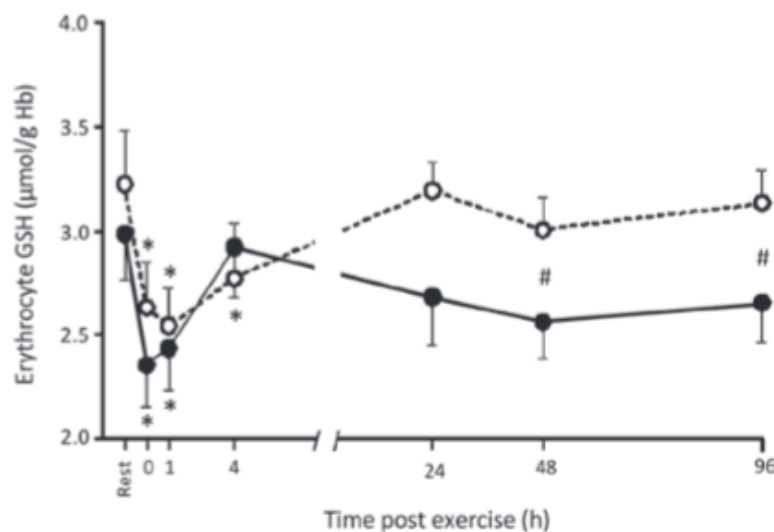


Abbildung 17: GSH-Konzentration in Erythrozyten nach einer nicht-muskelschädigenden Belastung (*offene Kreise*) und einer muskelschädigenden Belastung (*geschlossene Kreise*). (*signifikanter Unterschied zwischen Pre- und Post-Werte der Belastung ($p < 0,05$); #signifikanter Unterschied zwischen den beiden Belastungsprotokollen ($p < 0,05$)); (Nikolaidis et al., 2012; Abb. 3)

Meist korrelieren die Änderungen der oxidativen Stress-Marker während der Erholung mit jenen Veränderungen der Biomarker für Muskelschädigung. Zur Feststellung der Muskelschädigung wird oftmals die Kreatin-Kinase (CK) herangezogen. Eine erhöhte CK weist auf eine stärkere muskuläre Überbeanspruchung hin. (Tomasits & Haber, 2011; Bouzid et al., 2014) Dies bestätigen Bouzid et al. (2014), die junge und ältere Personen miteinander verglichen, sowie die CK-Konzentration vor und nach einer Belastung. Dabei konnten signifikante Unterschiede vor der Belastung und während der Regeneration festgestellt werden (s. Abb. 18). Der CK-Wert stieg in beiden Gruppen nach der Belastung signifikant an. Durch die bereits erwähnte Korrelation zwischen den Markern des oxidativen Stresses und der Muskelschädigung kann somit auch auf einen erhöhten oxidativen Stress geschlossen werden. (Bouzid et al., 2014)

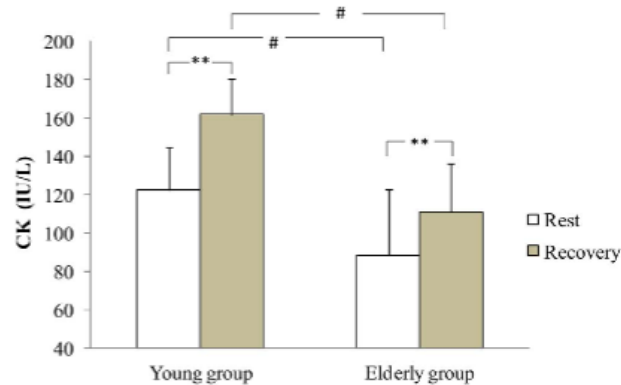


Abbildung 18: CK in Ruhe und bei der Erholung bei jungen und älteren ProbandInnen.
(**signifikanter Unterschied zwischen Ruhe und Erholung ($p < 0,01$); #signifikanter Unterschied zwischen jüngeren und älteren ($p < 0,05$)) (Bouzid et al., 2014; Abb. 6)

Zusammenfassend, wie Nikolaidis et al. (2012) auch betonen, stellt oxidativer Stress eine stetige und wesentliche biologische Reaktion auf eine körperliche Belastung durch die Änderung des Redox-Gleichgewichts dar (Nikolaidis et al., 2012). Durch biochemische, physiologische oder immunologische Marker kann somit auf ein mögliches Ungleichgewicht zwischen Training und Erholung geschlossen werden (Barnett, 2006). Dadurch kann die Regenerationszeit bestimmt bzw. abgeschätzt und „Übertraining“ sogar vermieden werden.

4.3 REGENERATIONSMAßNAHMEN

Eine vollständige Regeneration ist für eine optimale Trainings- und Wettkampfleistung notwendig. Um den Regenerationsprozess zu fördern, werden strukturierte Erholungsmaßnahmen eingesetzt. Diese Maßnahmen sind so gestaltet, dass eine Verlagerung des Schwerpunktes von „Stress des Trainings“ in Richtung „Erholung“ stattfindet. Damit soll es möglich sein, höhere Trainingsbelastungen zu tolerieren bzw. die Wirkung des Trainings zu verstärken. (Barnett, 2006) Diese regenerationsfördernden Maßnahmen müssen sowohl physisch, als auch psychisch gestaltet werden. Dazu gehören beispielweise Ruhe und Entlastung, rascher Ersatz verbrauchter Ressourcen, Massage, Kryotherapie, Sauna, Schlaf, regeneratives Training, das heißt geringe Belastungsintensität und geringer Umfang, Kompressionstrümpfe und Elektrostimulation. Weitere Methoden sind das Eintauchen ins Wasser mit Kontrasttemperatur („contrast temperature water immersion“ (CTWI)), wie von warmen zu heißem Wasser oder ins kalte Wasser, die Einnahme von nicht-steroidale entzündungshemmende Medikamenten und die hyperbare Sauerstofftherapie (HBOT), bei der man in einer Druckkammer reinen Sauerstoff atmet. (Barnett, 2006; Tomasits & Haber, 2008, S. 182; Nedelec et al., 2013)

Regeneration

In diesem Bereich wurden bereits einige Untersuchungen durchgeführt. Jedoch gibt es über die positive Wirkung dieser Regenerationsmaßnahmen noch keine eindeutigen Aussagen. Barnett (2006) fasst in seinem Review zusammen, dass Maßnahmen, wie Massage, HBOT, aktive Erholung, CTWI, Dehnen und Elektrostimulation keinen Vorteil bringen sollen. Nicht-steroidale entzündungshemmende Medikamente haben sogar eine negative Wirkung auf die Gesundheit, auf die Prozesse der Muskelreparatur und auf die Trainingsanpassung. Für die Maßnahmen, wie Kryotherapie und Kompressionsstrümpfe, müssen noch Studien für eindeutige Aussagen durchgeführt werden. Da Regenerationsmaßnahmen jedoch immer breitere Akzeptanz im Sportbereich gewinnen, sind weitere Untersuchungen und klare Beweise der Effektivität von großer Notwendigkeit. (Barnett, 2006)

Auch das NanoViTM-Gerät kann im Regenerationsprozess seine Anwendung finden. Es sorgt, laut Hersteller, für eine schnellere Erholungszeit, sowie für eine gesteigerte Sauerstoffaufnahme der Zellen, eine verbesserte körperliche Leistungsfähigkeit, eine erhöhte Zellenergie bzw. ATP-Produktion, weniger Laktat in den Muskeln, eine niedrigere Ruheherzfrequenz und eine bessere Herzvariabilität (Gutsch, 2013; www.eng3corp.com). Ob ein Effekt auf die Regeneration durch die Technologie der bioidentischen Signaltransduktion mittels NanoViTM-Inhalationsgerät erreicht wird, ist bis dato nicht wissenschaftlich belegt. Dies soll in der vorliegenden Studie untersucht werden.

5 BIOIDENTISCHE SIGNALTRANSDUKTION

Vor langer Zeit hat man erkannt, dass Licht das Wachstum und den Stoffwechsel des Organismus beeinflusst. Dies reicht von einzelligen Mikroorganismen bis zu mehrzelligen Pflanzen und Säugetieren. Auch in der Therapie zeigt sich eine Vielzahl an positiven Wirkungen. Beispielsweise findet die Lichttherapie in verschiedenen Bereichen seine Anwendung: bei der „Photodynamischen Therapie“ (PDT), die auf Krebszellen abzielt und diese abtötet, bei der UVA-Therapie, die bei sklerotischen Hauterkrankungen eingesetzt wird, und bei der Photobiomodulation, die das Zellwachstum und die Wiederherstellung nach Erkrankungen fördert. (Poyton & Ball, 2011)

Durch die Photobiomodulation, die auch als die Technologie der bioidentischen Signaltransduktion bezeichnet wird, werden zahlreiche zelluläre Funktionen durch Licht im Dunkelrot-Nahinfrarotbereich (NIR) des Lichtspektrums (630-1000nm) moduliert. Dieses Licht fördert die Aktivität von Enzym-Photorezeptoren, wie beispielsweise der Cytochrom-C-Oxidase in der mitochondrialen Elektronentransportkette, die die Zellsignalwege initiieren und den Stoffwechsel von Zellen und Gewebe bzw. die Zellproliferation verändern (s. Abb. 19). Mittels Laser mit geringer Leistung oder Leuchtdioden (LED) kann diese Technologie für therapeutische Zwecke eingesetzt werden. Auf zellulärer Ebene wird durch den verbesserten Sauerstoffmetabolismus in den Zellen die Proliferation der Fibroblasten, die Anhaftung und Synthese von Kollagenen und Prokollagenen beeinflusst, die Angiogenese gefördert, und die Bildung von Makrophagen und Lymphozyten angeregt. Bei therapeutischen Behandlungen wie beispielsweise bei der Wundheilung, der Wiederherstellung nach einem Schlaganfall oder der Behandlung gegen die Degeneration des Sehnervs wurden bereits positive Wirkungen festgestellt. Dies wird darauf zurückgeführt, dass das Licht der NIR-LED den oxidativen Stoffwechsel der Mitochondrien *in vitro* fördert und die Zell- und Wundheilung *in vivo* beschleunigt. (Desmet et al., 2006; Poyton & Ball, 2011; Gupta et al., 2013)

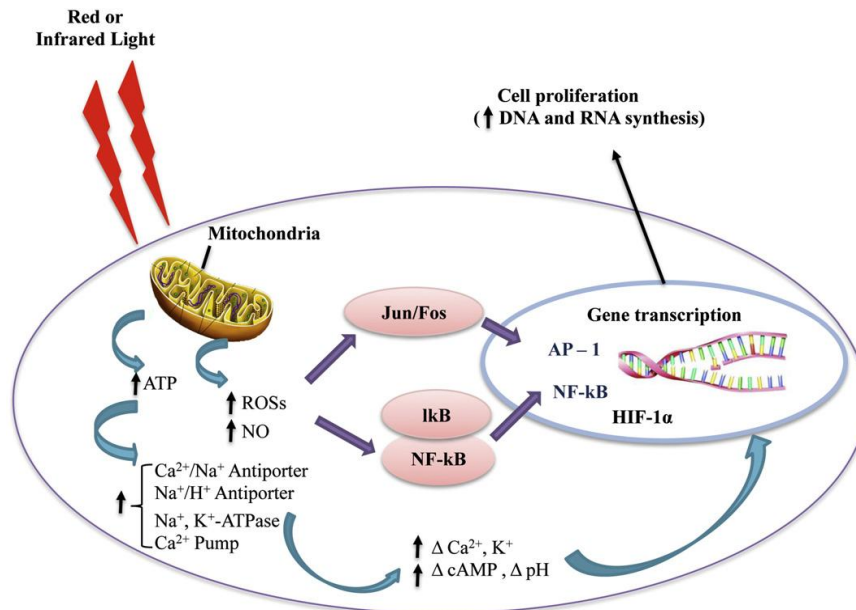


Abbildung 19: Möglicher Mechanismus der Lichttherapie, wodurch Prozesse der Reparatur und der Wiederherstellung eingeleitet werden. Das Licht wird zu Beginn durch mitochondriale Chromophore (Cytochrom-C-Oxidase) absorbiert. Dadurch wird eine gesteigerte Produktion von ATP, ROS und NO hervorgerufen. Dies wiederum bewirkt Veränderungen im Redox-Gleichgewicht, Ca²⁺, K⁺, cAMP und pH-Wert und induziert einige Transkriptionsfaktoren (Ref-1, AP-1, NFκB, HIF-1α). Die Photosignaltransduktion und die Verstärkungskette durch Licht führen zu einer Erhöhung der Zellproliferation (Anregung der DNA- und RNA-Synthese), Zellbeweglichkeit, Produktion von Wachstumsfaktoren und Anreicherung der extrazellulären Matrix. (Gupta et al., 2013)

Eine weitere Umsetzung dieser Technologie findet durch Inhalationsgeräte statt. In diesen Inhalationsgeräten gibt es die sogenannten Aktivierungskammern, in denen die Photobiomodulation erfolgt. Hier befinden sich die LED, die mit einer bestimmten Wellenlänge die Katalysatoren anregen. Der nicht-reaktionsfreudige Luftsauerstoff, auch Triplett-Sauerstoffmolekül (³O₂) genannt, gelangt in diese Einheiten und wird durch das Licht in den Singulett-Sauerstoff (¹O₂) umgewandelt (Rauhala, 2006). ¹O₂ ist sehr reaktionsfreudig und kurzlebig, jedoch kein Radikal, da es kein ungepaartes Elektron enthält. Es wirkt mit anderen Molekülen grundsätzlich auf zwei Arten: Es kann mit ihnen chemisch reagieren und/oder es überträgt die Anregungsenergie auf diese Moleküle und geht in den Grundzustand zurück, wobei die anderen Moleküle einen reaktionsfreudigen Zustand erlangen. (Halliwell & Gutteridge, 2007) Bei dieser Technologie fällt der angeregte Sauerstoff nach wenigen Millisekunden wieder in den Grundzustand zurück. Dabei wird Energie freigesetzt. Diese freiwerdende Energie gelangt in Form von Photonen über Wassermoleküle der Luftfeuchtigkeit in den Blutkreislauf. Dadurch wird die Aktivität von Makromolekülen, wie Proteine oder DNA, beeinflusst. Der aktivierte Sauerstoff soll somit die Sauerstoffverwertung im Organismus optimieren. (Rauhala, 2006; Pirogova et al., 2008; Gutsch, 2013; www.valkion.se, letzter Zugriff am 02.09.2014)

Bioidentische Signaltransduktion

Weltweit gibt es bereits einige Inhalationsgeräte mit dieser Funktionsweise. Dazu gehören beispielsweise „Valkion^R“, „Airnergy“, „ActiveAir“ oder „NanoViTM“. Die Signalzufuhr erfolgt über Feuchtigkeit, die durch Schleimhäute des Nasen-Mund-Bereichs inhaliert wird. (www.valkion.se, letzter Zugriff am 02.09.2014; www.airnergy.com, letzter Zugriff am 02.09.2014; www.active-air.com, letzter Zugriff am 02.09.2014)

6 METHODE

6.1 STUDIENTEILNEHMER

6.1.1 ANZAHL DER STUDIENTEILNEHMER

Oxidativer Stress kann üblicher Weise nicht an einem einzelnen Parameter festgemacht werden. Daher ist es schwierig einen primären Endpunkt für die Studie anzugeben.

Da das GSH/GSSG Verhältnis sowohl eine Änderung in der antioxidativen Kapazität als auch einen Anstieg im oxidativen Stress reflektiert und nach intensiven Belastungen konsistent in zahlreichen Studien ansteigt, scheint nun dieser Parameter als robust genug, um als primäre Endgröße zu dienen. Eine Studie mit einem ähnlichen Belastungsprotokoll an 11 männlichen Probanden hat gezeigt, dass die GSH/GSSG Ratio durch die Belastung von 10.5 ± 1.5 auf 3.0 ± 1.0 sinkt ($-74 \pm 9\%$) (Michailidis et al., 2007). Die Fallzahlberechnung erfolgte unter der Annahme einer Effektgröße von 0.25, einer Power von 80% und einem α von 0.05 mit Hilfe der Software „G*Power“ (Faul, Erdfelder, Lang & Buchner, 2007) unter Verwendung einer ANOVA mit Messwertwiederholung. Die Anzahl der erforderlichen Studienteilnehmer wurde mit 22 Personen berechnet.

6.1.2 REKRUTIERUNG

Zur Rekrutierung der Teilnehmer wurden am Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport (ZSU) sowie am Österreichischen Institut für Sportmedizin (ÖISM) Informationsplakate angebracht. Interessierte Teilnehmer hatten die Möglichkeit, ihr Interesse per Mail bzw. Telefon bekannt zu geben. Erste Fragen konnten somit gleich geklärt werden. Danach wurden Einzeltermine mit den Probanden fixiert, an denen weitere Fragen abgeklärt werden konnten und die Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgte.

6.1.3 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

Zum Einschluss in die Studie mussten alle Einschlusskriterien erfüllt werden:

- Männer im Alter zwischen 18 und 35 Jahren
- Hobbysportler mit Erfahrung im Laufsport (regelmäßiges Lauftraining ($>1,5\text{h/Woche}$) seit mehr als einem Jahr)
- $\text{BMI} \geq 20$ und $< 25 \text{ kg/m}^2$
- Nichtraucher

Methode

- Guter allgemeiner Gesundheitszustand

Zur Nicht-Aufnahme in die bzw. zum Ausschluss aus der Studie reichte die Erfüllung eines der folgenden Ausschlusskriterien:

- Ehemalige oder derzeitige Ausübung einer Sportart auf Leistungssportniveau
- Verletzung vor oder während der Studie, die eine Teilnahme am Training aus gesundheitlicher Sicht nicht erlauben
- Schwerwiegende kardiovaskuläre, pulmonale oder metabolische Erkrankung(en), die die Teilnahme an den Tests mit Ausbelastung bzw. ein intensives Ausdauertraining nicht erlauben.
- Akute Infektionen ab 1 Woche vor dem Basistest und während der gesamten Studiendauer
- Bekannte Autoimmunkrankheit oder Erkrankung des Immunsystems betreffend
- Einnahme von Medikamenten, die das Immunsystem modulieren, z.B. nichtsteroidale Antirheumatika, Corticosteroide, Cyclosporine, ...
- Einnahme von Supplementen (Vitamine, Antioxidantien, uä.) innerhalb der letzten zwei Wochen vor der Intervention

6.2 STUDIENDESIGN

Die Studie wurde als randomisierte, doppelt blinde, kontrollierte Interventionsstudie im Cross-Over-Design geplant.

6.2.1 ZEITLICHER ABLAUF

Nach Einwilligung zur Teilnahme besuchten die Studienteilnehmer das leistungsphysiologische Labor am Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport insgesamt drei Mal: Voruntersuchung (d1), Testtag 1 (d2), Testtag 2 (d3). Zwischen Voruntersuchung (d1) und Testtag 1 (d2) lag etwa eine Woche. Zwischen den beiden Testtagen (d2 und d3) wurde eine etwa 7- bis 14-tägige Wash-Out Phase eingehalten (s. Abb. 20).

Methode

	d1		d2		d3
Sporttauglichkeitsuntersuchung (Anamnese, Ruhe-EKG, Grobklinische Untersuchung, Anthropometrie)					
Spiroergometrie (Laufband)					
Ernährungsprotokoll					
Trainingsprotokoll					
Ausbelastungstest (Laufband)					
Blutabnahmen (5x)					
Verzicht auf Supplemente					

Abbildung 20: Zeitlicher Ablauf

Um bei der Studie teilnehmen zu können, wurden die Ein- und Ausschlusskriterien überprüft, eine sportmedizinische Untersuchung durchgeführt und die Einwilligungserklärung zur Teilnahme an der Studie unterschrieben (s. Kapitel 6.1.3). Dann erfolgten die anthropometrische Untersuchung (s. Kapitel 6.2.2.3) und die Spiroergometrie am Laufband (s. Kapitel 6.2.2.2) zur Feststellung der maximalen Sauerstoffaufnahme, um die weiteren Testungen individuell durchführen zu können.

6.2.2 VORUNTERSUCHUNG

6.2.2.1 SPORTTAUGLICHKEITSUNTERSUCHUNG

Vor Aufnahme in die Studie erfolgte eine standardisierte sportmedizinische Gesundheitsuntersuchung, um medizinische Kontraindikationen für die Teilnahme an einem Test mit maximaler Ausbelastung bzw. einem intensiven Ausdauertrainingsprogramm festzustellen. Im Rahmen dieser Untersuchung wurde auch festgestellt, ob alle Einschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie erfüllt wurden bzw. ob das Vorliegen eines Ausschlussgrundes gegen die Teilnahme an der Studie gesprochen hat. Die Erhebung der körperlichen Aktivität bzw. die sportärztliche Anamnese erfolgte mittels Fragebogen (s. Anhang).

6.2.2.2 SPIROERGOMETRIE

Bei diesem Test zur Ermittlung der aeroben Kapazität wurde auf einem Laufband (*HP Cosmos, Quasar*) eine Spiroergometrie (*Viasys health care, Master Screen CPX*) nach einem standardisierten Rampenprotokoll (Kaminsky & Whaley, 1998) durchgeführt. Die Startbelastung begann bei 8 km/h und 1% Steigung für 5 Minuten. Im Anschluss erfolgte die Erhöhung der Belastung alle 30 Sekunden durch eine Steigerung der Geschwindigkeit um 0,5 km/h ohne Steigerung des Bandwinkels bis zum freiwilligen Abbruch durch den Probanden oder den betreuenden Arzt. Für die Auswertung wurden Herzfrequenz und die relative Sauerstoffaufnahme (bezogen auf das Körpergewicht) in ml/kg/min

Methode

herangezogen. Unmittelbar nach der Ausbelastung wurde das subjektive Belastungsempfinden nach der Borg-Skala (Kapitel 6.2.9) erfragt.

Die relative Sauerstoffaufnahme (rel VO₂) der Spiroergometrie wurde für die spätere Festlegung der Geschwindigkeit für den All-Out-Test herangezogen. Dazu wurde die rel VO₂ und die jeweilige Geschwindigkeit in Verhältnis gesetzt und die Regressionsgerade bestimmt. Mittels Regressionsgleichung ($y=kx+d$) konnte nun die Grundgeschwindigkeit bei 75% der rel VO₂max berechnet werden, mit der der Proband 45 Minuten beim All-Out-Test laufen musste (s. Abb. 21). Bis zur Ausbelastung wurde die Geschwindigkeit danach um jeweils 5% der vorherigen Geschwindigkeit für 2 Minuten sukzessive gesteigert. Jedes Belastungsprotokoll konnte somit individuell angefertigt werden. (s. Abb. 21)

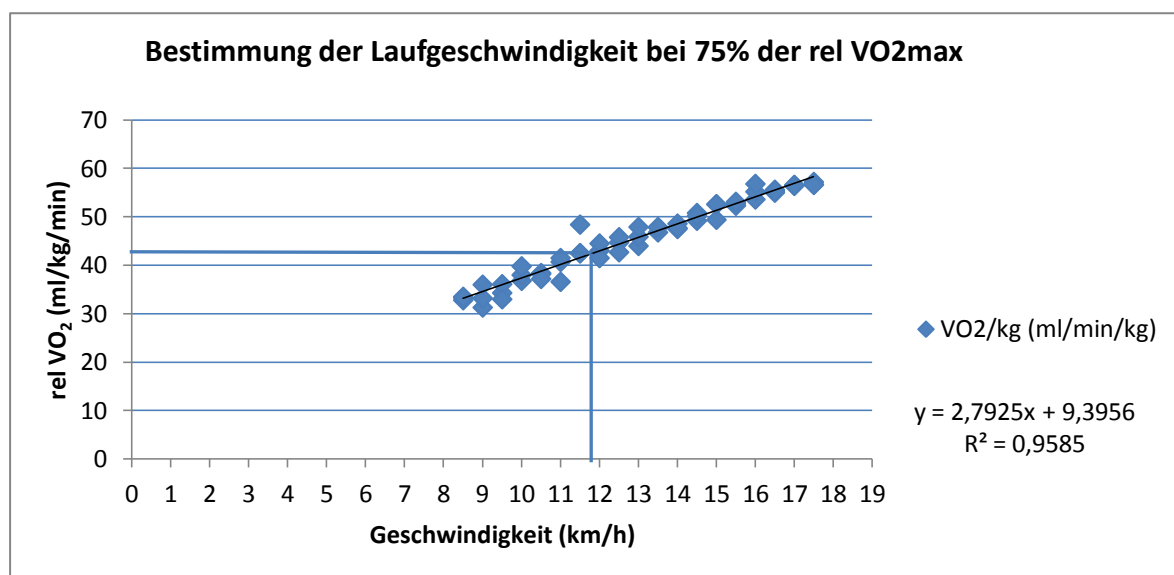


Abbildung 21: Darstellung des Verlaufs der relativen Sauerstoffaufnahme in Zusammenhang mit der Laufgeschwindigkeit. (hier: rel VO₂max = 56,9 ml/kg/min → 75% der VO₂max ergibt 42,7 ml/kg/min → Geschwindigkeit beträgt hier 11,9 km/h)

6.2.2.3 ANTHROPOMETRIE

Gewicht (kg), Größe (cm), BMI (kg/m²) und Körperzusammensetzung, wie Körperfett, Körperzellmasse (BCM, Body Cell Mass) und fettfreie Masse (FFM, Fat Free Mass) anhand der BIA (*Bioelektrische Impedanz Analyse, Nutribox, Data Input, Deutschland*) wurden mittels standardisierter Messverfahren am Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport erhoben.

6.2.3 RANDOMISIERUNG UND VERBLINDUNG

Im Rahmen dieser Studie sollte jeder Proband vor und nach jeder der beiden intensiven Laufeinheiten für 15 Minuten humidifizierte Luft inhalieren. Dabei wurden beim Verum-Gerät die Wassermoleküle mittels Photodioden energetisch aktiviert. Diese Dioden waren im Placebo-Gerät nicht aktiv.

Die Reihenfolge der Intervention erfolgte randomisiert: Gruppe A: zuerst Gerät A (Placebo), dann Gerät B (Verum); Gruppe B: zuerst Gerät B (Verum), dann Gerät A (Placebo)

Dazu wurden Karten vorbereitet (11 Kärtchen mit dem Buchstaben „A“ und 11 Kärtchen mit dem Buchstaben „B“) und diese in eine Box gesteckt. Nach der Voruntersuchung zog jeder Proband ein Kärtchen aus dieser Box. Weder der Proband noch die Untersuchungsleiter wussten, welches der beiden Geräte das Verum-Gerät darstellte.

6.2.4 INTERVENTION

Mindestens 7 aber maximal 14 Tage nach der Voruntersuchung kamen alle Probanden vormittags zwischen 7:00 und 9:30 Uhr zum ersten Ausbelastungstest, der zweite Ausbelastungstest erfolgte zur selben Uhrzeit etwa 7 bis 14 Tage später.

Zuvor wurden sie gebeten, 72 Stunden lang auf ein Krafttraining zu verzichten und eine Belastung über 75% der VO_2max von einer Dauer über einer Stunde zu vermeiden. Die letzten 24 Stunden vor der Testung durfte überhaupt keine sportliche Aktivität ausgeübt werden. Im gesamten Zeitraum der Testungen wurde ein Trainingstagebuch geführt (s. Anhang). Die Sportart, der Trainingsbereich (leicht, mittel, intensiv) und die jeweilige Dauer sollten dabei dokumentiert werden.

Weiters wurden die Probanden ersucht, am Vortag keinen Alkohol und Getränke mit Koffein zu sich zu nehmen und zusätzlich die eingenommenen Nahrungsmittel 48 Stunden vor dem Test mittels Protokoll (s. Anhang) zu dokumentieren und in etwa dieselben Nahrungsmittel beim 2. All-Out Test zu sich zu nehmen. Für den Tag der Testung konnten die Probanden aus zwei standardisierten Frühstücksangeboten (mit 650 kcal; etwa 20% des Tageskalorienbedarfs) mit identen Makronährstoffgehalten (60% Kohlenhydrate, 15% Eiweiß und 25% Fett) wählen, welches zu Hause zwei Stunden vor dem Beginn des jeweiligen All-Out Tests eingenommen werden sollte. (s. Abb. 22)

Methode

	Menge [g]	KH [g]	EW [g]	Fett [g]	kcal
2 Kornspitz (Billa Ja!Natürlich)	140	53,76	13,86	2,38	292,60
Butter (keine Margarine)	15	0,11	0,11	12,30	111,60
Marmelade	25	13,85	0,13	0,03	57,00
Berger Putenschinken	50	0,50	9,50	1,00	50,00
Innocent Smoothie	250	30,75	1,50	0,25	135,00
Menge [g]		405,8	102,9	148,4	646,20
Menge [Energie%]		61,8	15,7	22,6	
Ziel [Energie%]		60,0	15,0	25,0	

	Menge [g]	KH [g]	EW [g]	Fett [g]	kcal
2 Kornspitz (Billa Ja!Natürlich)	140	53,76	13,86	2,38	292,60
Butter (keine Margarine)	15	0,11	0,11	12,30	111,60
Marmelade	25	13,85	0,13	0,03	57,00
Ja Nat. Cottage Cheese (20%)	50	1,50	6,25	2,25	51,50
Innocent Smoothie	250	30,75	1,50	0,25	135,00
Menge [g]		409,9	89,5	160,0	647,70
Menge [Energie%]		62,2	13,6	24,3	
Ziel [Energie%]		60,0	15,0	25,0	

Abbildung 22: Standardisiertes Frühstück (*oben*: Vollkost, *unten*: vegetarisch); KH (Kohlenhydrate); EW (Eiweiß)

Der Ablauf der beiden Testungen ist in Abbildung 23 dargestellt und umfasst die Punkte All-Out Test, Inhalation und Blutabnahmen. Die Details dazu sind in den nächsten Abschnitten dargestellt.

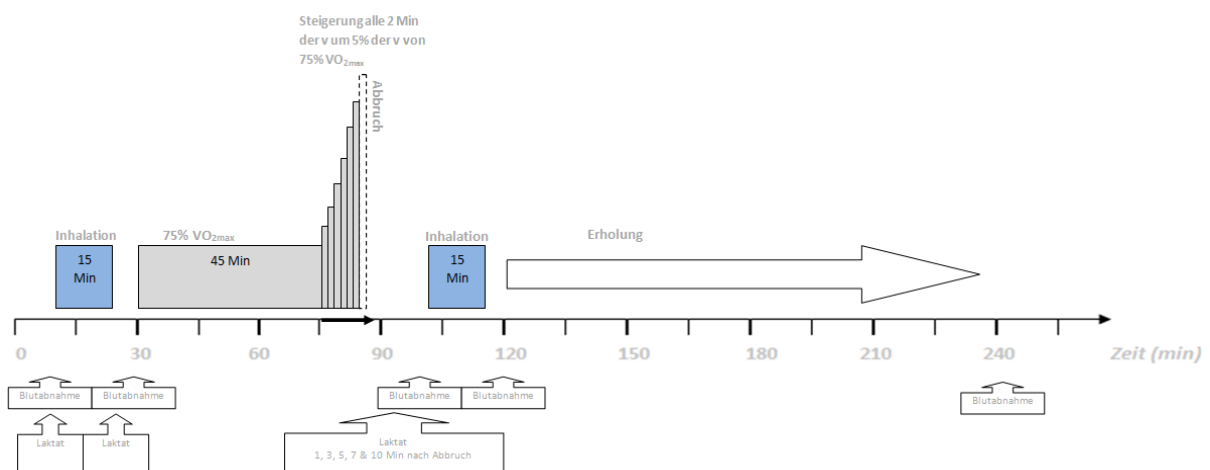


Abbildung 23: Zeitlicher Ablauf des All-Out Tests

Methode

6.2.4.1 ALL-OUT TEST AM LAUFBAND

Der Ausbelastungstest (All-Out Test) ist ein gängiges Modell zur Untersuchung von akuten Trainingseffekten (Kalafati et al., 2009). Am Laufband (*HP Cosmos, Quasar*) wurde mit einer fünf-minütigen Aufwärmphase mit einer Geschwindigkeit von 8 km/h begonnen. Dann lief der Proband für 45 Minuten mit der zuvor berechneten Grundgeschwindigkeit, die etwa 75% der VO_{2max} entsprach wie im Kapitel 6.2.2.2 näher erläutert wurde. Eine Geschwindigkeitssteigerung erfolgte im Anschluss alle zwei Minuten um 5% der vorherigen Geschwindigkeit. Die Dauer bis zum Abbruch wurde notiert. Während des Tests wurde die Herzfrequenz dokumentiert (*Suunto t6c, Suunto Oy, Vantaa, Finnland*). Im Abstand von 15 Minuten wurden die Atemgase mittels Mundstück (*Viasys health care, Master Screen CPX*) eine Minute lang beurteilt, um die korrekte Intensität sicher zu stellen. Während der Belastung durfte Wasser getrunken werden. Unmittelbar nach der Ausbelastung wurde das subjektive Belastungsempfinden nach der Borg-Skala (Kapitel 6.2.9) erfragt.

6.2.4.2 NANOVI™

Die Wirkungsweise des NanoVi™-Gerätes (s. Abb. 24) beruht auf der Annahme, dass durch eine Anregung von Wassermolekülen mittels Photodioden die Existenz von Sauerstoffradikalen imitiert wird, wodurch der Körper angeregt wird, die Abwehrmechanismen gegenüber oxidativem Stress hochzufahren. Diese Technologie wird bioidentische Signaltransduktion genannt (siehe Kapitel 5). Dadurch sollen in Situationen von erhöhter oxidativer Belastung, wie etwa bei sportlicher Betätigung, ein höherer Schutz bzw. eine schnellere Regeneration gegeben sein.

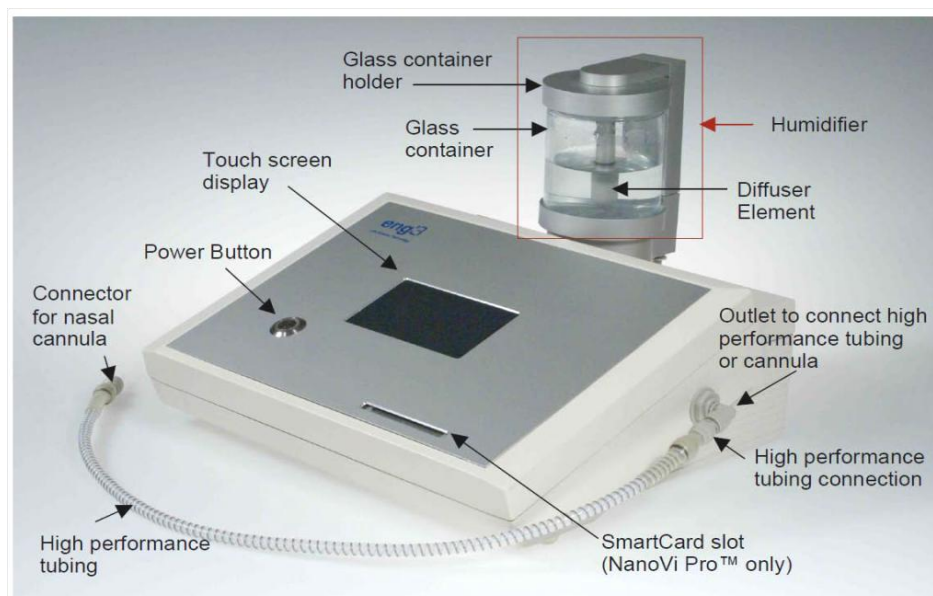


Abbildung 24: NanoVi™-Gerät (Eng3 Corporation, 2010)

Methode

Der Prozess im NanoVi™ kann in vier Schritte unterteilt werden:

- 1) Produktion eines konstanten Luftstroms (Umgebungsluft)
- 2) Anreicherung des Luftstroms mit Wassermolekülen
- 3) Anregung der Wassermoleküle mittels Photodioden
- 4) Inhalation des Luftstroms über eine Nasenkanüle

Die technischen Spezifikationen des Verum-Gerätes sind in Abbildung 25 aufgelistet. Hier wird zwischen NanoVi™ und NanoVi™ Pro, das eher für den professionellen Gebrauch empfohlen ist und im Rahmen dieser Studie eingesetzt wurde, unterschieden. (Eng3 Corporation, 2010)

Activated Air Devices	NanoVi™	NanoVi™ Pro
Item Number:	4600-00	4700-00
Minimum Recommended Use*:	40 Minutes, 3 x per week	20 Minutes, 3 x per week
Excitation Mode:	constant	constant and pulse
Smart Card System:	no	included
Operation Mode:		
Timer Mode without User Smart Card:	yes	yes
Timer Mode with User Smart Card:	no	yes
Eternity Modus:	no	yes
Session Mode with User Smart Card:	no	yes
Remote Controlled Illumination of Water:	16 Colors & off	16 Colors & off
	Solid, Flash, Strobe, Fade, Smooth	Solid, Flash, Strobe, Fade, Smooth
Dimensions (w x l x h):	12" x 11" x 9"	12" x 11" x 9"
Weight:	8 lb 8 oz (3.9 kg)	8 lb 8 oz (3.9 kg)
Amount of Distilled Water for Operation:	8.5 fl oz (250 ml)	8.5 fl oz (250 ml)
Display:	Touch Screen LCD, color	Touch Screen LCD, color
Volume Adjustments:	1 factory setting	8
Brightness Adjustment:	1 factory setting	8
Air Flow:	0.141 CFM (4.0 Liters per Minute)	0.141 CFM (4.0 Liters per Minute)
Check Valve:	no	yes
Drying Cycle:	no	yes
Automatic Tests:	Self Test	Self Test
Service Check:	Not Required	Not Required
Warranty:	2 Year	2 Year

**Minimum Recommended Time for Prevention Purposes*

NanoVi™ devices are registered with the U.S. Food and Drug Administration (FDA).

FDA DEVICE LISTING NUMBER: D097353

FDA Facility Registration number: 3004152208

Abbildung 25: Technische Spezifikationen (Eng3 Corporation, 2010)

Im Rahmen dieser Studie wurden zwei Geräte verwendet, wobei das Verum-Gerät wie vom Hersteller angegeben funktionierte. Beim Placebo-Gerät wurden die Photodioden inaktiviert, wodurch Schritt 3 – Anregung der Wassermoleküle mittels Photodioden – entfällt (s. Kapitel 5). Für den Probanden und Versuchsleiter waren die Geräte nicht zu unterscheiden.

Bei jeder Testung wurde vor bzw. nach einem All-Out-Test für jeweils 15 Minuten inhaliert. Somit konnte ein möglicher Effekt einerseits auf die Leistungsfähigkeit, wie Laktat und Herzfrequenz, andererseits auf oxidative Stressparameter und Blutparameter beobachtet werden.

Methode

Wie unter Punkt 6.2.3 angeführt, wurde die Reihenfolge der Intervention randomisiert zugeteilt (Gruppe A: zuerst Placebo, dann Kontrolle; Gruppe B: zuerst Kontrolle, dann Placebo). Zwischen den beiden Interventionen lag eine Wash-Out Phase von 7 bis 14 Tagen vor.

6.2.5 BLUTABNAHMEN

An den einzelnen Testzeitpunkten (vor (t(-30)) und nach der ersten Inhalation (t0), direkt nach der Belastung (t55), unmittelbar nach der zweiten Inhalation (t85) und 2h nach der zweiten Inhalation (t205) wurden jeweils 20 ml Blut abgenommen (75ml innerhalb von 240min) und für die entsprechenden Untersuchungen aufgearbeitet. Insgesamt wurden für jeden Probanden in der gesamten Testzeit (zwei Test-Tage) 10 Blutabnahmen mit einem Gesamtvolumen von 200ml festgesetzt.

Dabei wurden CPT- (*Becton Dickinson Austria GmbH*), Serum- und EDTA-Röhrchen (*Vacurette, Greiner Bio-One*) verwendet, um Leukozyten, Erythrozyten und Plasma gewinnen zu können. Je nach Untersuchungsparameter musste die Weiterverarbeitung sofort erfolgen (z.B.: Blutbild) oder konnte nach Gewinnung des Plasmas/Serums bis zur weiteren Analyse auf -80°C gelagert werden.

Die Blutaufbereitung fand am Institut für Sportwissenschaften in der Arbeitsgruppe „Molekulare Leistungsphysiologie“ statt. Bei der Blutabnahme wurden drei verschiedene Röhrchen (4ml EDTA, 8ml CPT, 8ml Serum) verwendet, die voll aufgefüllt wurden, sprich mit einer Menge von 20ml pro Blutabnahme. Aus dem EDTA-Röhrchen wurden das GSH/GSSG Verhältnis, auf das im Folgenden noch genauer eingegangen wird, und das Blutbild bestimmt. Für weitere Untersuchungen wurden die Heparin-CPT-Röhrchen – zur Analyse der Genexpression – und die Serum-Röhrchen – zur Analyse der Zytokine – nach der Verarbeitung tiefgefroren aufbewahrt.

6.2.6 GSH/GSSG

Die Messung des reduzierten GSHs, des oxidierten GSSGs erfolgte mit Hilfe des BIOXYTECH GSH/GSSG-412 Kits der Firma OxisResearch. Das Testprinzip laut Manual basiert auf der kolorimetrischen Bestimmung des reduzierten und oxidierten Glutathions.

Im Folgenden werden sowohl das Prozedere direkt nach der Blutabnahme, als auch die notwendigen Schritte zur Analyse näher erläutert.

Methode

PROZEDERE

Für die Bestimmung des GSH und GSSG wird das Vollblut in ein EDTA-Röhrchen gesammelt.

Ad GSSG Probe:

- Vorlage von 5µl Scavenger (M2VP) in ein Mikrozentrifugenröhrchen (2ml)
- Hinzufügen von 50µl des Vollblutes
- Vorsichtig vermischen (kurz vortexen)
- Einfrieren bei -30°C und die Probe am selben Tag auf -80°C transferieren

Ad GSH Probe:

- Hinzufügen von 50µl des Vollblutes in ein Mikrozentrifugenröhrchen (2ml).
- Einfrieren bei -30°C und die Probe am selben Tag auf -80°C transferieren

BESTIMMUNG

Die Analysezeit beträgt circa drei Stunden. Hinzu kommen das Pipettieren und die Waschzeit. Für die Analyse werden Dupletts angefertigt.

Zur Vorbereitung wurden Eppis mit 2 ml benötigt, jeweils 1 Stück pro Standard und 2 Stück pro Probe.

Im Weiteren wurde durch Verdünnung des 2x Analysepuffers der 1x Analysepuffer vorbereitet, der in einem berechneten Verhältnis mit Wasser vermischt wurde (22,5 ml 2x Analysepuffer plus 22,5 ml Wasser).

Für das MPA-Reagenz (Metaphosphorsäure) wurden 5g MPA in 100ml destilliertem Wasser aufgelöst, was einer 5% (w/v) MPA Lösung entspricht. Die fertige Lösung musste sofort auf Eis gestellt werden.

Die Zentrifuge (16.200xg, Heraeus Fresco 17) wurde im Vorhinein gekühlt.

Im Anschluss erfolgten die Vorbereitungen der GSH- und GSSG-Proben.

Ad GSH-Probe:

- a) Auftauen der Probe für 10 Minuten bei Raumtemperatur, dann nach 5 Minuten vortexen und nach 10 Minuten kurz abspinnen.
- b) Diese auf Eis stellen.

Methode

- c) Transferieren von 25µl in ein ungebrauchtes Röhrchen (2ml Eppi)
- d) Hinzufügen von 65µl der gekühlten MPA zu den Proben und kurz vortexen (1/3.6)
- e) Zentrifugieren der Lösung bei 13 000 rpm für 5 Minuten bei 4°C (16200xg, *Heraeus Fresco 17*).
- f) Hinzufügen von 5µl des Überrestes zu 620µl vom 1x Analysepuffer (1/125 Lösung → 1/450 in der endgültigen Lösung).
- g) Vortexen und abspinnen der verdünnten Probe und bis zur weiteren Verwendung auf Eis stellen.

Ad GSSG Probe:

- a) Auftauen der Probe für 10 Minuten bei Raumtemperatur, dann nach 5 Minuten vortexen und nach 10 Minuten kurz abspinnen.
- b) Diese auf Eis stellen.
- c) Transferieren von 25µl in ein ungebrauchtes Röhrchen (2ml Eppi)
- d) Hinzufügen von 65µl der gekühlten MPA zu den Proben und kurz vortexen (1/3.6)
- e) Zentrifugieren der Lösung bei 13 000 rpm für 5 Minuten bei 4°C (16200xg, *Heraeus Fresco 17*).
- f) Hinzufügen von 12µl des Überrestes zu 488µl vom 1x Analysepuffer (1/50 Lösung → 1/180 in der endgültigen Lösung + Scavenger)
- g) Vortexen und abspinnen der verdünnten Probe und bis zur weiteren Verwendung auf Eis stellen.

ANALYSEVERFAHREN

Bevor die Reaktionsanalyse mittels ELISA-Reader (*Victor3, 1420 Multilabel Counter*) durchgeführt werden konnte, mussten Standards und Probenreagenzien vorbereitet werden (s. Tab. 4).

Ad Vorbereitung der Standards:

- Vorbereiten für 300µM Arbeitslösung: 3µl Standard (100mM) und 977µl destilliertes Wasser → Premix
- Die Standards werden wie in Tabelle 4 angeführt vorbereitet, wobei zuerst die Stammlösung, dann das Premix verdünnt wird

Methode

Tabelle 4: Vorbereitung der Standards

GSH Konzentration		Verdünnung
300 μM GSH (Premix)	3 μl Stammlösung	997 μl dH ₂ O
3 μM GSH (A)	10 μl Premix	990 μl 1x Analysepuffer
1,5 μM GSH (B)	450 μl A	450 μl
0,75 μM GSH (C)	450 μl B	450 μl
0,375 μM GSH (D)	450 μl C	450 μl
0,1875 μM GSH (E)	450 μl D	450 μl
0,09375 μM GSH (F)	450 μl E	450 μl
0,046875 μM GSH (G)	450 μl F	450 μl
Blindprobe (H)	1x Analysepuffer	

Ad Vorbereitung der Probenreagenzien:

- Auftauen der Reagenzien kurz vor Gebrauch.
- 105 μl 1x Analysepuffer + 0.25 μl NADPH + 0.5 μl DTNB + 1 μl GR (100 μl / Vertiefung)
Für die ganze Platte: 10,5 ml 1x Analysepuffer + 25 μl NADPH + 50 μl DTNB + 100 μl GR

ANALYSEREAKTION

- Hinzufügen von 200 μl der Blindprobe, des Standards oder der Probe in eine Vertiefung
- Beimengen von 100 μl des Probenreagenz in jede Vertiefung
- Ablesen der Veränderung der Absorption bei 412 nm für 10 Minuten

Die Ablesung der Absorptionsveränderung erfolgte im ELISA-Reader (*Victor3, 1420 Multilabel Counter*) mittels des Programms „*Wallac 1420 Manager*“ gelesen.

Methode

BERECHNUNG

Die Berechnung der GSH- und GSSG-Konzentrationen, sowie die GSH/GSSG-Ratio erfolgt in vier Schritten:

1. Bestimmung der Reaktionsrate
2. Erstellung der Kalibrierungskurven
3. Berechnung der Analysekonzentration
4. Berechnung der GSH/GSSG-Ratio

Die Veränderung der Absorption bei 412nm (A_{412}) stellt eine lineare Funktion der GSH-Konzentration dar und wurde zur Bestimmung der Reaktionsrate herangezogen:

$$A_{412} = \text{Steigung} * \text{Minuten} + y\text{-Achsenabschnitt}$$

wobei die Steigung der Regressionsgleichung mit der Reaktionsrate ident ist.

Für die allgemeine Gleichung der Kalibrierungskurve gilt:

$$\text{Netto-Rate} = \text{Steigung} * \text{GSH} * y\text{-Achsenabschnitt}$$

Demzufolge wird zur Berechnung der Analysekonzentration von der GSH-Kalibrierungskurve folgende Gleichung eingesetzt:

$$\text{GSH} = \frac{\text{Netto-Rate} - y - \text{Achsenabschnitt}}{\text{Steigung}} * \text{Verdünnungsfaktor}$$

Die Berechnung der GSH/GSSG-Ratio erfolgt anhand der Division der Differenz der GSH- und 2GSSG-Konzentrationen durch die GSSG-Konzentration:

$$\text{Ratio} = \frac{\text{GSH} - 2\text{GSSG}}{\text{GSSG}}$$

6.2.7 IMMUNFUNKTION

Zur Bestimmung des Immunstatus wurde das Vollblut durchflusszytometrisch untersucht (Swelab Alfa Analyser, Leupamed), wobei hier speziell auf die Leukozyten und deren Untergruppen, wie Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten geachtet wurde.

6.2.8 LAKTAT

Zur Beurteilung des Laktatspiegels wurde zu sieben unterschiedlichen Zeitpunkten kapillares Blut aus dem Ohrläppchen entnommen: unmittelbar vor (t(-30)) bzw. nach (t0)

Methode

der ersten Inhalation und in der 1. (t55), 3. (t58), 5. (t60), 7. (t62) und 10. Minute nach der Belastung (t65). Im Anschluss wurde die Laktatkonzentration am ÖISM (Österreichischen Institut für Sportmedizin) mittels Biosen S-Line Lab+ Analysegerät (*EKT Diagnostics, Cardiff, U.K.*) analysiert.

6.2.9 SUBJEKTIVES BELASTUNGSEMPFINDEN (MODIFIZIERT NACH BORG)

Zur Erfassung der subjektiven Belastung wurde die Borg-Skala (s. Tab. 5) direkt nach den Trainingseinheiten erfasst (Borg, 1982; Noble et al. 1983).

Unmittelbar nach jedem Lauf (t55), sprich nach beiden All-Out Tests, wurde der Proband nach dem Empfinden der Belastung befragt.

Tabelle 5: Subjektives Belastungsempfinden nach Borg (Borg, 1982; Noble et al. 1983)

Subjektive Bewertung	Skalenwert
	6
Sehr sehr leicht, praktisch keine Belastung	7
	8
Sehr leicht, ganz lockeres "Spazierenfahren"	9
	10
Leicht, locker wenig anstrengend	11
	12
Ein wenig härter, anstrengend	13
	14
Hart	15
	16
Sehr hart, sehr anstrengend und ermüdend	17
	18
Extrem hart, Belastung kann nicht lange toleriert werden	19
Maximale Belastung bzw. Anstrengung	20

6.3 DATENVERARBEITUNG UND AUFZEICHNUNG

6.3.1 DATENAUFZEICHNUNG

Die Daten wurden durch Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen der Studie erhoben. Die Datenerfassung und Datenbearbeitung erfolgte mittels kommerzieller Software. Es wurden alle bei den Analysen gewonnenen Daten in Computerdateien übertragen, wobei nur die den Studienteilnehmern zugeordneten Codes nicht aber deren Namen elektronisch erfasst wurden, damit die Anonymisierung der Proben sichergestellt war. Die Zuteilungslisten wurden an einem für Fremde nicht zugänglichen Ort aufbewahrt.

Methode

Die Spiroergometrie am Laufband zu Beginn der Studie, sowie die All-Out Tests am Laufband wurden mit Hilfe der Software der verwendeten Pulsuhren Suunto t6c (*Suunto Oy, Vantaa, Finnland*) dokumentiert und analysiert. Die Ermittlung der Herzfrequenz diente zur Bestimmung des Maximalpulses, sowie zur Dokumentierung der Belastung. Die Analyse der Atemgase wurde mittels Oxycon Pro/Delta (*Viasys Healthcare GmbH, Höchberg, Deutschland*) durchgeführt, um bei der Spiroergometrie die maximale Sauerstoffaufnahme bestimmen und um bei den All-Out Tests die tatsächliche Belastung feststellen zu können.

6.3.2 AUSWERTUNGSMETHODEN

Die statistische Auswertung der einzelnen Parameter erfolgte mittels SPSS 22.0 und Microsoft Office Programm „Excel“. Nach der Überprüfung der Normalverteilung durch den Kolmogorov-Smirnov-Test, konnten weitere Analysen durchgeführt werden:

- T-Test für unabhängige Stichproben mit Hilfe der Tabellenkalkulation für vollständig kontrollierte Crossover-Studien nach Hopkins (2005) um eventuelle Unterschiede in den Leistungs-, Blut- und oxidativen Stress-Parametern zu berechnen (Microsoft Office Programm „Excel“)
- Test der Innersubjekteffekte um einen eventuellen Zeiteffekt festzustellen (SPSS 22.0)
- Graphische Darstellung anhand von Boxplots und Liniendiagrammen (Microsoft Office Programm „Excel“, SPSS 22.0)

Die Ergebnisse wurden als signifikant angenommen, wenn $p \leq 0,05$ war.

7 RESULTATE

7.1 STUDIENBETEILIGUNG

Wie in Abbildung 26 dargestellt wird, wurden nach der Voruntersuchung 21 interessierte Personen in die Studie aufgenommen, davon nahmen 20 erfolgreich an beiden Testungen teil. Das Alter, die anthropometrischen Daten und die Leistungsparameter waren von 21 Teilnehmern bekannt. Diese Erhebung erfolgte bei der Voruntersuchung, die einerseits die Bioimpedanzanalyse zur Bestimmung der Körperzusammensetzung und andererseits die Spiroergometrie zur Feststellung der körperlichen Leistungsfähigkeit beinhaltete. Von den 22 Interessenten sagte einer aus persönlichen Gründen noch vor der Voruntersuchung ab. Ein weiterer fiel krankheitsbedingt nach der ersten Testung aus.

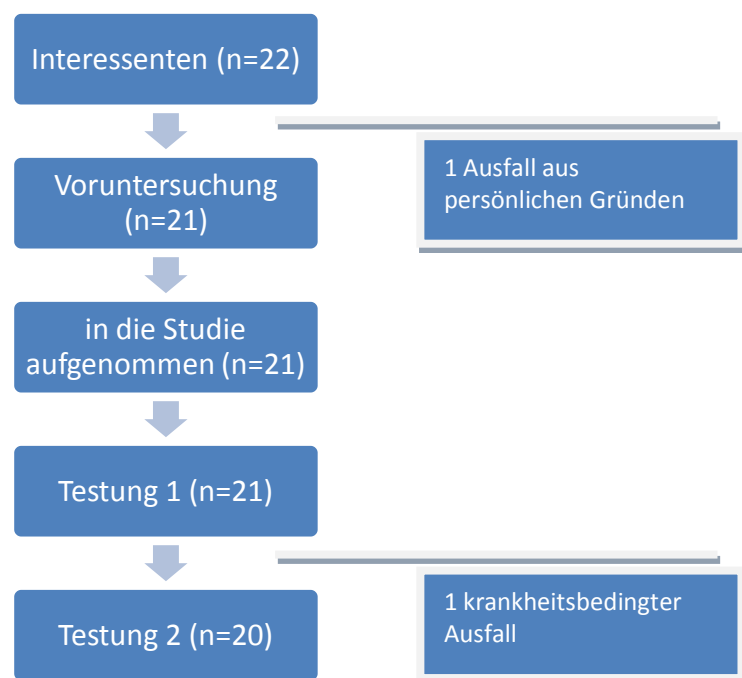


Abbildung 26: Übersicht der Studienteilnehmer

7.2 DESKRIPTIVE BESCHREIBUNG DER STUDIENTEILNEHMER

Das Kollektiv war sehr homogen. Die Durchschnittswerte der erhobenen anthropometrischen und leistungsbezogenen Parameter ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Charakteristika der Studienteilnehmer

N=21	
Alter (Jahre)	24,7 ± 3,1
Größe (m)	1,81 ± 0,1
Gewicht (kg)	73,7 ± 6,2
BMI (kg/m²)	22,7 ± 1,1
Körperfett (kg)	10,5 ± 3,1
Körperfett (%)	14,2 ± 3,7
BCM (kg)	35,6 ± 4,5
FFM (kg)	63,2 ± 5,3
VO₂max (ml O₂/min/kg)	61,9 ± 3,9
HF_{max} (Schläge/min)	193 ± 9,6
BMI = Body Mass Index; BCM = Body Cell Mass (Körperzellmasse); FFM = Fat Free Mass (Fettfreie Masse); VO ₂ max = maximale Sauerstoffaufnahme; Hf _{max} = maximale Herzfrequenz	

7.3 AUSWERTUNG DES TRAININGSTAGEBUCH

Um den Einfluss des Trainings auf die Intervention ausschließen zu können, wurden die Gesamttrainingsstunden pro Proband für jeweils sieben Tage vor jedem All-Out-Test berechnet. Dafür wurde der Durchschnitt der Trainingsstunden vor der Inhalation mit dem NanoViTM-Gerät bzw. dem Placeboggerät herangezogen. Vor der NanoViTM-Inhalation betrug die Trainingsstundenanzahl aller Probanden im Durchschnitt 381, vor der Placebo-Inhalation 356 Stunden. Die statistische Berechnung zeigte keinen signifikanten Unterschied (Abb. 27).

Resultate

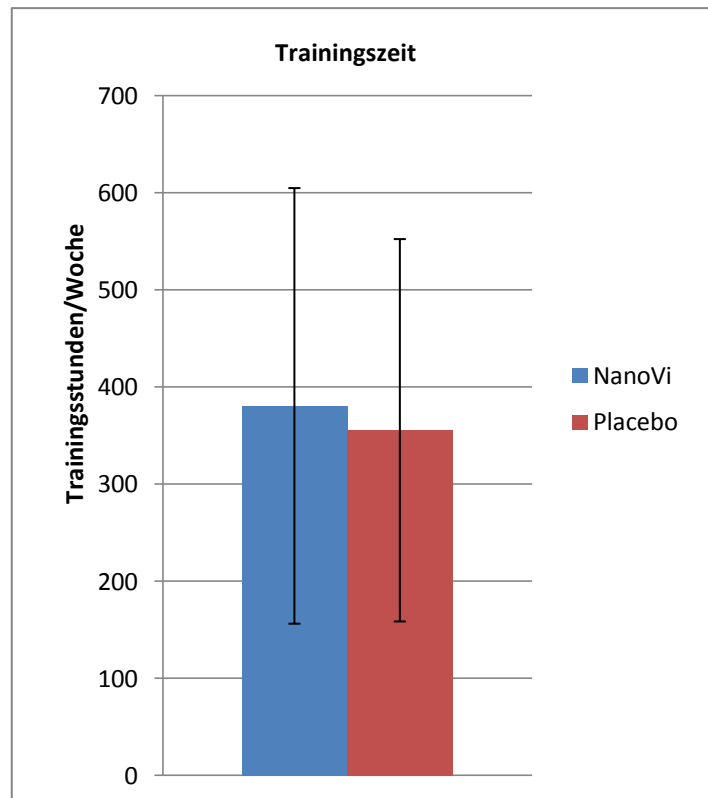


Abbildung 27: Durchschnitt der Trainingsstunden pro Woche im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo

7.4 LEISTUNGSPHYSIOLOGISCHE PARAMETER

7.4.1 HERZFREQUENZ

Die Herzfrequenz stieg im Zeitverlauf vom ersten Messwert (t5) zu t20 um 14,5% signifikant an ($p < 0,001$). Zwischen dem Zeitpunkt t20 zu t35 erhöhte sich der Wert um 3% ($p < 0,001$), zwischen t35 und t50 um 2,3% ($p < 0,001$) und zwischen t50 und t55 um 5,6% ($p < 0,001$). Zwischen den beiden Gruppen ($p_{t5}=0,2617$, $p_{t20}=0,7882$, $p_{t35}=1,0000$, $p_{t50}=0,8892$, $p_{t55}=0,3883$) bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied (Abb. 28).

Resultate

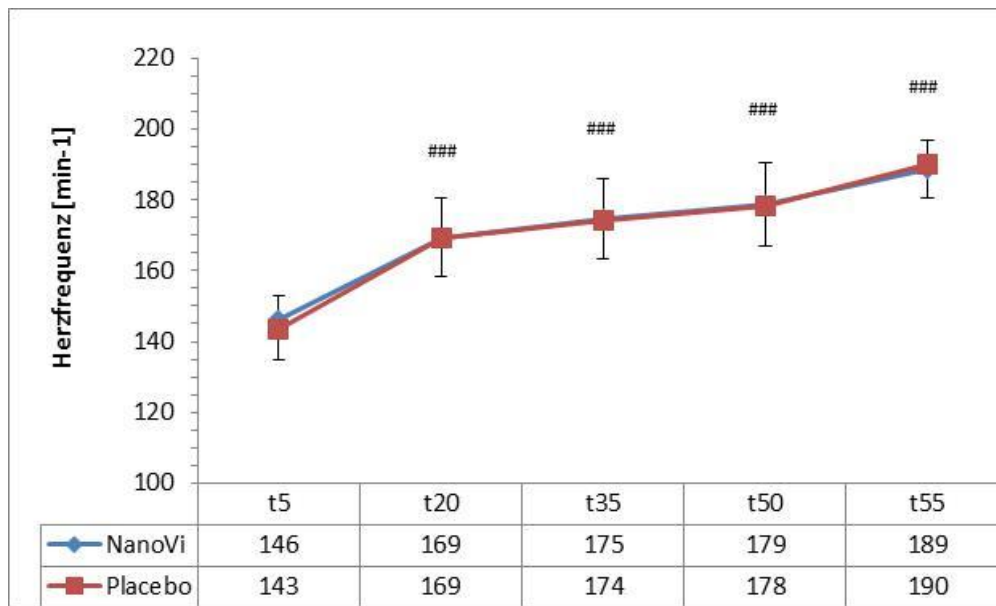


Abbildung 28: Herzfrequenz im Vergleich NanoViTM vs. Placebo ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.4.2 LAKTAT

Die statistische Überprüfung ergab teilweise einen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen (s. Abb. 29). Es bestanden keine signifikanten Unterschiede bei t(-30) und t0 ($p_{t(-30)} = 0,8802$, $p_{t0} = 0,5395$). Die signifikanten Unterschiede wurden unmittelbar nach dem All-Out-Test ($p_{t55} < 0,01$), im weiteren Verlauf bei t58 ($p_{t58} < 0,05$), t60 ($p_{t60} < 0,01$) und t62 ($p_{t62} < 0,01$) bis hin zum letzten Messzeitpunkt ($p_{t65} < 0,05$) erkennbar. Die Placebo-Gruppe wies höhere Werte als die NanoViTM-Gruppe auf. Bei t55 waren die Werte der NanoViTM-Gruppe um durchschnittlich 1,07 mmol/l, dies entspricht 16,4%, niedriger. Auch bei den Zeitpunkten t85 war die Laktatkonzentration der NanoViTM-Gruppe um 0,80 mmol/l bzw. 13,8%, bei t60 0,91 mmol/l bzw. 17,2%, bei t62 um 0,74 mmol/l bzw. 15,7% und bei t65 um 0,68 mmol/l bzw. 17,0% geringer.

Beim Zeiteffekt konnte man zwischen t(-30) und t0 einen Abfall von 18,2% feststellen. Ein signifikanter Anstieg ($p < 0,001$) von 81,6% fand zwischen t0 und t55 statt. Im Weiteren sank die Laktatkonzentration zwischen t55 und t58 um 11,5% ($p < 0,001$), zwischen t58 und t60 um 11,1% ($p = 0,002$), zwischen t60 und t62 um ebenfalls 11,1% ($p < 0,001$) und zwischen t62 und t65 um 18,6% ($p < 0,001$).

Resultate

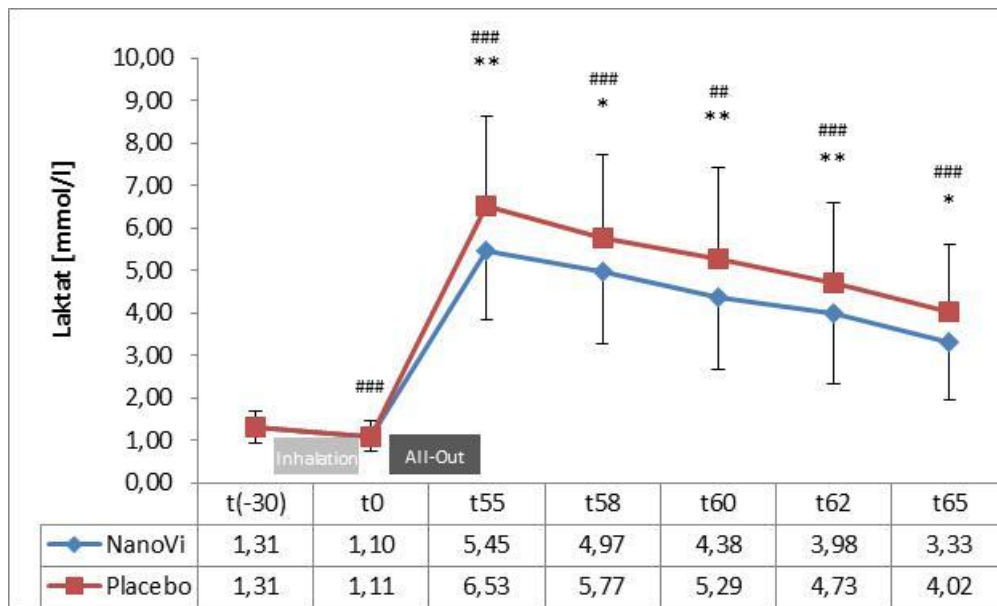


Abbildung 29: Laktat-Werte im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (*[#] $p < 0,05$; **^{###} $p < 0,01$; ***^{####} $p < 0,001$)

7.4.3 SAUERSTOFFAUFNAHME

Zwischen den beiden Gruppen bestand zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied ($p_{t5}=0,7595$, $p_{t20}=0,3483$, $p_{t35}=0,1318$, $p_{t50}=0,5344$) (Abb. 30).

Im Zeitverlauf jedoch konnte man zwischen t5 und t20 einen hoch signifikanten Anstieg ($p < 0,001$) von 19,4% feststellen. Ein weiterer signifikanter Anstieg ($p=0,031$) war zwischen t35 und t50 von 1,4% zu erkennen.

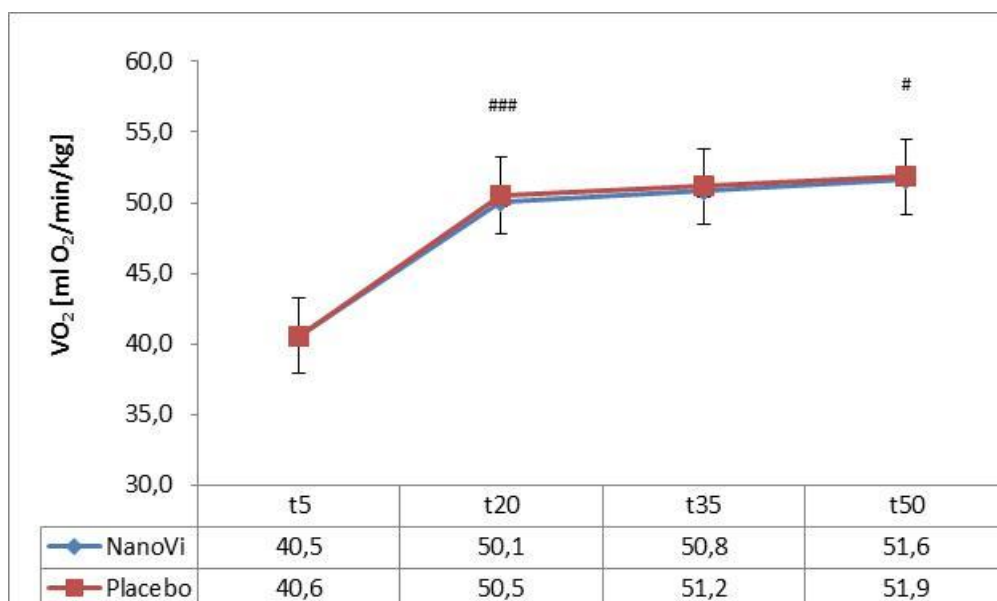


Abbildung 30: Sauerstoffaufnahme im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$)

Resultate

Im Prozentsatz der Sauerstoffaufnahme war somit auch kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen vorhanden ($p_{t5}=0,7898$, $p_{t20}=0,3688$, $p_{t35}=0,1239$, $p_{t50}=0,5222$) (Abb. 31). Die Sauerstoffaufnahme lag insgesamt ab t20 etwas über den berechneten Wert von 75%.

Angesichts des Zeiteffekts bestand einerseits ein hoch signifikanter Anstieg ($p<0,001$) von 19,4% zwischen den Zeitpunkten t5 und t20, andererseits signifikante Anstiege von t20 zu t35 von 1,4% ($p=0,049$) und von t35 zu t50 von 1,4% ($p=0,035$).

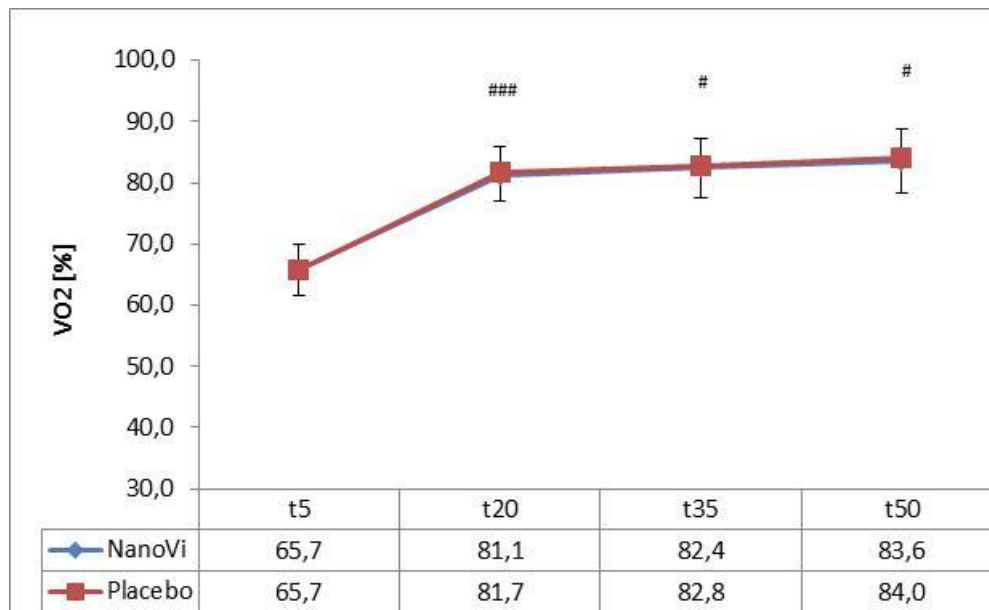


Abbildung 31: Sauerstoffaufnahme in Prozent im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ($^{\#} p<0,05$; $^{\#\#} p<0,01$; $^{\#\#\#} p<0,001$)

7.4.4 SUBJEKTIVES BELASTUNGSEMPFINDEN

Das subjektive Belastungsempfinden kam im Durchschnitt in der NanoVi™-behandelten Gruppe auf 18,5 von 20,0 und in der Placebo-Gruppe auf 18,9 von 20,0. Die statistische Überprüfung wies jedoch keine Signifikanz auf ($p=0,2550$) (Abb. 32).

Resultate

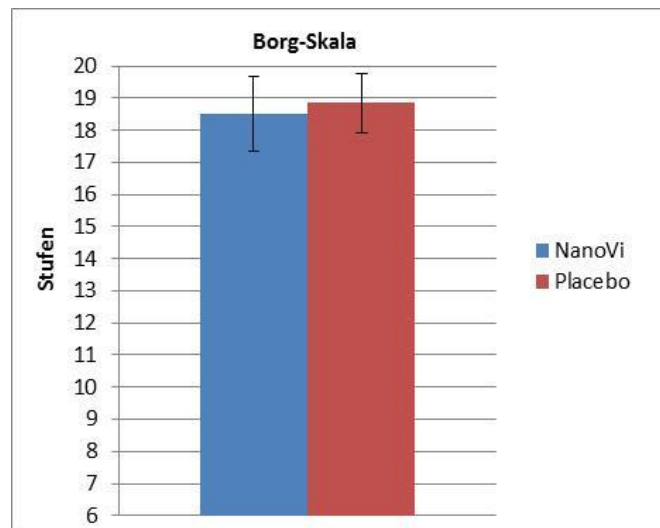


Abbildung 32: Subjektives Belastungsempfinden nach der Borg-Skala im Vergleich NanoViTM vs. Placebo

7.4.5 ABBRUCHSZEIT

Die Abbruchszeit betrug in der Gruppe, die mit NanoViTM behandelt wurden, im Durchschnitt 55,62 Minuten. In der Placebo-Gruppe lag dieser Wert bei durchschnittlich 56,94 Minuten. Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,0534$) (Abb. 33).

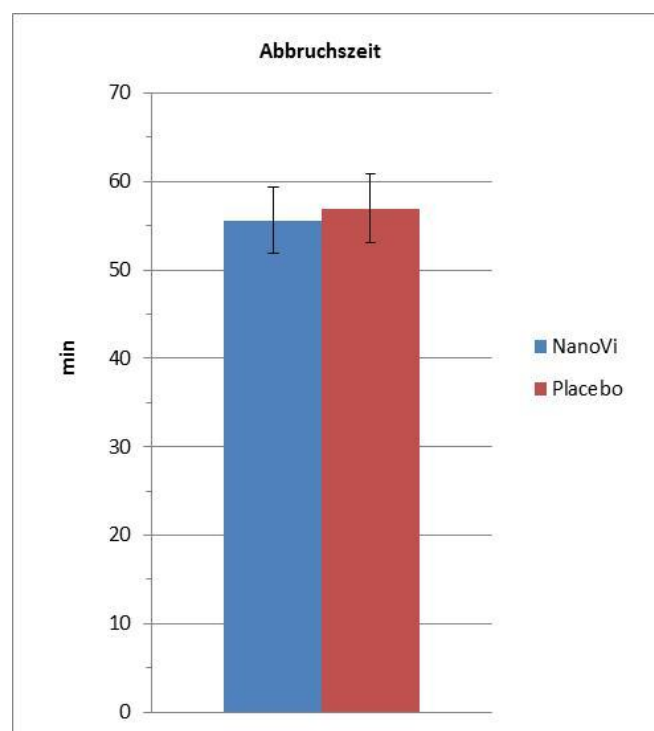


Abbildung 33: Abbruchszeit im Vergleich NanoViTM vs. Placebo

7.5 BLUTPARAMETER

7.5.1 WEIßE BLUTKÖRPERCHEN (LEUKOZYTEN)

Bei diesem Parameter wurde bei t85 ein signifikanter Unterschied ($p_{t85}=0,0331$) zwischen den Gruppen sichtbar. Der Durchschnittswert der NanoVi™-Gruppe ($6,91 \times 10^9/l$) war hier um $0,71 \times 10^9/l$, dies entspricht 10,3%, signifikant höher, als jener der Placebo-Gruppe. Dieser lag bei $6,20 \times 10^9/l$. Bei den anderen Zeitpunkten – t(-30) ($p_{t(-30)}=0,6003$), t0 ($p_{t0}=0,9536$), t55 ($p_{t55}=0,4465$) und t205 ($p_{t205}=0,1653$) – bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Abb. 34).

Zwischen den Zeitpunkten t(-30) und t0 war ein signifikanter Abfall ($p<0,001$) von 7,1% zu verzeichnen. Von t0 zu t55 stieg die Zahl der Leukozyten um 23,3% signifikant an ($p<0,001$). Ein weiterer Anstieg war zwischen t85 und t205 zu finden (40,5%; $p<0,001$).

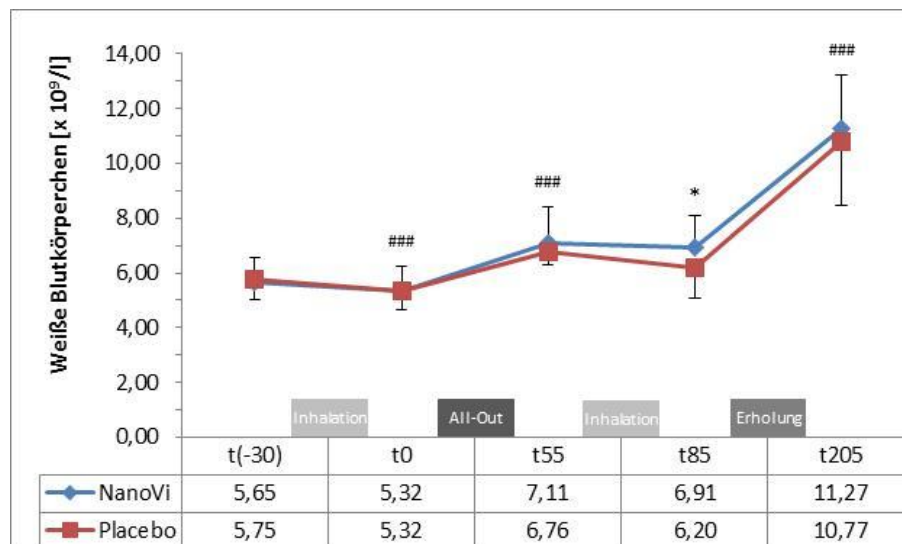


Abbildung 34: Weiße Blutkörperchen im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (*/# $p<0,05$; **/### $p<0,01$; ***/#### $p<0,001$)

7.5.2 GRANULOZYTEN

Anhand der statistischen Auswertung konnte man im Zeitpunkt t85 einen signifikanten Unterschied bei den Gruppen beobachten ($p_{t85}=0,0205$). Hierbei wies die NanoVi™-Gruppe einen höheren Wert ($4,59 \times 10^9/l$) auf als die Placebo-Gruppe, in der der Durchschnittswert bei $3,95 \times 10^9/l$ lag. Der Unterschied betrug $0,64 \times 10^9/l$ bzw. 14,0%. Bei den Zeitpunkten t(-30) ($p_{t(-30)}=0,9228$), t0 ($p_{t0}=0,6407$), t55 ($p_{t55}=0,3245$) und t205 ($p_{t205}=0,1526$) bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen (Abb. 35).

Resultate

Ein Zeiteffekt war zwischen folgenden Zeitpunkten erkennbar: t0 und t55 ($p<0,001$), t55 und t85 ($p=0,001$) und t85 und t205 ($p<0,001$). Der Anstieg von t0 zu t55 betrug 23,1%, im weiteren Verlauf von t55 zu t85 10,8% und von t85 zu t205 46,8%.

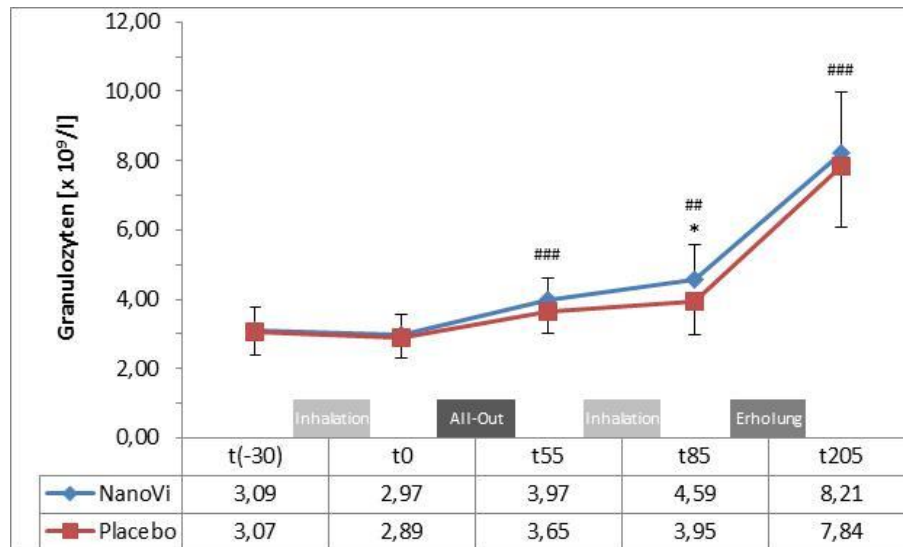


Abbildung 35: Granulozyten im Vergleich NanoViTM vs. Placebo (^{*/#} $p<0,05$; ^{**/###} $p<0,01$; ^{***/####} $p<0,001$)

7.5.3 LYMPHOZYTEN

Die statistische Auswertung zeigte in diesem Parameter zwischen den Gruppen keinen signifikanten Unterschied ($p_{t(-30)}=0,1499$, $p_{t0}=0,2428$, $p_{t55}=0,1684$, $p_{t85}=0,6364$, $p_{t205}=0,6712$) (Abb. 36).

In Anbetracht der Zeiteffekte fanden ein signifikanter Abfall ($p<0,001$) von t(-30) auf t0 um 11,9%, ein signifikanter Anstieg ($p<0,001$) von t0 zu t55 um 23,1%, ein signifikanter Abfall ($p<0,001$) von t55 zu t85 um 42,7%, sowie ein signifikanter Anstieg ($p<0,001$) von t85 zu t205 um 11,5% ($p<0,001$) statt.

Resultate

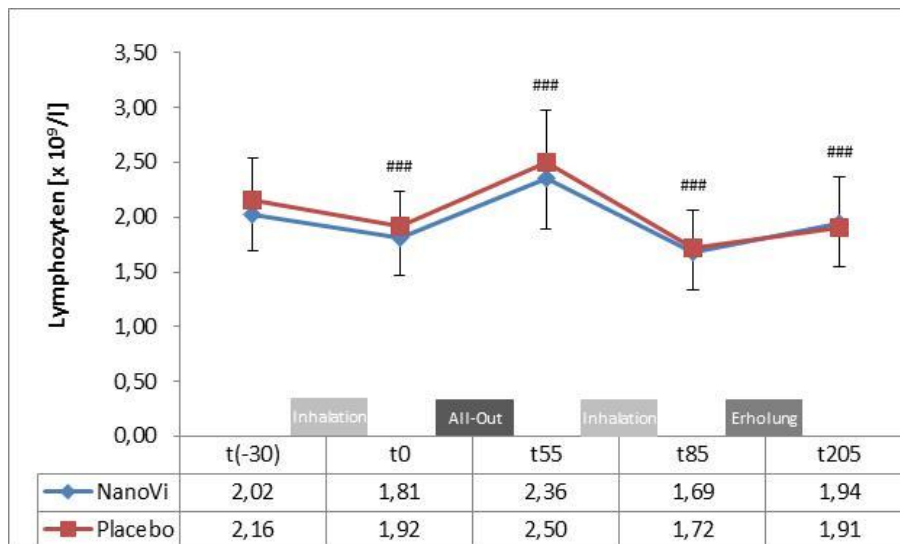


Abbildung 36: Lymphozyten im Vergleich NanoViTM vs. Placebo ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.5.4 MONOZYTEN

Bei den Monozyten ergab die statistische Auswertung einen signifikanten Unterschied ($p_{t85} = 0,0229$) zwischen den beiden Gruppen zum Zeitpunkt t85. Der Wert der NanoViTM-Gruppe war um $0,11 \times 10^9/l$ bzw. 16,9% höher als jener der Placebo-Gruppe. Zu den anderen Zeitpunkten wurden keine signifikanten Unterschiede berechnet ($p_{t(-30)} = 0,5848$, $p_{t0} = 0,6378$, $p_{t55} = 0,1385$, $p_{t205} = 0,6810$) (Abb. 37).

Der Zeitverlauf wies sowohl zwischen t0 und t55 ($p = 0,002$), als auch zwischen t85 und t205 ($p < 0,001$) einen signifikanten Unterschied auf. Zwischen t0 und t55 betrug der Anstieg 21,1%, zwischen t85 und t205 45,4%.

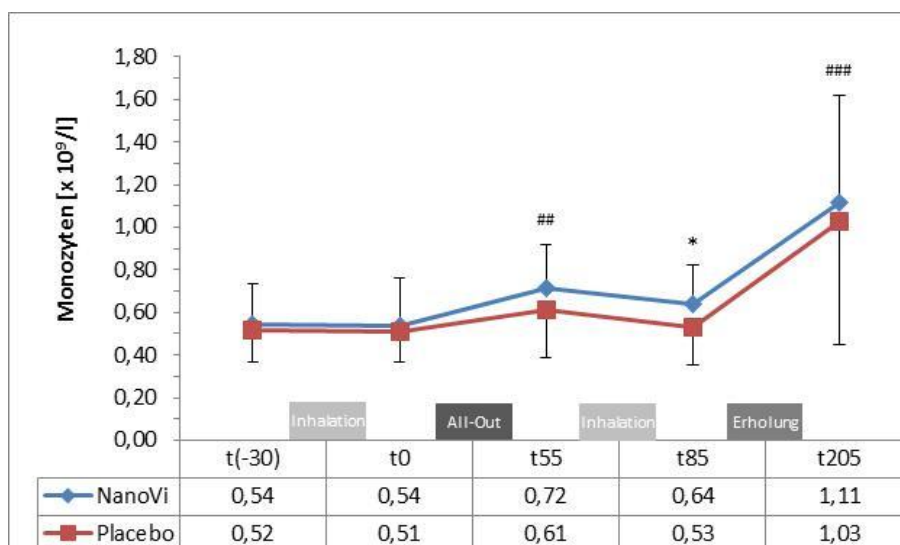


Abbildung 37: Monozyten im Vergleich NanoViTM vs. Placebo (^{*/#} $p < 0,05$; ^{*/###} $p < 0,01$; ^{*/###/####} $p < 0,001$)

Resultate

7.5.5 HÄMATOKRIT

Die Durchschnittswerte des Hämatokrit-Werts ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p_{t(-30)}=0,6664$, $p_{t0}=0,0995$, $p_{t55}=0,6521$, $p_{t85}=0,0941$, $p_{t205}=0,2337$) (Abb. 38).

Anhand der statistischen Auswertung des Zeiteffekts konnte man zwischen den Zeitpunkten $t(-30)$ und $t0$ einen signifikanten Abfall ($p=0,002$) von 1,8% erkennen. Im weiteren Verlauf wurde ein signifikanter Anstieg ($p=0,020$) von 1,9% zwischen $t0$ und $t55$ berechnet. Auch der Abfall zwischen $t55$ zu $t85$ um 2,5% wies eine hohe Signifikanz ($p<0,001$) auf.

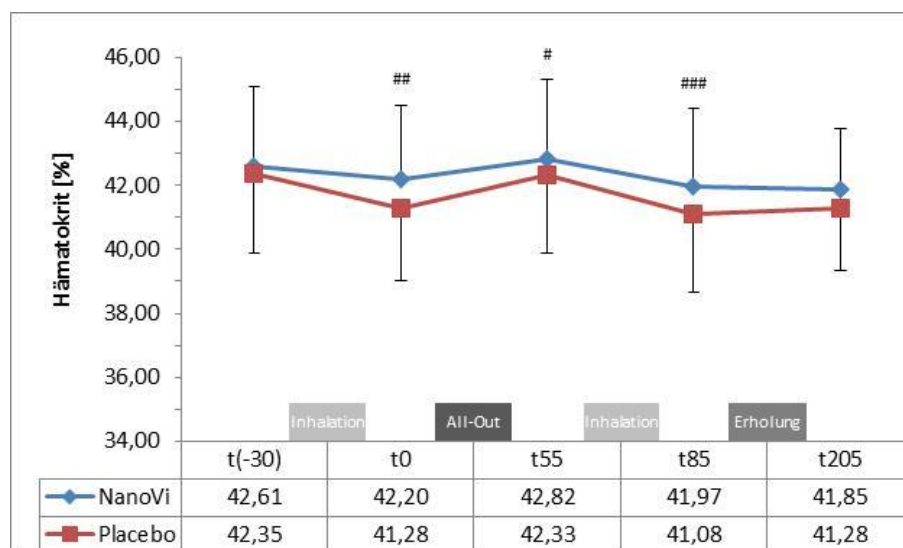


Abbildung 38: Hämatokrit-Werte im Vergleich NanoViTM vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.5.6 HÄMOGLOBIN

Die statistische Berechnung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p_{t(-30)}=0,9536$, $p_{t0}=0,2616$, $p_{t55}=0,3818$, $p_{t85}=0,2270$, $p_{t205}=0,5031$) (Abb. 39).

Der Zeitverlauf war zwischen allen Zeitpunkten signifikant. Von dem Zeitpunkt $t(-30)$ zu $t0$ fand ein hoch signifikanter Abfall ($p<0,001$) von 2,3% statt. Der Anstieg ($p=0,001$) von 2,1% zwischen $t0$ und $t55$, sowie der Abfall zwischen den Zeitpunkten $t55$ und $t85$ von 2,3% ($p<0,001$), und $t85$ zu $t205$ von 1,5% ($p=0,049$) waren signifikant.

Resultate

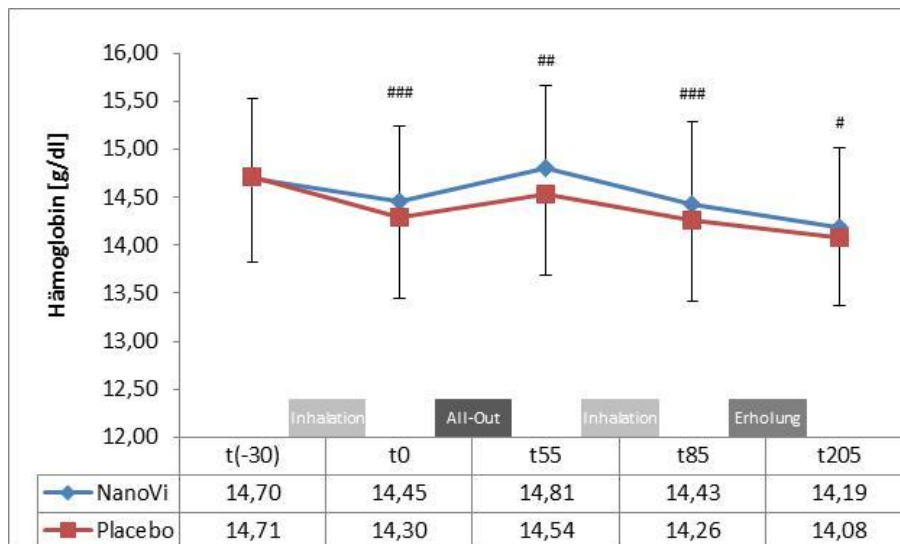


Abbildung 39: Hämoglobin-Werte im Vergleich NanoViTM vs. Placebo ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.6 OXIDATIVER STRESS – PARAMETER

7.6.1 GSH TOTAL (GSH UND GSSG)

Bei der statistischen Auswertung wurde keine signifikante Differenz zwischen den beiden Gruppen festgestellt ($p_{t(-30)}=0,9016$, $p_{t0}=0,5749$, $p_{t55}=0,6892$, $p_{t85}=0,2472$, $p_{t205}=0,3662$) (Abb. 40).

In Anbetracht des Zeitverlaufs konnte zwischen dem Zeitpunkt t85 und t205 ein signifikanter Anstieg von 4,2% detektiert werden ($p < 0,05$).

Resultate

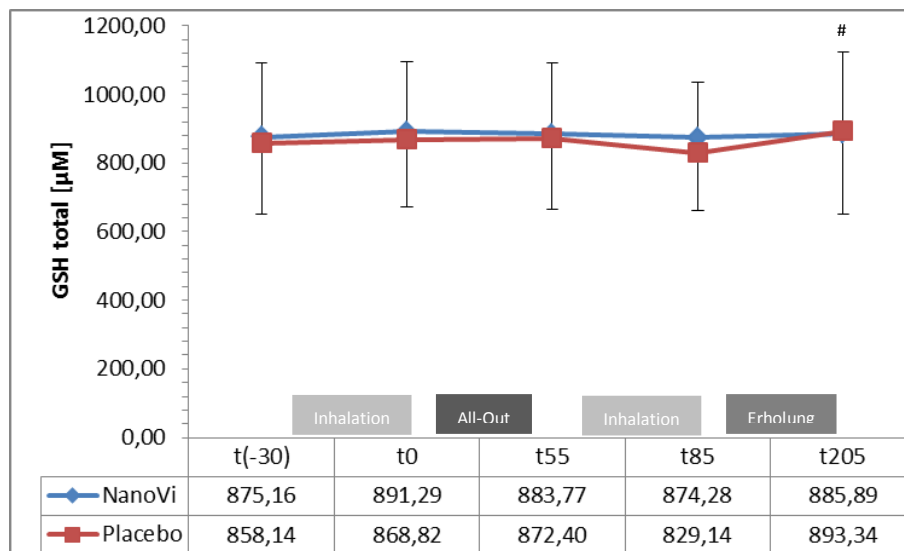


Abbildung 40: GSH total (GSH und GSSG) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (# $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$)

7.6.2 GSSG (OXIDIERTE FORM)

Sowohl zwischen den beiden Gruppen als auch im Zeitverlauf war kein signifikanter Unterschied erkennbar ($p_{t(-30)} = 0,3784$, $p_{t0} = 0,9220$, $p_{t55} = 0,8348$, $p_{t85} = 0,2402$, $p_{t205} = 0,2073$) (Abb. 41).

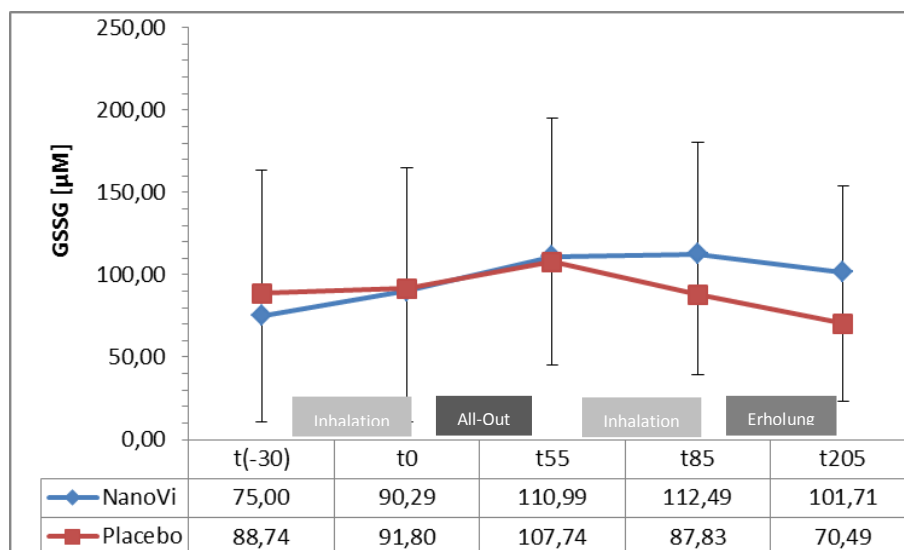


Abbildung 41: GSSG (oxidierte Form des Glutathions) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo

7.6.3 GSH (REDUZIERTE FORM)

Zwischen den beiden Gruppen wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt ($p_{t(-30)} = 0,4138$, $p_{t0} = 0,8088$, $p_{t55} = 0,6092$, $p_{t85} = 0,6954$, $p_{t205} = 0,1136$) (Abb. 42).

Resultate

Im Zeitverlauf gab es von Zeitpunkt t85 zu t205 einen signifikanten Anstieg von 8,5% ($p < 0,05$).

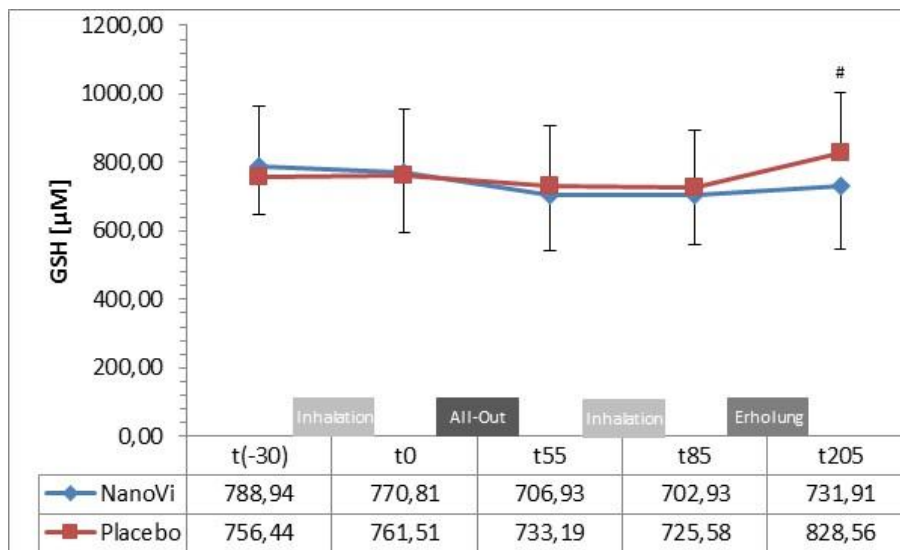


Abbildung 42: GSH (reduzierte Form des Gluthations) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.6.4 GSH/GSSG

Sowohl zwischen den beiden Gruppen als auch im Zeitverlauf wurde kein signifikanter Unterschied erkennbar ($p_{t(-30)} = 0,6231$, $p_{t0} = 0,5426$, $p_{t55} = 0,1618$, $p_{t85} = 0,2203$, $p_{t205} = 0,1163$) (Abb. 43).

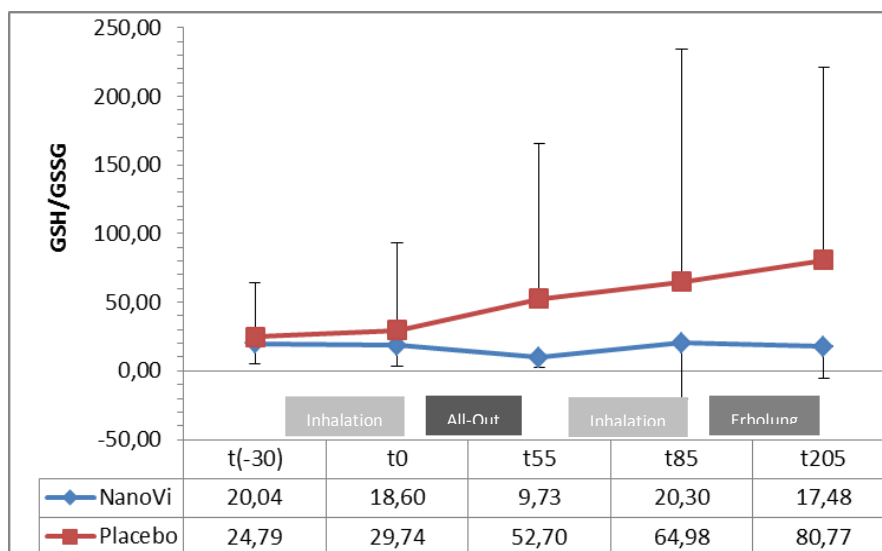


Abbildung 43: GSH/GSSG Ratio im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo

Resultate

Um potentielle Lerneffekte abzuschätzen, wird im Weiteren der Einfluss des Zeitpunktes, sprich ein möglicher Unterschied zwischen Testung 1 zu Testung 2 (unabhängig von der Intervention), näher beleuchtet.

7.7 LEISTUNGSPHYSIOLOGISCHE PARAMETER

7.7.1 HERZFREQUENZ

Die statistische Auswertung ergab zwischen den beiden Testungen keinen signifikanten Unterschied ($p_{t5}=0,1507$, $p_{t20}=0,8932$, $p_{t35}=0,6000$, $p_{t50}=0,8454$, $p_{t55}=0,2043$) (Abb. 44).

Im Zeitverlauf konnte man zwischen allen Zeitpunkten hoch signifikante Anstiege ($p<0,001$) verzeichnen. Die Steigung zwischen t5 und t20 betrug 14,5%, zwischen t20 zu t35 3%, zwischen t35 zu t50 2,3%, sowie zwischen t50 zu t55 5,6%.

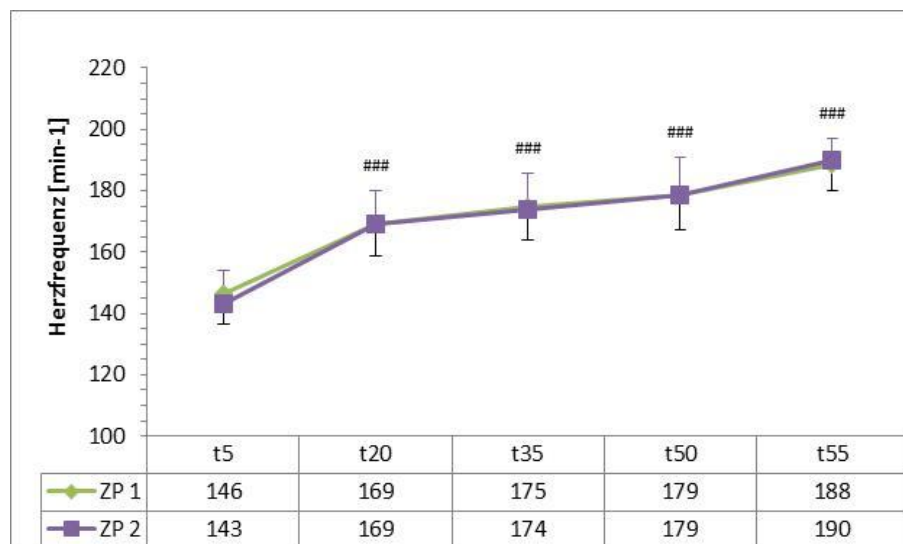


Abbildung 44: Herzfrequenz im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ($^{\#} p<0,05$; $^{\#\#} p<0,01$; $^{\#\#\#} p<0,001$)

7.7.2 LAKTAT

Bei diesem Parameter bestand keine Differenz zwischen den beiden Testungen ($p_{t(-30)}=0,1597$, $p_{t0}=0,0119$, $p_{t55}=0,7876$, $p_{t58}=0,7219$, $p_{t60}=0,5647$, $p_{t62}=0,5403$, $p_{t65}=0,8030$) (Abb. 45).

Der Zeitverlauf hingegen war signifikant. Zwischen dem Zeitpunkt t(-30) und t0 fand ein signifikanter Abfall ($p<0,001$) von 18,2% statt. Von t0 zu t55 erfolgte ein signifikanter Anstieg ($p<0,001$) von 81,6%. Im Weiteren fielen die Werte ab: von t55 zu t58 um 11,5% ($p<0,001$), von t58 zu t60 um 11,1% ($p=0,002$), von t60 zu t62 ebenso um 11,1% ($p<0,001$) und schließlich von t62 zu t65 um 18,6% ($p<0,001$).

Resultate

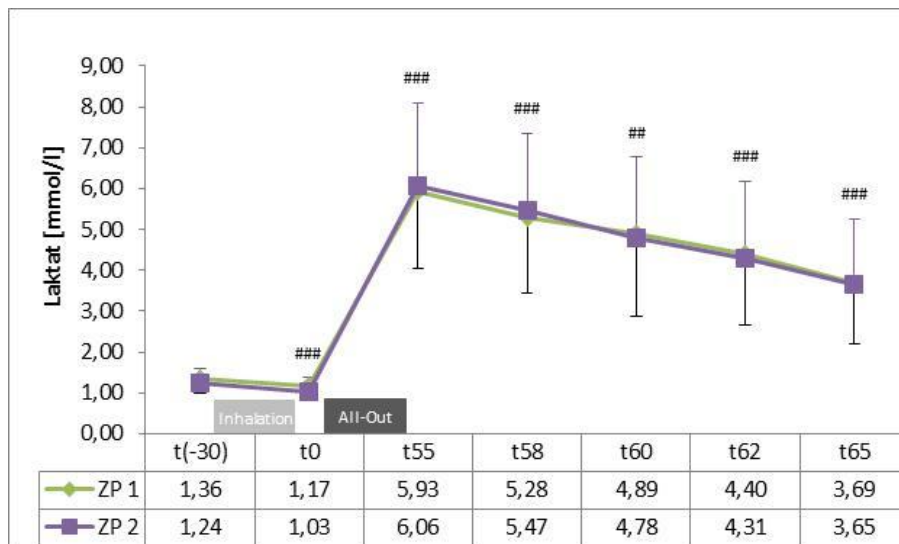


Abbildung 45: Laktat-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.7.3 SAUERSTOFFAUFNAHME

Anhand der statistischen Berechnung konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Testungen nachgewiesen werden ($p_{t5} = 0,5191$, $p_{t20} = 0,2381$, $p_{t35} = 0,3151$, $p_{t50} = 0,5249$) (Abb. 46).

Im Zeitverlauf konnte ein signifikanter Anstieg ($p < 0,001$) von t5 zu t20 um 19,4% und zwischen t35 zu t50 um 1,4% ($p = 0,033$) detektiert werden.

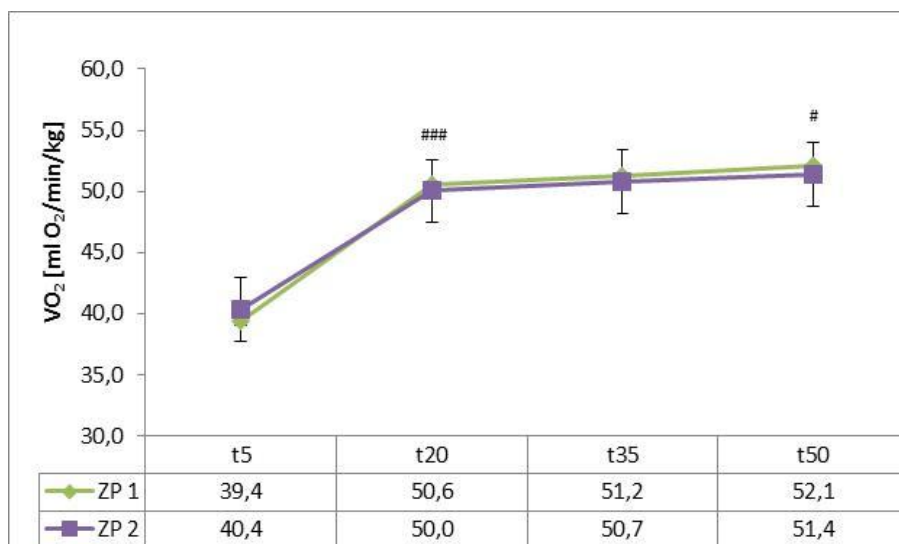


Abbildung 46: Sauerstoffaufnahme im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

Resultate

Auch der prozentuelle Wert der maximalen Sauerstoffaufnahme zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Testungen auf ($p_{t5}=0,5364$, $p_{t20}=0,2340$, $p_{t35}=0,3027$, $p_{t50}=0,4956$) (Abb. 47).

Im Zeitverlauf ist ein kontinuierlicher signifikanter Anstieg zu erkennen. Zwischen den Zeitpunkten t5 und t20 stieg der Wert um 19,3% an ($p<0,001$), zwischen t20 und t35 um 1,4% ($p=0,048$) und zwischen t35 und t50 um ebenfalls 1,4% ($p=0,037$).

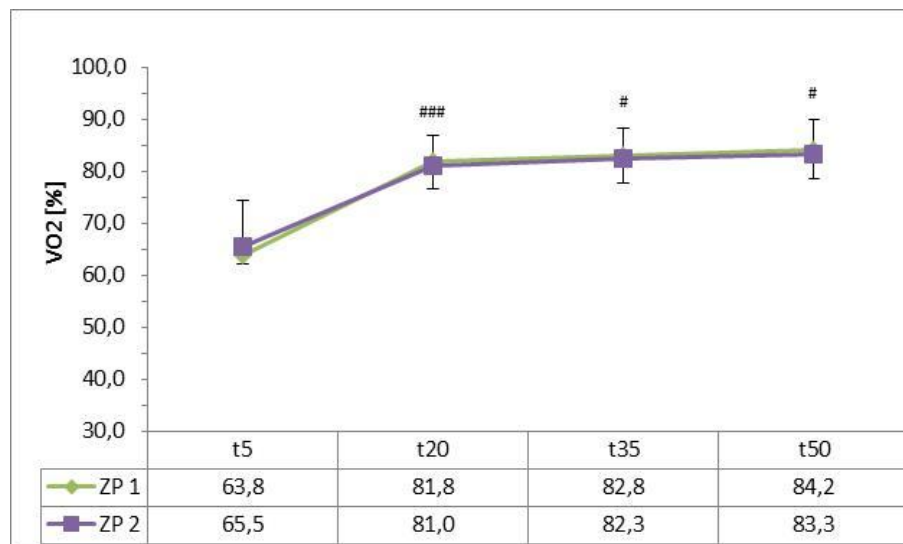


Abbildung 47: Sauerstoffaufnahme in Prozent im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.7.4 SUBJEKTIVES BELASTUNGSEMPFINDEN

Der Durchschnittswert des Belastungsempfindens war zwischen den beiden Zeitpunkten gleich ($p=0,9314$) (Abb. 48).

Resultate

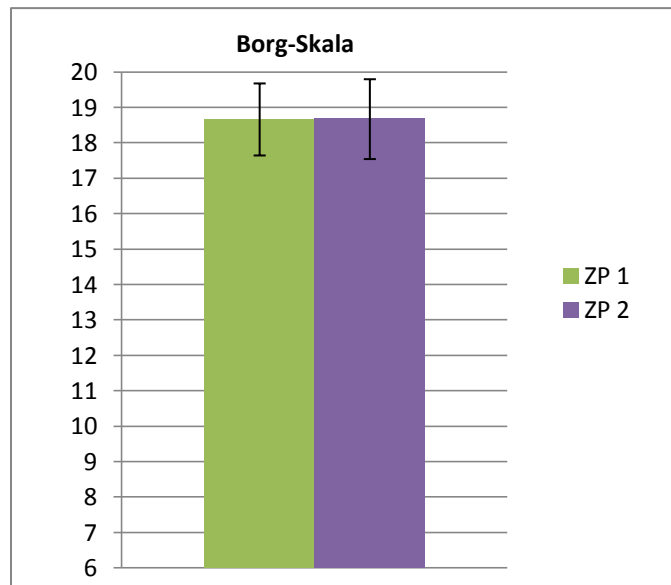


Abbildung 48: Subjektiven Belastungsempfinden nach der Borg-Skala im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2

7.7.5 ABBRUCHSZEIT

Bei der Abbruchzeit konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Testungen festgestellt werden ($p=0,3066$) (Abb. 49).

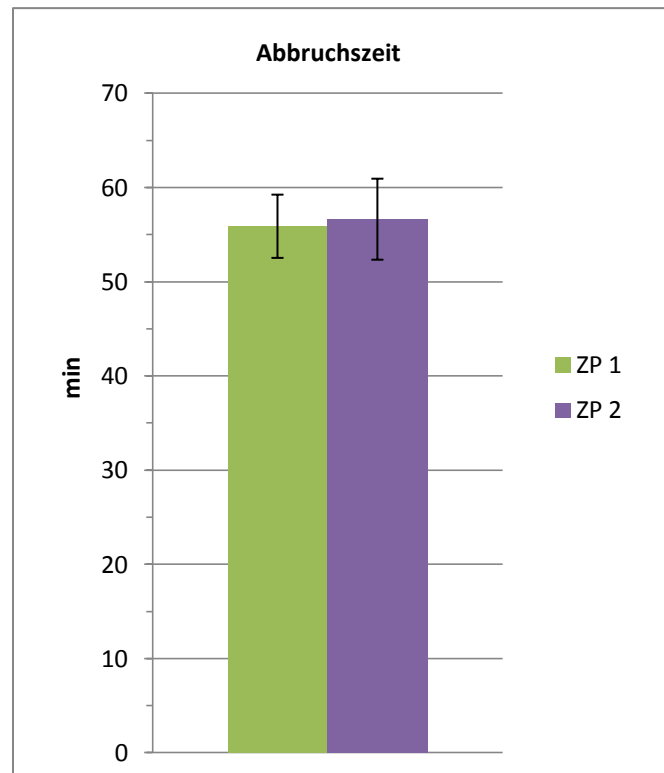


Abbildung 49: Abbruchzeit im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2

7.8 BLUTPARAMETER

7.8.1 WEIßE BLUTKÖRPERCHEN

Zwischen beiden Testungen konnte kein signifikanter Unterschied detektiert werden ($p_{t(-30)}=0,1351$, $p_{t0}=0,4108$, $p_{t55}=0,1918$, $p_{t85}=0,0657$, $p_{t205}=0,6183$) (Abb. 50).

Im Zeitverlauf wurde zwischen $t(-30)$ und $t0$ ein Abfall von 7,1% ($p<0,001$) festgestellt, sowie zwischen $t0$ und $t55$ einen Anstieg von 23,3% ($p<0,001$). Auch zwischen den Zeitpunkten $t85$ und $t205$ stieg der Wert signifikant um 40,5 % an ($p<0,001$).

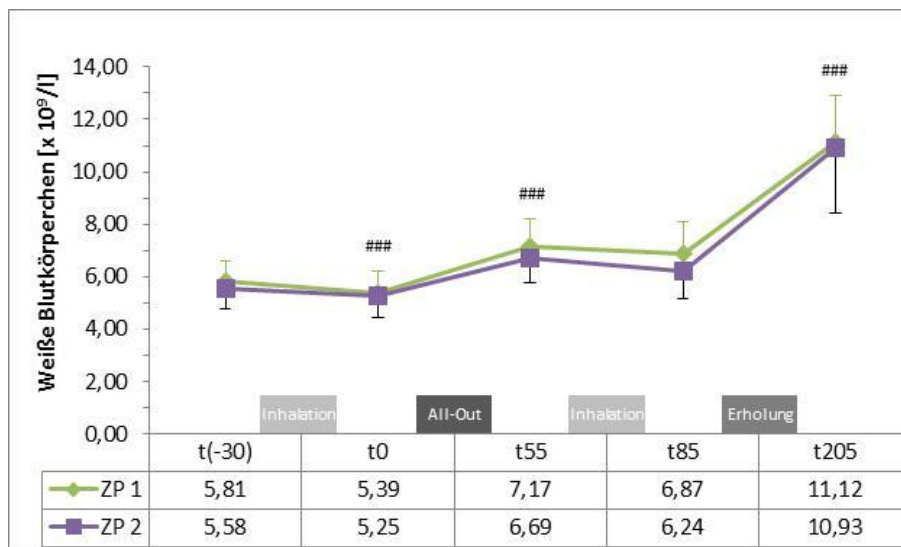


Abbildung 50: Weiße Blutkörperchen im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.8.2 GRANULOZYTEN

Die statistische Berechnung ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen der ersten und zweiten Testung ($p_{t(-30)}=0,0529$, $p_{t0}=0,2447$, $p_{t55}=0,4293$, $p_{t85}=0,0741$, $p_{t205}=0,3877$) (Abb. 51).

Im Zeitverlauf stieg die Zahl der Granulozyten zwischen $t0$ und $t55$ hochsignifikant um 23,1% an ($p<0,001$). Der Wert stieg weiters signifikant um 10,8% zwischen $t55$ und $t85$ ($p=0,001$), sowie um 46,8% zwischen $t85$ und $t205$ ($p<0,001$).

Resultate

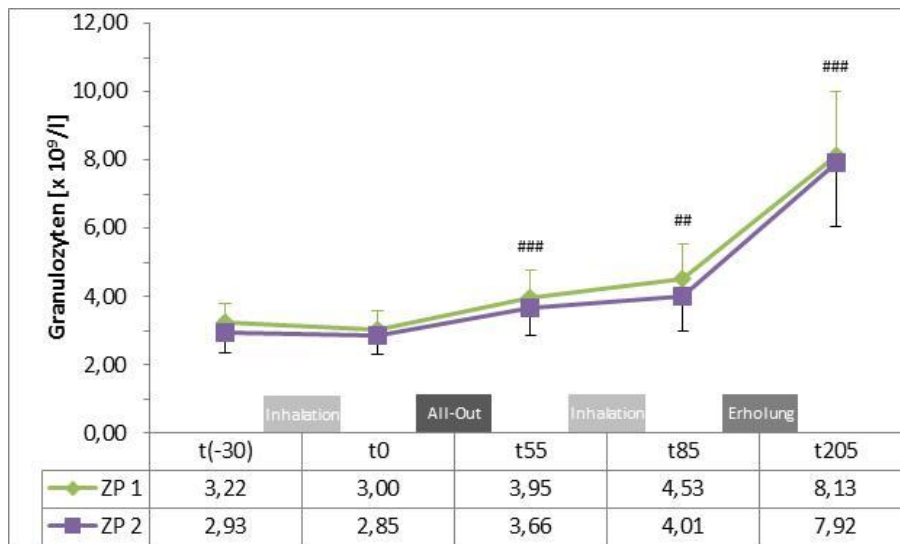


Abbildung 51: Granulozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.8.3 LYMPHOZYTEN

Der Wert der Lymphozyten unterschied sich nicht signifikant zwischen den beiden Testungen ($p_{t(-30)}=0,5357$, $p_{t0}=0,4409$, $p_{t55}=0,6052$, $p_{t85}=0,6364$, $p_{t205}=0,5514$) (Abb. 52).

Im Zeitverlauf erkannte man einen signifikanten Abfall von 11,9% zwischen t(-30) zu t0 ($p<0,001$). Im Weiteren erfolgte zwischen t0 und t55 ein signifikanter Anstieg von 23,1% ($p<0,001$), von t55 zu t85 fiel der Wert signifikant um 42,7% ($p<0,001$) und von t85 zu t205 stieg er wieder um 11,5% an.

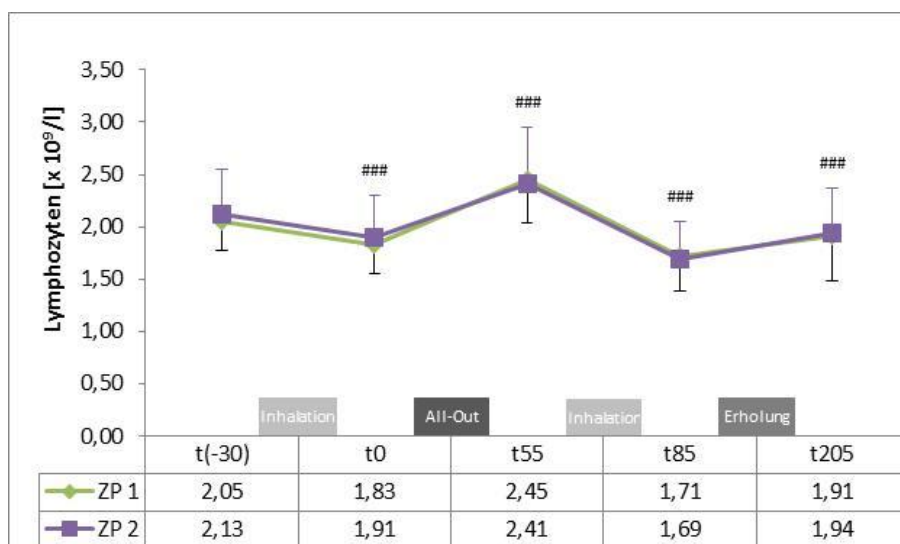


Abbildung 52: Lymphozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

Resultate

7.8.4 MONOZYTEN

In keinem dieser Zeitpunkte wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Testungen sichtbar ($p_{t(-30)}=0,5848$, $p_{t0}=0,2127$, $p_{t55}=0,3472$, $p_{t85}=0,0763$, $p_{t205}=0,7581$) (Abb. 53).

Der Anstieg zwischen t0 und t55 von 21,1% war signifikant ($p=0,002$). Der weitere Verlauf zeigte auch zwischen t85 und t205 einen hochsignifikanten Anstieg von 45,4% ($p<0,001$).

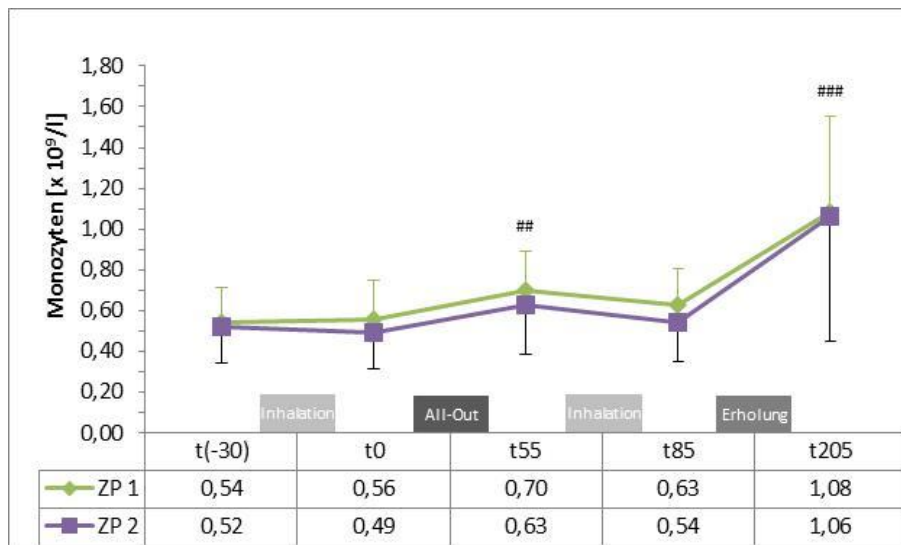


Abbildung 53: Monozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.8.5 HÄMATOKRIT

Die statistische Berechnung wies keinen signifikanten Unterschied zwischen der Testung 1 und Testung 2 auf ($p_{t(-30)}=0,6664$, $p_{t0}=0,0995$, $p_{t55}=0,6521$, $p_{t85}=0,0941$, $p_{t205}=0,2337$) (Abb. 54).

Im Zeitverlauf wurde der Abfall von t(-30) zu t0 als signifikant gewertet ($p=0,003$) und beträgt 1,8%. Auch der 1,9 prozentige Anstieg von Zeitpunkt t0 zu t55 ($p=0,021$) und der darauffolgende Abfall von 2,5% zwischen t55 und t85 ($p<0,001$) waren signifikant.

Resultate

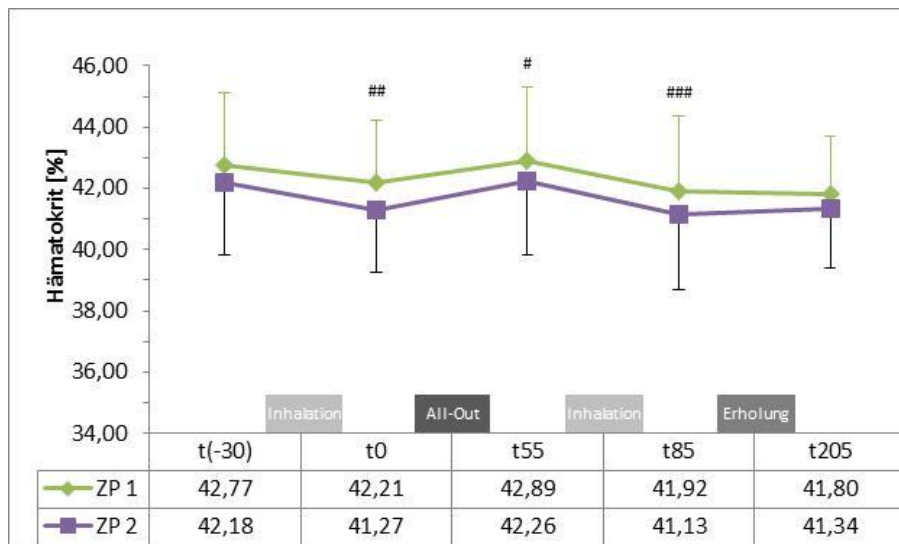


Abbildung 54: Hämatokrit-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.8.6 HÄMOGLOBIN

Der Hämoglobinwert zeigte im Vergleich der beiden Testungen keinen signifikanten Unterschied ($p_{t(-30)} = 0,9536$, $p_{t0} = 0,2616$, $p_{t55} = 0,3818$, $p_{t85} = 0,2270$, $p_{t205} = 0,5031$) (Abb. 55).

Der Zeitverlauf hingegen war signifikant. Zu Beginn – t(-30) zu t0 – fand ein Abfall von 2,3% statt ($p < 0,001$). Im Weiteren kam es zu einem 2,1 prozentigen Anstieg zwischen t0 und t55 ($p = 0,001$). Die Werte fielen dann signifikant ab, von t55 zu t85 um 2,3% ($p < 0,001$) und von t85 zu t205 um 1,5% ($p = 0,049$).

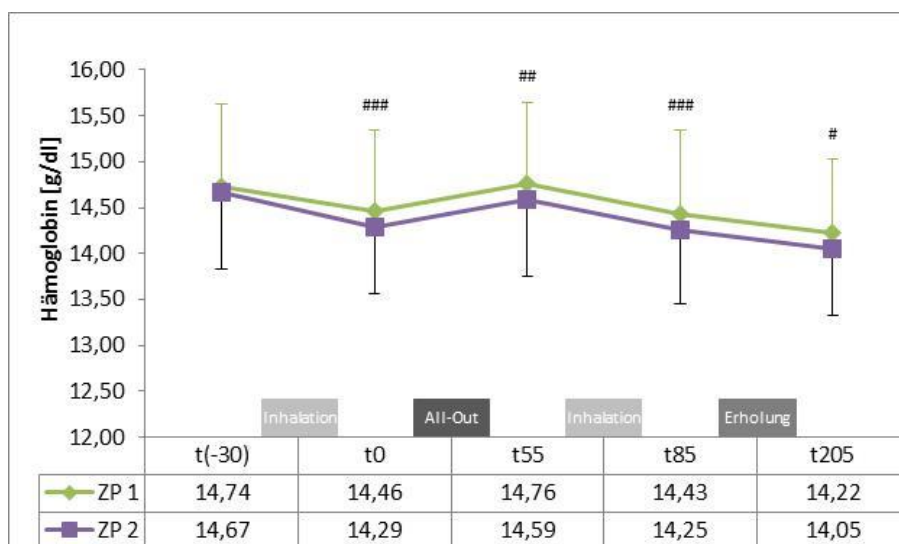


Abbildung 55: Hämoglobin-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p < 0,05$; ^{##} $p < 0,01$; ^{###} $p < 0,001$)

7.9 OXIDATIVER STRESS – PARAMETER

7.9.1 GSH TOTAL (GSH UND GSSG)

Bei der statistischen Auswertung wurde keine signifikante Differenz zwischen den beiden Testungen festgestellt ($p_{t(-30)}=0,5287$, $p_{t0}=0,4073$, $p_{t55}=0,1085$, $p_{t85}=0,1250$, $p_{t205}=0,0717$) (Abb. 56).

In Anbetracht des Zeitverlaufs fand zwischen dem Zeitpunkt t85 und t205 ein signifikanter Anstieg von 4,2% statt ($p<0,05$).

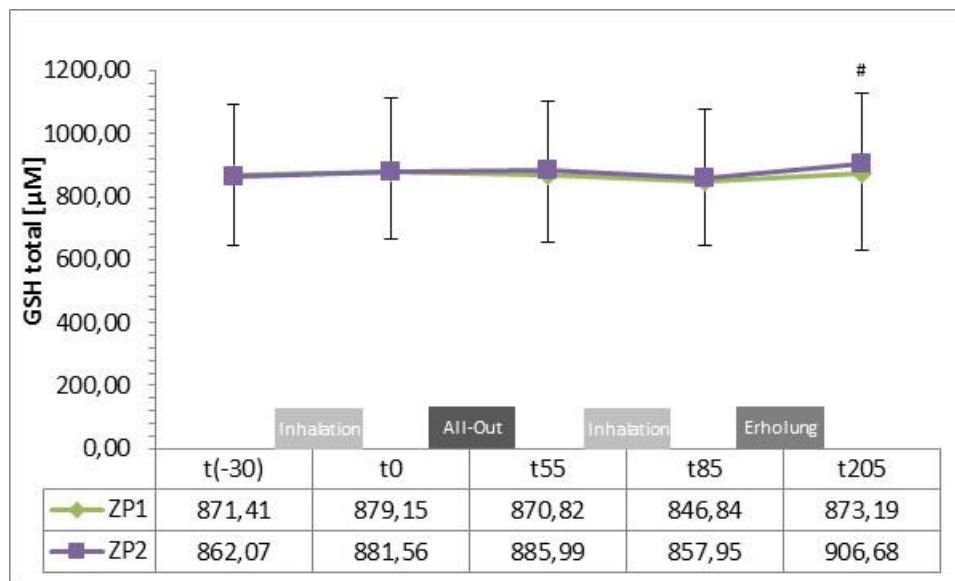


Abbildung 56: GSH total (GSH und GSSG) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{##} $p<0,01$; ^{###} $p<0,001$)

7.9.2 GSSG (OXIDIERTER FORM)

Sowohl zwischen den beiden Testungen als auch im Zeitverlauf wurde kein signifikanter Unterschied erkennbar ($p_{t(-30)}=0,1532$, $p_{t0}=0,1767$, $p_{t55}=0,5901$, $p_{t85}=0,2834$, $p_{t205}=0,6075$) (Abb. 57).

Resultate

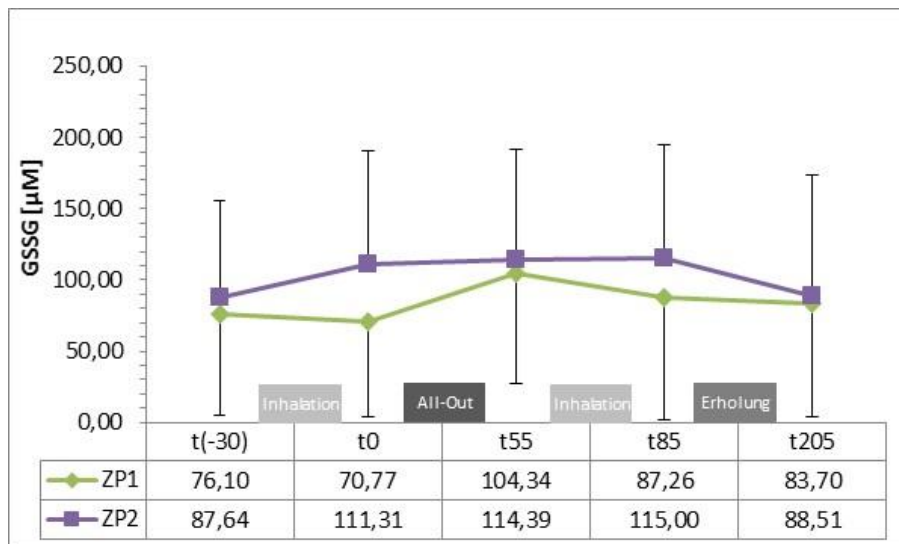


Abbildung 57: GSSG (oxidierte Form des Glutathions) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2

7.9.3 GSH (REDUZIERTER FORM)

Zwischen den beiden Testungen konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p_{t0}=0,0392$; $p_{t(-30)}=0,9160$, $p_{t55}=0,6114$, $p_{t85}=0,7418$, $p_{t205}=0,3038$) (Abb. 58).

Im Zeitverlauf gab es von dem Zeitpunkt t85 zu t205 einen signifikanten Anstieg von 8,5% ($p<0,05$).

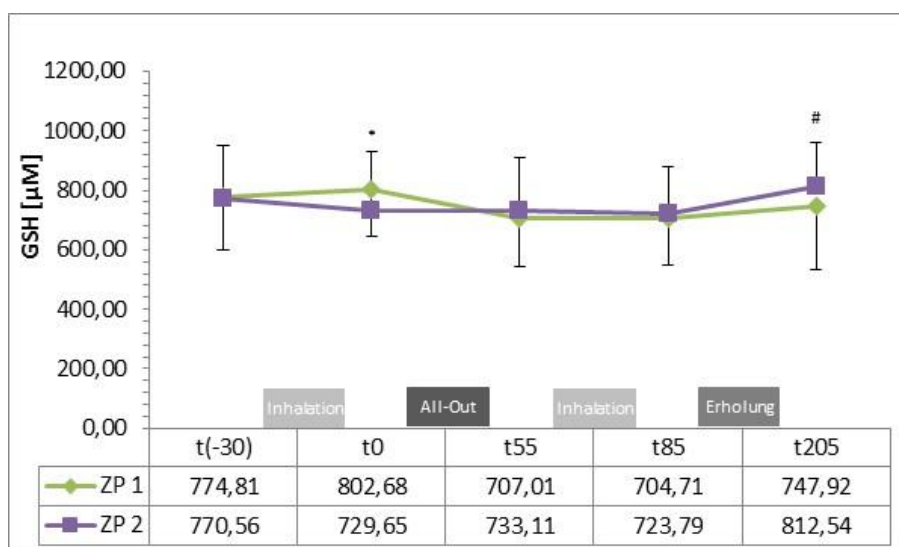


Abbildung 58: GSH (reduzierte Form des Glutathions) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 (^{*}/_# $p<0,05$; ^{**}/_{###} $p<0,01$; ^{***}/_{####} $p<0,001$)

Resultate

7.9.4 GSH/GSSG

Sowohl zwischen den beiden Gruppen als auch im Zeitverlauf wurde kein signifikanter Unterschied berechnet ($p_{t(-30)}=0,1532$, $p_{t0}=0,1767$, $p_{t55}=0,5901$, $p_{t85}=0,2834$, $p_{t205}=0,6075$) (Abb. 59).

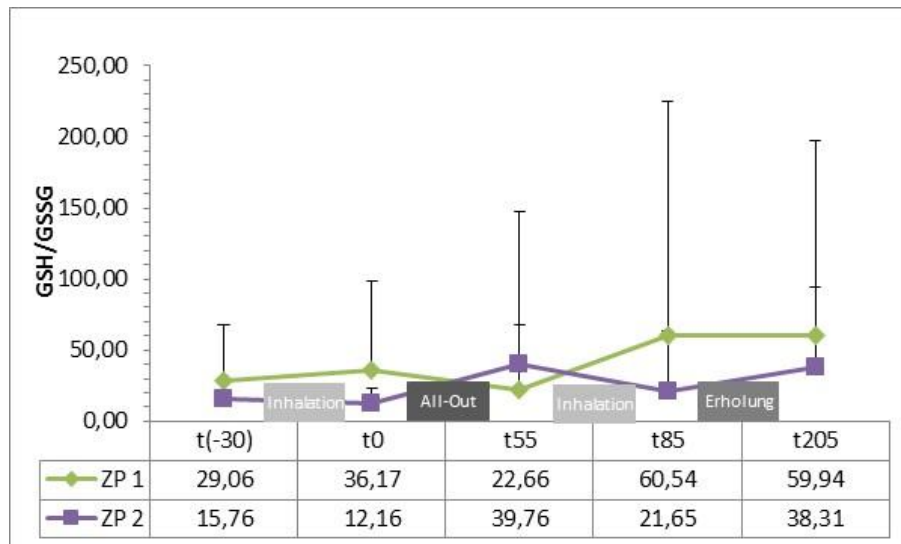


Abbildung 59: GSH/GSSG-Ratio im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2

8 DISKUSSION

Da wie bereits eingangs beschrieben noch keine wissenschaftlichen Studien bei Sportlern mit dem NanoViTM-Inhalationsgerät öffentlich vorliegen, war es die Intention dieser Studie, eine mögliche Wirkung mittels objektiver wissenschaftlicher Methoden aufzuzeigen. Die Untersuchung fand in Kooperation mit der Vertriebsfirma des NanoViTM-Geräts statt. Der Interessensschwerpunkt galt dem Einfluss des Inhalationsgeräts auf den Organismus, die sportliche Betätigung, den oxidativen Stress, das Immunsystem und die Regeneration, was auch für weitere Anwendungen in diesem Bereich von Nutzen sein kann.

Ziel der vorliegenden Interventionsstudie war es, die Auswirkung der NanoViTM-Inhalation nach einer intensiven Trainingseinheit (Laufen) auf mechanistischer Ebene (oxidative Stressparameter und Immunfunktion), sowie aufgrund des subjektiven Ermüdungsempfindens bei Sportlern zu untersuchen. Dies sollte mitunter Aufschluss über die Regenerationsfähigkeit geben. Bei den Leistungsparametern der Herzfrequenz, der maximalen Sauerstoffaufnahme, der BORG-Skala und der Abbruchzeit konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Interventionsgruppe und der Placebo-Gruppe festgestellt werden.

In Anbetracht der maximalen Sauerstoffaufnahme in Prozent (zwischen 81-84%) ist zu erkennen, dass diese leicht über dem geplanten Wert von 70-75% lag. Eine mögliche Ursache dieses Unterschieds könnte die Tatsache sein, dass der Leistungstest, der die Grundlage der Ausgangsgeschwindigkeit des All-Out-Tests darstellte, von nur sehr kurzer Belastungszeit war. Insgesamt brachen die Probanden die Belastung nach knapp über 50 Minuten ab, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen feststellbar war.

In einer Studie von Nikolaidies et al. (2012) wird die Oxidation von Proteinen bei einem fast identen Protokoll (45 Minuten bei 70-75% und dann 90% der VO₂max bis zur Ausbelastung) festgestellt. Ähnliche Ergebnisse mit diesem Protokoll konnten auch bei anderen Redox-Biomarkern, wie beispielsweise GSH/GSSG, TBARS, TAC, etc., erlangt werden (Michailidies et al., 2007; Nikolaidies et al., 2006). Dies bestätigt, dass das Belastungsprotokoll richtig gewählt wurde, um Auslenkungen in diesen Parametern prinzipiell zu induzieren.

Der Laktatspiegel fiel zwischen der ersten Inhalation und kontinuierlich nach Beendigung der Belastung in beiden Gruppen signifikant ab. Von t(-30) zu t0 wurde kein signifikanter Unterschied festgestellt. Der signifikante Abfall wurde somit durch die 15-minütige

Diskussion

Erholung hervorgerufen. Nach dem Ausbelastungstest konnte hier ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen berechnet werden. Die Werte waren durch die NanoVi™-Inhalation nach der Belastung zu allen fünf Zeitpunkten signifikant geringer. Die eingangs beschriebene Hypothese der Laktatreduzierung von den Herstellern des Gerätes kann somit bestätigt werden. Jedoch steht dies nicht im Zusammenhang mit einer längeren Belastungszeit oder mit dem subjektiven Belastungsempfinden. So stellt sich die Frage, inwieweit dies für den Sportler bzw. die Sportlerin von Relevanz ist. Die Höhe des Laktatspiegels gibt Auskunft über die Ausdauerleistungsfähigkeit. So geht *„der erniedrigte Laktatspiegel [...] mit einem hohen Anteil aerober Energiebereitstellung einher und weist somit auf eine hohe Ausdauerleistungsfähigkeit hin“* (Weineck, 2010, S 320). Bei zunehmend verbessertem Trainingszustand bei gleicher Belastung sinkt die Produktionsrate des Laktats, wodurch über die muskuläre Ermüdung Auskunft gegeben wird (Weineck, 2010).

Pinar et al. (2012) verglichen die Auswirkungen von unterschiedlichen Regenerationsmaßnahmen, wie Massage und Elektrostimulation, sowie passiver Erholung auf den Laktatspiegel. Zuerst führten die Probanden sechs hoch intensive Trainingseinheiten zu je 30 Sekunden am Radergometer durch, gefolgt von einer der aufgezählten Regenerationsmaßnahmen. Im Anschluss absolvierten sie einen Wingate-Test. Laktat wurde zu vier Zeitpunkten (vor und nach der ersten Trainingseinheit bzw. vor und nach dem Wingate-Test) entnommen. Zu keinem Zeitpunkt unterschied sich die Laktatkonzentration zwischen den Interventionen signifikant. Die Autoren stellten fest, dass die gewählten Regenerationsmaßnahmen gegenüber der passiven Erholung keine Leistungssteigerung hervorriefen. (Pinar et al., 2012) In dieser Untersuchung wurde auch vor einer körperlichen Belastung eine Regenerationsmaßnahme durchgeführt, die jedoch keinen Einfluss auf den Laktatspiegel hatte. Dieses Ergebnis unterscheidet sich von der vorliegenden Studie. Dies könnte bedeuten, dass eine Inhalation mit dem NanoVi™-Gerät einen Einfluss auf den Stoffwechsel hat, wobei die Wirkung schon durch die erste Inhalation (vor der Belastung) ausgelöst werden musste.

Einen weiteren Ansatz zeigt die Studie von Sattler & Walenta (2007), die den Laktatspiegel mit den Redoxstatus bei malignen Tumoren in Verbindung brachten. Wie bereits bekannt ist, kann erhöhter oxidativer Stress zu Erkrankungen, wie Krebs, führen. Diese Studie stellt fest, dass Tumore mit einem hohen Laktatspiegel in Zusammenhang mit einer höheren Aggressivität und höheren Malignitätsgrad gebracht wird. Aus dieser Theorie heraus wird auf die Beziehung zwischen dem Energiestoffwechsel, dem Glutathionsystem und der Entgiftung von reaktiven Sauerstoffspezies geschlossen (s. Abb. 60). Laut Sattler & Walenta (2007) ist *„das Laktat/Pyruvat-Verhältnis ein indirekter*

Diskussion

Parameter für die Charakterisierung des Redoxstatus in einer Zelle oder in einem Gewebe“. Somit könnte dieser niedrigere Laktatwert durch eine NanoVi™-Inhalation mit einem geringeren oxidativen Stress in Beziehung stehen, was allerdings nicht durch ein verändertes GSH/GSSG Verhältnis belegt werden konnte.

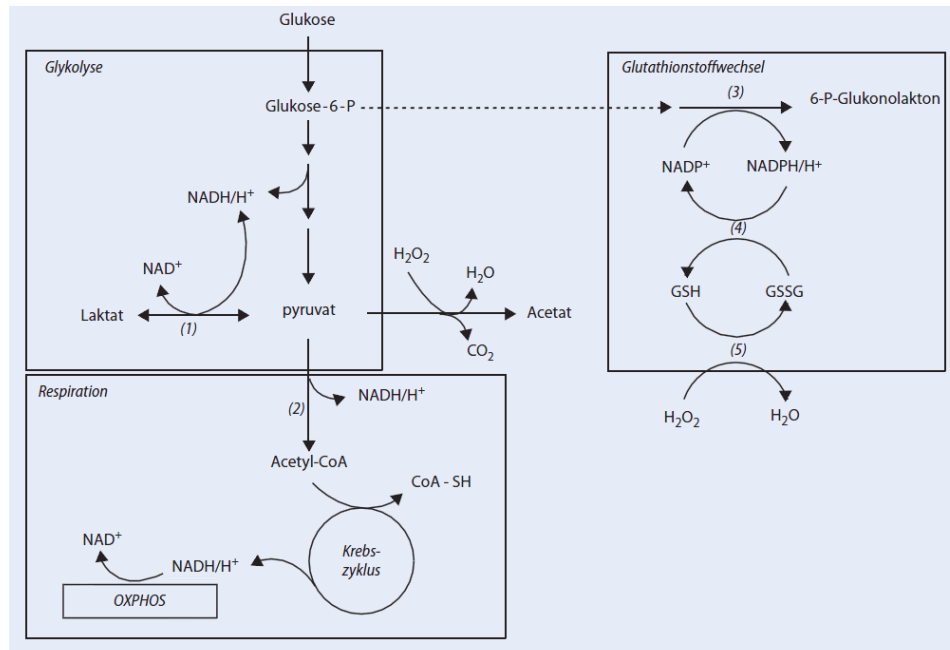


Abbildung 60: Beziehung zwischen Energiestoffwechsel (Glykolyse und Respiration), Glutathionsystem und Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies (z.B. Wasserstoffperoxid). Als Ketosäure fungiert Pyruvat in der Reaktion mit Wasserstoffperoxid als Antioxidans ((1) LDH=Laktatdehydrogenase, (2) PDH=Pyruvatdehydrogenase, (3) G6P-DH=Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, (4) GSH-Reduktase, (5) GSH-Peroxidase, OXPHOS=oxidative Phosphorylierung) (nach Sattler & Walenta, 2007, Abb. 2)

Weiters zeigt die Studie von Bihn (2001) die Korrelation zwischen dem oxidativen Stressmarker MDA und der Laktatkonzentration. Gegen Ende der intensiven Belastung (70-80% der maximalen Leistung für 35 Minuten) stieg sowohl die Konzentration der MDA an, als auch die des Laktats, was somit auf eine erhöhte Schädigung von Membranlipiden und -proteinen zurückzuführen ist.

Der primäre untersuchte immunologische Blutparameter waren die Leukozyten. Hier kann man in der Zeitkinetik eine Reaktion auf den All-Out-Test erkennen. Dies bestätigt das richtig gewählte Belastungsprotokoll, da das Immunsystem in beiden Gruppen offensichtlich aktiviert wird. Bei den Leukozyten konnte nach der zweiten Inhalation (t85) ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen festgestellt werden. Der Wert der NanoVi™-Inhalation war signifikant höher ($p_{t85}=0,0331$). Die im Theorieteil zuvor beschriebene charakteristische biphasische Verschiebung (McCarthy & Dale, 1988; Pedersen & Toft, 2000; Koch, 2010) ist im Zeitverlauf der Leukozyten nur leicht

Diskussion

ausgeprägt. Die Werte stiegen zwar während der Belastung signifikant um 23,3% an, es kam jedoch während der Regeneration nur zu einem geringen Abfall ohne Signifikanz. Nach der zwei-stündigen Regeneration stieg der Wert um 40,5% hoch signifikant an. Fisher et al. (2011) hingegen, die die Leukozyten und oxidative Stress-Marker nach High-Intensity-Training bestimmten, konnten zwar einen signifikanten Anstieg nach der Belastung feststellen, jedoch reduzierte sich die Anzahl drei bzw. 24 Stunden nach der Belastung. Dies wird auf die intensive Trainingsbelastung zurückgeführt. (Fisher et al., 2011) Um nun diesem Mechanismus auf den Grund zu gehen, werden die Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten näher betrachtet, da jede Untergruppe der Leukozyten eine bestimmte Aufgabe hat.

Im Zeiteffekt der Lymphozyten-Anzahl ist diese charakteristische biphasische Verschiebung signifikant zu erkennen (McCarthy & Dale, 1988; Pedersen & Toft, 2000; Koch, 2010) und zwar folgendermaßen: ein signifikanter Anstieg während der Belastung um 23,1% und ein signifikanter Abfall bis unterhalb der Baseline um 42,7% in der Erholungsphase, der jedoch nach zwei Stunden Regeneration um 11,5% signifikant wieder anstieg. Dieses Muster spiegelt das Modell des „Open Window“, wie in Kapitel 3.2. beschrieben wurde, wieder, wodurch eine Immunsuppression nach Belastungsende hervorgerufen wird. Den typischen Verlauf bestätigen auch Fisher et al. (2010). Weiters ist zu erwähnen, dass in beiden Gruppen die Werte der Lymphozyten zwischen $t(-30)$ und t_0 signifikant um 11,9% abfielen. Dies könnte auf die 15-minütige sitzende Erholungsphase in beiden Gruppen zurückzuführen sein.

Auch bei der Zeitkinetik der Monozyten ist der typisch geringe signifikante Anstieg von 21,1% während der Belastung berechnet worden ($p=0,002$), der nach zwei Stunden Erholung hoch signifikant um 45,4% anstieg. Da Monozyten in erster Linie die Aufgabe haben, Krankheitserreger abzuwehren und auch in der Entzündungsreaktion des Muskelgewebes involviert sind, die durch Schädigung aufgrund körperlicher Belastung hervorgerufen werden, weist dieser Anstieg auf eine erhöhte Tätigkeit der Immunzellen hin. (Woods & Davis, 1994; Koch, 2010) Nach der zweiten Inhalation unterschieden sich die Werte der beiden Gruppe signifikant: Die NanoViTM-Inhalation zeigte einen signifikant höheren Wert als die Placebo-Inhalation ($p_{t85}= 0,0229$). Der Literatur zufolge könnte dies auf eine Verbesserung des Immunstatus nach NanoViTM-Inhalation hinweisen.

Der Wert der Granulozyten stieg nach der Belastung um 23,1% kontinuierlich an. Dies spiegelt die erhöhte Abwehrbereitschaft, wie in Kapitel 3.1.1. erläutert wurde, wieder, und wird in einigen Studien bestätigt (Fisher et al., 2011). Ein signifikanter Unterschied konnte zum Zeitpunkt t_{85} zwischen den beiden Gruppen statistisch berechnet werden. Der

Diskussion

Durchschnittswert der NanoViTM-Inhalation war signifikant höher als bei Placebo ($p_{t85}=0,0205$). Der erläuternden Theorie zufolge kann nun auch hier eine erhöhte Abwehrbereitschaft der Granulozyten durch eine NanoViTM-Inhalation erreicht werden, da Viren und Bakterien schneller bekämpft werden können.

Ein weiterer Ansatz ist der „Oxidative Burst“ in dem die Granulozyten und Makrophagen involviert sind. Nieman (1997) konnte in seiner Studie feststellen, dass die Veränderungen des Immunsystems aufgrund intensiven Ausdauertrainings auf die verminderte Aktivität des „oxidativen Bursts“ der Granulozyten zurückzuführen ist. Übertragen auf diese Studie, kann der erhöhte Wert durch die NanoViTM-Inhalation bedeuten, dass somit der oxidative Burst höher ist, wodurch die Immunfunktion verbessert wird. Dadurch ist eine erhöhte Produktion von ROS möglich. Die Vor- und Nachteile einer erhöhten Produktion wurden bereits im Kapitel 2.4. beschrieben. Die aktuelle Literatur plädiert bei geringer bis moderater Konzentration für einen positiven Einfluss von ROS (Dröge, 2002; Valko et al., 2007; Kunwar & Priyadarsini, 2011).

In Anbetracht zur Regeneration soll die Studie von Stacey et al. (2010) die Bedeutung von Regenerationsmaßnahmen auf das Immunsystem verdeutlichen. Die Autoren verglichen in ihrer Studie die Kryotherapie, die aktive Erholung und die Ruhephase nach einer intensiven Trainingseinheit am Radergometer. In Hinblick auf verschiedene Blutparameter konnten die Autoren feststellen, dass die Gesamtleukozytenanzahl eine Stunde nach der Kryotherapie um 22% signifikant höher war als bei den beiden anderen Interventionen. Sie schließen somit auf eine verbesserte Mobilisation der Immunzellen durch diese Regenerationsmaßnahme. (Stacey et al., 2010)

Die Hämatokrit- und Hämoglobinwerte hingegen unterschieden sich nicht zwischen den beiden Gruppen. Bei der Zeitkinetik des Hämatokrit-Wertes konnte bereits nach der ersten Inhalation ein signifikanter Abfall von 1,8% berechnet werden ($p=0,002$). Dies kann auf die sitzende Erholungsphase zurückzuführen sein. Nach der Belastung stieg dieser Wert um 1,9% signifikant an, aber flachte bereits nach der zweiten Inhalation signifikant um 2,5% ab. Dieses Verhalten ist typisch für den Hämatokrit-Wert. Während der Belastung steigt dieser kontinuierlich an, wobei er in der Erholungsphase sinkt (Schmidt et al., 2000; Schmidt, 2002). Weber (2012) hingegen konnte in seiner Studie nach einem Marathon keine signifikante Änderung des Hämatokrit-Wertes erkennen. Hier wird erläutert, dass dieser Wert kein konstanter sei, da er durch Körperkonstitution, Tageszeit, Art der sportlichen Belastung und Umweltbedingungen beeinflusst wird. Weiters wird auch auf den guten Trainingszustand der getesteten Personen rückgeschlossen. Erst nach

Diskussion

einem Tag wurde ein Abfall um 5,84% festgestellt ($p < 0,001$), woraus eine Plasmavolumenvermehrung abgeleitet werden kann. (Weber, 2012)

Die Individualität spielt hier somit eine große Rolle. Laut Schmidt (2002) können „*auch ohne Dopingmaßnahmen individuell hohe Hämatokritwerte auftreten*“, wobei durch „*Blut- und EPO-Doping [...] der Hämatokrit aufgrund der selektiven Erhöhung des Erythrozytenvolumens*“ ansteigt. (Schmidt, 2002)

Die Hämoglobin-Werte sanken von 2,3% nach der ersten Inhalation hoch signifikant ($p < 0,01$). Im Anschluss fand ein signifikanter Anstieg von 2,1% statt, der jedoch in der Erholungsphase kontinuierlich abfiel. Zwischen den beiden Gruppen konnte kein signifikanter Unterschied berechnet werden. Diesen Zeitverlauf verzeichnete auch Weber (2012) in seiner Studie. Nach einer Ausdauerbelastung stieg der Hämoglobin-Wert um 1,15% ($p < 0,05$) an. Nach 24 Stunden sank dieser wieder um 4,98% ($p < 0,05$). (Weber, 2012)

Als oxidativer Stressparameter wurde das GSH total (GSH+GSSG), die oxidierte Form (GSSG), die reduzierte Form (GSH) und die Ratio GSH/GSSG herangezogen. In keinem dieser Werte war ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen oder in der Zeitkinetik zu erkennen. In der Studie von Michailidis et al. (2007), die einem ähnlichen Protokoll (45 Minuten bei 70-75% $VO_2\text{max}$ mit anschließender Intensitätssteigerung auf 90% der $VO_2\text{max}$ bis zur Erschöpfung) zugrunde liegt, konnten in diesem Parameter signifikante Veränderungen in der Zeitkinetik analysiert werden. Die größten Veränderungen der Werte konnten nach der zweistündigen Erholung berechnet werden: die GSH-Konzentration reduzierte sich um 63% ($p = 0,001$), die GSSG-Konzentration stieg um 38% ($p = 0,002$) und das Verhältnis GSH/GSSG zeigte einen Abfall von 73% ($p < 0,001$). (Michailidis et al., 2007) Auch die Studie von Smith et al. (2011), bei denen die Probanden für 40 Minuten mit 70-75% der $VO_2\text{max}$ laufen mussten, stellten Veränderungen im Verlauf des GSH-Spiegels fest. Nach dem Training sank der GSH-Wert signifikant und stieg zwei Stunden danach signifikant an ($p < 0,01$). (Smith et al., 2011) Diesem zufolge können die nahezu kontinuierlich gleichbleibenden Werte in der vorliegenden Studie weder auf das Belastungsprotokoll noch auf die falsch gewählten Marker geschlossen werden. Interessant ist, dass speziell bei den GSSG-Messungen eine hohe Varianz zu verzeichnen war, was entweder auf große individuelle Unterschiede oder auf Schwierigkeiten bei der Analyse hinweist.

Der Einfluss des Zeitpunktes auf die unterschiedlichen Parameter wurde in dieser Studie mit einberechnet. Zu Beginn der Studie war die Annahme, dass Unterschiede zwischen

Diskussion

dem Zeitpunkt 1 und Zeitpunkt 2 auftreten könnten – aufgrund der Verbesserung des Trainingszustandes, durch Gewöhnung an den Belastungstest oder durch unterschiedlich lange Zeitabstände. Es ist jedoch zu erkennen, dass es in keinem Wert einen signifikanten Unterschied gibt. Dies bestätigt wieder, dass die Probanden trotz unterschiedlicher Zeitabstände (ein bis zwei Wochen) das Ernährungs- und Trainingstagebuch befolgt haben.

9 CONCLUSIO

Die vorliegende Arbeit stellt die erste wissenschaftlich fundierte Studie zu dem Thema der Auswirkung auf den Organismus durch die Technologie der bioidentischen Signaltransduktion mittels NanoVi™-Inhalation in Bezug zu körperlicher Betätigung dar.

Die Forschungsfrage *„Wie wirkt sich eine Inhalation mit dem NanoVi™-Gerät auf die Regenerationsfähigkeit – gemessen an Änderungen des Redox-Gleichgewichts, der Immunantwort und des subjektivem Ermüdungsempfindens – nach einer intensiven Trainingseinheit aus?“* kann nun aus der statistischen Auswertung beantwortet werden. Es findet durch eine NanoVi™-Inhalation eine Reaktion auf mechanistischer Ebene statt. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der Studie signifikante Effekte auf das Immunsystem und den Laktatspiegel. Das Immunsystem kann durch eine 15-minütigen NanoVi™-Inhalation nach der Belastung beeinflusst werden. Die Laktatkonzentration kann bereits durch eine 15-minütige NanoVi™-Inhalation vor der Belastung gesenkt werden. Dies zeigt somit, dass die Regenerationsfähigkeit beeinflusst wird, wobei noch weitere Untersuchungen für detaillierte Ergebnisse und konkreter Aussagen von großer Bedeutung wären.

Es können noch weitere Analysen aus dem Serum und dem Plasma, der RNA der Immunzellen und den Erythrozyten, die von den Interventionen konserviert wurden, durchgeführt werden. Hier wären unterschiedliche Forschungsansätze von Interesse, wie zum Beispiel die Untersuchung des Energiestoffwechsels, die Untersuchung anderer oxidativer Stressparameter oder die Untersuchung der immunologischen Wirkungen.

Weitere Studien, die den Zusammenhang zwischen körperlicher Aktivität und NanoVi™-Inhalation näher untersuchen, wären von großer Relevanz. Möglichkeiten sind zum Beispiel die Dauer der Inhalation zu verlängern oder diese auf mehrmalige Anwendungen in einem längeren Zeitraum auszuweiten. Untersuchungen können auch mit einer anderen Zielgruppe, wie Frauen oder Leistungssportlern bzw. Leistungssportlerinnen, sowie ältere Personen abzielen.

Die Initialzündung für diesen Forschungsbereich „NanoVi™-Inhalationsgerät und Sport“ ist nun gegeben, wobei es noch viele offene Fragen zu klären gibt.

Abschließend möchte ich noch meine persönlichen Erfahrungen zu dieser Studie erläutern.

Conclusio

Diese Studie meiner Magisterarbeit gab mir einen Einblick ins empirische wissenschaftliche Arbeiten. Ich konnte die Durchführung – von der Planung des Studienprotokolls, der Organisation der Probanden, die Durchführung der Interventionen, unerwartete Problematiken, Analysen, statistische Berechnungen bis hin zur Literaturrecherche und Ergebnisauswertung – kennenlernen. Auch wenn zeitliche Verzögerungen, unbedachte Probleme und organisatorische Kollisionen auftraten, wodurch die Studie sehr zeitintensiv wurde, konnte ich die Notwendigkeit des wissenschaftlichen Arbeitens erfahren. Es war für mich äußerst interessant den kompletten Ablauf einer wissenschaftlichen Studie mitzerleben. Ich kann mir vorstellen, von diesem erworbenen Wissen auch in meiner weiteren beruflichen Laufbahn Gebrauch zu machen.

LITERATURVERZEICHNIS

- Ashton, T., Rowlands, C. C., Jones, E., Young, I. S., Jackson, S. K., Davies, B., & Peters, J. R. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 77(6), 498-502.
- Babior, B.M. (2004). NADPH oxidase. *Curr Opin Immunol*, 16(1), 42-47.
- Barnett, A. (2006). Using recovery modalities between training sessions in elite Athletes: does it help?. *Sports Med*, 36(9), 781-96.
- Bergendi, L., Beneš, L., Ďuračková, Z., & Ferenčík, M. (1999). Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life sciences*, 65(18), 1865-1874.
- Bihn, D. (2001). *Oxidative Schäden an Membranlipiden und -proteinen in Abhängigkeit von körperlicher Belastung*. Dissertation. Freie Universität Berlin.
- Borg, G. A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Med sci sports exerc*, 14(5), 377-381.
- Brousseau, P. et al. (1998). *Manual of Immunological Methods*. Montreal: CRC Press.
- Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors*, 6(4), 391-397.
- Chance, B., Sies, H., & Boveris, A. (1979). Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*, 59(3), 527-605.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical chemistry*, 52(4), 601-623.
- Desmet, K. D., Paz, D. A., Corry, J. J., Eells, J. T., Wong-Riley, M. T., Henry, M. M., et al. (2006). Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation. *Photomedicine and Laser Therapy*, 24(2), 121-128.
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2001). Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Neurosignals*, 10(1-2), 125-140.
- Dizdaroglu, M., Jaruga, P., Birincioglu, M., & Rodriguez, H. (2002). Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1102-1115.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, 82(1), 47-95.
- Durackova, Z. (2010). Some current insights into oxidative stress. *Physiol. Res.*, 59, 459-469.
- Elkuni et al. (2014). *Studies on Periodontal Disease*. New York: Springer Science & Business Media.
- Elstner, E. (1990). *Der Sauerstoff: Biochemie, Biologie, Medizin*. BI-Wiss.-Verl.: Mannheim, Wien, Zürich.
- Emminger, H. (2005). *Physikum exakt: das gesamte Prüfungswissen für die 1. ÄP*. Thieme Verlag: Stuttgart.
- Eng3 Corporation. (2010). *User Manual: NanoViTM and NanoVi ProTM*. Seattle: Eng3 Life Science Technology.
- Ernst, E. (1998). Does post-exercise massage treatment reduce delayed-onset muscle soreness? A systematic review. *Br J Sports Med*, 32(3), 212-214.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A. G., & Buchner, A. (2007). G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior research methods*, 39(2), 175-191.

Literaturverzeichnis

- Fehrenbach, E., & Northoff, H. (2001). Free radicals, exercise, apoptosis, and heat shock proteins. *Exercise immunology review*, 7, 66-89.
- Field, T., Hernandez-Reif, M., Diego, et al. (2005). Cortisol decreases and serotonin and dopamine increase following massage therapy. *Int J Neurosci*, 115(10), 1397–1413.
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress. *Sports medicine*, 36(4), 327-358.
- Firuzi, O., Miri, R., Tavakkoli, M., & Saso, L. (2011). Antioxidant therapy: current status and future prospects. *Current medicinal chemistry*, 18(25), 3871-3888.
- Fisher, G., Schwartz, D. D., Quindry, J., Barberio, M. D., Foster, E. B., Jones, K. W., & Pascoe, D. D. (2011). Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *Journal of Applied Physiology*, 110(3), 730-737.
- Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8(1), 1.
- Freidenreich, D. J., & Volek, J. S. (2012). Immune responses to resistance exercise. *Exerc Immunol Rev*, 18, 8-41.
- Friedrich, W. & Moeller, H. (1999). Zum Problem der Superkompensation. *Leistungssport*, 2(95): 52-55.
- Fröhlich, P. D. M. (2012). Überlegungen zur Trainingswissenschaft. *Sportwissenschaft*, 42(2), 96-104.
- Fry, R. W., Morton, A. R., & Keast, D. (1991). Overtraining in athletes. *Sports Medicine*, 12(1), 32-65.
- Fry, RW., Morton, AR., Garcia-Webb P, et al. (1992). Biological responses to overload training in endurance sports. *Eur J Appl Physiol*, 64, 335-44.
- Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Milzani, A., & Rossi, R. (2011). Detection of glutathione in whole blood after stabilization with N-ethylmaleimide. *Analytical biochemistry*, 415(1), 81-83.
- Gleeson, M. (2006). *Immune Function in Sport and Exercise*. Elsevier Health Sciences: Philadelphia.
- Gomes, E. C., Silva, A. N., & Oliveira, M. R. D. (2012). Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012.
- Gomez-Cabrera, M. C., Domenech, E., & Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 126-131.
- Graf, G. & Rost, R. (2012). *Lehrbuch Sportmedizin: Basiswissen, präventive, therapeutische und besondere Aspekte*. (2. Auflage). Köln: Deutscher Ärzteverlag.
- Gupta, A., Avci, P., Sadasivam, M., Chandran, R., Parizotto, N., Vecchio, D., et al. (2013). Shining light on nanotechnology to help repair and regeneration. *Biotechnology advances*, 31(5), 607-631.
- Gutsch, I. (2013). Bioidentical signaling therapy: a new way to guide and strengthen the body's own oxidative cell protection and repair mechanisms. *Townsend Letter*, Dec. 2013, 86-90.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J. (2007). *Free Radicals in Biology and Medicine*. (4th ed.). New York: Oxford University Press.
- Halliwell, B. (2007). Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150.
- Heyward, V. H. & Gibson, A. (2014). *Advanced Fitness Assessment and Exercise Prescription*. (7. Ed.). Human Kinetics.
- Hopkins, WG (2005). A spreadsheet for fully controlled crossovers. *Sportscience*, 9.

Literaturverzeichnis

- Jaganjac et al. (2012). Even stressed cells are individuals: second messengers of free radicals in pathophysiology of cancer. *Croatian Medical Journal*, 53(4), 304–309.
- Janaszewska, A., & Bartosz, G. (2002). Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scandinavian journal of clinical & laboratory investigation*, 62(3), 231-236.
- Ji, L. L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. In *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine, 222(3), 283-292.
- Jones, D. P. (2006). Redefining oxidative stress. *Antioxidants & redox signaling*, 8(9-10), 1865-1879.
- Kaminsky, L. A., & Whaley, M. H. (1998). Evaluation of a new standardized ramp protocol: the BSU/Bruce Ramp protocol. *Journal of Cardiopulmonary Rehabilitation and Prevention*, 18(6), 438-444.
- Karaouzene N, Merzouk H, Aribi M, et al. (2011). Effects of the association of aging and obesity on lipids, lipoproteins and oxidative stress biomarkers: A comparison of older with young men. *Nutr Metab and Cardiovasc Dis*, 21(10), 792–729.
- Kellmann, M. (2010). Preventing overtraining in athletes in high-intensity sports and stress/recovery monitoring. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 20(s2), 95-102.
- Koch, A. J. (2010). Immune response to exercise. *Brazilian Journal of Biomotricity*, 4(2), 92-103.
- Krohne-Ehrich, G. & Untucht-Grau, R. (1976), Glutathion. *Biologie in unserer Zeit*, 6, 175–182.
- Krüger, K., & Mooren, F. C. (2014). Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev*, 20, 117-134.
- Kruk, J. (2011). Physical Exercise and oxidative Stress. *Med Sport*, 15(1), 30-40.
- Kunwar, A., & Priyadarsini, K. I. (2011). Free radicals, oxidative stress and importance of antioxidants in human health. *Journal of Medical and Allied Sciences*, 1(2), 53-60.
- Leeder, J., Gissane, C., van Someren, K., Gregson, W., & Howatson, G. (2011). Cold water immersion and recovery from strenuous exercise: a meta-analysis. *British journal of sports medicine*, bjsports-2011.
- Mackinnon, LT (1999). *Advances in Exercise Immunology*. Human Kinetics.
- Mates JM. (2000). Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*; 153:83-104.
- McCarthy, DA & Dale, MM. (1988). The leucocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med*, 6,333–63.
- Meister, A. & Anderson, ME. (1983). Glutathione. *Annu Rev Biochem*, 52, 711–760.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiriou, I., & Kouretas, D. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Medicine and science in sports and exercise*, 39(7), 1107-1113.
- Montgomery, P. G., Pyne, D. B., Hopkins, W. G., Dorman, J. C., Cook, K., & Minahan, C. L. (2008). The effect of recovery strategies on physical performance and cumulative fatigue in competitive basketball. *Journal of sports sciences*, 26(11), 1135-1145.
- Nédélec, M., McCall, A., Carling, C., Legall, F., Berthoin, S., & Dupont, G. (2013). Recovery in Soccer. *Sports medicine*, 43(1), 9-22.
- Nielsen, H. G. (2013). Exercise and Immunity. *Current Issues in Sports and Exercise Medicine*. 121-140.
- Nieman, D. C. (1994). Exercise, infection, and immunity. *International Journal of Sports Medicine*, 15(S 3), 131-S141.
- Nieman, D. C. (1997). Immune response to heavy exertion. *Journal of applied physiology*, 82(5), 1385-1394.

Literaturverzeichnis

- Nikolaidis, M. G., & Jamurtas, A. Z. (2009). Blood as a reactive species generator and redox status regulator during exercise. *Archives of biochemistry and biophysics*, 490(2), 77-84.
- Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Dipla, K., Zafeiridis, A., Sambanis, M., Grivas, G. V., ... & Vrabas, I. S. (2012). Exercise as a model to study redox homeostasis in blood: the effect of protocol and sampling point. *Biomarkers*, 17(1), 28-35.
- Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Hadziioannou, M., Panou, N., Samaras, L., Jamurtas, A. Z., & Kouretas, D. (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32(2), 197-205.
- Noble, B. J., Borg, G. A., Jacobs, I. R. A., Ceci, R., & Kaiser, P. (1982). A category-ratio perceived exertion scale: relationship to blood and muscle lactates and heart rate. *Medicine and science in sports and exercise*, 15(6), 523-528.
- Olivier, N. (2001). Eine Beanspruchungstheorie sportlichen Trainings und Wettkampfs. *Sportwissenschaft*, 31(4), 437-453.
- Pedersen, B. K., & Toft, A. D. (2000). Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *British Journal of Sports Medicine*, 34(4), 246-251.
- Petibois, C., Cazorla, G., Poortmans, J. R., & D  leris, G. (2003). Biochemical aspects of overtraining in endurance sports. *Sports medicine*, 33(2), 83-94.
- Pinar, S., Kaya, F., Bicer, B., Erzeybek, M. S., & Cotuk, H. B. (2012). Different recovery methods and muscle performance after exhausting exercise: comparison of the effects of electrical muscle stimulation and massage. *Biology of Sport*, 29(4), 269.
- Pournot, H., Bieuzen, F., Duffield, R., Lepretre, P. M., Cozzolino, C., & Hausswirth, C. (2011). Short term effects of various water immersions on recovery from exhaustive intermittent exercise. *European journal of applied physiology*, 111(7), 1287-1295.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*, 88(4), 1243-1276.
- Powers, S. K., Nelson, W. B., & Hudson, M. B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 942-950.
- Poyton, R. O., & Ball, K. A. (2011). Therapeutic photobiomodulation: nitric oxide and a novel function of mitochondrial cytochrome c oxidase. *Discovery medicine*, 11(57), 154-159.
- Preiser, J. C. (2012). Oxidative stress. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(2), 147-154.
- Prior, R. L., & Cao, G. (1999). In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11), 1173-1181.
- Radak, Z. (2000). *Free Radicals in Exercise and Aging*. Human Kinetics.
- Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., & Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing research reviews*, 7(1), 34-42.
- Rad  k, Z., Kaneko, T., Tahara, S., Nakamoto, H., Ohno, H., Sasv  ri, M., ... & Goto, S. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(1), 69-74.
- Radak, Z., Zhao, Z., Koltai, E., Ohno, H., & Atalay, M. (2013). Oxygen consumption and usage during physical exercise: the balance between oxidative stress and ROS-dependent adaptive signaling. *Antioxidants & redox signaling*, 18(10), 1208-1246.
- Reilly, T. & Ekblom, B. (2005). The use of recovery methods post-exercise. *J Sports Sci* 23, 619-627.
- Richardson, S. O., Andersen, M. B., & Morris, T. (2008). *Overtraining athletes: Personal journeys in sport*. Human Kinetics.
- Ridnour, L. A., Thomas, D. D., Mancardi, D., Espey, M. G., Miranda, K. M., Paolocci, N., ... & Wink, D. A. (2004). The chemistry of nitrosative stress induced by nitric oxide and

Literaturverzeichnis

- reactive nitrogen oxide species. Putting perspective on stressful biological situations. *Biological chemistry*, 385(1), 1-10.
- Rimbach, G., Höhler, D., Fischer, A., Roy, S., Virgili, F., Pallauf, J., & Packer, L. (1999). Methods to assess free radicals and oxidative stress in biological systems. *Archiv für Tierernährung*, 52(3), 203.
- Robertson, A., Watt JM. & Galloway, SD. (2004). Effects of leg massage on recovery from high intensity cycling exercise. *Br J Sports Med*, 38(2), 173–176.
- Roitt, IM., Brostoff, J. & Male, DK. (2001). *Immunology*. 6th ed. St. Louis: Mosby.
- Sachdev, S., & Davies, K. J. (2008). Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 215-223.
- Sattler, U. G. A., & Walenta, S. (2007). Laktat und Redoxstatus in malignen Tumoren. *Der Anaesthetist*, 56(5), 466-469.
- Schmidt W, Biermann B, Winchenbach P, Lison S, Böning D V. (2000). How valid is the determination of hematocrit values to detect blood manipulations? *Int J Sports Med*, 21, 133-138.
- Schmidt, W. (2002). Hämatokrit-Standards der Sportmedizin. *Dtsch Z Sportmed*, 53(11), 325-326.
- Schmidt, W., Biermann, B., Winchenbach, P., Lison, S., & Boning, D. (2000). How valid is the determination of hematocrit values to detect blood manipulations?. *International journal of sports medicine*, 21(2), 133-138.
- Schurr, S. (2013). *Regeneration für Sportler*. Norderstedt: Books on Demand.
- Sen CK. (2000). Cellular thiols and redox-regulated signal transduction. *Curr Top Cell Regul*, 36, 1–30.
- Sen, C. K. (2001). Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. *Medicine and science in sports and exercise*, 33(3), 368-370.
- Sen, C.K., Packer, L. & Hänninen, O. (2000). *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*. Amsterdam: Elsevier.
- Sies, H. (1985). *Oxidative Stress*. London: Academic Press.
- Sies, H., & Jones, D. P. (2007). *Oxidative stress. Encyclopedia of stress*. San Diego: Elsevier.
- Simjanovic, M., Hooper, S., Leveritt, M., Kellmann, M., & Rynne, S. (2009). The use and perceived effectiveness of recovery modalities and monitoring techniques in elite sport. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 12, 22.
- Slattery, K. M. (2012). *The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes*. Thesis. Sydney: University of Technology.
- Slattery, K., Bentley, D., & Coutts, A. J. (2014). The Role of Oxidative, Inflammatory and Neuroendocrinological Systems During Exercise Stress in Athletes: Implications of Antioxidant Supplementation on Physiological Adaptation During Intensified Physical Training. *Sports Medicine*, 1-19.
- Smith, A. E., Stout, J. R., Kendall, K. L., Fukuda, D. H., & Cramer, J. T. (2012). Exercise-induced oxidative stress: the effects of β -alanine supplementation in women. *Amino acids*, 43(1), 77-90.
- Smith, LL. (2004). Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome. *J Strength Cond Res*, 18, 185-93.
- Stacey, D. L., Gibala, M. J., Martin Ginis, K. A., & Timmons, B. W. (2010). Effects of recovery method after exercise on performance, immune changes, and psychological outcomes. *journal of orthopaedic & sports physical therapy*, 40(10), 656-665.
- Stadtman, E. R. & Levine, R. L. (2000). Protein Oxidation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 191–208.

Literaturverzeichnis

- Stadtman, E. R. (2004). Role of oxidant species in aging. *Current medicinal chemistry*, 11(9), 1105-1112.
- Tiidus PM. (1999). Massage and ultrasound as therapeutic modalities in exercise induced muscle damage. *Can J Appl Physiol*, 24(3), 267–278.
- Tiidus, P. M. (1998). Radical species in inflammation and overtraining. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 76(5), 533-538.
- Tomasits, J. & Haber, P. (2008). *Leistungsphysiologie: Grundlagen für Trainer, Physiotherapeuten und Masseur*. Wien: Springer.
- Tomasits, J. & Haber, P. (2011). *Leistungsphysiologie: Grundlagen für Trainer, Physiotherapeuten und Masseur*. (4. Auflage). Wien: Springer.
- Tsukahara, H. (2014). Oxidative Stress Biomarkers: Current Status and Future Perspective. In *Studies on Pediatric Disorders* (pp. 87-113). New York: Springer.
- Ulrich, C.M., Wiskemann, J. & Steindorf, K. (2011). Physiologische und molekulare Mechanismen der Wirkung von körperlicher Aktivität auf das Krebsrisiko und den Verlauf einer Krebserkrankung. *Bundesgesundheitsblatt*, 55, 3–9.
- Vaile, J., Halson, S., Gill, N., & Dawson, B. (2008). Effect of hydrotherapy on recovery from fatigue. *International journal of sports medicine*, 29(07), 539-544.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 39(1), 44-84.
- Vanhoutte, P.M. (2009). How We Learned to Say NO. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 29, (8), 1156-1160.
- Viru, A. (1996). Postexercise recovery period: carbohydrate and protein metabolism. *Scandinavian Journal of Medicine and Sports*, 6(1), 2-14.
- Walenta S, Schroeder T, Mueller-Klieser W (2004) Lactate in solid malignant tumors: potential basis of a metabolic classification in clinical oncology. *Curr Med Chem*, 11(16), 2195–2204
- Walsh, N. P., Gleeson, M., Shephard, R. J., Gleeson, M., Woods, J. A., Bishop, N., ... & Simon, P. (2011). Position statement part one: immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev*, 17, 6-63.
- Weber, P. (2012). Verlauf von hämorrheologischen und hämatologischen Parametern bei SportlerInnen vor und nach einem Marathonlauf. Dissertation. Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin.
- Weineck, J. (2010). *Optimales Training: Leistungsphysiologische Trainingslehre unter besonderer Berücksichtigung des Kinder-und Jugendtrainings*. Spitta Verlag GmbH & Co. KG.
- Williams, S. L., Strobel, N. A., Lexis, L. A., & Coombes, J. S. (2006). Antioxidant requirements of endurance athletes: implications for health. *Nutrition reviews*, 64(3), 93-108.
- Winterbourn CC. (2008). Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nature Chem Biol*; 4:278-286.
- Woods, J. A., & Davis, J. M. (1994). Exercise, monocyte/macrophage function, and cancer. *Medicine and science in sports and exercise*, 26(2), 147-156.
- Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., & Turner, N. D. (2004). Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of nutrition*, 134(3), 489-492.

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Reaktive Sauerstoffradikale (ROS) und deren Schädigung von Biomolekülen, wie Lipiden, DNA und Proteinen, was folglich genetische und epigenetische Veränderungen hervorrufen kann (Jaganjac et al., 2012).....	19
Abbildung 2: Auswirkung des oxidativen Stresses auf die Zellen (modifiziert nach Halliwell & Gutteridge, 2007, S. 189)	23
Abbildung 3: Mechanismus und Produkte der Lipidperoxidation. Die freie Radikalkettenreaktion führt zu Produkten der Lipidperoxidation, mit MDA (Malonyldialdehyd), Ethan und Pentan. (LH: Lipide (ungesättigte Fettsäuren; L°: Alkyl-Radikal, LOO°: Lipid-Peroxyl-Radikal (ketten-verbreitende Spezies; LO°: Lipid-Akoxyl Radikal; α-TOH: α-Tocopherol (ketten-brechendes Antioxidans) (Sachdev & Davies, 2008).....	24
Abbildung 4: Mechanismen der oxidativen Proteinschädigung und Akkumulation (Ansammlung defekter oxidierte Proteine in der Zelle). Eine Vielzahl von Wechselwirkungen ist in jedem Schritt möglich. (modifiziert nach Radak & Goto, in Radak 2000)	25
Abbildung 5: Schema der physiologischen Funktion und dem zellulären Redox-Gleichgewicht bzw. -Status. Die Form der Kurve besagt, dass es einen Redox-Status gibt, der für eine gewisse Funktion optimal ist (). Die Position der Reduktion und Oxidation ist willkürlich und vermutlich zum geregelten Prozess spezifisch. (Carmeli, Lavian & Reznick, in Radak 2000).....	26
Abbildung 6: Verknüpfung sauerstoffaktivierender und detoxifizierender Enzym-Substrat-Interaktionen in verschiedenen Kompartimenten der aeroben Zelle (Elstner, 1990, nach Sies, 1989)	27
Abbildung 7: Glutathion. Da Glutathion freie, reaktive SH-Gruppen besitzt, kann die reduzierte Form, GSH, unter Abgabe von Wasserstoff in die oxidierte Form, Glutathion-Disulfid (GSSG), übergehen. (Krohne-Ehrich & Untucht-Grau, 1976)	29
Abbildung 8: Gleichgewicht zwischen Antioxidantien und freien Radikale (modifiziert nach Nielsen, 2013)	30
Abbildung 9: Körperliche Aktivität als Antioxidans (Gomez-Cabrera, Domenech & Viña, 2008) ...	35
Abbildung 10: Hauptgruppen der Leukozyten und ihre Funktionen (Gleeson, 2006, S. 17)	37
Abbildung 11: Phagozytose: Der Eliminierungsprozess in den Phagozyten. (Gleeson, 2006, S. 22)	39
Abbildung 12: Modell neuroendokriner Mechanismen: Immunologische Veränderungen - „Open Window“ - durch körperliche Belastung (Pedersen & Toft, 2000, Fig. 2)	41
Abbildung 13: Die „Open Window“ Theorie (nach Pedersen & Ullum, 1994 aus Nielsen, 2013) ...	41
Abbildung 14: Typische Kurve der Hormesis und die Wirkungen von körperlicher Betätigung. Moderate körperliche Belastung steigert die physiologische Funktion in verschiedenen Organen, trägt zur Prävention von Erkrankungen bei und verbessert die Lebensqualität. Große Bewegungsumfänge und anstrengendes Training, sowie Übertraining erhöhen das Risiko von Erkrankungen und reduzieren physiologische Funktionen. (Radak et al., 2008).....	42
Abbildung 15: Phasen der Veränderung der Leistungsfähigkeit nach einem Belastungsreiz (Weineck, 2010, S. 52, Abb. 13):.....	43

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 16: Die unterschiedlichen Regenerationszeiten biologischer Teilsysteme (Weineck, 2010, S. 54).....	44
Abbildung 17: GSH-Konzentration in Erythrozyten nach einer nicht-muskelschädigenden Belastung (<i>offene Kreise</i>) und einer muskelschädigenden Belastung (<i>geschlossene Kreise</i>). (*signifikanter Unterschied zwischen Pre- und Post-Werte der Belastung ($p<0,05$); #signifikanter Unterschied zwischen den beiden Belastungsprotokollen ($p<0,05$)); (Nikolaidis et al., 2012; Abb. 3)	47
Abbildung 18: CK in Ruhe und bei der Erholung bei jungen und älteren ProbandInnen. (**signifikanter Unterschied zwischen Ruhe und Erholung ($p<0,01$); #signifikanter Unterschied zwischen jüngeren und älteren ($p<0,05$)) (Bouزيد et al., 2014; Abb. 6)	48
Abbildung 19: Möglicher Mechanismus der Lichttherapie, wodurch Prozesse der Reparatur und der Wiederherstellung eingeleitet werden. Das Licht wird zu Beginn durch mitochondriale Chromophore (Cytochrom-C-Oxidase) absorbiert. Dadurch wird eine gesteigerte Produktion von ATP, ROS und NO hervorgerufen. Dies wiederum bewirkt Veränderungen im Redox-Gleichgewicht, Ca^{2+} , K^+ , cAMP und pH-Wert und induziert einige Transkriptionsfaktoren (Ref-1, AP-1, NFkB, HIF-1 α). Die Photosignaltransduktion und die Verstärkungskette durch Licht führen zu einer Erhöhung der Zellproliferation (Anregung der DNA- und RNA-Synthese), Zellbeweglichkeit, Produktion von Wachstumsfaktoren und Anreicherung der extrazellulären Matrix. (Gupta et al., 2013)	51
Abbildung 20: Zeitlicher Ablauf.....	55
Abbildung 21: Darstellung des Verlaufs der relativen Sauerstoffaufnahme in Zusammenhang mit der Laufgeschwindigkeit. (hier: rel VO ₂ max = 56,9 ml/kg/min → 75% der VO ₂ max ergibt 42,7 ml/kg/min → Geschwindigkeit beträgt hier 11,9 km/h).....	56
Abbildung 22: Standardisiertes Frühstück (oben: Vollkost, unten: vegetarisch); KH (Kohlenhydrate); EW (Eiweiß)	58
Abbildung 23: Zeitlicher Ablauf des All-Out Tests.....	58
Abbildung 24: NanoVi™-Gerät (Eng3 Corporation, 2010)	59
Abbildung 25: Technische Spezifikationen (Eng3 Corporation, 2010)	60
Abbildung 26: Übersicht der Studienteilnehmer.....	69
Abbildung 27: Durchschnitt der Trainingsstunden pro Woche im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo	71
Abbildung 28: Herzfrequenz im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (# $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$)	72
Abbildung 29: Laktat-Werte im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (°/# $p<0,05$; **/### $p<0,01$; ***/### $p<0,001$)	73
Abbildung 30: Sauerstoffaufnahme im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (# $p<0,05$; ## $p<0,01$)	73
Abbildung 31: Sauerstoffaufnahme in Prozent im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (# $p<0,05$; ## $p<0,01$; ### $p<0,001$)	74
Abbildung 32: Subjektives Belastungsempfinden nach der Borg-Skala im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo	75
Abbildung 33: Abbruchzeit im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo.....	75
Abbildung 34: Weiße Blutkörperchen im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (°/# $p<0,05$; **/### $p<0,01$; ***/### $p<0,001$).....	76

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 35: Granulozyten im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (* [#] $p<0,05$; ** ^{###} $p<0,01$; *** ^{####} $p<0,001$)	77
Abbildung 36: Lymphozyten im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	78
Abbildung 37: Monozyten im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo (* [#] $p<0,05$; ** ^{###} $p<0,01$; *** ^{####} $p<0,001$)	78
Abbildung 38: Hämatokrit-Werte im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	79
Abbildung 39: Hämoglobin-Werte im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	80
Abbildung 40: GSH total (GSH und GSSG) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	81
Abbildung 41: GSSG (oxidierte Form des Glutathions) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo	81
Abbildung 42: GSH (reduzierte Form des Glutathions) im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	82
Abbildung 43: GSH/GSSG Ratio im Vergleich NanoVi™ vs. Placebo	82
Abbildung 44: Herzfrequenz im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	83
Abbildung 45: Laktat-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	84
Abbildung 46: Sauerstoffaufnahme im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	84
Abbildung 47: Sauerstoffaufnahme in Prozent im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	85
Abbildung 48: Subjektiven Belastungsempfinden nach der Borg-Skala im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2	86
Abbildung 49: Abbruchzeit im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2	86
Abbildung 50: Weiße Blutkörperchen im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	87
Abbildung 51: Granulozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	88
Abbildung 52: Lymphozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	88
Abbildung 53: Monozyten im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	89
Abbildung 54: Hämatokrit-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	90
Abbildung 55: Hämoglobin-Werte im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	90
Abbildung 56: GSH total (GSH und GSSG) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 ([#] $p<0,05$; ^{###} $p<0,01$; ^{####} $p<0,001$)	91
Abbildung 57: GSSG (oxidierte Form des Glutathions) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2	92

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 58: GSH (reduzierte Form des Glutathions) im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2 (^{*/#} $p<0,05$; ^{**/##} $p<0,01$; ^{***/###} $p<0,001$).....	92
Abbildung 59: GSH/GSSG-Ratio im Vergleich Zeitpunkt 1 vs. Zeitpunkt 2	93
Abbildung 60: Beziehung zwischen Energiestoffwechsel (Glykolyse und Respiration), Glutathionsystem und Entgiftung reaktiver Sauerstoffspezies (z.B. Wasserstoffperoxid). Als Ketosäure fungiert Pyruvat in der Reaktion mit Wasserstoffperoxid als Antioxidans ((1) LDH=Laktatdehydrogenase, (2) PDH=Pyruvatdehydrogenase, (3) G6P-DH=Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase, (4) GSH-Reduktase, (5) GSH-Peroxidase, OXPHOS=oxidative Phosphorylierung) (nach Sattler & Walenta, 2007, Abb. 2)	96

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Klassifikation und wesentliche Wirkungen der freien Radikale (Finaud, Lac & Filaire, 2006)	18
Tabelle 2: Mögliche Quellen und Produktionsorte aktivierter Sauerstoffspezies (Elstner, 1990; S. 269)	20
Tabelle 3: Angeborene und erworbene Immunität (nach Gleeson, 2006; Mackinnon, 1999, in Nielsen, 2013)	36
Tabelle 4: Vorbereitung der Standards	64
Tabelle 5: Subjektives Belastungsempfinden nach Borg (Borg, 1982; Noble et al. 1983)	66
Tabelle 6: Charakteristika der Studienteilnehmer	70

ANHANG

PROBANDENINFORMATION UND EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG ZUR TEILNAHME AN DEM
FORSCHUNGSPROJEKT

TRAININGS- UND ERNÄHRUNGSTAGEBUCH

PAR-Q FRAGEBOGEN UND SPORTÄRZTLICHE ANAMNESE

LEBENS LAUF

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Magisterarbeit selbstständig verfasst habe und nur die ausgewiesenen Hilfsmittel verwendet habe. Diese Arbeit wurde daher weder an einer anderen Stelle eingereicht noch von anderen Personen vorgelegt.

Probandeninformation und Einwilligungserklärung zur Teilnahme an dem Forschungsprojekt

NanoVi™ – Inhalation bei Sportlern zur Verbesserung des oxidativen Schutzes

Sehr geehrter Studienteilnehmer!

Wir laden Sie ein, am oben genannten Forschungsprojekt teilzunehmen. Die Aufklärung darüber erfolgt in einem ausführlichen Gespräch.

Die Teilnahme am Forschungsprojekt ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen durch Sie beendet werden, ohne dass Ihnen hierdurch Nachteile entstehen.

Forschungsprojekte sind notwendig, um verlässliche neue Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung eines Forschungsprojektes ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an diesem Forschungsprojekt schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch mit Ihrer Betreuerin sorgfältig durch und zögern Sie nicht, Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf des Forschungsprojektes vollständig verstanden haben,
- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmer an diesem Forschungsprojekt im Klaren sind.

Zu diesem Forschungsprojekt, sowie zur Probandeninformation und Einwilligungserklärung wurde von der zuständigen Ethikkommission eine befürwortende Stellungnahme abgegeben.

1. Was ist der Zweck des Forschungsprojektes?

Intensive körperliche Aktivität verursacht (normale) Veränderungen im Immunsystem (Abwehr von Krankheitserregern) und im Auftreten von oxidativem Stress¹. Die Erholungsfähigkeit nach einer solchen Belastung hängt vom Ausmaß und der Dauer dieser Veränderungen ab. Im Sport werden daher verschiedenste Erholungsmaßnahmen wie Massage, Dehnen, Kompression oder Kältebäder eingesetzt, um die Erholung zu beschleunigen.

Das NanoVi™-Gerät (der Firma „eng3“) wurde speziell zur Verbesserung des oxidativen Stresses entwickelt. Es ist ein Inhalationsgerät, mit dem durch eine Nasenkanüle bioidentische Stoffe, sprich Stoffe, die den natürlich vorkommenden Stoffen im Körper ähnlich sind, eingeatmet werden. Somit wird der Körper nach einer körperlichen Belastung wieder schnell mit Sauerstoff und Energie versorgt, und eine Leistungsverbesserung ist vorhergesagt. Die Hersteller dieses Geräts meinen, dass die NanoVi™ – Inhalation eine mögliche Maßnahme ist, um die Erholung nach intensiven Sporteinheiten zu beschleunigen. Dass sich diese NanoVi™ – Inhalation positiv auswirkt, ist jedoch kaum durch wissenschaftliche Studien belegt.

¹ Oxidativer Stress entsteht, wenn die durch körperliche Aktivität entstehenden Stoffwechselprodukte des Sauerstoffs (in der Luft) nicht ausreichend durch körpereigene Abwehrsysteme abgefangen werden können.

Im Rahmen dieser Studie sollen die Effekte dieses Gerätes nach zwei intensiven Trainingseinheiten auf die oben genannten Messwerte untersucht werden.

Dies ermöglicht eine effektive Planung von sowohl gesundheitsorientiertem, als auch leistungsorientiertem Training und Erholungsphasen.

2. Wie läuft das Forschungsprojekt ab?

Dieses Forschungsprojekt wird am Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport durchgeführt. Untersucht werden 25 männliche Probanden im Alter von 18-35 Jahren.

Voraussetzungen für die Teilnahme an der Studie:

- Männer im Alter zwischen 18 und 35 Jahren
- Hobbysportler mit Erfahrung im Laufsport (regelmäßiges Lauftraining (> 1,5h/Woche) seit mehr als einem Jahr)
- $BMI \geq 20$ und $< 25 \text{ kg/m}^2$
- Nichtraucher
- Guter allgemeiner Gesundheitszustand
- Keine schwerwiegende kardiovaskuläre, pulmonale oder metabolische Erkrankung(en), die die Teilnahme an den Tests mit Ausbelastung bzw. ein intensives Ausdauertraining nicht erlauben.
- Keine bekannte Autoimmunkrankheit oder Erkrankung des Immunsystems betreffend
- Keine akute Infektionen ab 1 Woche vor dem Basistest
- Keine Nahrungsergänzungsmittel (Supplemente) wie Vitamine, Mineralstoffe oder ähnliches
- Keine Einnahme von Medikamenten, die das Immunsystem modulieren, z.B. nichtsteroidale Antirheumatika, Corticosteroide, Cyclosporine, ...

Weitere Vorgaben, die während der Studie beachtet werden müssen:

- 48 Stunden vor der Intervention keine sportliche Belastung
- 48 Stunden vor der Intervention kein Koffein und Alkohol
- Ernährungstagebuch²
- Trainingstagebuch³
- Ernährung am Vortag jeder Intervention: ausgeglichene Mahlzeit (circa 30% Fett, 55% Kohlenhydrate, 15% Proteine)
- Flüssigkeitszufuhr am Vortag jeder Intervention: circa 2 Liter Wasser
- standardisiertes Frühstück vor der Intervention

² Dokumentation der Nahrungseinnahme drei Tage vor der ersten und zweiten Intervention, wobei die Ernährung vor beiden Interventionen gleich sein muss, da diese (Makronährstoffe (Kohlenhydrate, Proteine und Fette) und Mikronährstoffe (Vitamin und Mineralstoffe)) einen großen Einfluss auf das Messergebnis haben.

³ Jede körperliche Aktivität (Art, Dauer, Intensität) soll während der gesamten Studie dokumentiert werden, da sie Einfluss auf das Messsystem hat.

Für diese Studie müssen Sie insgesamt 3 Mal ins ZSU (Zentrum für Sportwissenschaft) kommen:

1. Besuch: Für die Teilnahme an dieser Studie wird beim ersten Besuch eine **Sporttauglichkeitsuntersuchung**, eine Analyse der **Körperzusammensetzung** (Größe, Gewicht, Körperfett) und wenn sie geeignet und willens sind, an der Studie teilzunehmen ein leistungsdagnostischer Test am Laufband durchgeführt.

Der **Leistungstest** findet in Form einer Spiroergometrie⁴ am Laufband statt. Die Startbelastung beginnt bei 8 km/h und 0% Steigung. Die Erhöhung der Belastung erfolgt alle 30 Sekunden durch eine Steigerung der Geschwindigkeit von 0,5 km/h bis zum freiwilligen Abbruch durch Sie oder den betreuenden Arzt. Dazu sollten Sie bis zur Erschöpfung laufen (ca. 15-20 Minuten), damit die maximale Sauerstoffaufnahme (VO_2max) bzw. Herzfrequenz bestimmt werden kann.

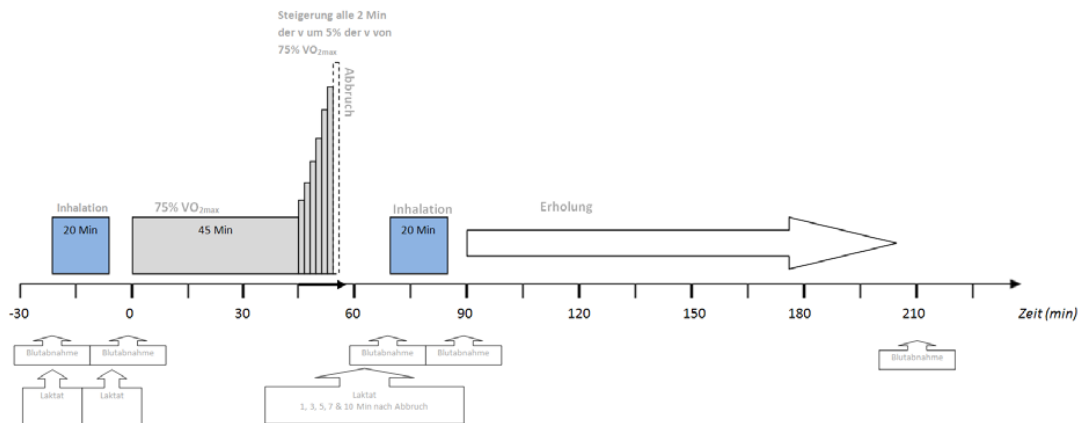
Die Ergebnisse dieses Tests werden Ihnen zur Verfügung gestellt.

2. und 3. Besuch: Ihre Teilnahme an dieser Studie erfolgt durch einen zweimaligen Durchlauf eines **Ausbelastungstests** (All-Out Tests) am Laufband, bei dem 45 Minuten bei einer moderaten Intensität von 75% der in der Eingangsuntersuchung ermittelten maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_2max) gelaufen wird. Im Anschluss findet eine Steigerung alle 2 Minuten der Geschwindigkeit um 5% der Geschwindigkeit von 75% VO_2max statt. Die Zeit, wie lange Sie diese hohe Intensität durchhalten können, wird gemessen. Üblicher Weise sind das 10-15 Minuten. Während des gesamten Tests wird die Herzfrequenz mitgemessen und am Ende werden Sie nach Ihrer subjektiven Einschätzung der Belastung auf einer Skala von 1 bis 10 gefragt.

Anschließend an den Ausbelastungstest sollen Sie ein **Luft-Wasser-Gemisch einatmen**, das über das Gerät NanoVi zur Verfügung gestellt wird. Hier gibt es 2 nahezu idente Geräte. Einmal wird das Luft-Wasser-Gemisch aktiviert (Behandlungszeitpunkt) und einmal ist diese Aktivierung ausgeschaltet (Kontrollzeitpunkt). Es wird zufällig zugeteilt, ob Sie am 2. oder 3. Besuch das aktive oder das inaktive Gemisch erhalten.

Während des 2. und 3. Besuchs werden jeweils **5 Blutabnahmen** zu je 15ml durchgeführt (vor der ersten Inhalation, nach der ersten Inhalation, unmittelbar nach der Belastung, unmittelbar vor der zweiten Inhalation und eine bzw. drei Stunden nach Belastungsabbruch). Das Blut wird durch Ärzte am Zentrum für Sportwissenschaft und Universitätssport entnommen. Die Blutproben werden dann auf Unterschiede im oxidativen Stress und in Bezug auf immunologische Parameter hin überprüft. Laktat wird ebenfalls entnommen.

⁴ Die Spiroergometrie (am Laufband) dient zur Ermittlung der maximalen Sauerstoffaufnahme (VO_2max), die Auskunft über die individuelle Ausdauerleistungsfähigkeit gibt. Über eine Maske vor Nase und Mund werden die Atemgase (Sauerstoffverbrauch, Kohlendioxidproduktion und Atemvolumen) gemessen. Zusätzlich werden hier Parameter, wie Herzfrequenz mittels Herzfrequenzmesser mit Brustgurt, individuelle anaerobe Schwelle und Laufgeschwindigkeit, erhoben, um die weiteren Interventionen individuell steuern zu können.



Die Dauer eines Besuchs beträgt circa 4-5 Stunden. Der Zeitabstand zwischen den beiden Besuchen wird 7-10 Tage sein.

Die Studie verfolgt für rein wissenschaftliche Zwecke. Ihr Name und andere persönliche Daten werden nicht in die Analyse mit einbezogen und werden auch nicht an Dritte weitergegeben. Informationen über allgemeine Studienergebnisse können Sie jedoch bei Univ.-Prof. Dr. med. Norbert Bachl oder DI Dr. Barbara Wessner erhalten.

3. Worin liegt der Nutzen einer Teilnahme an dem Forschungsprojekt?

Es ist nicht zu erwarten, dass Sie aus Ihrer Teilnahme an dieser Studie einen unmittelbaren Nutzen ziehen werden. Sie erhalten jedoch das Ergebnis Ihres individuellen leistungsdagnostischen Tests, welches als aufschlussreich für ihren Trainingszustand ist und Ihnen eine gezielte Trainingsgestaltung nach Studienende ermöglicht.

Die Ergebnisse dieser Studie können dazu beitragen, die Wirkungsweise des NanoVi Inhalationssystems zu verstehen und in Zukunft möglicher Weise die Erholung nach sportlicher Betätigung positiv zu beeinflussen.

4. Gibt es Risiken, Beschwerden und Begleiterscheinungen?

Es ist nicht zu erwarten, dass die Teilnahme am Projekt mit Unannehmlichkeiten für Sie verbunden ist. Die Risiken sind mit jenen zu vergleichen, die bei der Teilnahme an einem für sportlich aktive Menschen normalen Training entstehen. Das heißt, es kann durch Unaufmerksamkeiten zu Verletzungen wie Abschürfungen oder eventuell zu einer Band-, Kochen- oder Muskelverletzung kommen.

Eine mögliche, jedoch relativ harmlose Komplikation im Rahmen einer Blutabnahme kann das Auftreten eines blauen Flecks an der Einstichstelle darstellen. Weiters besteht das sehr geringe Risiko einer Infektion. In extrem seltenen Fällen kann es zur Verletzung eines Hautnervs kommen. All diesen Risiken wird selbstverständlich bestmöglich vorgebeugt, indem die Blutabnahmen unter strikter Einhaltung der medizinischen Standards durchgeführt werden. Zudem werden die Probemengen möglichst klein gehalten, um einen volumenbedingten Leistungsverlust vorzubeugen. Für einen gesunden, jungen Menschen sind Blutverluste im von uns geplanten Ausmaß von 10 x 10ml, verteilt über einen Zeitraum von circa vier Wochen leicht zu verkraften und stellen im Allgemeinen keine Beeinträchtigung dar.

Die Benutzung dieses Gerätes ist im Wellness-Bereich weit verbreitet. Laut Hersteller können jedoch bei einer längeren als die vom Hersteller empfohlenen Benutzungsdauer (über 40min, 3x/Woche) und nur selten folgende Nebenwirkungen auftreten: Müdigkeit oder Schlaflosigkeit, Hautreaktionen (Rötungen, Juckreiz), Schwindel, Kopfschmerzen, Veränderung des Stuhls.

Sollte irgendeine dieser Reaktionen bei Ihnen auftreten, teilen Sie uns das bitte unmittelbar mit.

5. In welcher Weise werden die im Rahmen dieses Forschungsprojekts gesammelten Daten verwendet?

Das Untersuchungsmaterial (Blutproben) wird ausschließlich für die hier angeführten Untersuchungen herangezogen. Es werden keine anderen Tests damit durchgeführt. Nach Abschluss der Untersuchungen und Veröffentlichung der Ergebnisse wird das Probenmaterial verworfen (voraussichtlich Ende 2015). Während der Untersuchung wird das Probenmaterial am Institut für Sportwissenschaften, Universität Wien, unter der Verantwortung von Univ.-Prof. Dr. med. Norbert Bachl aufbewahrt. Der Schutz vor dem Zugriff Unbefugter ist durch einen beschränkten Zugang zum Labor gewährleistet.

Die Datenaufarbeitung erfolgt in anonymisierter Form. Direkt nach Aufnahme in die Studie werden den Probanden laufende Nummern zugeteilt. Die Auswertung der Daten erfolgt nur über die Codes, nicht aber über die Namen der Probanden. Die Zuteilungslisten werden an einem für Fremde nicht zugänglichen Ort aufbewahrt.

Die Weitergabe der Daten im In- und Ausland erfolgt ausschließlich zu statistischen Zwecken und Sie werden ausnahmslos darin nicht namentlich genannt. Auch in etwaigen Veröffentlichungen der Daten dieses Forschungsprojektes werden Sie nicht namentlich genannt. Weiters ist es nicht möglich, Sie auf Grund anderer Informationen als Person zu identifizieren.

6. Entstehen für die Teilnehmer Kosten? Gibt es einen Kostenersatz oder eine Vergütung?

Durch Ihre Teilnahme an diesem Forschungsprojekt entstehen für Sie keine Kosten.

Für die Teilnahme an der Studie erhalten Sie eine Leistungsdiagnostik im Gegenwert von 120€ sowie eine Aufwandsentschädigung von 100€.

7. Versicherung

Als Teilnehmer an dieser klinischen Prüfung besteht für Sie der gesetzlich vorgeschriebene verschuldensunabhängige Versicherungsschutz (Personenschadenversicherung gemäß § 47 Medizinproduktegesetz), der alle Schäden abdeckt, die an Ihrem Leben oder Ihrer Gesundheit durch die an Ihnen durchgeführten Maßnahmen der klinischen Prüfung verursacht werden können, mit Ausnahme von Schäden auf Grund von Veränderungen des Erbmateri als in Zellen der Keimbahn.

Die Versicherung wurde für Sie bei der HDI Versicherung AG (Edelsinnstraße 7-11, 1120 Wien, Telefon +43(0)50905-501-420) unter der Polizzennummer abgeschlossen. Auf Wunsch können Sie in die Versicherungsunterlagen Einsicht nehmen.

Im Schadensfall können Sie sich direkt an den Versicherer wenden und Ihre Ansprüche selbständig geltend machen. Für den Versicherungsvertrag ist österreichisches Recht anwendbar, die Versicherungsansprüche sind in Österreich einklagbar.

Zur Unterstützung können Sie sich auch an die Patientenanwaltschaft oder Patientenvertretung wenden.

Um den Versicherungsschutz nicht zu gefährden

- dürfen Sie sich während der Dauer der klinischen Prüfung einer anderen medizinischen Behandlung nur im Einvernehmen mit Ihrem behandelnden Prüfarzt unterziehen (**ausgenommen davon sind Notfälle**). Dies gilt auch für die zusätzliche Einnahme von Medikamenten oder die Teilnahme an einer anderen Studie.
- müssen Sie dem behandelnden Prüfarzt - oder der oben genannten Versicherungsgesellschaft - eine Gesundheitsschädigung, die als Folge der klinischen Prüfung eingetreten sein könnte, unverzüglich mitteilen.
- müssen Sie alles Zumutbare tun um Ursache, Hergang und Folgen des Versicherungsfalles aufzuklären und den entstandenen Schaden gering zu halten. Dazu gehört ggf. auch, dass Sie Ihre behandelnden Ärzte ermächtigen, vom Versicherer geforderte Auskünfte zu erteilen.

7. Möglichkeit zur Diskussion weiterer Fragen

Für weitere Fragen im Zusammenhang mit diesem Forschungsprojekt stehen Ihnen Ihr Prüfarzt und seine MitarbeiterInnen gern zur Verfügung. Auch Fragen, die Ihre Rechte als Proband und Teilnehmer an diesem Forschungsprojekt betreffen, werden Ihnen gerne beantwortet.

Prüfarzt: Univ.-Prof. Dr. med. Norbert Bachl

Erreichbar unter: 0664/602 77-488 70

Namen der Kontaktpersonen: DI Dr. Barbara Wessner

Ständig erreichbar unter: 0664/8175725

Sandra Hartmann, Bakk.rer.nat.

Ständig erreichbar unter: 0680/2156079

Einwilligungserklärung

Name des Probanden in Druckbuchstaben:

.....

Ich erkläre mich bereit, an dem Forschungsprojekt „**Nano-Vi – Inhalation bei Sportlern zur Verbesserung des oxidativen Schutzes**“ teilzunehmen. Ich bin von Dr. med. Norbert Bachl oder einem seiner MitarbeiterInnen ausführlich und verständlich über die Untersuchungen, mögliche Risiken, sowie über Wesen, Bedeutung und Tragweite des Forschungsprojektes aufgeklärt worden. Ich habe darüber hinaus den Text dieser Probandenaufklärung und Einwilligungserklärung, die insgesamt 7 Seiten umfasst, gelesen. Aufgetretene Fragen wurden mir vom Prüfarzt verständlich und genügend beantwortet. Ich hatte ausreichend Zeit, mich zu entscheiden. Ich habe zurzeit keine weiteren Fragen mehr.

Ich werde den ärztlichen Anordnungen, die für die Durchführung des Forschungsprojektes erforderlich sind, Folge leisten, behalte mir jedoch das Recht vor, meine freiwillige Mitwirkung jederzeit zu beenden.

Ich bin zugleich damit einverstanden, dass meine im Rahmen dieses Forschungsprojektes ermittelten Daten aufgezeichnet werden.

Beim Umgang mit den Daten werden die Bestimmungen des Datenschutzgesetzes beachtet.

Eine Kopie dieser Probandeninformation und Einwilligungserklärung habe ich erhalten. Das Original verbleibt beim Prüfarzt.

.....

(Datum und Unterschrift des Probanden)

.....

(Datum, Name und Unterschrift des verantwortlichen Arztes)

(Der Proband erhält eine unterschriebene Kopie der Probandeninformation und Einwilligungserklärung, das Original verbleibt im Forschungsprojektordner des Prüfarztes.)

Tag _____	Aufgestanden um: _____	Ins Bett um: _____
	Speise/Nahrungsmittel/Zutat	Portionen
		Menge In Gramm oder ml
Frühstück, um _____		
Mittag, um _____		
Abendessen, um _____		
Zwischenmahlzeiten, Süßes, etc..		
	Getränke	Portionen
		Menge In Gramm oder ml
Getränke über den gesamten Tag verteilt?	Wasser (ohne Zusätze)	
	Kaffee	
	Tee	
	Säfte	
	Was genau?	Intensität
		Zeit
Körperliche Aktivitäten, Sport etc.		
Tageszeit?		
Empfinden am Tag? Tagesform? Bemerkungen...		

PAR-Q-Fragebogen und sportärztliche Anamnese

Untersuchungsdatum
Name, Vorname
Geburtsdatum
E-Mail Adresse
Telefon

bitte nicht ausfüllen!

Größe (m)
Gewicht (kg)
BMI (kg/m ²)

Bioimpedanz	Ja ☐ Nein ☐
-------------	---

Erkrankungen der Familie (Mutter, Vater, Geschwister, Großeltern)	JA	NEIN
1 Starb ein naher Verwandter unter 55 Jahren an Herzinfarkt, Schlaganfall, ...? Wenn ja, wer? _____ In welchem Alter? _____ Jahre		
Liegen bei nahen Verwandten auffällige Herzkrankheiten oder Gefäßleiden vor? ☐ Angina pectoris ☐ Herzinfarkt 2 ☐ Schlaganfall (Hirnschlag) ☐ Eingriffe am Herzen (Herz-Operation, Ballondehnung, Herzschrittmacher) ☐ Gefäßkrankheiten (Beine, Halsgefäße, gehäufte Thrombosen, ...) ☐ Angeborene Gefäßleiden (Marfan-Syndrom)		
Liegen bei nahen Verwandten Herz-Kreislauf-Risikofaktoren vor? 3 ☐ Bluthochdruck ☐ Diabetes (Zuckerkrankheit) ☐ Fettstoffwechselstörung		

Allgemeine Fragen zur eigenen Person	JA	NEIN
4 Hat Ihnen jemals ein Arzt gesagt, Sie hätten "etwas am Herzen" und Ihnen nur unter medizinischer Kontrolle Bewegung und Sport empfohlen?		
5 Hatten Sie im letzten Monat Schmerzen in der Brust in Ruhe oder bei körperlicher Belastung?		
6 Haben Sie Probleme mit der Atmung in Ruhe oder bei körperlicher Belastung?		
7 Sind Sie jemals wegen Schwindel gestürzt oder haben Sie schon jemals das Bewusstsein verloren?		
8 Haben Sie Knochen- oder Gelenkprobleme, die sich unter körperlicher Belastung verschlechtern könnten?		
9 Hat Ihnen jemals ein Arzt ein Medikament gegen hohen Blutdruck oder wegen eines Herzproblems oder Atemproblems verschrieben?		
10 Kennen Sie irgendeinen weiteren Grund, warum Sie nicht körperlich/sportlich aktiv sein sollten?		

Eigene frühere Erkrankungen		JA	NEIN
11	Sind Ihnen Kinderkrankheiten bekannt? ☐ Masern ☐ Mumps ☐ Röteln ☐ Windpocken ☐ Scharlach ☐ Keuchhusten Sonstige: _____		
12	Bisherige Operationen? ☐ Mandeloperation wann? _____ ☐ Blinddarmoperation wann? _____ ☐ Leistenbruchoperation wann? _____ Sonstige: _____		
13	Unfälle / Verletzungen / Knochenbrüche? ☐ Unfälle wann? _____ ☐ Verletzungen wann? _____ ☐ Knochenbrüche wann? _____		

Krankheiten		JA	NEIN
14	Hat Ihnen ein Arzt gesagt, Sie hätten ein vergrößertes Herz? Wenn ja, wann? _____		
15	Ist bei Ihnen eine Herzkrankheit diagnostiziert worden? Wenn ja, welche? _____		
16	Sind bei Ihnen sonstige Krankheiten festgestellt worden? Diabetes (Zuckerkrankheit), Fettstoffwechselstörung (erhöhtes Cholesterin), Adipositas/Übergewicht, Lungenerkrankung (z.B. Asthma), neurologische Erkrankungen (z.B. Epilepsie), Migräne, Schilddrüsenerkrankung, chronische Darmerkrankung, orthopädische Erkrankungen (z.B. Rheuma) oder eine körperliche Behinderung? Wenn ja, welche? _____		
17	Nehmen Sie Medikamente (z.B. β-Rezeptoren-Blocker, Diuretika (harntreibende Medikamente), Kortison, nichtsteroidale Antirheumatika, Corticosteroide, Cyclosporine,....) ein? Wenn ja, welche? _____		

Aktuelle oder frühere Beschwerden		JA	NEIN
18	Fühlen Sie sich jetzt gesund? Wenn nein, welche Beschwerden haben Sie? ☐ Schlafstörungen ☐ Appetitmangel ☐ Verstopfung ☐ Beschwerden beim Wasserlassen ☐ Atemnot ☐ Husten ☐ Auswurf		
19	Bestehen oder bestanden bei Ihnen jemals / in letzter Zeit nachfolgend genannte Beschwerden? Bewusstlosigkeit, Ohnmachtszustände (Kollaps), Schwindel, Herzschmerzen/Enge im Brustkorbbereich, Brustschmerzen, ungewöhnliche Luftnot (bei Ruhe, bei Belastung), Herzstolpern/Herzaussetzer/Herzrasen, Magen-Darm-Beschwerden.		
20	Sind Ihnen Allergien bekannt? Wenn ja, welche? _____		
21	Haben Sie Beschwerden an Muskeln und / oder Gelenken? Wenn ja, wo? _____		
22	Haben Sie oder hatten Sie in den letzten 3 Wochen einen schwereren Infekt/Erkältung/Fieber?		
23	Hatten Sie in in den letzten 4 Wochen deutliche Gewichtsschwankungen (z.B. Gewichtsverlust oder -zunahme > 2 kg)?		

Spezielle Fragen		JA	NEIN
24	Können Sie sich gut belasten, auch im Vergleich zu Ihren Sportkameraden?		
25	Bestehen / bestanden bei körperlicher Aktivität Unsicherheiten (z.B. Gleichgewichtsstörungen)?		
26	Hatten Sie in den letzten 2 Jahren: ☐ plötzliche Ohnmachten beim Sport? wann? _____ ☐ Bewusstlosigkeit oder Schwindel beim Sport? wann? _____ ☐ Herzschmerzen beim Sport? wann? _____ ☐ Herzstolpern beim oder nach dem Sport? wann? _____ ☐ Ungewöhnliche Luftnot beim Sport? wann? _____		
27	Nehmen Sie speziell leistungsfördernde Substanzen ein? Wenn ja, welche? _____		

Risiko-/Lebensstilfaktoren		JA	NEIN
28	Rauchen Sie oder haben Sie in den letzten 10 Jahren geraucht? Wie viele Packungen pro Tag? _____ Wie lange schon? _____ Seit wann nicht mehr? _____		
29	Trinken Sie regelmäßig Alkohol? Wie viele Gläser pro Tag? _____ Wie viele Gläser pro Woche? _____ ☐ Bier ☐ Wein ☐ Schnaps/Cocktails/Longdrinks		
30	Ernährungsgewohnheiten? ☐ Vollkost ☐ Vegetarisch ☐ Vegan ☐ Andere: _____		
31	Besteht ein erhöhter Blutdruck? ☐ unbekannt		
32	Sind Sie zuckerkrank?		
33	Haben Sie eine Fettstoffwechselstörung?		
34	Nehmen Sie regelmäßig Nahrungsergänzungsmittel ein? Wenn ja, welche? _____		

nur für Frauen		JA	NEIN
35	Regelmäßige Periode/Regelblutung?		
36	Nehmen Sie ein Antikonzeptivum / eine Antibabypille? Wenn ja, welche? _____		
37	Besteht eine Schwangerschaft?		
38	Anzahl bisheriger Geburten? _____		

Bisherige Impfungen		JA	NEIN
39	Tetanus, zuletzt am? ☐ unbekannt		
40	Masern? ☐ unbekannt		
41	Keuchhusten? ☐ unbekannt		
42	Windpocken? ☐ unbekannt		
43	Hepatitis A? ☐ unbekannt		
44	Hepatitis B? ☐ unbekannt		
45	Sonstiges?		

Anhang

Sportanamnese		JA	NEIN
46	Sind Sie regelmäßig im Alltag aktiv (Spaziergehen, Treppensteigen, Wandern, Gartenarbeit, Radfahren, Radwandern)?		
47	Sind Sie zur Zeit sportlich aktiv?		
48	Haben Sie im letzten Jahr eine Trainingspause von mehr als 2 Wochen eingelegt? Wenn ja, warum? _____		
49	Betreiben Sie ein leistungssportliches Training?		
50	Nehmen Sie an Wettkämpfen teil? Wenn ja, in welcher Trainingsperiode befinden Sie sich? ☐ Vorbereitung ☐ Wettkampf ☐ Übergangsperiode		

Sportart		von (Jahr)	bis (Jahr)	Trainingseinheiten/ Woche	Zeit pro Trainings- einheit (min)
	☐ regelmäßig ☐ unregelmäßig				
	☐ regelmäßig ☐ unregelmäßig				
	☐ regelmäßig ☐ unregelmäßig				
	☐ regelmäßig ☐ unregelmäßig				
	☐ regelmäßig ☐ unregelmäßig				

Bestleistung

Disziplin	Leistung	Platzierung	Jahr

Ort, Datum

Unterschrift

Curriculum Vitae

Sandra Hartmann, Bakk.rer.nat

Schulbildung

1995-1999	Volksschule Bad Vöslau
1999-2003	BG/BRG Frauengasse Baden bei Wien
2003-2007	BORG Wr. Neustadt mit sportlichem Schwerpunkt
2007	Matura
2008-2012	Bakkalaureatsstudium Sportwissenschaft (mit Schwerpunkt Gesundheitsförderung, Prävention, Rehabilitation und Fitness) Universität Wien
seit SS 2010	Lehramtsstudium Bewegung und Sport und Italienisch Universität Wien
SS 2011	Auslandssemester Universität Florenz (ERASMUS)
seit WS 2012	Magisterstudium Sportwissenschaft Universität Wien

Ausbildung

2007	FIT-Lehrwart Erwachsene	BAfL Wien (Wr. Neustadt)
2008	Nordic-Walking-Instruktorin	USI Wien
2009	Snowboard - Begleitlehrerin	UNI Wien
2009	Übungsleiter Kindersport	Sport Union Steiermark
2010	Übungsleiter Seniorensport	Sport Union NÖ
2010	Kinderbewegungs-Coach	Sport Union Wien
2011	Ski - Begleitlehrerin	UNI Wien
2011	Klassische Massage Grundausbildung	Institut Herricht, Wien
2014	Akkreditierung zur Trainingstherapeutin	

2009 Österr. Rettungsschwimmer Helfer

2007 Führerschein B

Sprachen

Englisch	in Wort und Schrift
Italienisch	in Wort und Schrift

Anhang

Praktika

seit 2004	Übungsleiterin von Kinderturngruppen (3-5jährige und 6-10jährige Kinder)	Sport Union Bad Vöslau
2007-2008	Au-Pair in Italien (Mailand)	
2008-2011	Übungsleiterin von Eltern-Kind-Turngruppe (2,5-4,5jährige und 4,5-6jährige Kinder)	Sport Union Wien 9
2008-2014	„Abenteuer“-Turnstunden in Volksschulen	
seit 2008	Betreuung bei Fitness-Tagen	Gesundes NÖ
seit 2009	Übungsleiterin von Gymnastikeinheiten (Damen, Allgemein, Senioren)	Sport Union
2009	Lauf-Promotion	match-pr
2009	Freibäder-Animation	Sport.Land.NÖ
seit 2010	Snowboard- und Skibegleitlehrerin in Schulen	
2010-2011	Mitarbeiterin „Kinder-gesund-bewegen“-Projekt	Sport Union NÖ
2012	Mitarbeiterin bei Sommercamps für Kinder und bei Volksschulprojekten	Xund ins Leben. Graz
2013-2014	Rückenfitness (Vorträge & Praxis)	
seit 2013	Übungsleiterin von Seniorenturnen	
seit 2013	Kellner-Tätigkeit	
seit 2014	Studienassistentin (Abt. Sport- und Leistungsphysiologie)	Universität Wien
seit 2014	Übungsleiterin von Eltern-Kind-Turnen	Sport Union Bad Vöslau
2014	Praktikum Rehabilitationszentrum für Erkrankungen am Bewegungs-und Stützapparat	Rehabilitationszentrum Engelsbad (Baden bei Wien)
2014	Praktikum Rehabilitationszentrum im Bereich Rehabilitation bei bzw. nach bösartigen Tumoren, Erkrankungen des Bewegungsapparates und des rheumatischen Formenkreises, Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen und Behandlung von Stoffwechselerkrankungen	Rehabilitationszentrum Rosalienhof (Bad Tatzmannsdorf)