

**Aus dem Institut für Klinische und Experimentelle
Transfusionsmedizin der Universität Tübingen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. H. Northoff**

**Die geschlechts- und zyklusabhängige Expression der
Hitzeschockproteine 70, 27 und der Hämoxygenase unter
Ausdauerbelastung bei definierter Laufeinheit.**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

**Kristoffer Jonathan Steiner
aus Stuttgart**

2013

Dekan:
1. Berichterstatter:
2. Berichterstatter:

Professor Dr. I. B. Autenrieth
Professor Dr. H. Northoff
Professor Dr. A. Nieß

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Hitzeschockproteine	1
1.1.1. HSP 70	3
1.1.2. HSP 27	4
1.1.3. Hämoxygenase.....	4
1.2. Sport und oxidativer Stress.....	5
1.3. Sport und das Immunsystem	7
1.4. Sport und hormonelle Regulationsmechanismen	10
1.5. Fragestellung.....	11
2. Material und Methoden	12
2.1. Studienteilnehmer.....	12
2.2. Studienprotokoll und –durchführung	14
2.2.1. Versuchsablauf	14
2.2.2 Mehrstufentest zur Bestimmung der IAS	16
2.2.3 Rampentest zur Ermittlung der VO ₂ max.....	17
2.2.4. Abfolge der Arbeitsschritte.....	18
2.3. Bursttest	21
2.4. Phagozytostest	21
2.5. Statistische Datenanalyse	23
3. Resultate	25
3.1. Darstellung der Ergebnisse	25
3.2. Antropometrische Daten der Studienteilnehmer	25
3.3. Analysen der HSP-Konzentration	28
3.3.1. Analysen von Männern und Frauen in der F-Phase	28
3.3.2. Analysen von Männern und Frauen in der L-Phase	35
3.3.3. Analysen von Frauen in der F-/ und Frauen in der L-Phase.....	45
3.4. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK und des Blutbildes.....	58
3.4.1. Analysen des Blutbildes von Männern und Frauen in der F-Phase	58
3.4.2. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK von Männern und Frauen in der F-Phase	63

3.4.3. Analysen des Blutbildes von Männern und Frauen in der L-Phase	68
3.4.4. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK von Männern und Frauen in der L-Phase	73
3.4.5. Analysen von Blutbild und Hormonen/Fettsäuren/CK von Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase	79
3.5. Analysen von Phagozytose- und Burst-Test.....	81
4. Diskussion	85
4.1. Ergebnisdiskussion.....	87
4.1.1. Antropometrische Daten der Studienteilnehmer	87
4.1.2. HSP 27/70, Hämoxygenase	87
4.1.3. Hormone/Fettsäuren/CK und Blutbild	90
4.1.4. Burst	92
4.1.5. Phagozytose	93
4.2. Messmethoden und Methodenkritik	94
4.3. Ausdauerlaufen als Induktion von körperlichem und „zellulärem“ Stress...	95
4.4. Statistik	95
4.5. Aussicht	96
5. Zusammenfassung	97
6. Anhang: Mittelwertstabellen	99
7. Literaturverzeichnis.....	115
8. Abkürzungsverzeichnis	120
9. Publikation	123
10. Danksagung	124
11. Lebenslauf.....	125

1. Einleitung

1.1. Hitzeschockproteine

Hitzeschockproteine (HSP) gehören zur Familie der sogenannten Stressproteine. Diese Proteine gehören zu einer Gruppe von hochkonservierten Enzymproteinen. Das heißt, sie haben zahlreiche Sequenzübereinstimmungen, betrachtet man die Hitzeschockproteine verschiedener Spezies. Sie finden sich in vielen Prokaryonten, wie E.coli und anderen Bakterien, aber auch in (höheren) Eukaryonten⁵⁰.

Hitzeschockproteine werden als schnelle Antwort auf die unterschiedlichsten Formen von Stress gebildet. Hierzu zählen Hitzeeinwirkung, oxidativer Stress, Hypoxie, Ischämie, Fieber, ultraviolette Strahlung und Schwermetalle, außerdem zahlreiche (pathologische) Zustände wie virale, bakterielle oder parasitäre Infektionen, Neoplasien, Autoimmunreaktionen und Glukosemangel. Auch physiologische Stimuli, z.B. Zelldifferenzierung, Ausschüttung von Wachstumsfaktoren und Hormonen wie den typischen „Stresshormonen“, den Katecholaminen, zählen zu den Reizen, die die vermehrte Expression von Hitzeschockproteinen auslösen¹⁴. Interessant ist die Eigenschaft der HSP bei einer moderaten Hitzeeinwirkung zu akkumulieren, um dann vor nachfolgenden schwereren, schädlichen und zum Teil letalen Hitze- und/oder Stresseinwirkungen zu schützen. Hier spricht man von dem Phänomen der Thermotoleranzentwicklung³⁰.

Die HSP werden anhand ihres Molekulargewichts (in Kilo-Dalton, im Weiteren nur noch kDa genannt) in Subklassen eingeteilt. Die spezifischen Funktionen der HSP ergeben sich aus ihrer Lokalisierung. Sie befinden sich in den Zellkompartimenten und auf der Zellmembran. Auch außerhalb der Zelle lassen sich HSP identifizieren. Die verschiedenen Hitzeschockproteinfamilien sind untereinander sowohl von Funktion als auch von ihrer Struktur oder Genetik her nicht verwandt. Es gibt aber innerhalb einer Familie wesentliche Homologien²⁸.

Tabelle 1. Hitzeschockproteinfamilien (zusammenfassende Übersicht)

Kleine und kleinste HSP	<ul style="list-style-type: none"> • Ubiquitin (8,5 kDa) lokalisiert im Zytosol und Nukleus ist beteiligt am nicht-lysosomalen Proteinabbau • HSP 10 (10 kDa) lokalisiert in den Mitochondrien, ist Co-Chaperon von HSP 60 • αB-Crystallin lokalisiert im Zytosol, stabilisiert Zytoskelett • HSP 27 lokalisiert im Zytosol und Nukleus, stabilisiert Microfilamente, reguliert das Actin-Zytoskeletts • HSP 32 lokalisiert im Zytosol, auch Hämoxygenase-1 genannt, wirkt antioxidativ, greift in Häm-katabolismus ein
HSP 40	<ul style="list-style-type: none"> • lokalisiert im Zytosol und Nukleus, wirkt als Co-Chaperon von HSP 70
HSP60	<ul style="list-style-type: none"> • lokalisiert in Mitochondrien, gebunden an teilweise gefalteten Polypeptiden, hilft diesen bei der Faltung
HSP70	<ul style="list-style-type: none"> • HSP 72 (HSP70) lokalisiert im Zytosol und Nukleus, wird durch Stress und Hyperthermie induziert • HSP 73 (HSC70) lokalisiert im Zytosol und Nukleus, konstitutives HSP, hält Zellhomöostase aufrecht • GRP 75 lokalisiert in Mitochondrien, beteiligt an der Translokation von Vorläuferproteinen durch die Mitochondrienmembran • GRP 78 lokalisiert im endoplasmatischen Retikulum, hilft bei der Zusammensetzung sekretorischer Proteine
HSP90	<ul style="list-style-type: none"> • HSP 90 α und HSP 90β sind lokalisiert im Zytosol, Steroid-Rezeptor-Funktion • GRP 94 lokalisiert im endoplasmatischen Retikulum, Calcium-bindendes Chaperon
HSP100	<ul style="list-style-type: none"> • HSP 100 lokalisiert im Zytosol und Nukleus, ist beteiligt an den Prozess der Proteolyse, Thermotoleranz

Die nicht stressinduzierten Hitzeschockproteine werden auch HSC genannt (heat shock cognates). Sie sind ubiquitär vorkommende Proteine, die an zahlreichen physiologischen Vorgängen mitwirken.

Deren Funktion innerhalb der Zelle ist eine Art „Hausmeisterfunktion“. Sie identifizieren als sog. molekulare Chaperone (chaperon aus dem Französischen für Anstandsdame) funktionslose Proteine, reparieren oder beseitigen diese ¹⁵. Sie können auch die zum Abbau bestimmten Proteine kennzeichnen oder vor Aggregation miteinander schützen. Diesen HSP kommt auch eine Wegweiserfunktion für neu synthetisierte Proteine auf ihrem Weg zu den einzelnen Zellkompartimenten zu. Mayer und Bukau beschrieben 2004 in einem Übersichtsartikel die sogenannten „Faltungs- und Erhaltungsfunktionen“ des HSP 70 in der Zelle ³².

Diese mannigfaltigen Aufgaben in der Zelle stehen den extrazellulären Funktionen der HSP gegenüber. Sie sind im Blutplasma und auf Zelloberfläche von Tumorzellen zu finden. Sie binden außerdem fremde Proteine und liefern diese dem APC-System zum Abtransport. Es konnte in vitro gezeigt werden, dass HSP 72 die Produktion proinflammatorischer Cytokine aus antigenpräsentierenden Zellen induziert ⁴. Walsh et al beschrieben 2001 einen Anstieg der Serumkonzentration des HSP 72 nach einer Laufbelastung und interpretierten dies als Hinweis auf vielfältige systemische Aufgaben der HSP ⁵⁹.

1.1.1. HSP 70

In die Gruppe mit einem Molekulargewicht von 70 kDa gehören das HSP 73/HSC 70 (HSC, d.h. heat shock cognate protein). Es ist ein ständig exprimiertes Hitzeschockprotein, welches im Zytoplasma lokalisiert ist. Das verwandte induzierbare HSP 72 wird dagegen nach Hitzeschock in großem Maße synthetisiert und ins Zytoplasma abgegeben. Im endoplasmatischen Retikulum und in den Mitochondrien befinden sich zwei weitere Isoformen, die Glukose-regulierten Proteine GRP78 und GRP75. Sie sind nicht durch Hitzeschock beeinflussbar und regeln die Zellhomöostase bei Glukose- und Sauerstoffmangel.

Wie hoch konserviert diese Hitzeschockproteine allgemein sind, zeigt sich am Beispiel der DNA-Sequenzen im Vergleich unterschiedlicher Spezies. Ungefähr die Hälfte der DNA-Sequenzen von humanem HSP 70 und denen des HSP 70 von E.coli stimmen noch überein. In einigen Domänen sogar über 90% ⁵⁰.

1.1.2. HSP 27

Das Hitzeschockprotein 27 ist ein relativ kleines HSP, welches nachweislich an Signaltransduktions-, Differenzierungs-, Wachstums-, Apoptose- und Transformationsprozessen beteiligt ist ^{22, 34, 8}. Es ist im Zellkern und auch im Zytoplasma vorhanden und akkumuliert mit langsamerer Kinetik. Phosphorylierung und Oligomerisierung sind Teil der Regulationstaktik des HSP 27 ³.

Das HSP 27 greift direkt in den Apoptosezyklus ein. Hierzu hemmt es Cytochrom C und damit die davon abhängige Caspase 9 ²². Indirekt greift es ein, indem es das intrazelluläre Glutathion erhöht. Mehlen et al. konnten zeigen, dass eine L 929 murin-Zellreihe vor Zelltod durch TNF α und Wasserstoffperoxid geschützt werden konnte durch die Anwesenheit von kleinen Hitzeschockproteinen wie dem humanen HSP 27 und dem HSP 27 der Drosophila ³⁴. Außerdem konnte gezeigt werden, dass HSP 27 die intrazellulären Actinfilamente beeinflusst, um die Zellbeweglichkeit aufrecht zu erhalten. Es wurde ferner nachgewiesen, dass ein Einfluß besteht auf die Fähigkeit offene Wunden zu verschließen ¹².

1.1.3. Hämoxygenase

Das Hitzeschockprotein 32 wird auch Hämoxygenase (HO) genannt. Hämoxygenase existiert in Säugern in bis zu drei Isoformen. Bei Nagern ist bei der Hämoxygenase eine Reaktion auf Hitzeschock nachgewiesen ⁴⁴. Es ist ein Protein mit einer molaren Masse von 32 kDa. Beim Mensch existieren zwei Isoformen, die induzierbare Hämoxygenase-1 (HO-1) und die konstitutive Hämoxygenase-2 (HO-2). Hämoxygenase-2 wird konstitutiv in Hoden, Gehirn

und Endothelien gebildet. Die induzierbare Hämoxigenase (HO-1) spielt eine bedeutende Rolle als antioxidativ wirkendes Enzym. Es wird durch eine große Anzahl von Stimuli hochreguliert. Hierzu zählen an erster Stelle oxidativer Stress vor Sauerstoffmangel und anderen. Ob die HO-1 bei Menschen durch Hitzeschock tatsächlich in dem Maße reguliert wird, ist nicht klar, da eine Aktivität des zugehörigen Heat-Shock-Elements nicht sicher bewiesen ist ⁴⁴. Dass sportliche Belastung die Hämoxigenase-1 im Muskel ¹³ und in den peripheren Leukozyten ³⁹ hochreguliert, konnte jedoch erwiesen werden.

Die Hämoxigenase HO-1 ist im Hämoglobinkatabolismus das Enzym für den ersten Abbauschritt des Häms zum Bilirubin. Weiterhin reduziert HO-1 indirekt das freie Eisen durch ein Ankurbeln der Ferritinsynthese und verringert das Auftreten der Fenton-Reaktion, welche die Hauptquelle der reaktiven Sauerstoffspezies (reactive oxygen species, ROS) in der Zelle sind und zu oxidativem Stress führen ².

Die höchste Konzentration der Hämoxigenase ist in der Leber und der Milz nachweisbar. Diese Organe sind der Abbauort der überalterten Erythrozyten. Die Hämoxigenase ist dort, bedingt durch ihre Affinität zu Häm als prosthetische Gruppe, an vielen cytochromabhängigen Biotransformationen endo- und exogener Verbindungen beteiligt. Auch in der Mucosa des Darm ist die Hämoxigenase für den Abbau des mit der Nahrung aufgenommenen Häms verantwortlich. Die hauptsächliche Quelle für die Bildung von Kohlenstoffmonoxid im Körper ist der Abbau von Häm durch das Hämoxigenase-System.

Auch eine proangiogenetische und antiinflammatorische Wirkung wird der Hämoxigenase zugeschrieben.

1.2. Sport und oxidativer Stress

Unter dem Begriff oxidativer Stress versteht man eine Stoffwechsellage, in der vermehrt reaktive Sauerstoffverbindungen gebildet werden oder im System vorhanden sind. Diese reaktiven Sauerstoffverbindungen (ROS = reactive oxygen species) sind Stoffe, die sich von molekularem Sauerstoff ableiten. Sie

sind äußerst reaktionsfreudig, sowohl in ihrer Wirkung auf Tumorzellen und pathogene Keime, als auch auf körpereigenes Gewebe. Diese reaktiven Sauerstoffverbindungen besitzen ein oder mehrere unpaare Elektronen. Zu ihnen gehören unter anderem das Superoxid- (O_2^-) und das Hydroxyl-Radikal ($OH\cdot$), sowie die Wasserstoffverbindungen Wasserstoffperoxid (H_2O_2), Hypochlorsäure ($HOCl$) und Ozon (O_3).

Reaktive Sauerstoffverbindungen, im allgemeinen Sprachgebrauch auch Sauerstoff-Radikale genannt, werden permanent und zu jeder Zeit gebildet. Dies passiert unter physiologischen Bedingungen und verstärkt während und nach sportlicher Belastung⁵. Es scheint gesichert, dass die sogenannten freien Radikale an der Pathogenese zahlreicher Erkrankungen, wie Artherosklerose, Entzündungsreaktionen und am Alterungsprozess mitwirken.

Der vermehrten Bildung freier Radikale im Zusammenhang mit sportlicher Belastung liegen reguläre biochemische und physikalische Prozesse zugrunde. Zum Beispiel entsteht durch den erhöhten ATP-turnover im Rahmen von starker sportlicher Belastung vermehrt AMP. Xanthinoxidase katalysiert dabei den weiteren Abbau zu Harnsäure, wobei O_2^- entsteht. Ferner kommt es beim Sport zu einem deutlich erhöhten Sauerstoffverbrauch, unter anderem im Muskelgewebe. Unter physiologischen Bedingungen werden in den Mitochondrien ungefähr 2-5% unvollständige Sauerstoffreduktion verzeichnet. Hierbei entstehen ebenfalls Superoxid-Radikale, welche also bei vermehrtem Sauerstoffumsatz in den Muskelzellen auch vermehrt anfallen. Als weitere Quelle für den Anfall von ROS kann es mit Hilfe der Fenton-Reaktion zur Umwandlung von H_2O_2 zum stark toxischen Hydroxyl-Radikal in Anwesenheit von freiem Eisen kommen, welches bei belastungsinduzierter Hämolyse entsteht.

Das Ausmaß von belastungsinduziertem oxidativem Stress und auch der Expression von HSP in menschlichen Leukozyten hängt von der Dauer und Intensität der Belastung z.B. bei sportlicher Betätigung ab¹⁶.

Höchstwahrscheinlich besteht eine Schwelle, ab welcher oxidativer Stress deutlich zunimmt. Diese Schwelle ist abhängig von der Gesundheit und dem

Trainingszustand des einzelnen Menschen. Beispielsweise wurde bei Testpersonen, die Ausdauersport betrieben, eine geringere leukozytäre ROS-Konzentration bei größerer antioxidativer Kapazität als bei untrainierten Testpersonen gemessen ³⁸. Zwischen der Entstehung von ROS und ihrer Eliminierung durch unsere antioxidativen Schutzsysteme besteht normalerweise eine Balance. Eine Veränderung dieser Balance kann durch körperliche Belastung (wie sie z. B. bei sportlicher Aktivität besteht), Stress, Umwelteinflüsse aber auch verschiedenen Krankheiten zustande kommen.

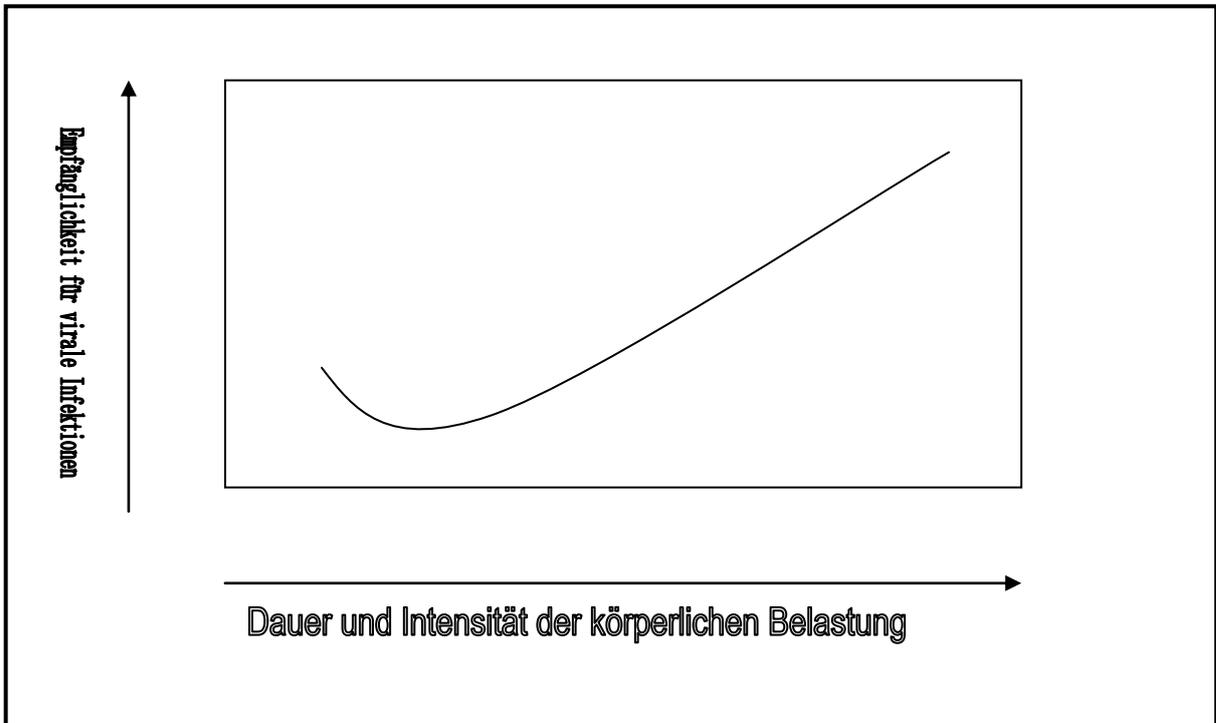
Der Vielzahl oxidativ schädigender Substanzen stehen zahlreiche antioxidative Schutzmechanismen gegenüber. Man unterscheidet alimentäre Antioxidantien (z.B. Vitamin A, C und E), endogene Antioxidantien (z.B. Harnsäure und Bilirubin) und körpereigene antioxidative Schutzsystem ⁴⁰. Zu letztgenannten zählen als Hauptvertreter Katalase, Gluthationperoxidase und Superoxiddismutase.

1.3. Sport und das Immunsystem

Bei sportlicher Aktivität muß zwischen akuter und chronischer Belastung unterschieden werden. Der Körper und damit alle körperlichen Funktionen reagieren je nach Qualität der Belastung unterschiedlich. Akute sportliche Betätigung stresst den Körper auf immunologischer, zirkulatorischer und metabolisch/endokriner Ebene ähnlich wie die klassischen Stressoren Hitze, Trauma oder Krankheit.

Chronische sportliche Belastung wie es bei regelmäßigem Training der Fall ist, führt zu einem Trainingseffekt mit Adaptation vieler körperlicher Vorgänge und einer Verbesserung der Belastungstoleranz. In einer folgenden Grafik wird der Einfluss von Trainingsumfang auf die Inzidenz von Infekten des oberen Respirationstraktes beschrieben ³⁶.

Abbildung 1. Beziehung von körperlicher Aktivität und Immunfunktion (nach Niemann, DC)



Nach dieser Hypothese stärkt regelmäßige, gemäßigte körperliche Aktivität das Immunsystem und verringert Infektionen des oberen Respirationstraktes ⁶. Shepard et al konnten außerdem nachweisen, dass auch das Auftreten einiger maligner Tumore durch moderates Training verringert werden kann ⁵¹.

Als Reaktion auf akute Belastung zeigt sich auf immunologischer Ebene eine meist biphasische Leukozytose. Hier sind vor allem neutrophile Granulozyten, monozytäre Zellen und Natürliche Killerzellen als Subpopulation der Lymphozyten beteiligt ³³, deren Freisetzung aus den RES-kompetenten Organen, wie Lunge, Darm, Knochenmark, Leber und Milzsinusoide, durch Erhöhung der Katecholamin-, Cortisol-, β -Endorphin- und Zytokinpiegel mitbeeinflusst ist.

Es kann eine typische Kaskade beobachtet werden, die bei Entzündungen und Akute-Phase-Reaktionen abläuft ⁴¹. Einleitend zeigt sich ein Temperaturanstieg und Steigerung der Membranpermeabilität. Die Zytokine (IL-1 β , IL-6, TNF α u.a.) werden vermehrt ausgeschüttet, es folgt eine Ödembildung und weitere

Aktivierung der Komplementkaskade. Myeloperoxidase, Elastase und Neopterin im Plasma werden als Zeichen der Aktivierung immunkompetenter Zellen freigesetzt. Proteinaseinhibitoren aus Leberzellen (alpha-1-Antitrypsin, alpha2-Makroglobulin u.a.) Prostaglandine und Leukotriene steigen an. Es kommt fortlaufend zu einem Anfall von freien Radikalen und konsekutivem Verbrauch körpereigener Antioxidantien ¹⁷. Schlussendlich zeigen sich die typischen Endprodukte, die oxidativen Stress auslösen und in ihrer Charakteristik der körperlich-immunologischen Reaktion beim systemisch inflammatorischen Respons-Syndrom ähneln ^{19, 51}.

An erster Stelle der zellulären Antwort des Immunsystems auf Reize, wie Infektionen und Verletzungen, stehen immer die neutrophilen Granulozyten. Sie sind polymorphkernig, zur Phagozytose befähigt und enthalten Enzyme zum Kampf gegen fremde Organismen (Lysozym, alkalische Leukozytenphosphatase und Laktoferrin). Ungefähr 60 % der zirkulierenden Leukozyten sind neutrophile Granulozyten. Im Blut haben sie eine Halbwertszeit von etwa 10 Stunden.

Während körperlicher Belastung kommt es durch aktivierte neutrophile Granulozyten zum sog. oxidativen Burst ²¹. Der oxidative Burst bezeichnet diejenige Situation, in der neutrophile Granulozyten und Makrophagen bei dem Akt der Phagozytose reaktive Sauerstoffspezies freisetzen. Dies passiert, da Granulozyten bei der Phagozytose ungefähr das hundertfache an Sauerstoff verbrauchen und so konkret durch die Stimulation der Nicotinamidadenindinukleotidphosphat-Oxidase (NADPH-Oxidase) vermehrt Superoxid-Anionen synthetisieren. Diese Anionen reagieren dann weiter zu Hydroxylradikalen und Wasserstoffperoxid (H₂O₂). Aus Wasserstoffperoxid entsteht mit Hilfe des Enzyms Myeloperoxidase hypochlorische Säure, die stark antibakteriell wirkt.

Sind nach der Belastung die neutrophilen Granulozyten erhöht, so zeigen sich die Lymphozyten zum Teil stark verringert. Möglicherweise sind hieran eine gesteigerter Lymphozytenabbau ^{25, 26, 45} und ein vorübergehender Abfall der B-Zellen ⁵⁷ verantwortlich. Der Grund für eine allgemein verringerte immunologische Abwehr mit gleichzeitig erhöhter Inzidenz für Infekte der

Atemwege während großer körperlicher Belastung (z.B. bei Wettkämpfen) liegt in einer supprimierten Konzentration von IgA der Schleimhäute ^{36, 37}. Die Immunmodulation bei Belastung ist nicht annähernd durchschaut, scheinen doch Mechanismen wie der schon erwähnte oxidative Burst der neutrophilen Granulozyten ²¹, oder die endotoxininduzierte Cytokinfreisetzung ⁴³ hierzu beizutragen.

1.4. Sport und hormonelle Regulationsmechanismen

Das sympathische Nervensystem wird bei Stress und körperlicher Aktivität angeregt. Die körpereigenen Hormone wie Adrenalin und Noradrenalin werden bei sportlicher Aktivität vermehrt ausgeschüttet ⁴⁶. Bei Leistungstests können diese Hormone als Marker herangezogen werden. Beispielsweise werden sie bei Verbesserung des Trainingszustandes vermindert freigesetzt. ⁴⁷. Auch Androgene als Vertreter der männlichen Geschlechtshormone steigen bei akuter körperlicher Aktivität im Serum an. Dies basiert auf einem verringerten Abbau der Steroidhormone in der Leber bei körperlicher Aktivität. Bei länger andauerndem Training fällt die Androgenkonzentration längerfristig wieder ⁴⁸. Im weiblichen Organismus zeigt die sportliche (Über)-Belastung eine deutliche Veränderung des weiblichen Zykluses mit verkürzter Lutealphase und Reduktion der FSH-Konzentration. Sekundäre Amenorrhoe und anovulatorische Zyklen können die Folge sein. In dieser Versuchsreihe wurde die Fragestellung deshalb bewußt auf Geschlechterunterschiede zugeschnitten um der Individualität der Geschlechter im Bezug auf sportliche Belastung und der hormonellen, immunologischen und physiologischen Regulation Rechnung zu tragen.

1.5. Fragestellung

In dieser vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, welchen Einfluss die körperliche Ausdauerbelastung beim Dauerlauf auf die geschlechts- und zyklusabhängige Expression von leukozytären Hitzeschockproteinen (HSP 70/27) und der Hämoxygenase (HO-1) als Ausdruck der systemischen und immunologischen, intrazellulären Antwort auf oxidativen Stress beim Sport hat. Es wurden hierbei weibliche und männliche Studienteilnehmer definiert belastet um die geschlechtsspezifischen Unterschiede der immunologischen Regulation aufzuzeigen. In der Frauengruppe wurden außerdem Messungen in der L- und F-Phase des weiblichen Zyklus gemacht. Diese Vorgehensweise erlaubt Aussagen über optimale Trainings- und Rehabilitationskonzepte bei Männern und Frauen.

2. Material und Methoden

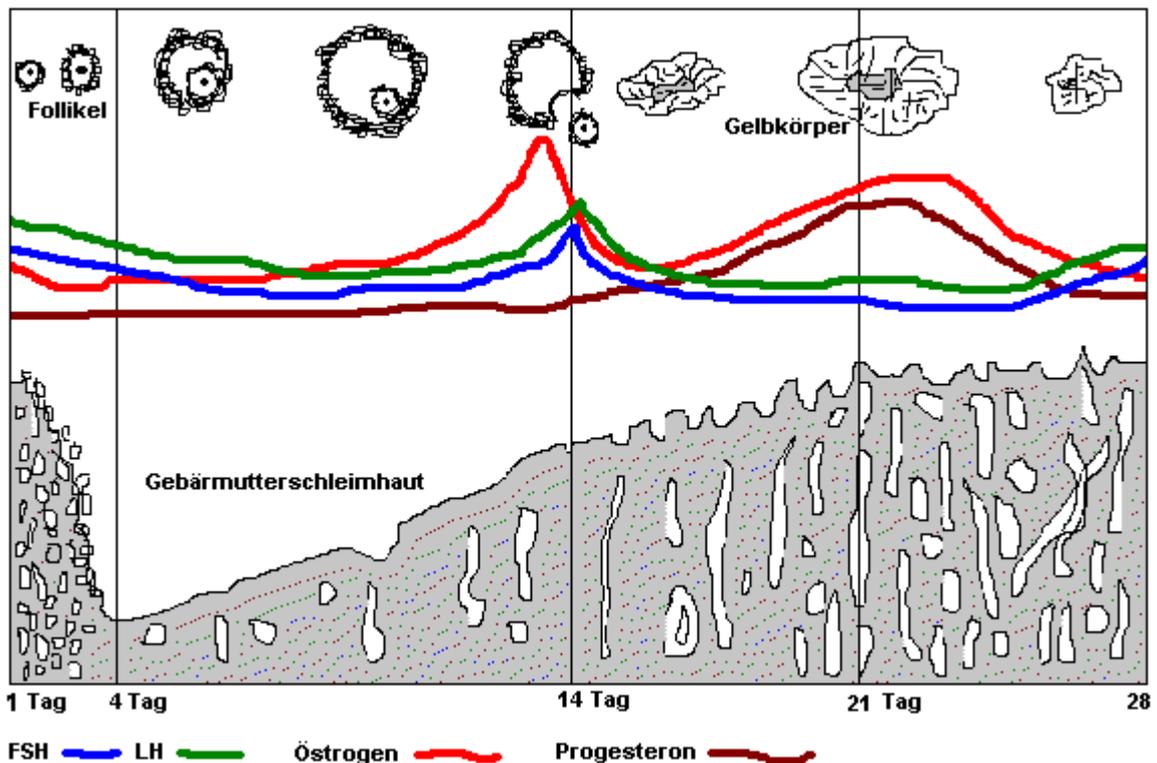
2.1. Studienteilnehmer

In die Studie eingeschlossen waren 13 männlich Studienteilnehmer im Alter von 21 bis 40 Jahren (32,6 (CI 31/34 Jahre)) mit einem durchschnittlichen BMI von 21,6 (CI 21,3/22). Außerdem eingeschlossen waren 13 weibliche Studienteilnehmerinnen im Alter von 18 bis 41 Jahren (30 (CI 30/31 Jahre)) mit einem durchschnittlichen BMI von 20,7 (CI 20,5/20,9).

[Im Folgenden wird von den Studienteilnehmerinnen zur Vereinfachung stellenweise nur in der männlichen Form gesprochen]

Alle Teilnehmer waren ausdauertrainierte Läufer mit einem wöchentlichen Trainingspensum zwischen 40 und 75 km bei den Männern und 20 bis 100 km bei den Frauen und einer errechneten durchschnittlichen individuellen anaeroben Schwelle (IAS) von 14,1km/h (CI 13,9/14,3) bei den Männern und 11,6 (CI 11,5/11,7) km/h bei den Frauen. Einschlussbedingungen waren ein seit mindestens drei Jahren durchgeführtes Lauftraining mit drei bis vier Trainingseinheiten pro Woche und ein Trainieren im Ausdauerbereich. Einschlussbedingung bei den weiblichen Läuferinnen war außerdem ein stabiler Zyklus, da der Zeitpunkt der jeweiligen Zyklusphase, in der die Laufbelastung stattfand, berechnet wurde. Ausschlusskriterien waren eine regelmäßige Medikamenteneinnahme, eine Raucheranamnese, infektiöse, entzündliche oder autoimmune Erkrankungen von Organsystemen und, bei den Frauen, die Einnahme von hormonellen Kontrazeptiva.

Abbildung 2. Zyklus der Frau (Quelle: www.medizinfo.de)



Die Teilnehmer absolvierten am Versuchstag nach einem standardisierten Frühstück, bestehend aus einer Brezel und Mineralwasser ad libitum, eine einstündige Laufbandbelastung mit einer Intensität von 93 % der individuellen anaeroben Schwelle (IAS). Die Männer absolvierten diesen Dauerlauf einmal, die Frauen jeweils einmal in der ersten Zyklushälfte am Tag 10. ± 1 Tag post menstruationem (entspricht F-Phase) sowie in der 2. Zyklushälfte am Tag 25. ± 1 Tag post menstruationem (entspricht L-Phase).

2.2. Studienprotokoll und –durchführung

2.2.1. Versuchsablauf

Nach der Probandensuche in regionalen Sportvereinen, Lauffreize und unter Bekannten erfolgten nach einer orientierenden Eignungsabklärung eine schriftliche und mündliche Aufklärung. Dann wurde eine Einverständniserklärung verfasst wonach zwei Tests erfolgten.

- Rampentest mittels Spiroergometrie zur Erhebung der VO_2 max
- Mehrstufentest nach definiertem Protokoll zur Bestimmung der individuellen anaeroben Schwelle (im Folgenden nur noch IAS genannt)

Hiernach erfolgte eine Woche später der tatsächliche Dauerlauf von einer Stunde bei 93% der individuell errechneten IAS. Morgens vor dem Frühstück (nüchtern), direkt nach der Laufbelastung sowie drei Stunden und 24 Stunden nach der Laufbelastung wurde allen Teilnehmern venöses Blut per Einmalpunktion aus einer Ellenbeugenvene entnommen. Kapilläre Laktatmessungen wurden als Kontrolle der definierten Belastungsgrenze vor, nach 10 Minuten und nach Ende des Laufs bestimmt.

Bei der ersten Blutentnahme vor dem Frühstück wurde entnommen:

- 2,5 ml in einer Serummonovette zur Bestimmung der Geschlechtshormone Östradiol, Progesteron, Prolaktin, Testosteron sowie der Hypophysenhormone FSH und LH.
- 2,5 ml in einer Serummonovette zur Bestimmung der Hormone Cortisol, Creatinkinase, Myoglobin, Somatotropin, IGF-1 sowie der freien Fettsäuren durch das Zentrallabor der Universität Tübingen
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette die sofort in Eis eingelegt wurde zur Bestimmung der Noradrenalin und Adrenalin
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette für den Metabonomicstest des Zentrallabors

- 2,5 ml in einer Lithium-Heparinmonovette zur Bestimmung der Phagozytose- und Burstaktivität
- 46 ml in EDTA-Monovetten für die Durchflusszytometrie, die in-vitro-Stimulierung, die RNA-Isolierung sowie Plasmaaliquots à 1 ml.

Bei der Blutentnahme direkt nach Belastung, sowie drei und 24 Stunden nach Belastung wurden entnommen:

- 2,5 ml in einer Serummonovette zur Bestimmung der Hormone Cortisol, Creatinkinase, Myoglobin, Somatotropin, IGF-1 sowie der freien Fettsäuren durch das Zentrallabor der Universität Tübingen
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette die sofort in Eis eingelegt wurde zur Bestimmung der Noradrenalin und Adrenalin
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette für den Metabonomicstest des Zentrallabors
- 2,5 ml in einer Lithium-Heparinmonovette zur Bestimmung der Phagozytose- und Burstaktivität
- 18 ml in EDTA-Monovetten für die Durchflusszytometrie, die RNA-Isolierung sowie Plasmaaliquots à 1 ml.

Bei der Blutentnahme 48 Stunden nach Belastung wurde entnommen:

- 2,5 ml in einer Serummonovette zur Bestimmung der Hormone Cortisol, Creatinkinase, Myoglobin, Somatotropin, IGF-1 sowie der freien Fettsäuren durch das Zentrallabor der Universität Tübingen
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette die sofort in Eis eingelegt wurde zur Bestimmung der Noradrenalin und Adrenalin
- 2,7 ml in einer EDTA-Monovette für den Metabonomicstest des Zentrallabors

2.2.2 Mehrstufentest zur Bestimmung der IAS

Begonnen wurde der Mehrstufentest auf einem Laufbandergometer der Firma h/p/cosmos, (Modell pulsar 4.0) bei einer Geschwindigkeit von 6 km/h, die Steigerung betrug 2 km/h bei einer Stufendauer von drei Minuten. Als spezifisches Abbruchkriterium galt subjektive Erschöpfung.

Den Studienteilnehmern wurde in Ruhe, vor der Belastung, nach Ende jeder Belastungsstufe sowie ein und drei Minuten nach Ende der Belastung zur Bestimmung der Laktatkonzentration Kapillarblut aus dem hyperämisierten Ohrläppchen entnommen.

Die Analyse erfolgte im hämolysierten Kapillarblut durch einen Laktatanalysator (EBIO, Eppendorf, Deutschland)

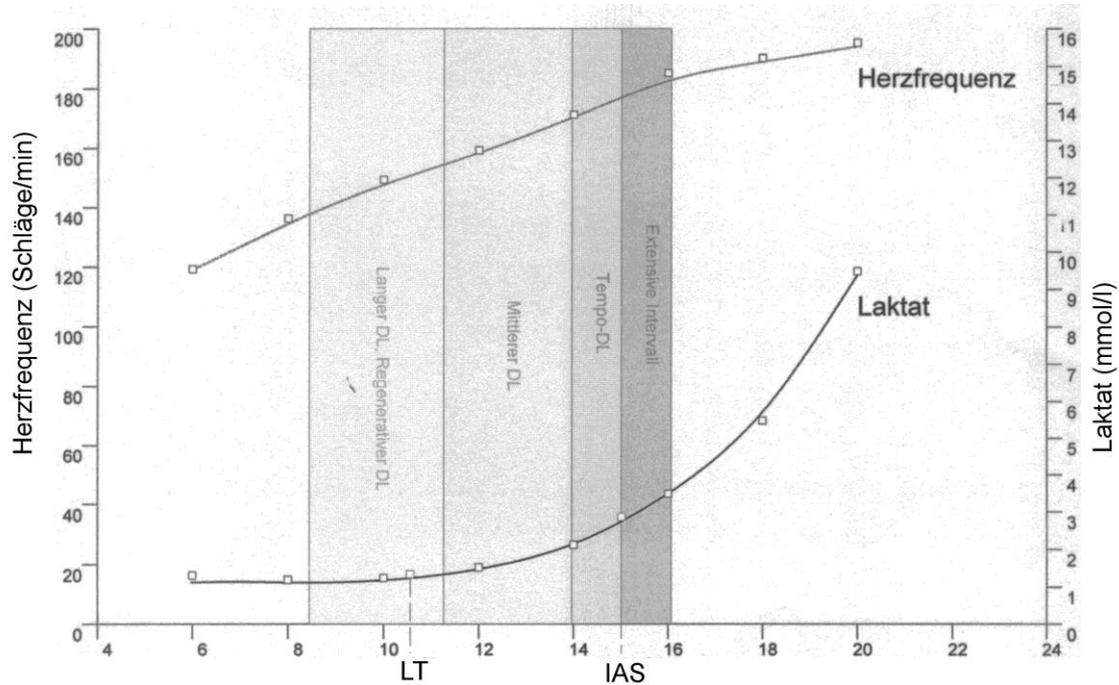
Die IAS wurde grundlegend nach dem Konzept von Dickhuth et al berechnet ¹¹. Sie wird als die Laufgeschwindigkeit definiert, bei der die Laktatkonzentration 1,5 mmol/l über derjenigen Laktatkonzentration liegt, die als die Laktatschwelle, oder das minimale Laktatäquivalent, bezeichnet wird. Die Laktatschwelle ist der Beginn des Anstiegs der Laktatkonzentration aus der Interpolante der Quotienten Laktat/Leistung ($La/VO_2/kg$).

Im Bereich der IAS herrscht gerade noch ein Ausgleich zwischen Laktatproduktion- und eliminierung, also eben noch eine Situation, in der eine aerobe Energiegewinnung im Körper bzw. dem Muskel stattfindet. Sie wird auch als Dauerleistungsgrenze bezeichnet und gibt Aufschluss über die Leistungsfähigkeit eines Sportlers im Ausdauerbereich.

Für die Berechnung der IAS in dieser Versuchsreihe wurde eigens eine PC-Routine erstellt, die den Kurvenverlauf zwischen den einzelnen Laktatmesswerten fehlerausgleichend interpretiert.

Aus der ebenfalls geglätteten Kurve der gemessenen Herzfrequenzwerte wurde die individuelle Herzfrequenz an der Laktatschwelle und diejenige Herzfrequenz an der IAS berechnet.

Abbildung 3. Die Laktatkurve eines Probanden. Die Laktatschwelle (LT) und die individuelle anaerobe Schwelle (IAS) werden vom Softwareprogramm AIMS berechnet.



2.2.3 Rampentest zur Ermittlung der VO_2 max

Zur Bestimmung der VO_2 max absolvierten die Probanden eine Spiroergometrie auf einem Laufband der Firma h/p/cosmos, (Modell Saturn)

Die maximale Sauerstoffaufnahme (VO_2 max in ml O_2 /min) gibt an, wieviel Milliliter Sauerstoff pro Minute der Körper bei Ausbelastung maximal verwerten kann. Sie dient z. B. zu Messung der Ausdauerfähigkeit von Sportlern.



Foto der Spiroergometrie mit freundlicher Genehmigung der Sportlerin

2.2.4. Abfolge der Arbeitsschritte

Die gesammelten Blutentnahmen wurden nach der Entnahme direkt weiterverarbeitet.

Von den 46 ml EDTA-Blut wurden zweimal 14 ml für die in vitro Versuche verwendet.

Die 14 ml für die Positivkontrolle wurden für zwei Stunden bei 41,8° C im Wasserbad inkubiert, danach ruhten die Proben für zwei Stunden bei 37,8° C im Brutschrank.

Die 14 ml der Negativkontrolle wurde zwei Stunden bei 37,8° C im Wasserbad inkubiert, um anschließend zusammen mit der Positivkontrolle zwei Stunden im Brutschrank zu ruhen.

Die Monovetten wurden fünf Minuten bei 2100 rpm zentrifugiert und in Eppendorfcups à 1ml aliquotiert und bei minus 70° C eingefroren.

- Herstellung der PBMC über Dichtezentrifugation

Der Rest des Röhrchens wurde in ein 50 ml Tube überführt, mit PBS auf 35 ml aufgefüllt und geschüttelt. Dann wurden 10 ml Lymphoflot in einer Pipette mit einem Pipetboy auf den Boden der tube gesetzt, der Pipetboy vorsichtig von der Pipette getrennt woraufhin das Lymphoflot langsam unter das Blut geschichtet wurde. Zum Herausziehen der Pipette wurde die Öffnung mit dem Finger dicht verschlossen und die Pipette vorsichtig herausgezogen. Das tube wurde 20 Minuten bei 2100 rpm ohne Bremse zentrifugiert.

Der entstandene Zellring aus PBMC wurde abpipettiert, in ein weiteres 50 ml tube überführt und mit PBS auf 50 ml aufgefüllt. Nach 10 Minuten Zentrifugation bei 1200 rpm mit Bremse wurde der Überstand dekantiert, das Pellet resuspendiert und erneut mit PBS aufgefüllt. Nach Wiederholung dieses Schrittes wurde 1 ml zur Messung der Zellzahlen am Celldyn der Firma Abbott verwendet.

- RNA-Isolierung

Für die RNA-isolierung wurden jeweils 10 Millionen Zellen mit 600 µl RLT-Puffer und β-Mercaptoethanol bei minus 70° C eingefroren.

- Fixierung

Für die FACS-Markierung wurde eine Million Zellen weiterverwendet.

Zur Zellfixierung diente die formaldehydhaltige Lösung Reagenz A aus dem Fix&Perm Kit Fa.... ?

1 Millionen Zellen wurden mit 300 µl Fix Reagenz A für genau 15 Minuten inkubiert, gewaschen, mit 10 ml FACS-Puffer aufgefüllt und zentrifugiert. Der Überstand wurde abgekippt, das Pellet resuspendiert und mit 1 ml FACS-Puffer aufgefüllt und je 200 µl in die wells einer MTP überpipettiert, zentrifugiert, dekantiert und aufgeschüttelt.

- Permeabilisierung

Zur Permeabilisierung wurden 50 µl Reagenz B aus dem Fix&Perm Kit zugegeben sowie 20 µl Primärantikörper, vorsichtig gemischt und bei 15 min Raumtemperatur inkubiert.

Nach zwei Waschschritten wurde 20 µl FITC gelabelter Sekundär-Antikörper (Anti-Maus) zupipettiert, vorsichtig gemischt und bei Raumtemperatur 20 Minuten im Dunkeln inkubiert.

Anschließend folgten zwei weitere Waschschrritte bevor jeweils 200 µl FACS-Puffer in eine Kavität pipettiert wurde und die Zellsuspension in ein mit 500 µl FACS-Puffer gefülltes FACS-Röhrchen zur Messung überführt wurde. Ein Waschschrtritt setzt sich zusammen aus Auffüllen der Zellen mit PBS-Puffer, anschließender Zentrifugation, danach Abkippen des Überstandes und Resuspendierung des Pellets mit dem Vortexgerät.

- FACS

Der sogenannte FACS ist eigentlich die Abkürzung für Fluorescence-Activated-Cell-Sorter. Hierbei wird die Fluoreszenz von Partikeln (in unserem Falle die Leukozyten und Phagozyten) gemessen, während diese von einem Laser bestrahlt sozusagen im Gänsemarsch durch ein Glasröhrchen fließen. Synonym wird auch der Begriff Durchflusszytometrie bzw. Durchflusszytometer verwendet. Beim Auftreffen des Laserstrahls auf die im Probenstrom enthaltenen Bestandteile wird das Licht in der Messküvette gestreut. Die nach vorne abgelenkten Strahlen sind ein Maß für die Größe der gemessenen Zellen (forward scatter oder Vorwärtsstreulicht). Das in einem 90° Winkel abgestrahlte Licht wird als sideward scatter bezeichnet und ist ein Maß für die Zellgranularität.

Im Durchflusszytometer wurden 10.000 positive Ereignisse (=Zellen) gezählt. Daraus ergab sich der Prozentanteil positiver Zellen (HSP 70, 27, HO) und der Mittelwert der Fluoreszenzintensität (mfc). Durch gating im Scattergramm konnten die einzelnen Zellpopulationen voneinander abgegrenzt werden.

2.3. Bursttest

100 µl heparinisiertes Vollblut wurden ohne die Wand des FACS-Röhrchens zu berühren auf den Boden pipettiert und im Eisbad zehn Minuten gekühlt.

In Röhrchen #1 wurden 20 µl gekühlte Bakteriensuspension (opsonierte E.coli), in Röhrchen #2 20 µl washing solution, in Röhrchen #3 20 µl fMLP (N-formyl-Methionin-Leucin-Phenylalanin als low stimulus), in Röhrchen #4 20 µl PMA (Protein C Kinase-ligand Phorbol-12-myristate 13-acetate als high stimulus) gegeben.

Alle Proben wurden gevortext und Röhrchen 1,3 und 4 für genau zehn Minuten bei 37° C im Wasserbad inkubiert.

Danach wurden 20 µl Substrat solution zugegeben, alle vier Probenröhrchen gevortext und für weiter zehn Minuten bei 37° C im Wasserbad inkubiert.

Die Reaktion von DHR 123 (Dihydrorhodamin) zu R123 wurde durch Zugabe von 2 ml Lysing solution gestoppt, welche Erythrozyten entfernt und in einer partiellen Fixierung von Leukozyten resultiert. Nach 20 Minuten Inkubation mit Lysing solution wurden die Proben fünf Minuten bei 4° C zentrifugiert, der Überstand abgekippt und das Pellet resuspendiert.

Ein weiterer Waschschrift mit 3 ml washing solution schloss sich an, bevor das resuspendierte Pellet mit 200 µl staining solution zehn Minuten auf Eis lichtgeschützt inkubiert wurde.

Innerhalb von 30 Minuten wurden die Proben in der Reihenfolge 2,1,3,4 am FACS-Gerät gemessen.

2.4. Phagozytostest

Für den sogenannten Phagozytostest wurden 100 µl heparinisiertes Vollblut ohne die Wand des FACS-Röhrchens zu berühren auf den Boden pipettiert und im Eisbad zehn Minuten heruntergekühlt.

In Röhrchen #1 wurden 20 µl gekühlte Bakteriensuspension (opsonierte FITC markierte E.coli).

Die Kontrolle in Röhrchen #2 ohne Bakteriensuspension blieb auf Eis während die zu testenden Proben für genau zehn Minuten bei 37° C im Wasserbad inkubiert wurden.

Alle Proben wurden gleichzeitig aus dem Wasserbad und durch Zugabe von 100 µl Quenching solution wurde die Phagozytose gestoppt.

3 ml Washing solution wurden zugesetzt, gevortext und fünf Minuten bei 4°C zentrifugiert. Der Überstand wurde abgekippt, das Pellet resuspendiert, anschließend folgte ein weiterer Waschschrift. Nach 20 Minuten Inkubation mit Lysing solution wurden die Proben fünf Minuten bei 4° C zentrifugiert, der Überstand abgekippt und das Pellet resuspendiert.

Ein weiterer Waschschrift mit 3 ml washing solution schloss sich an, bevor das resuspendierte Pellet mit 200 µl staining solution zehn Minuten auf Eis lichtgeschützt inkubiert wurde. Die staining solution schließt Aggregationsartefakte von Bakterien oder Zellen aus.

Innerhalb von 60 Minuten wurde die Zellsuspension auf Prozent positiver Zellen und durchschnittliche Fluoreszenzaktivität am Durchflusszytometer gemessen.

Durch die Quenching solution wird die Unterscheidung zwischen aufgenommenen und an der Oberfläche gebundenen Bakterien möglich. Dies geschieht indem im Gegensatz zu an Oberflächen gebundenen Bakterien die FITC-Fluoreszenzmarkierung von aufgenommenen Bakterien nicht abgefangen wird.

Die E.coli-Bakterien wurden mit Immunglobulin und Komplementfaktor C3b opsoniert, die phagozytierenden Zellen (Monozyten, mehrkernige Neutrophile) besitzen einen Rezeptor für diesen C3b-Faktor und die konstante Fc-Bindungsstelle von Antikörpern. Durch den Einsatz von opsonierten und nichtopsonierten Bakterien kann gleichzeitig die Fähigkeit zur Phagozytose und Opsonierung gemessen werden. So kann entschieden werden, ob abnormale Phagozytose aufgrund eines Fehlers in der Opsonierung oder aufgrund eines Fehlers in der Fähigkeit der Aufnahme in die Zelle bedingt ist.

2.5. Statistische Datenanalyse

Die statistische Berechnung der vorliegenden Daten erfolgte für alle abhängigen Variablen mit Hilfe varianzanalytischer Methoden.

Präzise wurden für die Berechnungen von Unterschieden zwischen Männern und Frauen Allgemeine Lineare Modelle (GLM = General Linear Model) mit Messwiederholungsfaktor berechnet. In jedem Model wurden die folgenden unabhängigen Variablen (auch *Faktoren* genannt) definiert: Geschlecht (Männer und Frauen), Messzeitpunkte (pre- direkt vor dem Lauf; t0- direkt nach dem Lauf, t3- drei Stunden nach dem Lauf, t24- 24 Stunden nach dem Lauf). Diese Definition ermöglichte es folgende Effekte auf Signifikanz zu untersuchen: Geschlecht, Messzeitpunkt und die Interaktion Geschlecht und Messzeitpunkt. Ergab sich ein F-Wert, der einherging mit einer Signifikanzschwelle von $p < 0.05$, so wurde der Haupteffekt oder die Interaktion als signifikant beschrieben.

Im Falle der signifikanten Interaktion von Geschlecht und Messzeitpunkt wurden T-Test Analysen für gepaarte Stichproben getrennt für die Gruppe der Männer und die Gruppe der Frauen berechnet. Diese ermöglichten die spezifische Untersuchung der Unterschiede der abhängigen Variable bei Männer und Frauen getrennt in Abhängigkeit des Messwiederholungsfaktor (Messzeitpunkt). Auch hier lag die Signifikanzschwelle bei $p < 0.05$. Zur statistischen Berechnung wurde die Software Systat 13 (Systat Software, Inc., Chicago, IL, USA) benutzt und zur graphischen Darstellung der Ergebnisse Excel 2003.

Allgemeine Lineare Modelle mit Messwiederholungsfaktor wurden verwendet um Unterschiede in der abhängigen Variable zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase zu berechnen. Folgende unabhängige Variablen wurden definiert: Phase (Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase) und Messzeitpunkte (pre- direkt vor dem Lauf; t0- direkt nach dem Lauf, t3- drei Stunden nach dem Lauf, t24- 24 Stunden nach dem Lauf). Ergab sich ein F-Wert, der einherging mit einer Signifikanzschwelle von $p < 0.05$, so wurde der Haupteffekt oder die Interaktion als signifikant beschrieben. Signifikante Interaktion von Phase und Messzeitpunkt wurde wiederum (s.oben) spezifisch

mit der Hilfe von T-Test Analysen für gepaarte Stichproben auf Signifikanz in den Gruppen und in Abhängigkeit des Messzeitpunktes hin überprüft. Die Signifikanzschwelle lag auch hier bei $p < 0.05$. Zur statistischen Berechnung wurde ebenfalls Systat 13 und zur graphischen Darstellung Excel 2003 verwendet.

3. Resultate

3.1. Darstellung der Ergebnisse

Die Analysen der HSP-Konzentrationen, der Blutbildparameter und Hormon- sowie Fettsäuren- und CK-konzentrationen und die Analysen des Phagozytose- und Burst-Tests erfolgten in mehreren Schritten. Zunächst wurde berechnet, ob sich Männer und Frauen (jeweils in F-Phase oder L-Phase), beziehungsweise Frauen in F- und L-Phase unterscheiden. Wie bereits unter Material und Methoden erwähnt, wurden varianzanalytische Berechnungen mit Messwiederholung durchgeführt und folgende Effekte auf Signifikanz getestet:

- Geschlecht
- Messzeitpunkt
- Messzeitpunkt x Geschlecht

Ergaben sich ein signifikante Interaktionen wurden diese mit Hilfe von T-Test Analysen für gepaarte Stichproben (getrennt nach Gruppen) detailliert berechnet.

Im Anhang ab Seite 97 werden die grundlegenden Tabellen mit den Analysedaten inklusive der Mittelwerte und Standardabweichungen für die Berechnungen der HSP, der Hormone, der CK, der Blutbildparameter, der Fettsäuren und der Burst -und Phagotestung gezeigt.

3.2. Antropometrische Daten der Studienteilnehmer

Die deskriptiven Statistiken zur Charakterisierung der Studienteilnehmer zeigten signifikante Unterschiede zwischen Männer und Frauen hinsichtlich Größe, Leistungseinheiten pro Woche und Leistungsumfang pro Woche (siehe Tabelle 2.). Männer waren insgesamt größer als die Frauen des Teilnehmerkollektivs, zudem trainierten die Männer häufiger pro Woche und in größerem Umfang. Alter, Trainingsalter (Zeit, in der in diesem hohen Umfang trainiert wurde), Bodymassindex und Körperfett zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen Männern und Frauen.

Tabelle 2. Deskriptive Daten der Teilnehmer für stichprobenbeschreibende Variablen mit Mittelwert und Standardabweichung. Signifikante Werte wurden fett gedruckt.

Parameter	Frauen (n = 9)	Männer (n = 12)	Statistik
	Mittelwerte	Mittelwerte	t
	Standardabweichung	Standardabweichung	p
Alter [a]	29.55 (5.36)	32.58 (6.08)	t(19) = 1.18, <i>p</i> = 0.25
Größe [cm]	168.88 (7.97)	180.41 (4.46)	t(19) = 5.52, <i>p</i> < 0.001
BMI [kg/m ²]	20.91 (1.35)	21.60 (1.11)	t(19) = 1.28, <i>p</i> = 0.21
Körperfett [mm]	10.57 (4.45)	7.90 (5.06)	t(19) = -1.25, <i>p</i> = 0.22
Trainingsalter [a]	8.44 (6.80)	9.91 (4.60)	t(19) = 0.59, <i>p</i> = 0.56
Einheiten/Woche	4.44 (0.88)	5.75 (0.75)	t(19) = 3.65, <i>p</i> = 0.001
Umfang [km/Woche]	38.88 (13.41)	60.83 (10.83)	t(19) = 4.15, <i>p</i> < 0.001

Hinsichtlich aller hier definierten leistungsspezifischen Daten zeigte sich, dass Männer signifikant höhere Werte erzielten (siehe Tabelle 3.).

Tabelle 3. Leistungsspezifische Daten der Studienteilnehmer mit Mittelwert und Standardabweichung. Signifikante Werte wurden fett gedruckt.

Parameter	Frauen (n = 9)	Männer (n = 12)	Statistik
	Mittelwerte (Standardabweichung)	Mittelwerte (Standardabweichung)	t p
Leistung [km/h] an IAS	11.83 (0.90)	13.99 (0.87)	t(19) = 5.52, p < 0.001
Laufgeschwindigkeit (93% der IAS) [km/h]	10.97 (0.84)	12.91 (0.79)	t(19) = 5.34, p < 0.001
VO ₂ max [l/min]	2.71 (0.36)	3.97 (0.50)	t(19) = 6.35, p < 0.001
VO ₂ bei 93% IAS [l/min]	2.12 (0.29)	2.95 (0.41)	t(19) = 5.18, p < 0.001

3.3. Analysen der HSP-Konzentration

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Analysen komplett tabellarisch und bei signifikanten Ergebnissen auch graphisch aufgezeigt. Die Messzeitpunkte werden nach Entnahmezeitpunkt mit

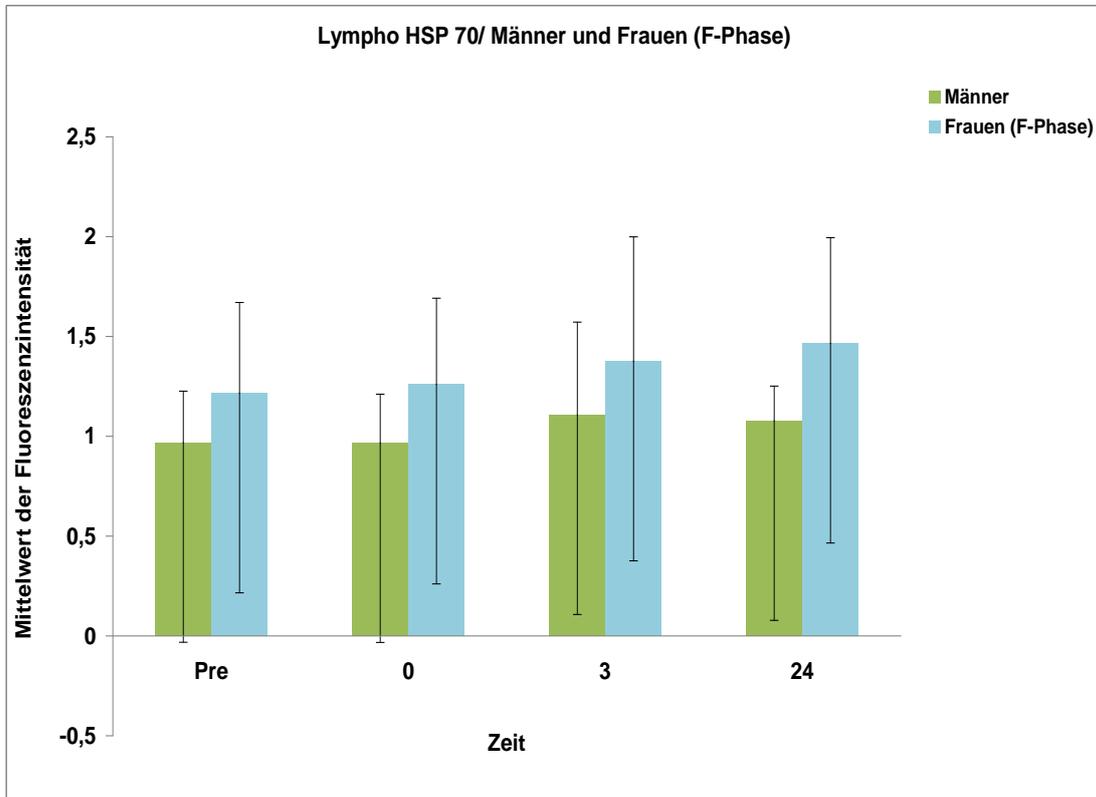
- PRE für die Messung vor dem Lauf/nach dem Frühstück
- 0 für die Messung direkt nach dem Lauf
- 3 für die Messung nach drei Stunden
- 24 für die Messung nach 24 Stunden bezeichnet.

3.3.1. Analysen von Männern und Frauen in der F-Phase

Fluoreszenzintensität HSP 70/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen F-Phase

Die Varianzanalysen zwischen Männern und Frauen in der F-Phase ergaben signifikante Ergebnisse für den Faktor Geschlecht ($F[1,18] = 4.60$, $p = 0.045$) und den Faktor Zeit ($F[3,54] = 3.21$, $p = 0.04$) für Mittelwerte der Fluoreszenzintensität HSP 70-positiver Lymphozyten. Während Männer und Frauen in der F-Phase einen linearen Anstieg der Fluoreszenzintensität aufweisen, zeigen Frauen in der F-Phase zudem ein signifikant erhöhtes Niveau über alle Zeitbereiche hinweg

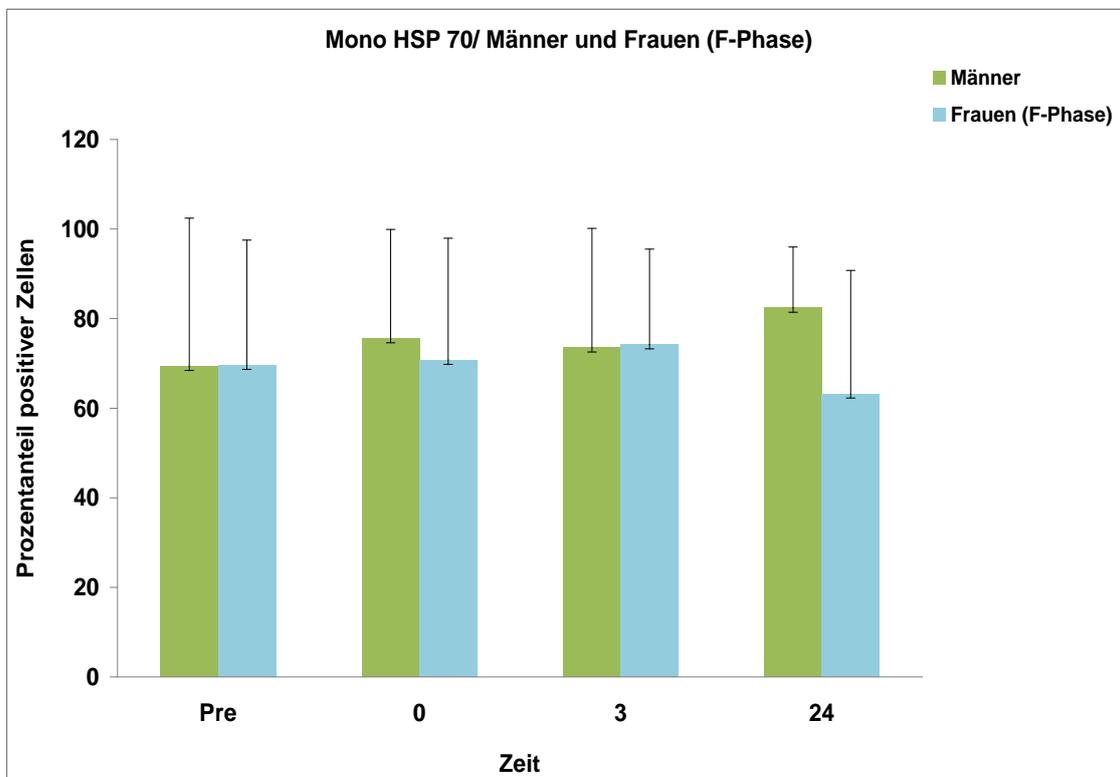
Abbildung 4. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung berechnet für die Fluoreszenzintensität von HSP 70-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (F-Phase).



Prozentanteil HSP 70/ Monozyten, Männer vs. Frauen F-Phase

In der folgenden Abbildung stellt sich der signifikante Haupteffekt Zeit für den Prozentanteil positiver Zellen gemessen für HSP 70-positive Monozyten ($F[1,18] = 6.56, p = 0.01$) dar.

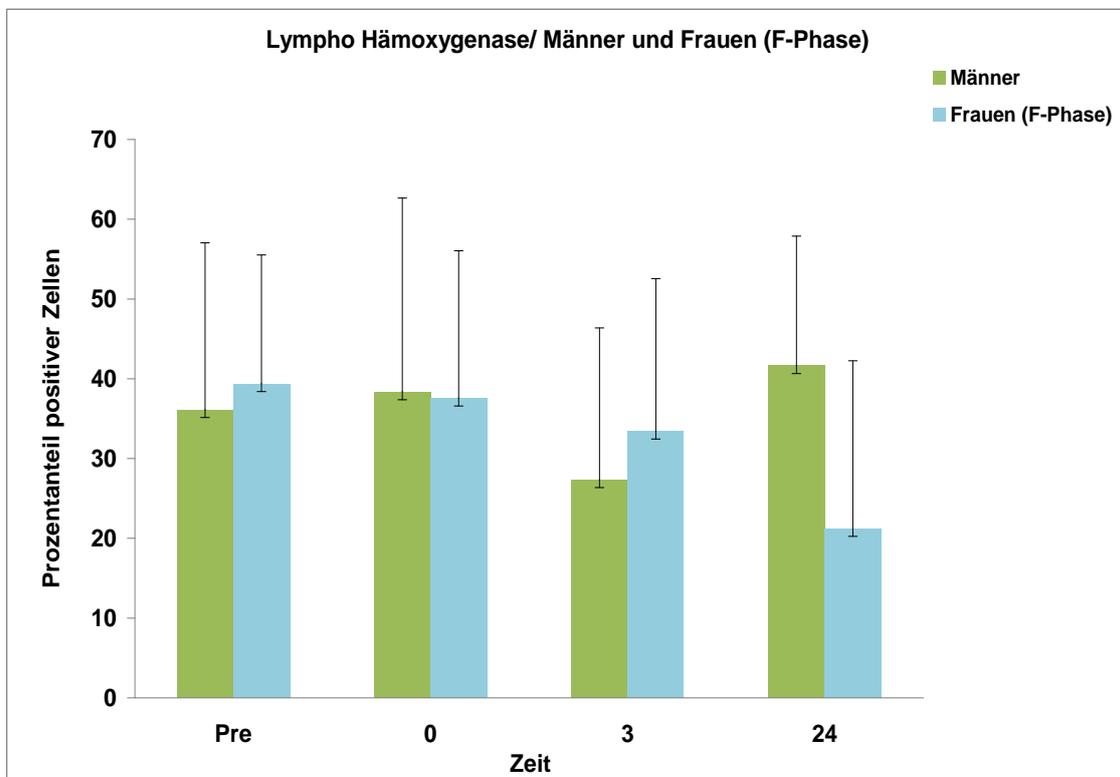
Abbildung 5. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung berechnet für den Prozentanteil HSP 70-positiver Monozyten zwischen Männern und Frauen (F-Phase).



Prozentanteil HO-1/ Lymphozyten Männer vs. Frauen F-Phase

Es zeigte sich eine marginal signifikante Interaktion von Zeit und Geschlecht für den Prozentanteil Hämoxygenase-positiver Lymphozyten ($F[3,54] = 2.80$, $p = 0.063$).

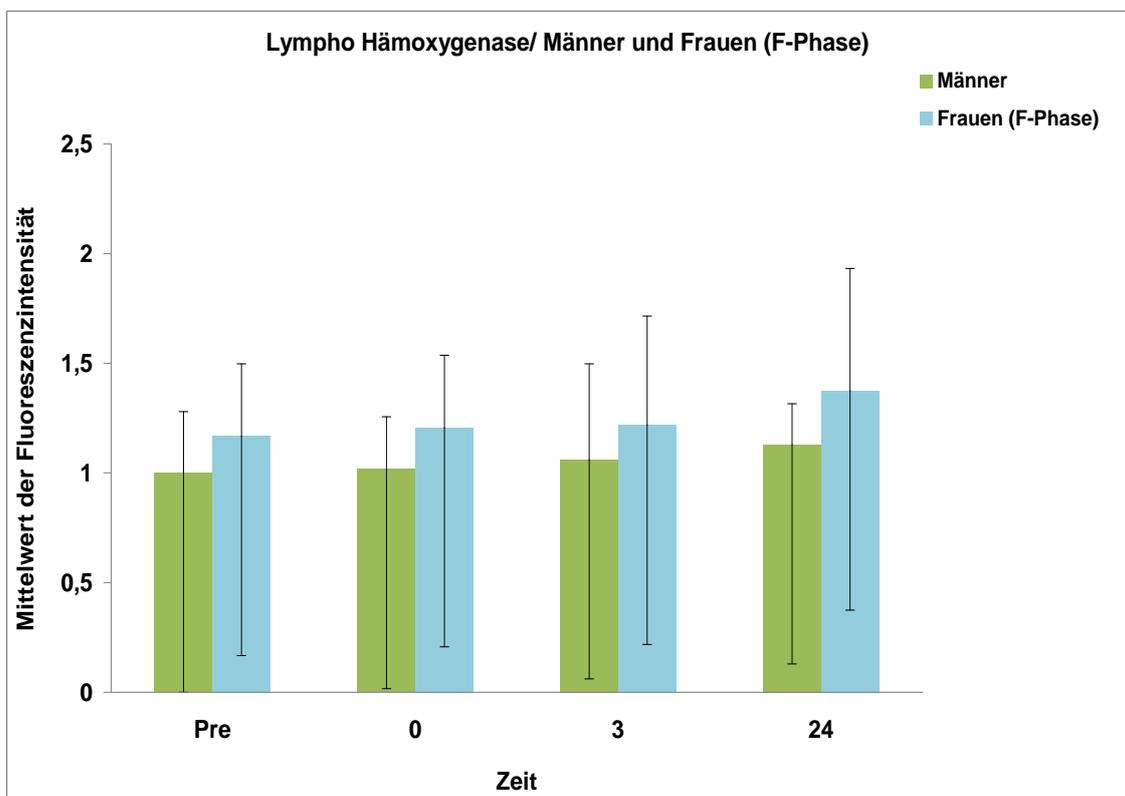
Abbildung 6. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung berechnet für den Prozentanteil Hämoxygenase-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (F-Phase).



Fluoreszenzintensität für HO-1/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen F-Phase

Ein linearer Anstieg im Mittelwert der Fluoreszenzintensität für Hämoxigenase-positive Lymphozyten führte zu einem signifikanten Haupteffekt Zeit ($F[3,45] = 50.36$, $p = 0.001$).

Abbildung 7. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von Hämoxigenase-positiven Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (F-Phase).



Fluoreszenzintensität HO-1/ Monozyten, Männer vs. Frauen F-Phase

Ein nicht-linearer An- und Abstieg zeigte sich in Abhängigkeit des Zeitpunkts der Messung zudem auch für die Fluoreszenzintensität hämoxygenase-positiver Monozyten ($F[3,51] = 43.99, p=0.0001$).

Abbildung 8. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung berechnet für die Fluoreszenzintensität von Hämoxygenase-positiven Monozyten zwischen Männern und Frauen (F-Phase).

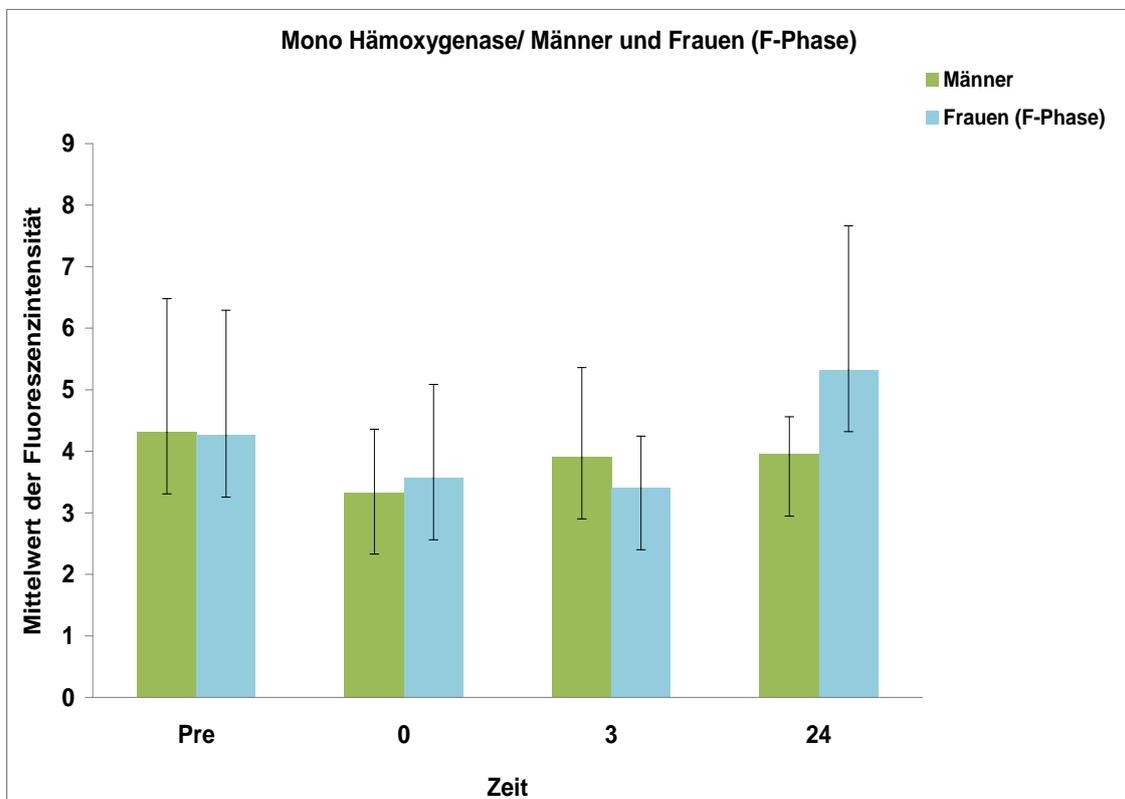


Tabelle 4. zeigt die statistischen Ergebnisse der Varianzanalysen zwischen Männern und Frauen in der F-Phase.

Tabelle 4. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von HSP/HO zwischen Männern und Frauen (F-Phase). Fettgedruckt sind signifikante Effekte

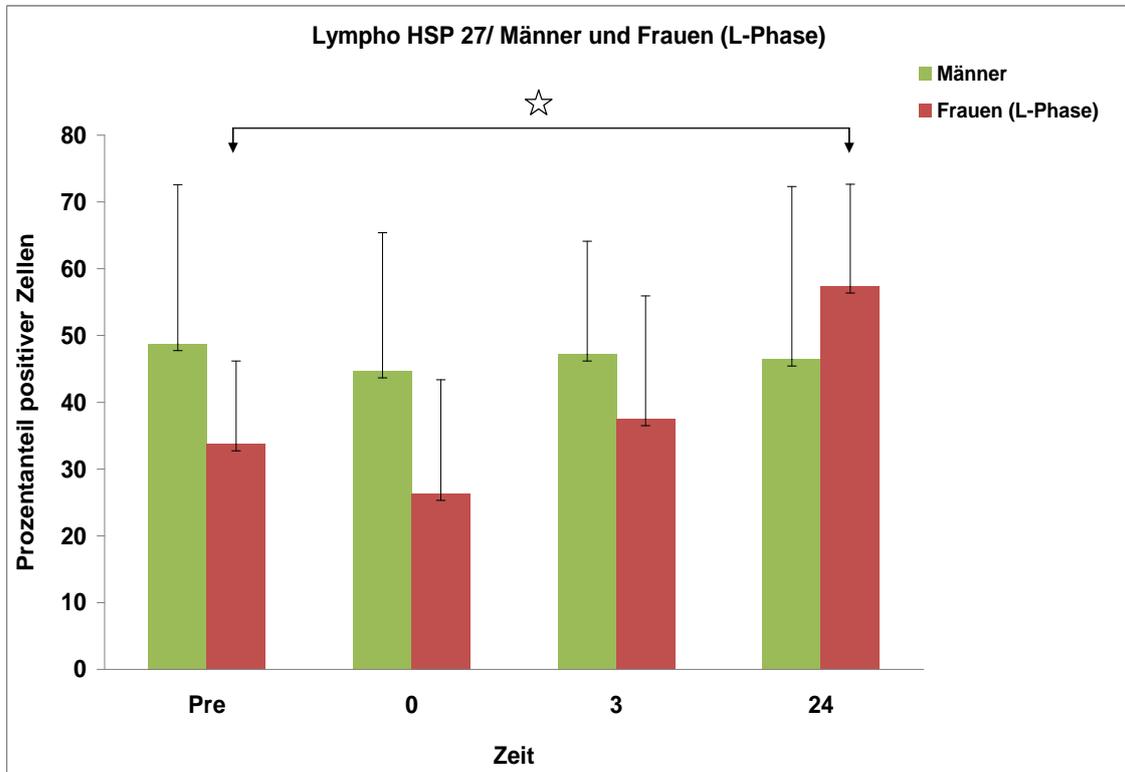
Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Lympho 27 %	F[1,18]= 1.090 <i>p</i> = 0.31	F[3, 54]= 0.51 <i>p</i> =0.644	F[3, 54]= 0.28 <i>p</i> = 0.80
Lympho 27 mfc	F[1,18]= 1.75 <i>p</i> = 0.20	F[3, 54]= 0.30 <i>p</i> =0.75	F[3, 54]= 0.34 <i>p</i> = 0.72
Mono 27 %	F[1,19]= 1.23 <i>p</i> = 0.28	F[3, 57]= 1.99 <i>p</i> =0.14	F[3, 57]= 0.42 <i>p</i> = 0.68
Mono 27 mfc	F[1,18]= 0.28 <i>p</i> = 0.60	F[3, 54]= 0.60 <i>p</i> =0.59	F[3, 54]= 0.27 <i>p</i> = 0.81
Lympho 70 %	F[1,18]= 1.06 <i>p</i> = 0.31	F[3, 54]= 0.21 <i>p</i> =0.86	F[3, 54]= 0.34 <i>p</i> = 0.77
Lympho 70 mfc	F[1,18]= 4.60 <i>p</i> = 0.045	F[3, 54]= 3.21 <i>p</i> =0.04	F[3, 54]= 0.92 <i>p</i> = 0.89
Mono 70 %	F[1,18]= 0.0002 <i>p</i> = 0.98	F[3, 54]= 6.56 <i>p</i> =0.01	F[3, 54]= 1.04 <i>p</i> = 0.37
Mono 70 mfc	F[1,18]= 1.75 <i>p</i> = 0.20	F[3, 54]= 0.30 <i>p</i> =0.75	F[3, 54]= 0.34 <i>p</i> = 0.72
Lympho-HO %	F[1,18]= 0.53 <i>p</i> = 0.47	F[3, 54]= 1.93 <i>p</i> =0.15	F[3, 54]= 2.80 <i>p</i> = 0.063
Lympho-HO mfc	F[1,18]= 0.32 <i>p</i> = 0.56	F[3, 54]= 50.36 <i>p</i> =0.001	F[3, 54]= 0.21 <i>p</i> = 0.66
Mono-HO %	F[1,18]= 2.20 <i>p</i> = 0.15	F[3, 54]= 0.57 <i>p</i> =0.56	F[3, 54]= 0.85 <i>p</i> = 0.42
Mono-HO mfc	F[1,17]= 0.13 <i>p</i> = 0.70	F[3, 51]= 43.99 <i>p</i> =0.0001	F[3, 51]= 0.35 <i>p</i> = 0.57

3.3.2. Analysen von Männern und Frauen in der L-Phase

Prozentanteil HSP 27/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

In den Varianzanalysen die Männer mit Frauen in der L-Phase verglichen, zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt von Messzeitpunkt ($F[3,54] = 4.47, p = 0.01$) und eine signifikante Interaktion für Geschlecht und Messzeitpunkt ($F[3,54] = 3.76, p = 0.02$) für den Prozentanteil HSP 27-positiver Lymphozyten. T-Test Analysen bestätigten, dass sich bei Männern der Anteil positiver Zellen in den Messzeitpunkten nicht signifikant unterscheidet, während Frauen signifikant erhöhte Werte während des dritten Messzeitpunkt, sowie nach 24 Stunden aufwiesen (alle $p < 0.05$; siehe hierzu auch Tabelle 5. und 6.).

Abbildung 9. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil HSP 27-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).



[Die Sternkennzeichnung erfolgte bei Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Messzeitpunkte Pre und 24 bei den Frauen in der L-Phase (siehe hierzu nachfolgende zwei Tabellen).]

Es folgen zwei Tabellen zum Mittelwertvergleich zwischen Männern und Frauen in der L-Phase bei der Variablen HSP 27-positive Lymphozyten bezogen auf den Prozentanteil positiver Zellen.

Tabelle 5. Mittelwerte der Prozentanteile HSP 27-positiver Lymphozyten (Männer)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	4.083333	17.078047	0.828261	11.000000	0.425129
Pre -t3	1.566667	20.451510	0.265364	11.000000	0.795636
t0 -t3	-2.516667	11.256904	-0.774457	11.000000	0.454985
Pre -t24	2.754545	24.120338	0.378759	10.000000	0.712784
t0 -t24	-3.018182	28.310168	-0.353589	10.000000	0.730988
t3 -t24	0.300000	22.900742	0.043448	10.000000	0.966200

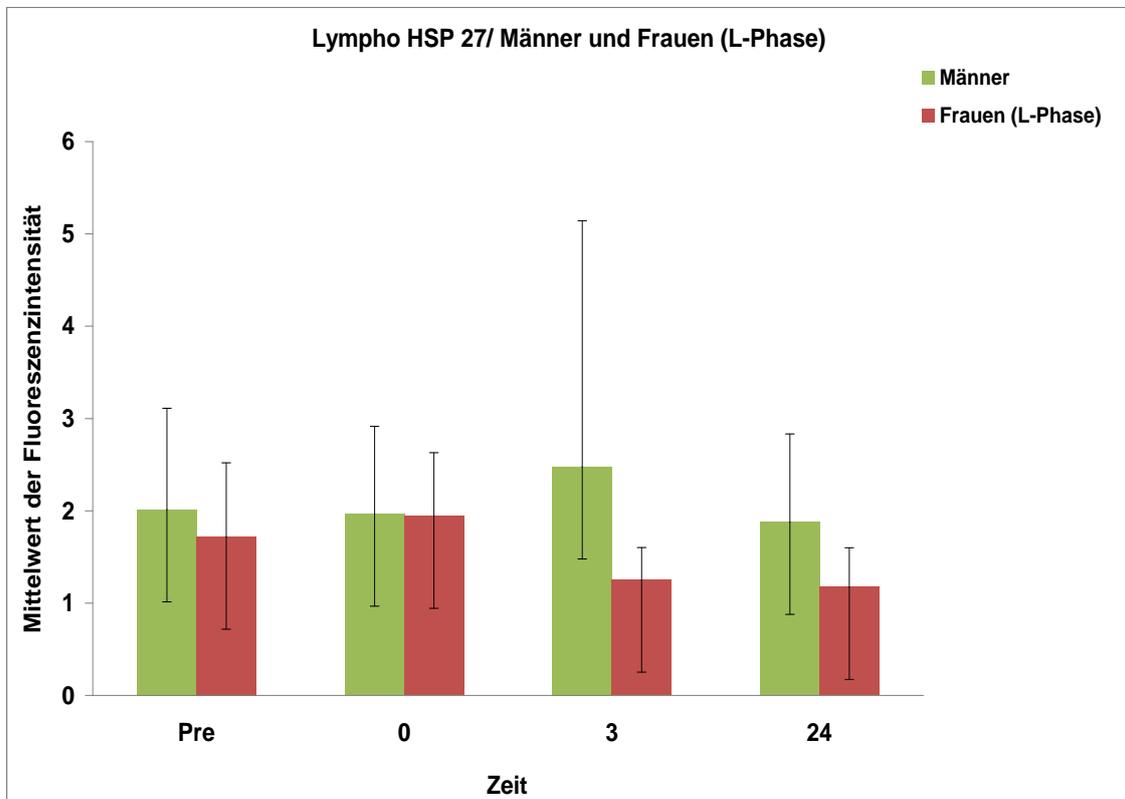
Tabelle 6. Mittelwerte der Prozentanteile HSP 27-positiver Lymphozyten (Frauen in der L-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	7.405556	13.473961	1.648859	8.000000	0.137787
Pre -t3	-3.755556	16.066278	-0.701262	8.000000	0.503025
t0 -t3	-11.161111	15.403026	-2.173815	8.000000	0.061452
Pre -t24	-23.622222	21.859082	-3.241978	8.000000	0.011842
t0 -t24	-31.027778	26.703835	-3.485767	8.000000	0.008250
t3 -t24	-19.866667	23.388940	-2.548213	8.000000	0.034270

Fluoreszenzintensität HSP 27/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

In der Varianzanalyse zwischen Männern und Frauen in der L-Phase zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt Geschlecht für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von HSP 27-positiven Lymphozyten.

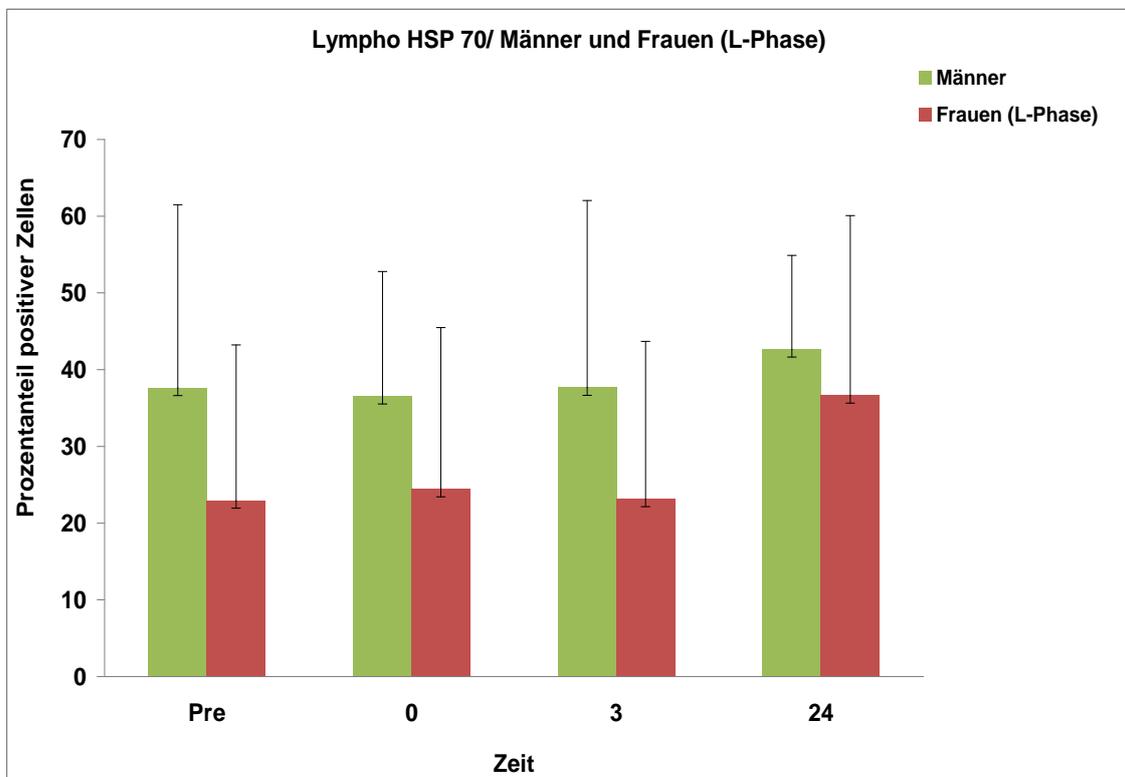
Abbildung 10. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität bei HSP 27-positiven Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).



Prozentanteil HSP 70/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

In diesen Varianzanalysen zwischen Männern und Frauen in der L-Phase ergab sich ein Haupteffekt Geschlecht im Prozentanteil HSP 70-positiver Lymphozyten ($F[1,18] = 3.52$ $p = 0.07$).

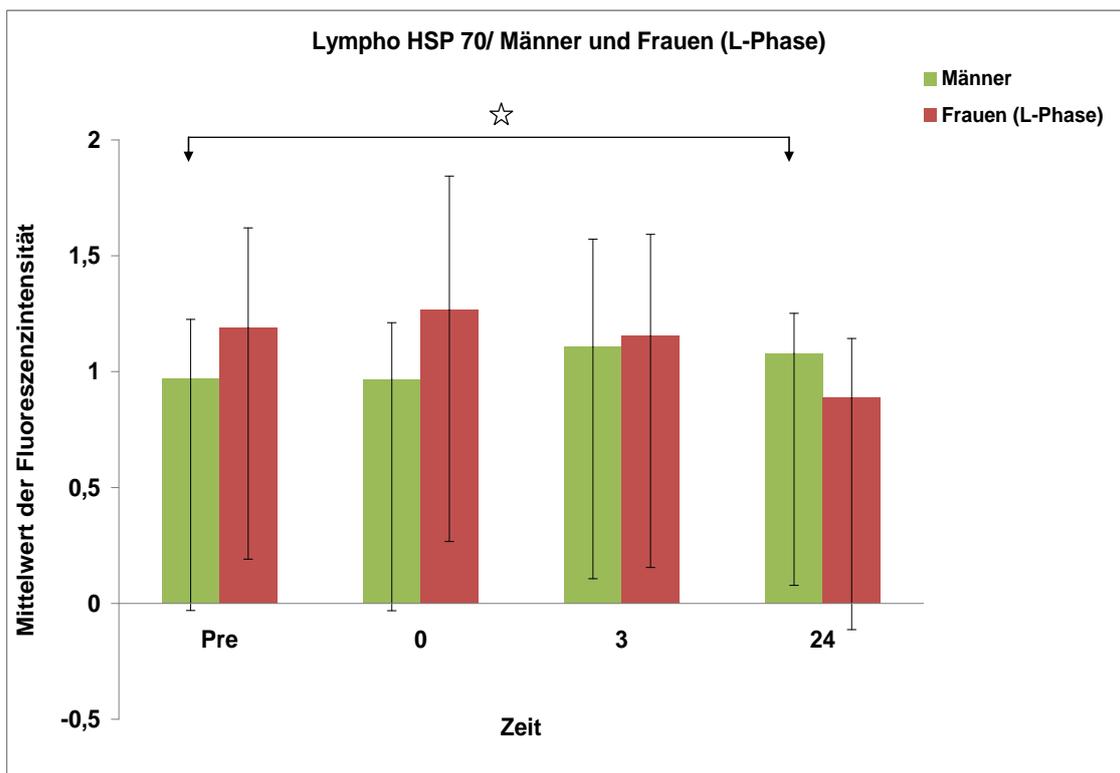
Abbildung 11. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil HSP 70-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).



Fluoreszenzintensität HSP 70/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

Der Mittelwert der Fluoreszenzintensität für HSP 70-positive Lymphozyten wies eine signifikante Interaktion von Geschlecht und Messzeitpunkt auf ($F[3,54] = 3.50, p=0.02$). Männer zeigten einen erhöhten Anstieg der Fluoreszenzintensität 24 Stunden nach der Belastung im Vergleich zum Zeitpunkt direkt nach Belastung ($p<0.01$) und der Baseline-Messung ($p<0.04$). Die Messungen der Frauen in der L-Phase zeigten keinen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit des Messzeitpunktes (siehe Abbildung 11).

Abbildung 12. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität bei HSP 70-positiven Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).



[Die Sternkennzeichnung erfolgte bei Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Messzeitpunkte Pre und 24 bei den Männern (siehe hierzu nachfolgende zwei Tabellen).]

Es folgen zwei Tabellen zum Mittelwertvergleich zwischen Männern und Frauen in der L-Phase bei der Variablen HSP 70-positive Lymphozyten bezogen auf die Fluoreszenzintensität.

Tabelle 7. Mittelwerte der Fluoreszenzintensität HSP 70-positiver Lymphozyten (Männer)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre- t0	0.001250	0.221567	0.019543	11.000000	0.984758
Pre -t3	-0.137750	0.374551	-1.274006	11.000000	0.228920
t0 -t3	-0.139000	0.508622	-0.946695	11.000000	0.364127
Pre -t24	-0.158727	0.226719	-2.321985	10.000000	0.042628
t0 -t24	-0.156455	0.154881	-3.350310	10.000000	0.007361
t3 -t24	0.001545	0.443395	0.011560	10.000000	0.991004

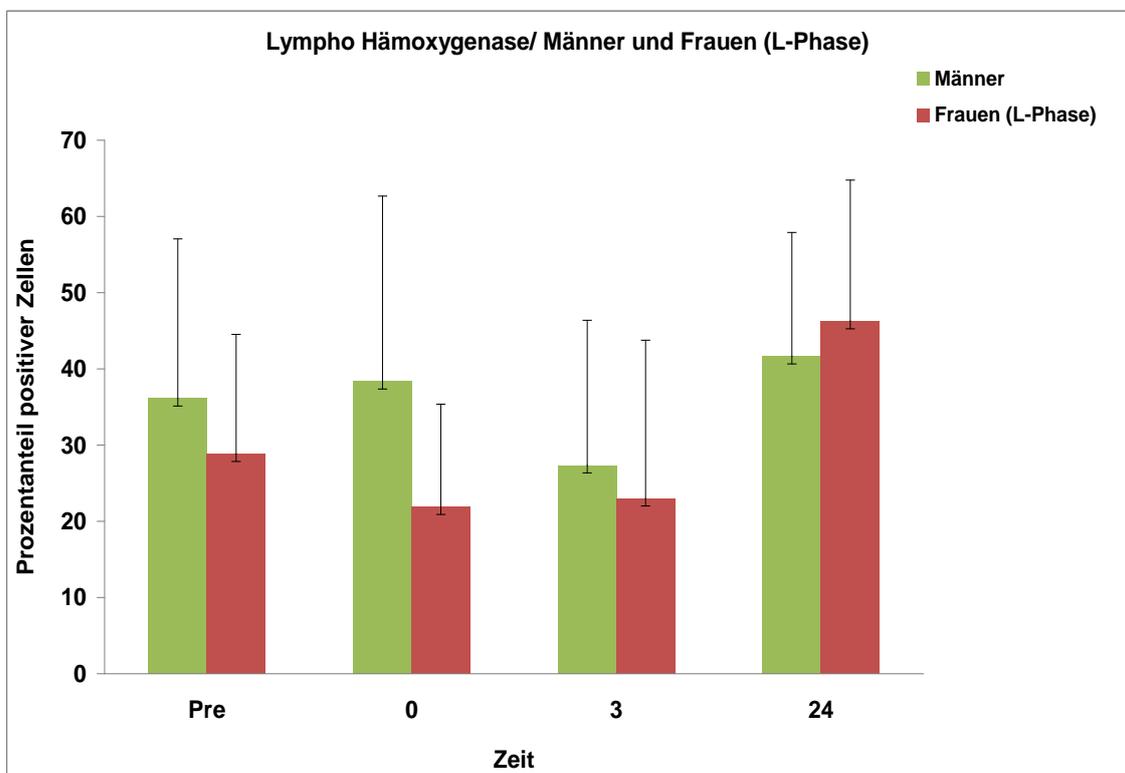
Tabelle 8. Mittelwerte der Fluoreszenzintensität HSP 70-positiver Lymphozyten (Frauen in der L-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	-0.075778	0.403446	0.563479	8.000000	0.588550
Pre -t3	0.036000	0.223804	0.482565	8.000000	0.642332
t0 -t3	0.111778	0.372847	0.899385	8.000000	0.394713
Pre -t24	0.303889	0.466911	1.952550	8.000000	0.086650
t0 -t24	0.379667	0.682855	1.667996	8.000000	0.133872
t3 -t24	0.267889	0.460301	1.745959	8.000000	0.118962

Prozentanteil HO-1/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

Für den Prozentanteil Hämoxxygenase-positiver Lymphozyten zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt ($F[3,54]=4.49$, $p<0.01$) des Messzeitpunktes, was durch einen nicht-linearen Ab- und Anstieg über die Messzeitpunkte zu erklären ist.

Abbildung 13. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil Hämoxxygenase-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).



Fluoreszenzaktivität HO-1/ Lymphozyten, Männer vs. Frauen L-Phase

Für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität Hämoxygenase-positiver Lymphozyten zeigte sich ein signifikanter Haupteffekt des Messzeitpunktes ($F_{3,45} = 50.36$ $p < 0.001$), was durch nicht-linearen Ab- und Anstieg über die Messzeitpunkte zu erklären ist.

Abbildung 14. Signifikante Haupteffekte und Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzaktivität Hämoxygenase-positiver Lymphozyten zwischen Männern und Frauen (L-Phase).

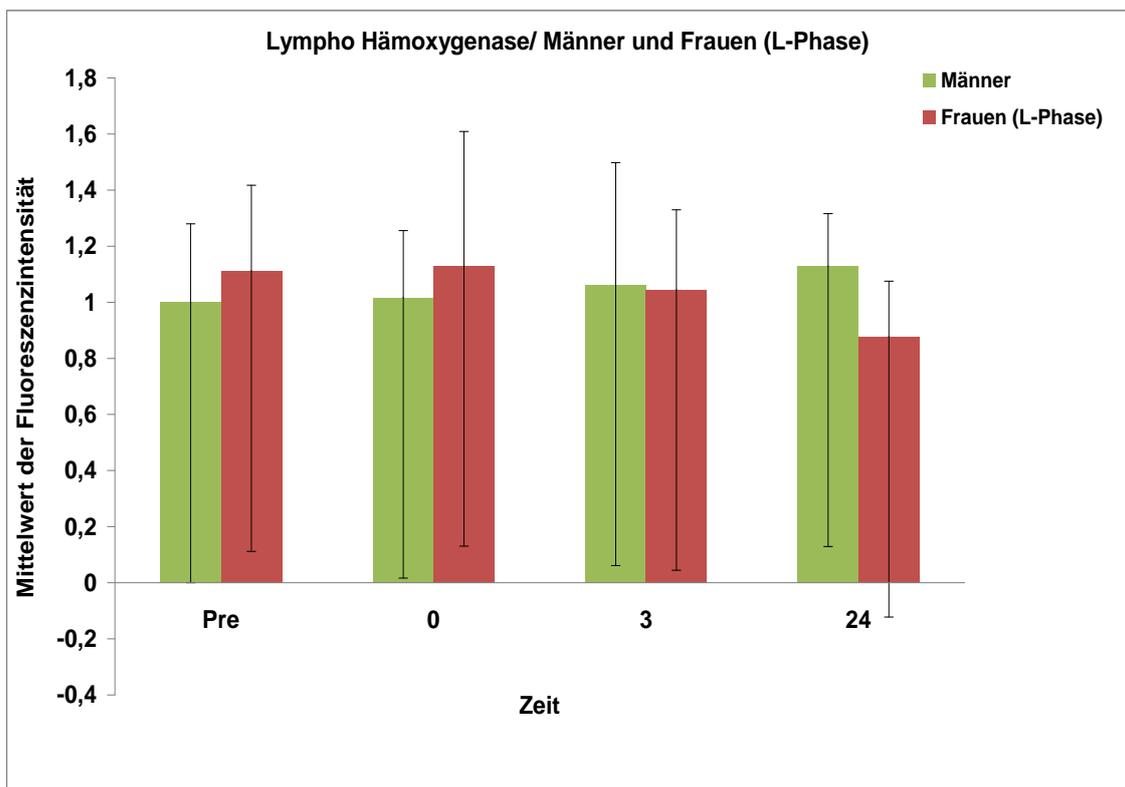


Tabelle 9. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von HSP/HO zwischen Männern zu Frauen (L-Phase). Fettgedruckt sind signifikante Effekte.

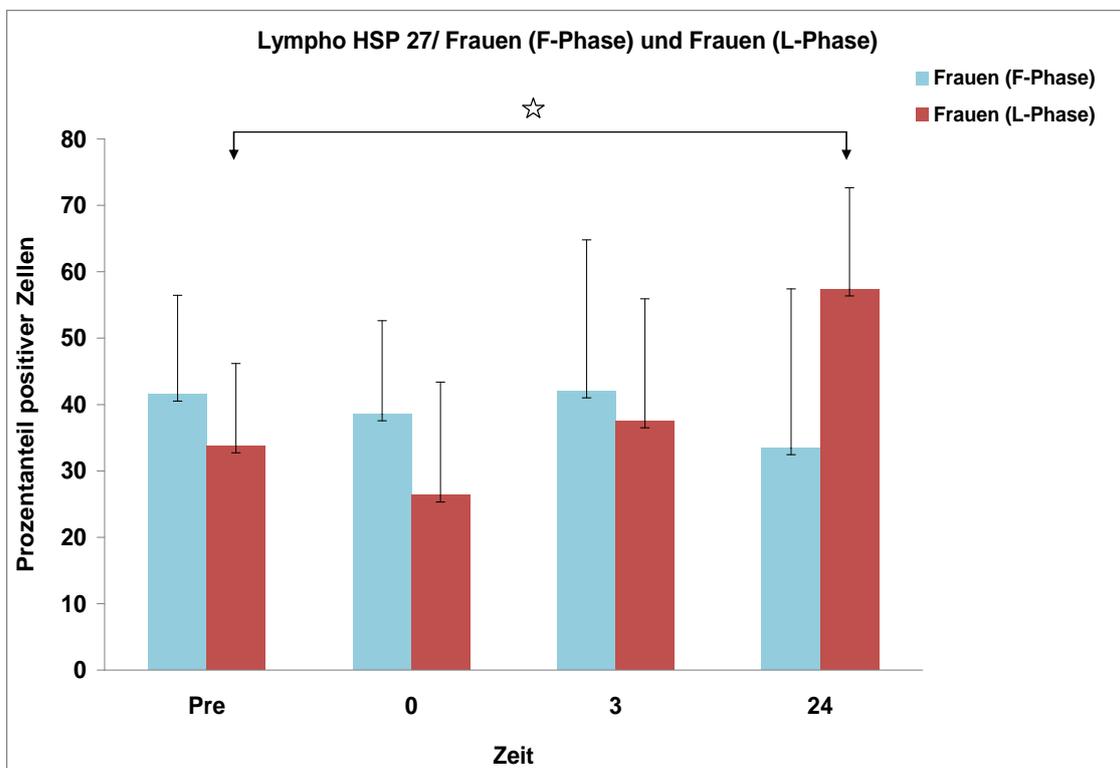
Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Lympho 27 %	F[1,18]= 1.25 <i>p</i> = 0.27	F[3,54]= 4.47 <i>p</i> = 0.01	F[3,54]= 3.76 <i>p</i> = 0.02
Lympho 27 mfc	F[1,18]= 3.301 <i>p</i> = 0.08	F[3, 54]= 0.46 <i>p</i> = 0.64	F[3,54]= 0.99 <i>p</i> = 0.38
Mono 27 %	F[1,19]= 0.48 <i>p</i> = 0.49	F[3,57]= 0.08 <i>p</i> = 0.96	F[3,57]= 1.12 <i>p</i> = 0.34
Mono 27 mfc	F[1,18]= 0.96 <i>p</i> = 0.33	F[3,54]= 0.32 <i>p</i> = 0.78	F[3,54]=0.23 <i>p</i> = 0.85
Lympho 70 %	F[1,18]= 3.52 <i>p</i> = 0.07	F[3,54]= 1.40 <i>p</i> = 0.25	F[3,54]= 0.44 <i>p</i> = 0.69
Lympho 70 mfc	F[1,18]= 1.09 <i>p</i> = 0.31	F[3,54]= 0.85 <i>p</i> = 0.47	F[3,54]= 3.50 <i>p</i> = 0.02
Mono 70 %	F[1,18]= 0.33 <i>p</i> = 0.57	F[3,54]= 1.75 <i>p</i> = 0.16	F[3,54]= 0.15 <i>p</i> = 0.92
Mono70 mfc	F[1,18]= 1.93 <i>p</i> = 0.18	F[3,54]= 1.48 <i>p</i> = 0.23	F[3,54]= 2.09 <i>p</i> = 0.11
Lympho-HO %	F[1,18]= 1.79 <i>p</i> = 0.19	F[3,54]=4.49 <i>p</i> = 0.01	F[3,54]= 1.97 <i>p</i> = 0.13
Lympho-HO mfc	F[1,18]= 0.33 <i>p</i> = 0.56	F[3,54]= 50.36 <i>p</i> = 0.0001	F[3,54]= 0.21 <i>p</i> = 0.66
Mono-HO %	F[1,18]= 1.55 <i>p</i> = 0.22	F[3,54]= 0.81 <i>p</i> = 0.47	F[3,54]= 0.24 <i>p</i> = 0.83
Mono-HO mfc	F[1,17]= 1.49 <i>p</i> = 0.23	F[3,51]= 0.93 <i>p</i> = 0.41	F[3,51]= 0.80 <i>p</i> = 0.47

3.3.3. Analysen von Frauen in der F-/ und Frauen in der L-Phase

Prozentanteil HSP 27/ Lymphozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Die folgende Analyse bezog sich auf den varianzanalytischen Vergleich zwischen Frauen in der L-Phase und Frauen in der F-Phase bezogen auf den Prozentanteil HSP 27-positiver Lymphozyten. Es ergaben sich signifikante Interaktionen von Messzeitpunkt und Phase für den Prozentanteil HSP 27-positiver Lymphozyten ($F[3,48]=4.83$, $p=0.08$). Mittelwertberechnungen ergaben, dass Frauen in der L-Phase einen erhöhten Anteil an positiven Zellen nach drei und 24 Stunden im Vergleich zur Baseline-Messung und Messung direkt nach Belastung (alle $p<0.06$) aufwiesen. Frauen in der F-Phase zeigten keine signifikante Veränderung.

Abbildung 15. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil HSP 27-positiver Lymphozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



[Die Sternkennzeichnung erfolgte bei Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Messzeitpunkte Pre und 24 bei den Frauen in der L-Phase (siehe hierzu nachfolgende zwei Tabellen).]

Es folgen zwei Tabellen zum Mittelwertvergleich zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase bei der Variablen HSP 27-positiver Lymphozyten bezogen auf den Prozentanteil positiver Zellen.

Tabelle 12. Mittelwerte der Prozentanteile HSP 27-positiver Lymphozyten (Frauen in der F-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	2.966667	11.110806	0.801022	8.000000	0.446255
Pre -t3	-0.497778	17.981978	-0.083046	8.000000	0.935855
t0 -t3	-3.464444	24.614962	-0.422236	8.000000	0.683971
Pre -t24	8.066667	29.883775	0.809804	8.000000	0.441472
t0 -t24	5.100000	29.501949	0.518610	8.000000	0.618069
t3 -t24	8.564444	27.193554	0.944832	8.000000	0.372402

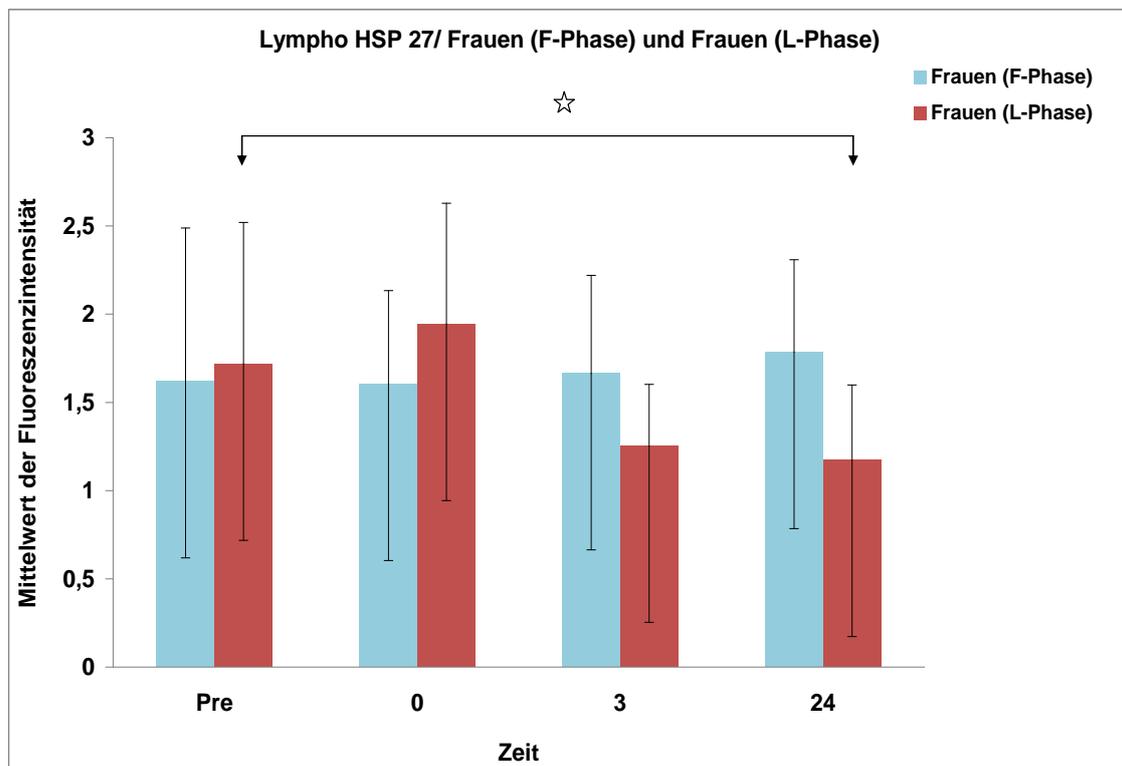
Tabelle 13. Mittelwerte der Prozentanteile HSP 27-positiver Lymphozyten (Frauen in der L-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	7.405556	13.473961	1.648859	8.000000	0.137787
Pre -t3	-3.755556	16.066278	-0.701262	8.000000	0.503025
t0 -t3	-11.161111	15.403026	-2.173815	8.000000	0.061452
Pre -t24	-23.622222	21.859082	-3.241978	8.000000	0.011842
t0 -t24	-31.027778	26.703835	-3.485767	8.000000	0.008250
t3 -t24	-19.866667	23.388940	-2.548213	8.000000	0.034270

Fluoreszenzintensität HSP 27/ Lymphozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Es ergaben sich signifikante Interaktionen von Messzeitpunkt und Phase für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität ($F[3,48]=3.95$, $p=0.01$) für HSP 27-positive Lymphozyten. In der Varianzanalyse für die Mittelwerte der Fluoreszenzintensität für HSP 27-positive Lymphozyten ergab sich folgendes Muster. Frauen in der F-Phase zeigten ein stabiles Niveau der Fluoreszenzintensität über alle Messzeitpunkte hinweg, während Frauen in der L-Phase zunächst einen Abfall der Fluoreszenzintensität von Baseline-Messung und Messzeitpunkt nach Belastung aufwiesen ($t(8) = 3.64$, $p = 0.04$), sowie eine signifikante Erhöhung in den Messwerten nach 3 und 24 Stunden im Vergleich zur Baseline- Messung und dem Messzeitpunkt nach direkter Belastung (all $p < 0.054$).

Abbildung 16. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität HSP 27-positiver Lymphozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



[Die Sternkennzeichnung erfolgte bei Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Messzeitpunkte Pre und 24 bei den Frauen in der L-Phase (siehe hierzu nachfolgende zwei Tabellen).]

Es folgen zwei Tabellen zum Mittelwertvergleich zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase bei der Variablen HSP 27-positiver Lymphozyten bezogen auf die Fluoreszenzintensität.

Tabelle 10. Mittelwerte der Fluoreszenzintensität HSP 27-positiver Lymphozyten (Frauen in der F-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	0.014778	0.752441	0.058919	8.000000	0.954462
Pre -t3	-0.045000	0.793434	-0.170146	8.000000	0.869119
t0 -t3	-0.059778	0.712899	-0.251555	8.000000	0.807727
Pre -t24	-0.166444	0.771375	-0.647329	8.000000	0.535548
t0 -t24	-0.181222	0.653269	-0.832224	8.000000	0.429424
t3 -t24	-0.121444	0.395425	-0.921370	8.000000	0.383801

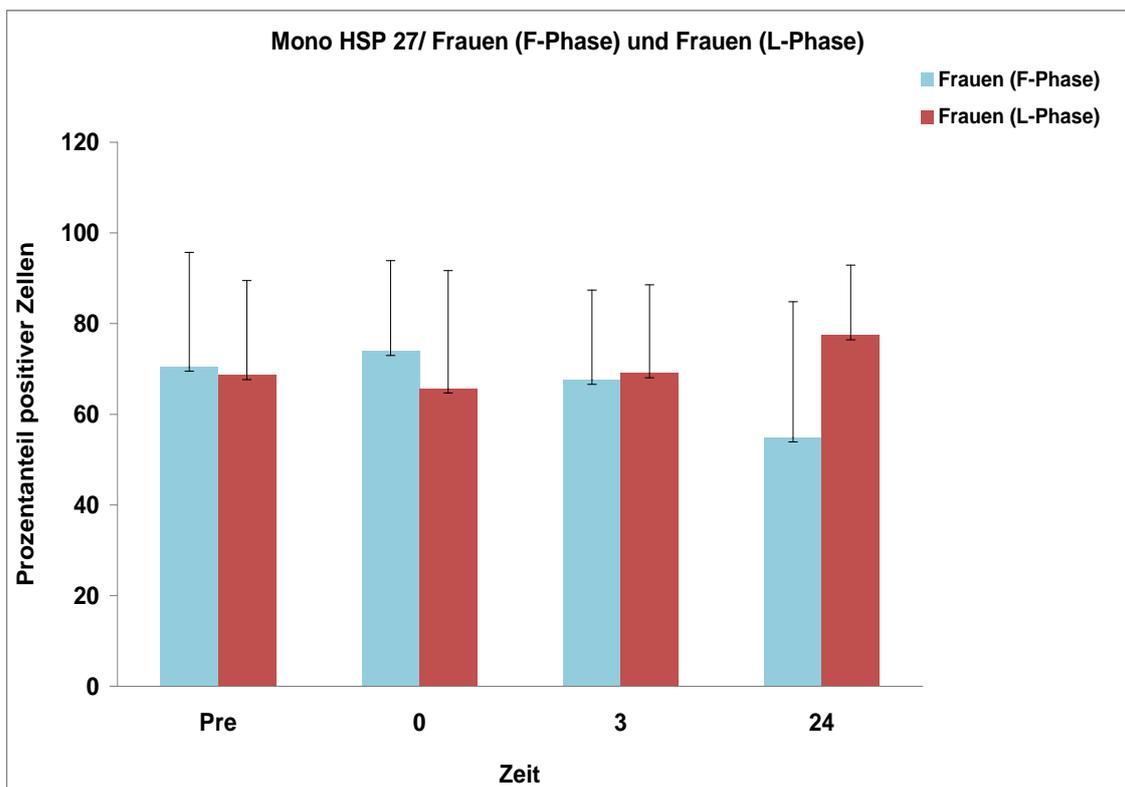
Tabelle 11. Mittelwerte der Fluoreszenzintensität HSP 27-positiver Lymphozyten (Frauen in der L-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	-0.226111	0.696625	-0.973743	8.000000	0.358703
Pre -t3	0.465111	0.570294	2.446692	8.000000	0.040143
t0 -t3	0.691222	0.568352	3.648564	8.000000	0.006508
Pre -t24	0.544778	0.721757	2.264382	8.000000	0.053356
t0 -t24	0.770889	0.775468	2.982285	8.000000	0.017539
t3 -t24	0.079667	0.422304	0.565943	8.000000	0.586952

Prozentanteil HSP 27/ Monozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Frauen in der F-Phase zeigten einen marginal signifikanten Abfall im Prozentanteil von HSP 27-positiven Monozyten nach 24 Stunden ($p < 0.073$) im Vergleich zu vorherigen Messzeitpunkten, während Frauen in der L-Phase keine signifikanten Veränderungen zeigten. Dies drückte sich in einer signifikanten Interaktion von Zeitpunkt und Phase aus ($F[3,48]=2.75$, $p=0.06$).

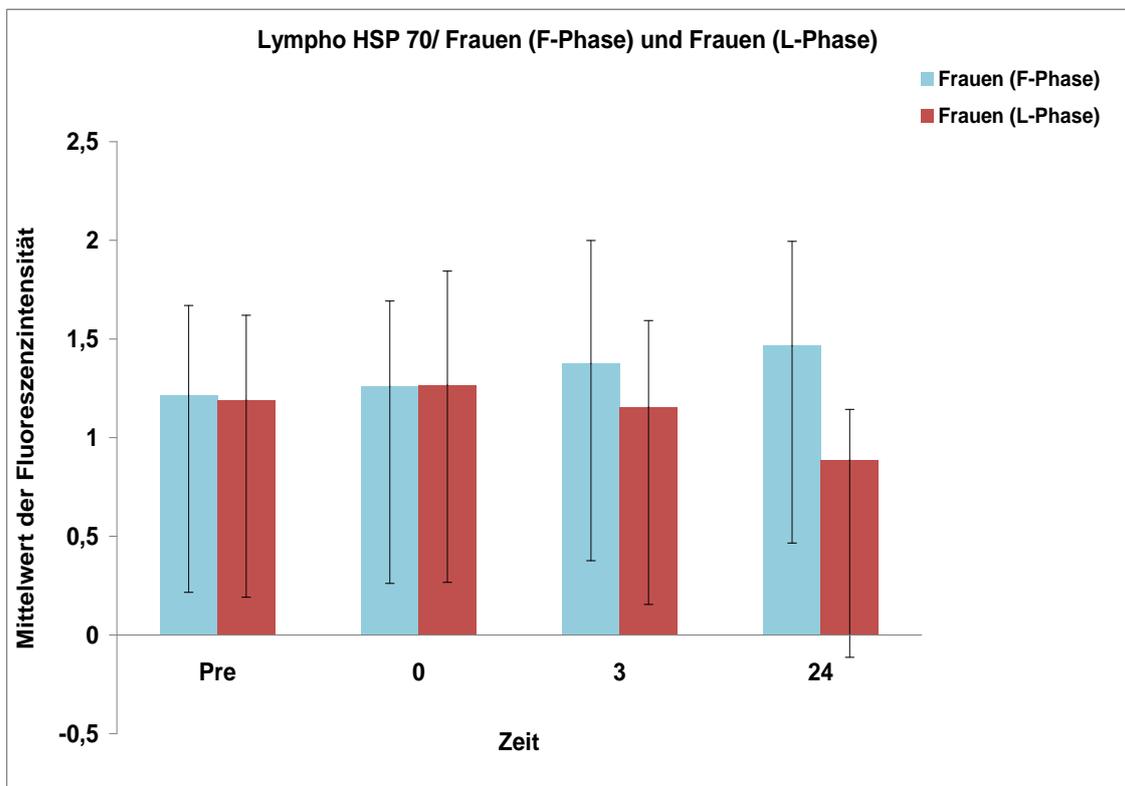
Abbildung 17. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil HSP 27-positiver Monozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



Fluoreszenzintensität HSP 70/ Lymphozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Mittelwerte der Fluoreszenzintensität für HSP 70-positive Lymphozyten zeigten signifikante Unterschiede in Abhängigkeit von Zeit und Phase ($F[3,48] = 3.92$, $p = 0.01$). Frauen in der L-Phase zeigten einen marginal signifikanten Abfall in der Fluoreszenzintensität von Baseline-Messung zur Messung nach 24 Stunden und in der Messung direkt nach der Belastung ($p < 0.08$). Frauen in der F-Phase zeigten hingegen einen leichten Anstieg in Abhängigkeit der Messzeitpunkte, der jedoch nicht signifikant wurde.

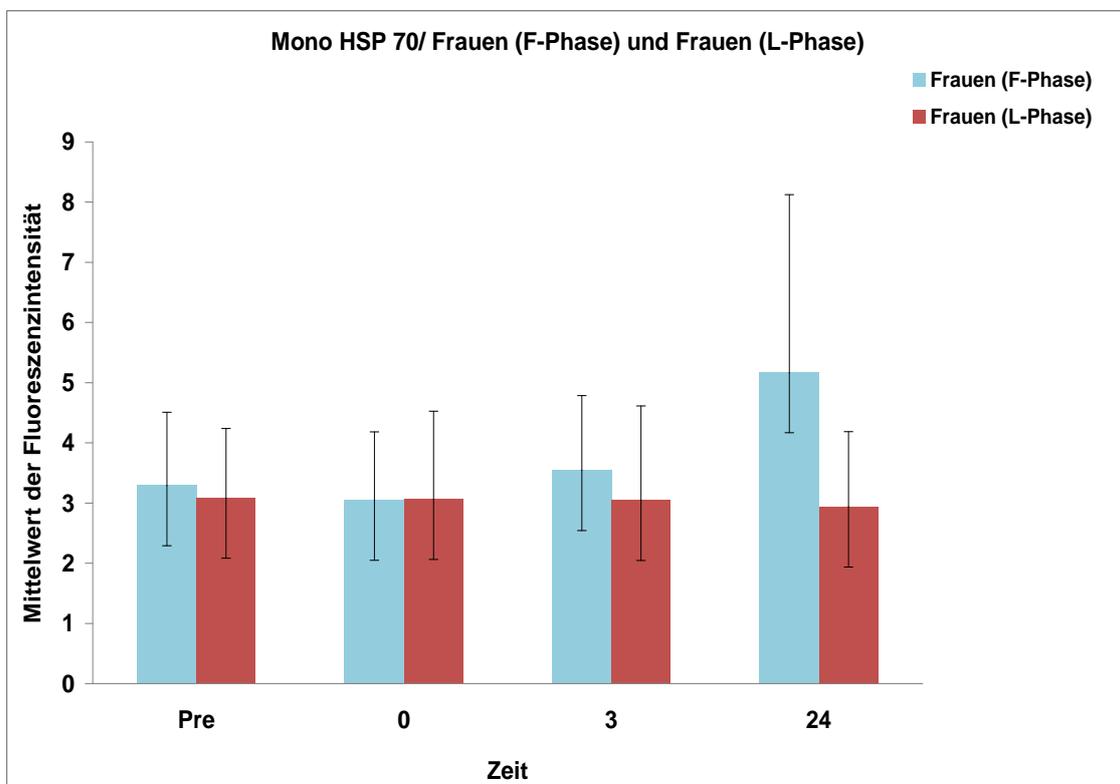
Abbildung 18. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von HSP 70-positiven Lymphozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



Fluoreszenzintensität HSP 70/ Monozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Der Haupteffekt Zeit für die Fluoreszenzintensität für HSP 70-positive Monozyten zeigte einen marginal signifikanten Effekt ($F[3,48]=2.75$, $p = 0.08$). Die Interaktion Phase und Zeit für die Fluoreszenzintensität für HSP 70-positive Monozyten wurde ($F[3,48]=3.58$, $p = 0.042$) signifikant. Frauen in der F-Phase zeigten hier einen signifikanten bzw. marginal signifikanten Anstieg nach 24 Stunden, im Vergleich zu vorherigen Messzeitpunkten (Baseline; $p=0.09$, t_0 ; $p=0.05$, t_3 ; $p= 0.09$), während Frauen in der L-Phase keinen signifikanten Unterschied in Abhängigkeit des Messzeitpunktes zeigten.

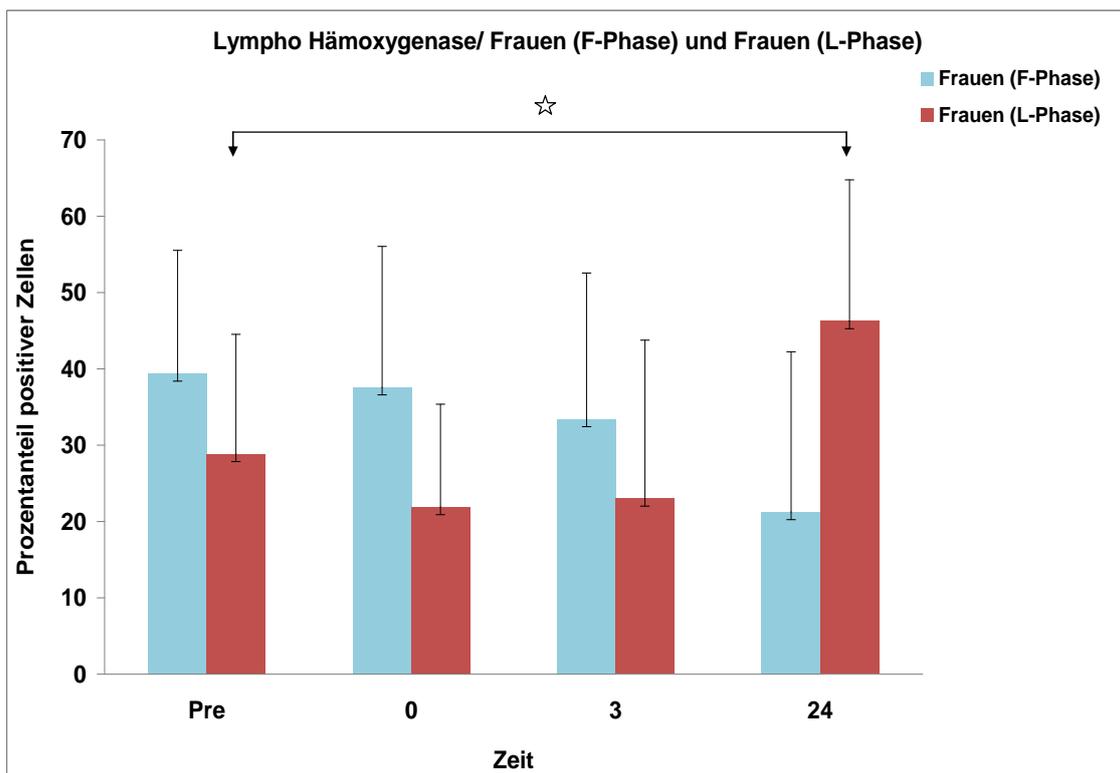
Abbildung 19. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von HSP 70-positiven Monozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



Prozentanteil HO-1/ Lymphozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Ein ähnliches Ergebnismuster zeigte sich für die signifikante Interaktion Zeit und Phase für Prozentanteil positiver Zellen für Hämoxigenase-positive Lymphozyten ($F[3,48] = 8.59, p=0.0001$). Während Frauen in der F-Phase ein konstantes Niveau von positiven Zellen aufzeigten, ergab sich bei den Frauen in der L-Phase ein signifikanter Anstieg nach 24 Stunden im Vergleich zur Baseline-Messung ($t(8) = 2.59, p= 0.03$) und im Vergleich zur Messung nach drei Stunden ($t(8) = 2.13, p= 0.06$).

Abbildung 20. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Prozentanteil Hämoxigenase-positiver Lymphozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



[Die Sternkennzeichnung erfolgte bei Signifikanz zwischen den Mittelwerten der Messzeitpunkte Pre und 24 bei den Frauen in der L-Phase (siehe hierzu nachfolgende zwei Tabellen).]

Es folgen zwei Tabellen zum Mittelwertvergleich zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase bei der Variablen Hämoxigenase-positiver Lymphozyten bezogen auf den Prozentanteil positiver Zellen.

Tabelle 14. Mittelwerte der Prozentanteile Hämoxigenase-positiver Lymphozyten (Frauen in der F-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standardabweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	-0.040111	0.149077	-0.807191	8.000000	0.442892
Pre -t3	-0.051222	0.221964	-0.692305	8.000000	0.508338
T0 -t3	-0.011111	0.274721	-0.121335	8.000000	0.906418
Pre -t24	-0.207778	0.425458	-1.465087	8.000000	0.181061
t0 -t24	-0.167667	0.387488	-1.298104	8.000000	0.230423
t3 -t24	-0.156556	0.459858	-1.021329	8.000000	0.336987

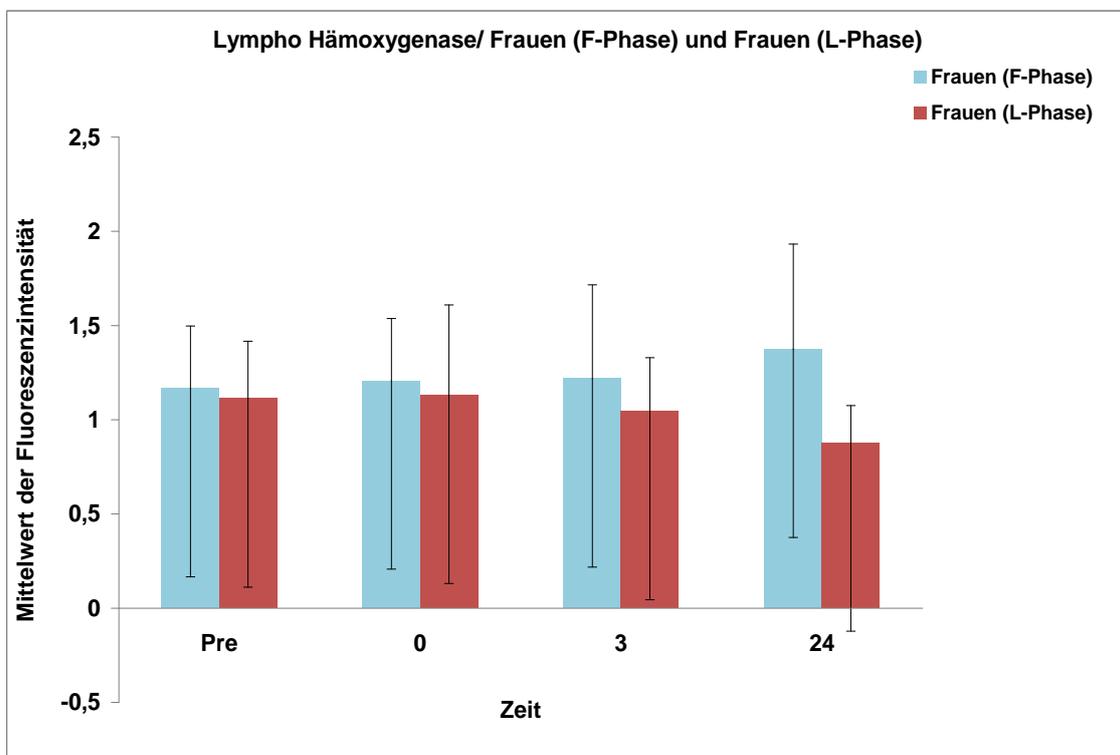
Tabelle 15. Mittelwerte der Prozentanteile Hämoxigenase-positiver Lymphozyten (Frauen in der L-Phase)

Variable	Mittelwertsdifferenz	Standard -abweichung	time	df	p-Wert
Pre -t0	-0.019444	0.369758	-0.157761	8.000000	0.878555
Pre -t3	0.066556	0.161501	1.236320	8.000000	0.251405
t0 -t3	0.086000	0.379329	0.680148	8.000000	0.515607
Pre -t24	0.233889	0.270071	2.598077	8.000000	0.031712
t0 -t24	0.253333	0.501514	1.515411	8.000000	0.168135
t3 -t24	0.167333	0.234712	2.138796	8.000000	0.064898

Fluoreszenzintensität HO-1/ Lymphozyten, Frauen F- vs. L-Phase

Mittelwerte der Fluoreszenzintensität von Hämoxxygenase-positiven Lymphozyten zeigten hochsignifikante Unterschiede beim Haupteffekt Zeit ($F[3,54] = 50.36$, $p = 0,001$)

Abbildung 21. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von Hämoxxygenase-positiven Lymphozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.



Fluoreszenzintensität HO-1/ Monozyten, Frauen F- vs. L-Phase

In der Analyse von Fluoreszenzintensität bezogen auf die Hämoxxygenase der Monozyten zeigte sich ein signifikanter Unterschied in Abhängigkeit des Messzeitpunktes ($F[3, 48] = 93.38, p = 0.00001$). Für Frauen in der F-Phase zeigte sich signifikante erhöhte Mittelwertsunterschiede 24 Stunden nach der Belastung im Vergleich zu Messung direkt nach der Baseline-Messung und drei Stunden nach der Messung, während bei Frauen in der L-Phase kein signifikanter Haupteffekt von Zeit zu beobachten war. Das eine statistische Interaktion nicht signifikant wurde, lässt auf die geringe Anzahl von Studienteilnehmern in beiden Gruppen schließen.

Abbildung 22. Signifikante Interaktionen der Varianzanalyse mit Messwiederholung. Berechnet für den Mittelwert der Fluoreszenzintensität von Hämoxxygenase-positiven Monozyten zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

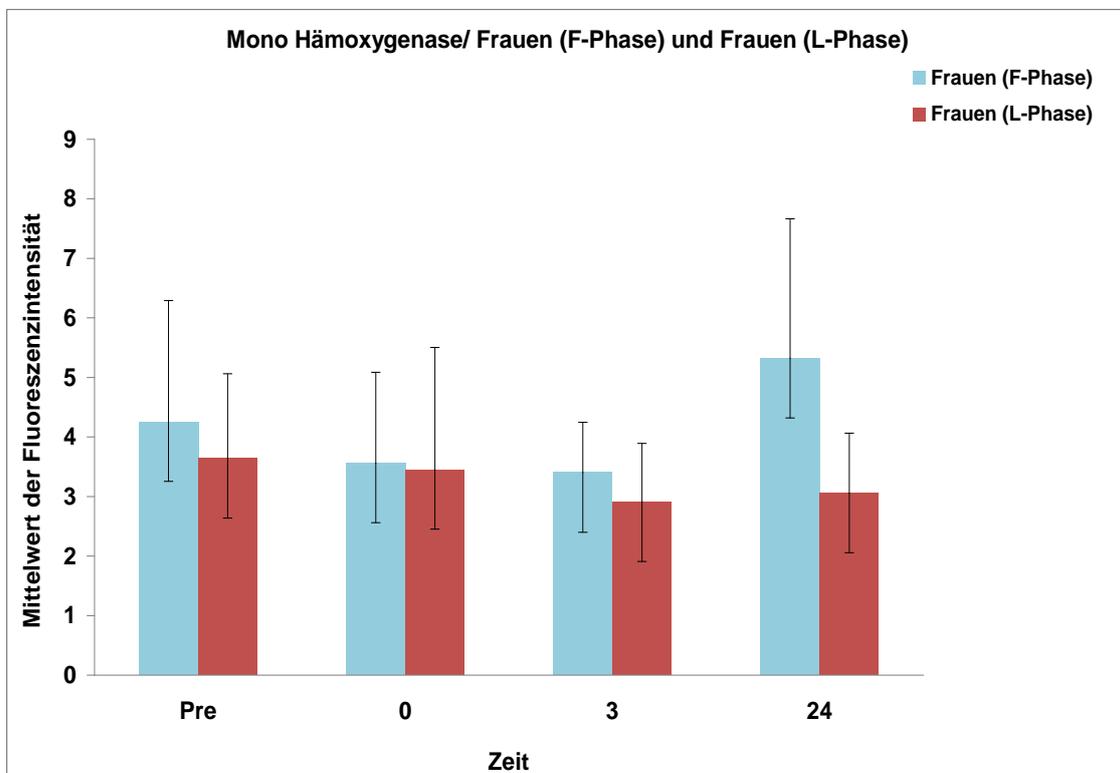


Tabelle 16. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von HSP/HO zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase. Fettgedruckt sind signifikante Effekte

Proteinkonzentration	Phase (F- vs. L-Phase)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Phase
Lympho 27 %	F[1,16]= 0.0009 <i>p</i> = 0.976	F[3, 48]= 2.08 <i>p</i> = 0.127	F[3, 48]= 4.83 <i>p</i> = 0.08
Lympho 27 mfc	F[1,16]= 0.45 <i>p</i> = 0.51	F[3, 48]= 1.88 <i>p</i> = 0.14	F[3, 48]= 3.95 <i>p</i> = 0.01
Mono 27 %	F[1,16]= 0.19 <i>p</i> = 0.66	F[3, 48]= 0.16 <i>p</i> = 0.91	F[3, 48]= 2.57 <i>p</i> = 0.06
Mono 27 mfc	F[1,16]= 0.18 <i>p</i> = 0.67	F[3, 48]= 1.30 <i>p</i> = 0.28	F[3, 48]= 0.66 <i>p</i> = 0.55
Lympho 70 %	F[1,16]= 0.13 <i>p</i> = 0.72	F[3, 48]= 0.91 <i>p</i> = 0.40	F[3, 48]= 1.82 <i>p</i> = 0.18
Lympho 70 mfc	F[1,16]= 1.13 <i>p</i> = 0.30	F[3, 48]= 0.43 <i>p</i> = 0.70	F[3, 48]= 3.92 <i>p</i> = 0.01
Mono 70 %	F[1,16]= 0.003 <i>p</i> = 0.95	F[3, 48]= 0.16 <i>p</i> = 0.89	F[3, 48]= 1.58 <i>p</i> = 0.21
Mono 70 mfc	F[1,16]= 1.51 <i>p</i> = 0.23	F[3, 48]= 2.75 <i>p</i> = 0.08	F[3, 48]= 3.58 <i>p</i> = 0.042
Lympho-HO %	F[1,16]= 0.20 <i>p</i> = 0.65	F[3, 48]= 0.84 <i>p</i> = 0.47	F[3, 48]= 8.59 <i>p</i> = 0.0001
Lympho-HO mfc	F[1,16]= 1.39 <i>p</i> = 0.25	F[3, 48]= 32.94 <i>p</i> = 0.00001	F[3, 48]= 1.17 <i>p</i> = 0.29
Mono-HO %	F[1,16]= 0.02 <i>p</i> = 0.87	F[3, 48]= 0.17 <i>p</i> = 0.88	F[3, 48]= 1.59 <i>p</i> = 0.21
Mono-HO mfc	F[1,16]= 0.44 <i>p</i> = 0.51	F[3, 48]= 93.38 <i>p</i> = 0.00001	F[3, 48]= 0.09 <i>p</i> = 0.77

3.4. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK und des Blutbildes

Zur statistischen Evaluation von Unterschieden in den Parametern des Blutbildes sowie der Hormon- und Stoffwechselproduktkonzentration zwischen Männern und Frauen in der F-Phase bzw. L-Phase wurden Varianzanalysen mit Messwiederholung berechnet und die Effekte Geschlecht, Messzeitpunkt und Messzeitpunkt x Geschlecht auf Signifikanz getestet.

3.4.1. Analysen des Blutbildes von Männern und Frauen in der F-Phase

Signifikante Gruppenunterschiede zwischen Männern und Frauen in der F-Phase und L-Phase ergaben sich bei der Analyse von Hämoglobin, Erythrozyten und Hämatokrit.

Die Konzentration von Hämoglobin war bei Männern höher als bei Frauen in der F-Phase ($F[1,19] = 23.11, p = 0.0001$), gleiches galt für die Konzentration von Erythrozyten ($F[1,19] = 15.02, p = 0.001$) und für den Hämatokritwert ($F[1,19] = 17.27, p = 0.005$). Desweiteren zeigten sich signifikante Haupteffekte des Messzeitpunktes bei der Analyse der Leukozyten, der Neutrophilen, der Eosinophilen, der Erythrozyten, der Lymphozyten, der Monozyten, des Myoglobins, des Hämoglobins sowie des Hämatokrit. Die Konzentration von Leukozyten ($F[3,57]=4.30, p = 0.01$) und Prozent Neutrophilen ($F[3,57]=7.86, p = 0.0002$), verlief nicht-linear in Abhängigkeit des Messzeitpunktes, mit einem Anstieg der Konzentration bis drei Stunden nach dem Ausdauerlauf und einem Abfall nach 24 Stunden. Das gegensätzliche Muster zeigte sich bei der Konzentration der Eosinophilen ($F[3,57]=9.84, p = 0.05$) mit einem Abfall der Konzentration bis drei Stunden nach dem Ausdauerlauf und einem Anstieg auf das Ausgangsniveau nach 24 Stunden. Für die Konzentrationen von Hämoglobin ($F[3,57]=3.023, p = 0.0005$), Erythrozyten ($F[3,57]=3.856, p = 0.01$) und Hämatokrit ($F[3,57]=4.96, p = 0.006$) zeigte sich ein nicht-linear Abfall bis zum 3. Messzeitpunkt und ein Anstieg nach 24 Stunden. Schließlich zeigt sich ein nicht-linearer Anstieg von Myoglobin direkt nach dem Ausdauerlauf und drei

Stunden nach dem Lauf und ein Abfall nach 24 Stunden ($F[3,57]= 4.22, p = 0.04$).

Signifikante Effekte des Blutbildes zwischen Männern und Frauen in der F-Phase (ausgenommen Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit) werden graphisch im Folgenden dargestellt.

Abbildung 23. Leukozyten

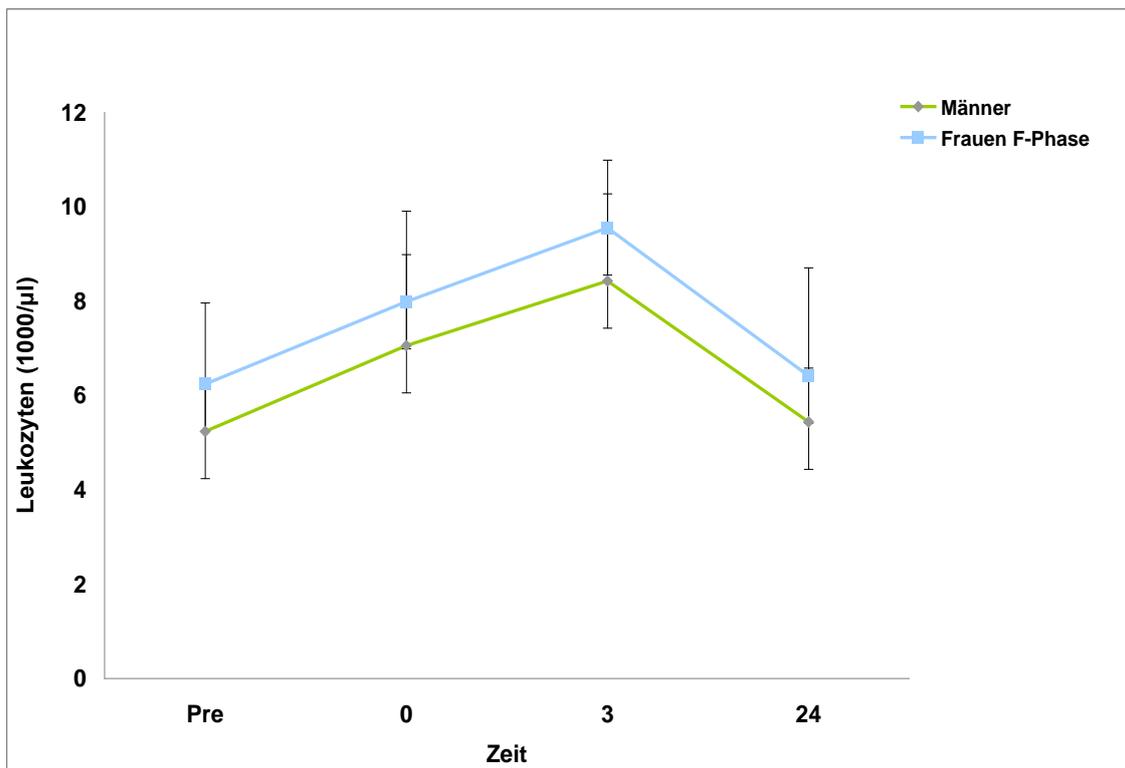


Abbildung 24. Lymphozyten

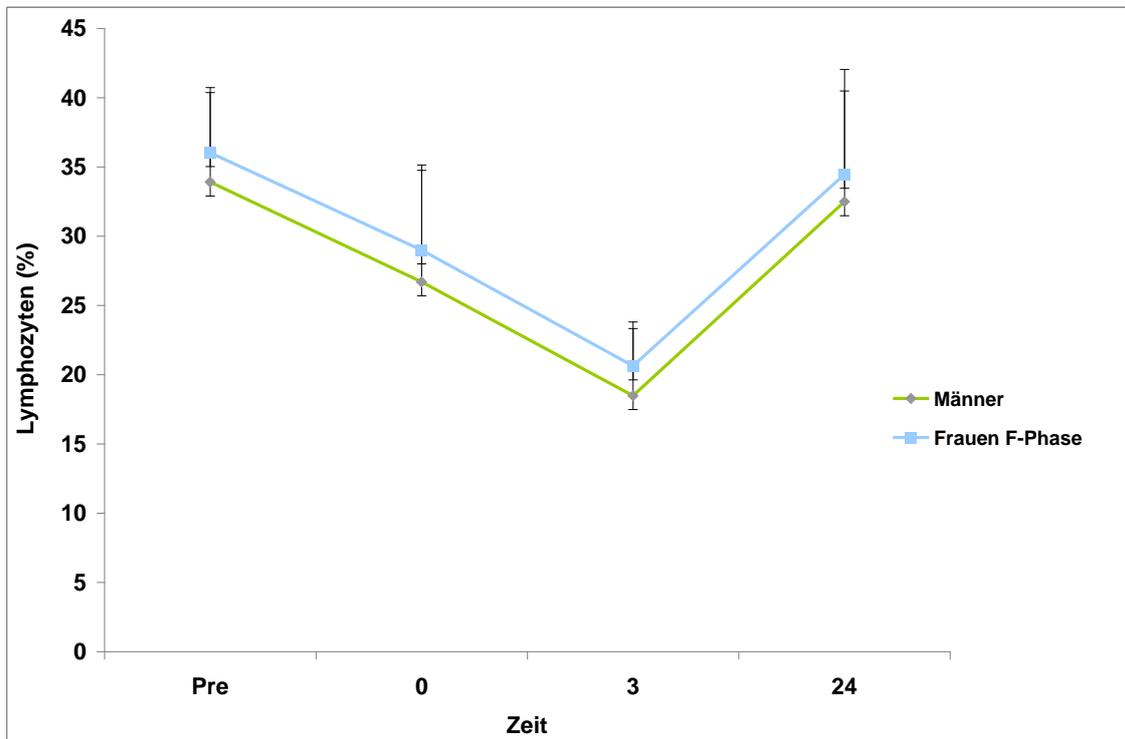


Abbildung 25. Neutrophile

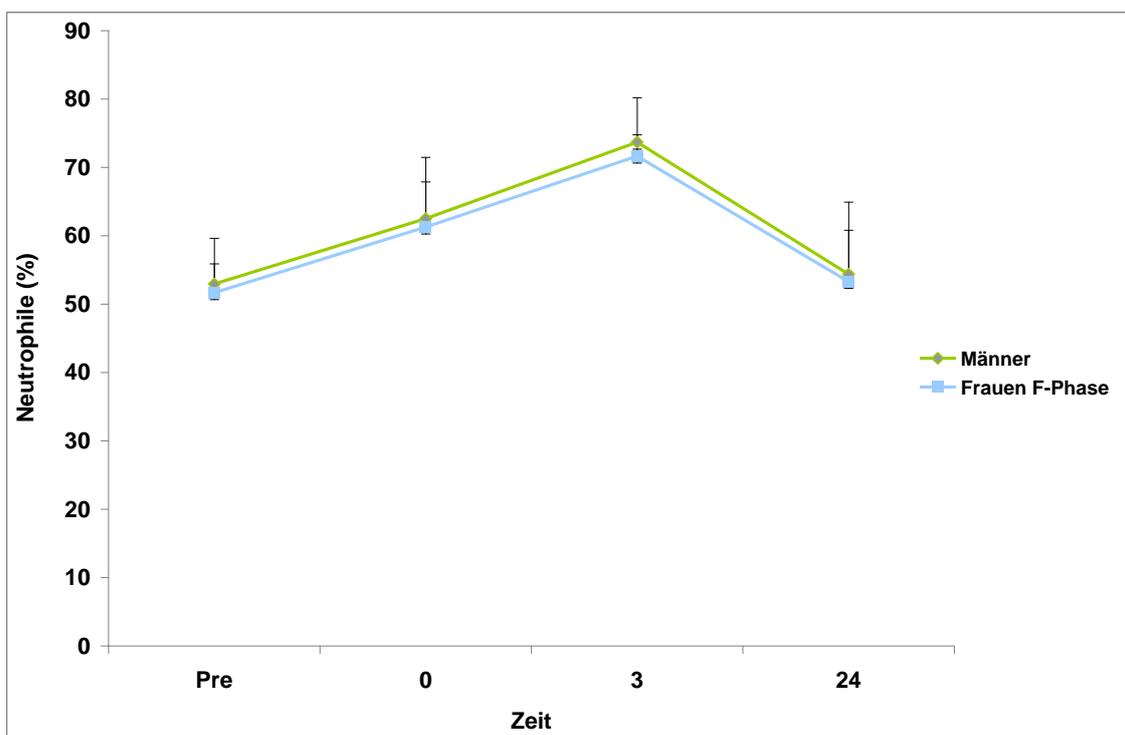


Abbildung 26. Eosinophile

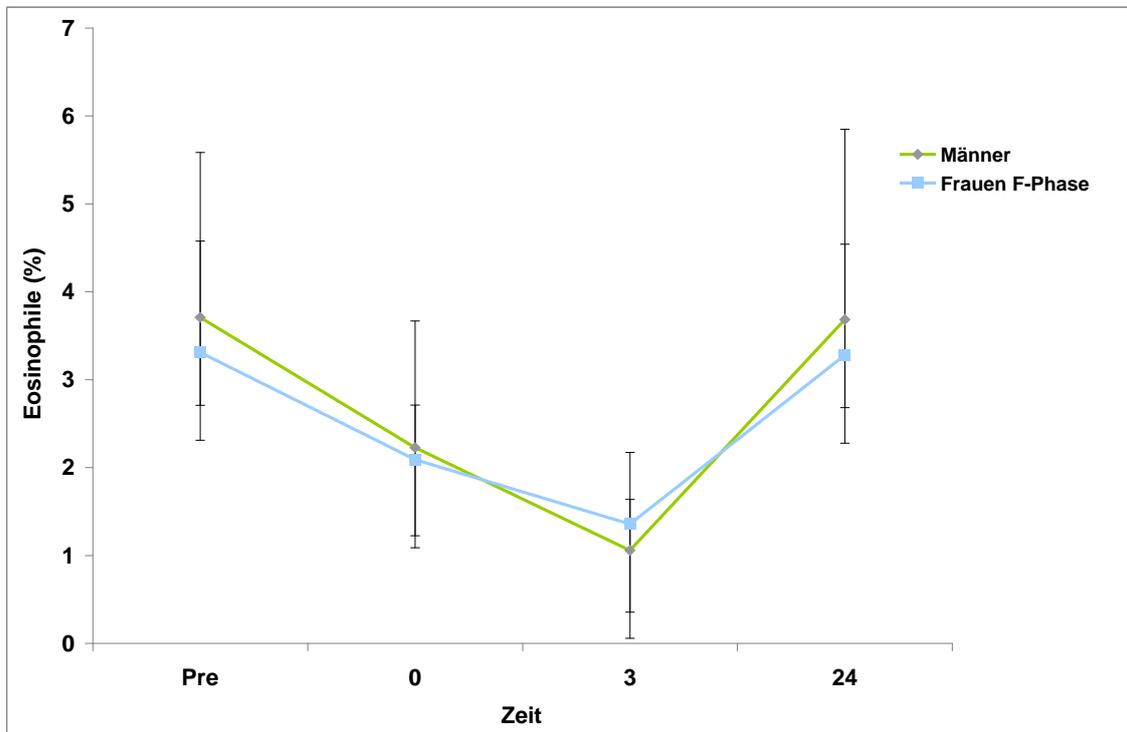


Abbildung 27. Monozyten

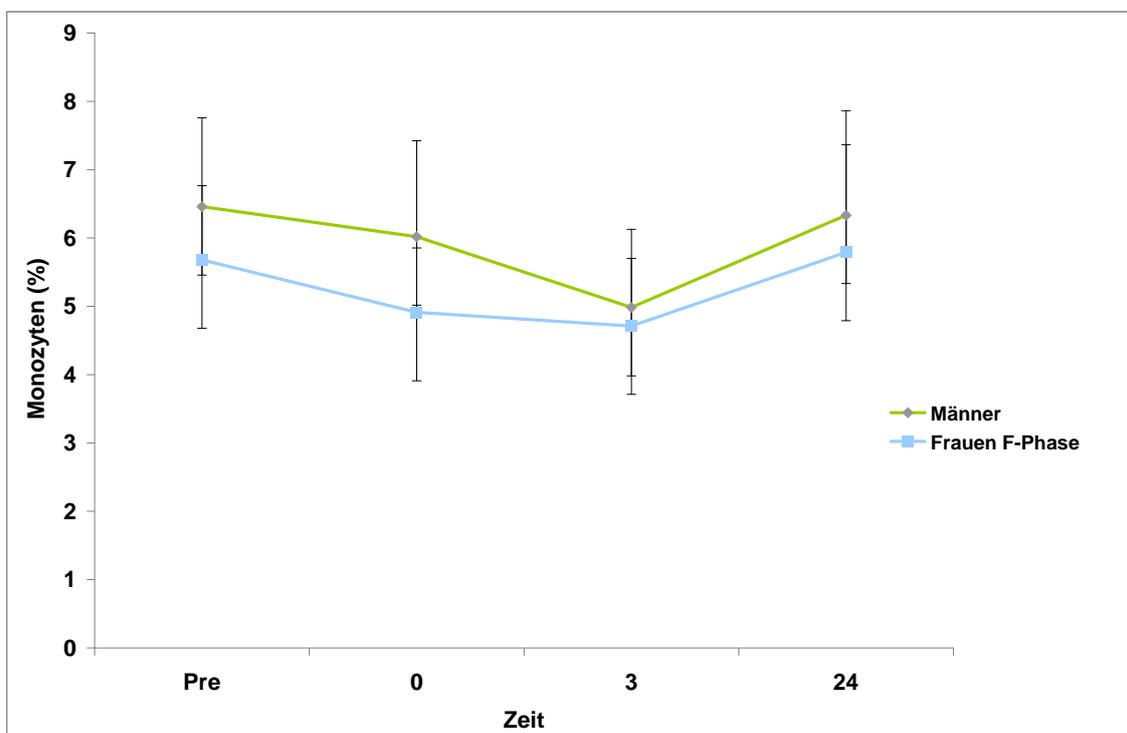
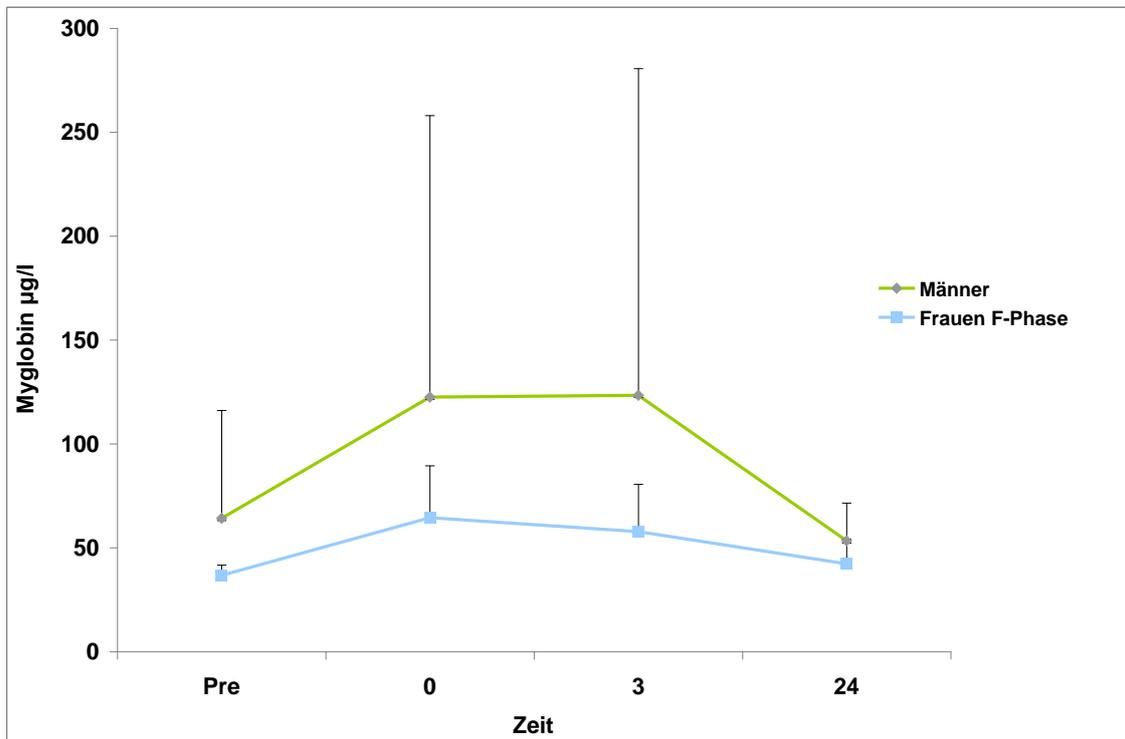


Abbildung 28. Myoglobin



3.4.2. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK von Männern und Frauen in der F-Phase

Cortisol und „Insulin-Growth-Factor“ (im Folgenden nur noch IGF genannt) zeigten signifikante Gruppenunterschiede zwischen Männern und Frauen in der F-Phase. Die Cortisol-Konzentration war bei Frauen in der F-Phase geringer als bei Männern ($F[1,19]= 6.10, p = 0.02$). Es zeigte sich eine erhöhte Konzentration von IGF bei Frauen in der F-Phase als bei Männern ($F[1,19]= 8.29, p = 0.003$). Haupteffekte des Messzeitpunktes wurden für Cortisol, somatotropes Hormon und Noradrenalin signifikant. Während für das somatotrope Hormon ($F[3,57]= 9.39, p = 0.001$) und Noradrenalin ($F[3,57]= 8,47, p = 0.0002$) die Konzentration am höchsten direkt nach der Belastung war, zeigte sich das Maximum für Cortisol drei Stunden nach der Belastung ($F[3,57]= 4.46, p = 0.01$). Fettsäuren ($F[3,57]= 9.39, p = 0.001$), somatotropes Hormon ($F[3,57]= 9.39, p = 0.001$) und Noradrenalin zeigten zusätzlich signifikante Interaktionen von Messzeitpunkt und Gruppen. Bei Männern war die Konzentration von Fettsäuren signifikant unterschiedlich vor der Belastung im Vergleich zur Messung direkt nach der Belastung, drei Stunden und 24 Stunden. Die Messungen direkt nach der Belastung unterschieden sich signifikant von den Messungen nach drei Stunden und nach 24 Stunden (all $p < 0.001$). Frauen in der F-Phase zeigten signifikante Unterschiede in der Konzentration von Fettsäuren vor der Belastung im Vergleich zur Konzentration direkt nach der Belastung und drei Stunden nach der Belastung. Desweiteren zeigten sich signifikante Unterschiede direkt nach der Belastung und drei Stunden sowie 24 Stunden nach der Belastung (all $p < 0.02$).

Bei den Männern zeigte das somatotrope Hormon einen signifikanten Anstieg direkt nach der Belastung und einen signifikanten Abfall über drei Stunden und 24 Stunden (alle $p < 0.001$). Ein marginal signifikanter Effekt zeigte sich zwischen der Messung vor der Belastung und drei Stunden nach der Belastung ($p < 0.068$). Frauen in der F-Phase hingegen zeigten einen marginal signifikanten Anstieg direkt nach der Belastung ($p < 0.1$). Es ergab sich außerdem ein signifikanter Unterschied zwischen der Konzentration des

somatotropen Hormons direkt nach der Belastung und drei Stunden nach der Belastung ($p < 0.03$). Ein weiterer marginal signifikanter Unterschied ergab sich zwischen der Messung direkt nach der Belastung und der Messung nach 24 Stunden ($p < 0.08$). Bei Analysen der Creatinkinase zwischen Männern und Frauen in der F-Phase ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Im Folgenden werden die signifikanten Effekte bei den Analysen der Hormone/Fettsäuren zwischen Männern und Frauen in der F-Phase graphisch dargestellt.

Abbildung 29. Fettsäuren

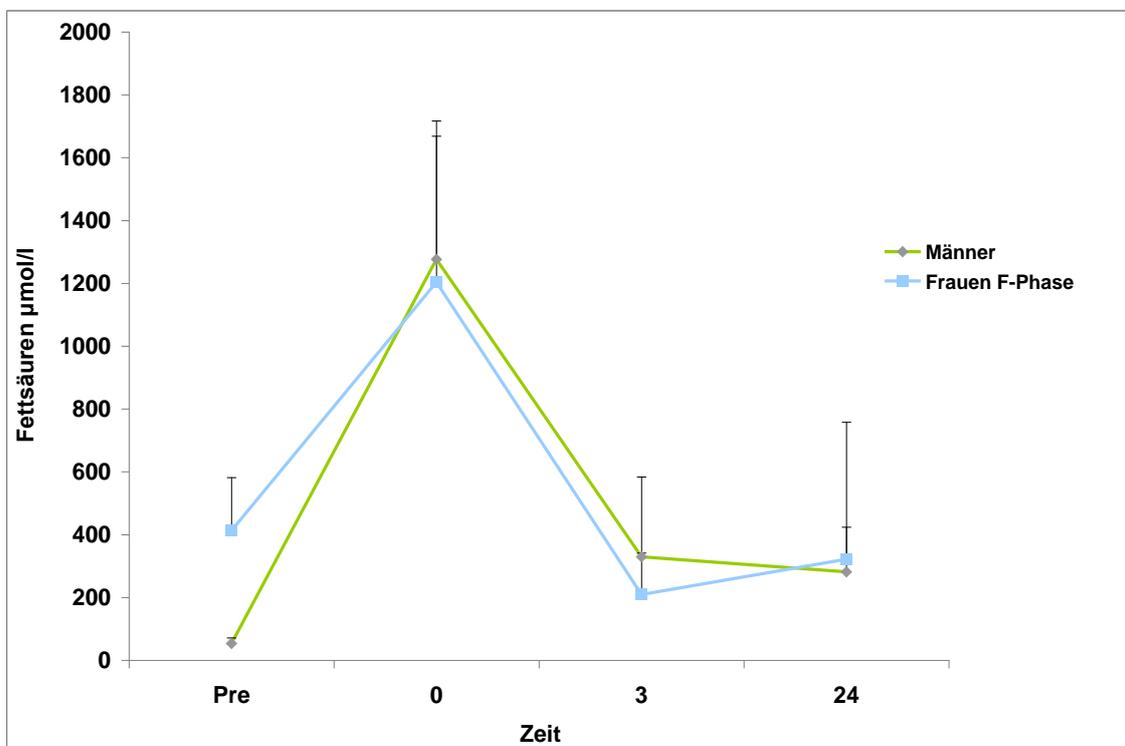


Abbildung 30. Cortisol

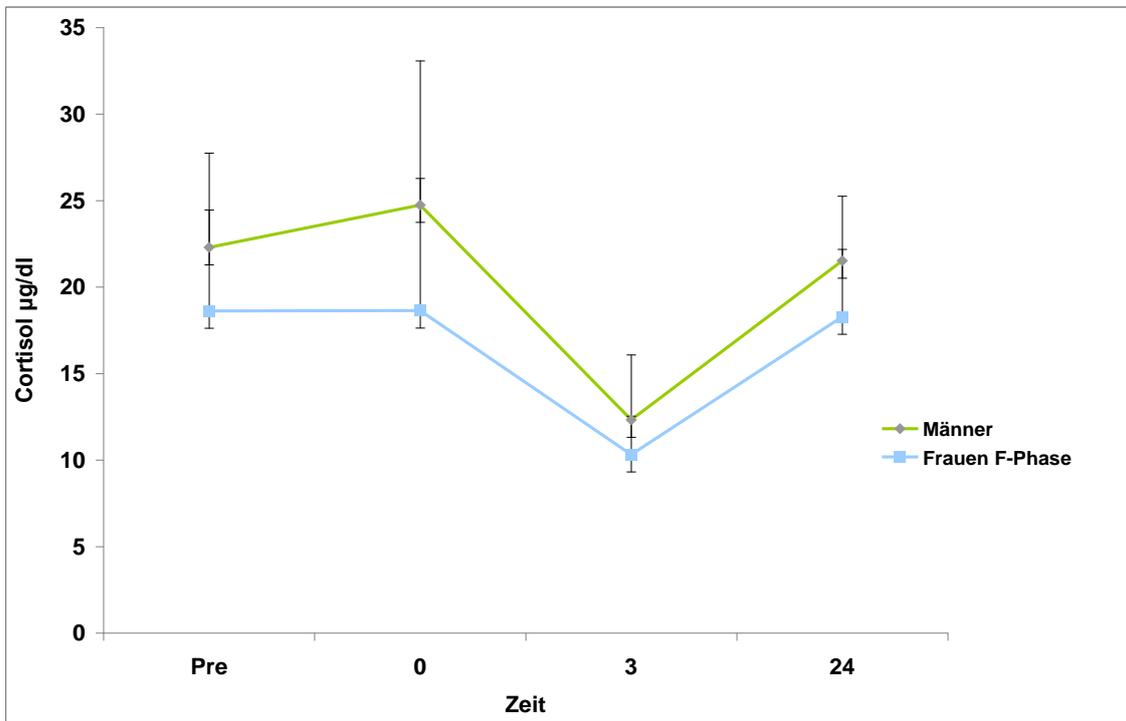


Abbildung 31. STH

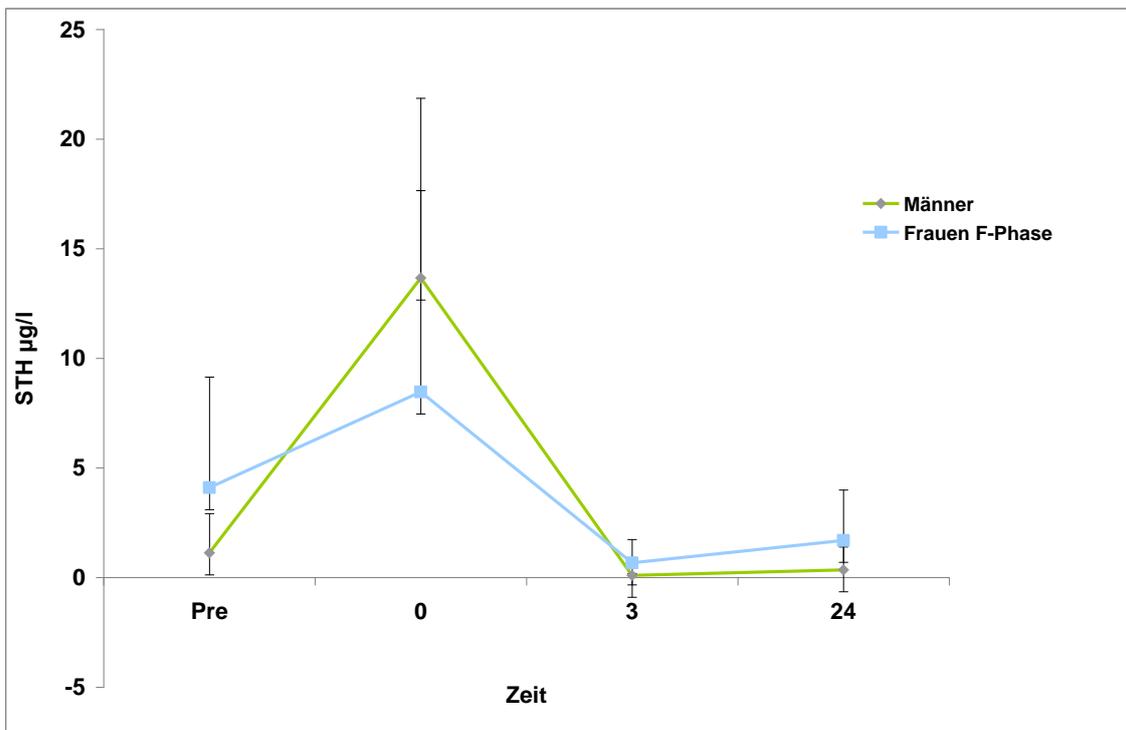


Abbildung 32. Insulinlike growth factor

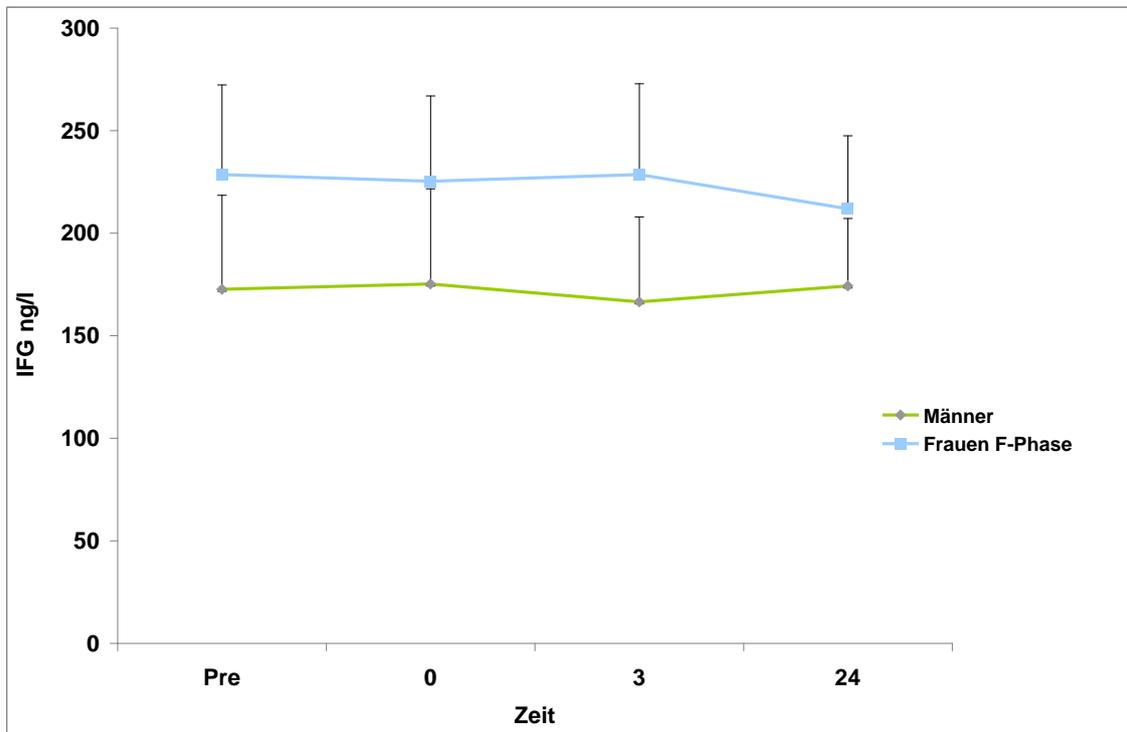
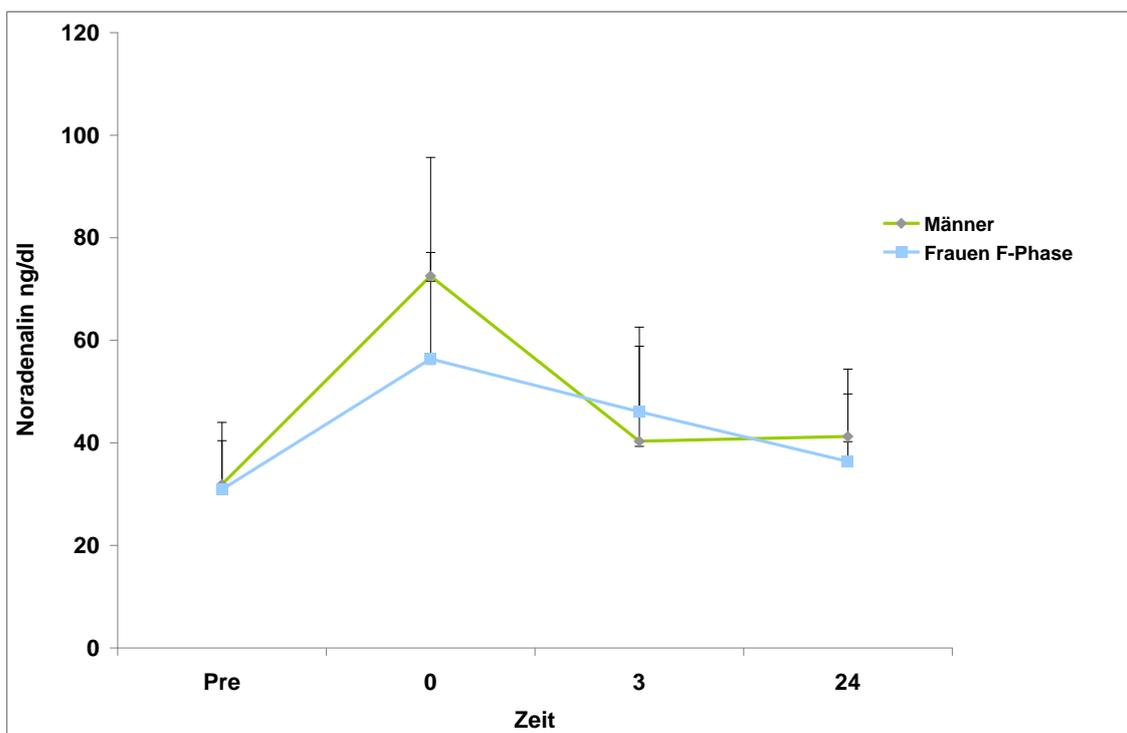


Abbildung 33. Noradrenalin



Im Folgenden werden die Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholungen von Hormonen/Fettsäuren/CK und Blutbild zwischen Männern und Frauen in der F-Phase tabellarisch dargestellt.

Tabelle 17. Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholungen von Hormonen/Fettsäuren/CK und Blutbild zwischen Männern und Frauen in der F-Phase. Fett gedruckt sind signifikante Effekte

Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Leukozyten	F[1,19]= 2.37 <i>p</i> = 0.14	F[3,57]= 5.62 <i>p</i> =0.004	F[3, 57]= 0.04 <i>p</i> = 0.97
Prozent Neutrophile	F[1,19]= 0.36 <i>p</i> = 0.55	F[3,57]= 6.48 <i>p</i> =0.001	F[3, 57]= 0.02 <i>p</i> = 0.99
Prozent Eosinophile	F[1,19]= 0.08 <i>p</i> = 0.77	F[3,57]= 11.15 <i>p</i> =0.001	F[3, 57]= 1.07 <i>p</i> = 0.35
Prozent Basophile	F[1,19]= 0.02 <i>p</i> = 0.86	F[3,57]= 1.15 <i>p</i> =0.33	F[3, 57]= 0.18 <i>p</i> = 0.88
Lymphozyten	F[1,19]= 0.94 <i>p</i> = 0.34	F[3,57]= 4.47 <i>p</i> =0.007	F[3, 57]= 0.003 <i>p</i> = 0.99
Monozyten	F[1,19]= 2.09 <i>p</i> = 0.16	F[3,57]= 2.71 <i>p</i> =0.07	F[3, 57]= 0.90 <i>p</i> = 0.42
Hb	F[1,19]= 23.11 <i>p</i> = 0.0001	F[3,57]= 2.95 <i>p</i> =0.049	F[3, 57]= 0.82 <i>p</i> = 0.47
Erythrozyten	F[1,19]= 15.02 <i>p</i> = 0.001	F[3,57]= 2.51 <i>p</i> =0.06	F[3, 57]= 0.44 <i>p</i> = 0.71
Hämatokrit	F[1,19]= 17.27 <i>p</i> = 0.005	F[3,57]= 3.20 <i>p</i> =0.029	F[3, 57]= 1.10 <i>p</i> = 0.35
CK	F[1,19]= 0.99 <i>p</i> = 0.33	F[3,57]= 2.39 <i>p</i> =0.100	F[3, 57]= 1.17 <i>p</i> = 0.32
Myoglobin	F[1,19]= 1.80 <i>p</i> = 0.19	F[3,57]= 3.10 <i>p</i> =0.08	F[3, 57]= 1.18 <i>p</i> = 0.29

Fettsäuren	F[1,19]= 0.54 $p = 0.47$	F[3,57]= 13.00 $p = 0.00008$	F[3, 57]= 2.92 $p = 0.052$
Cortisol	F[1,19]= 6.10 $p = 0.02$	F[3,57]= 4.46 $p = 0.01$	F[3, 57]= 0.62 $p = 0.54$
STH	F[1,19]= 0.006 $p = 0.93$	F[3,57]= 9.39 $p = 0.001$	F[3, 57]= 2.71 $p = 0.09$
IGF	F[1,17]= 8.28 $p = 0.01$	F[3,51]= 0.97 $p = 0.39$	F[3, 51]= 1.585 $p = 0.21$
Adrenalin	F[1,19]= 2.14 $p = 0.15$	F[3,57]= 1.02 $p = 0.33$	F[3, 57]= 0.55 $p = 0.50$
Noradrenalin	F[1,19]= 0.60 $p = 0.44$	F[3,57]= 8.47 $p = 0.0002$	F[3, 57]= 2.39 $p = 0.08$

3.4.3. Analysen des Blutbildes von Männern und Frauen in der L-Phase

Gruppenunterschiede zeigten sich zwischen Männern und Frauen in der L-Phase in den Analysen der Leukozyten, des Hämoglobin, der Erythrozyten und des Hämatokrit. Frauen in der L-Phase zeigten signifikante erhöhte Konzentration von Leukozyten als Männern ($F[1,19]= 5.62$, $p = 0.02$). Hämoglobin ($F[1,19]= 32.31$, $p = 0.00001$), Erythrozyten ($F[1,19]= 17.82$, $p = 0.004$), Hämatokrit ($F[1,19]= 12.81$, $p < 0.0001$) zeigten signifikant geringe Konzentrationen bei den Frauen in der L-Phase im Vergleich zu Männern.

Die Zellkonzentrationen von Leukozyten, Neutrophilen, Eosinophilen, Monozyten, und Erythrozyten sowie die Konzentrationen von Hämoglobin, Myoglobin und dem Hämatokrit zeigten signifikante Unterschiede in Abhängigkeit des Messzeitpunktes. Leukozyten, zeigten in beiden Gruppen einen signifikanten linearen Anstieg bis drei Stunden nach der Belastung und einen Abfall der Zellen bei der Messung 24 Stunden nach der Belastung ($F[3,57]= 4.30$, $p < 0.01$). Ein Muster von nicht-linearem Konzentrationsanstieg über die Messzeitpunkte hinweg zeigte sich bei den Neutrophilen ($F[3,57]= 7,86$, $p < 0.001$). Die Eosinophilen ($F[3,57]= 9.84$, $p < 0.001$) und Monozyten ($F[3,57]=$

3.50, $p < 0.02$) zeigten einen linearen Abfall der Konzentration in beiden Gruppen direkt nach der Belastung und drei Stunden nach dem Belastungstest um dann wieder anzusteigen. Dieses Konzentrationsmuster ergab sich ebenfalls für das Hämoglobin ($F[3,57]= 3.023$, $p = 0.05$), die Erythrozyten ($F[3,57]= 3.856$, $p = 0.05$) und den Hämatokritwert ($F[3,57]= 4.69$, $p = 0.006$). Myoglobin ($F[3,57]= 4.22$, $p = 0.04$) zeigte einen Anstieg nach Belastung. Dieses Niveau blieb gleichbleibend bei der Messung nach drei Stunden und fiel dann ab. Die Hämatokritkonzentration im Blut zeigte eine signifikante Interaktion von Messzeitpunkt und Geschlecht ($F[3,57]= 3.30$, $p = 0.03$). Separate Mittelwertsvergleiche zeigten, dass die Konzentration bei Männern signifikant abfiel von der Messung direkt vor der Belastung zur Messung nach drei und 24 Stunden. Es zeigte sich zudem ein signifikanter Unterschied von der Konzentration direkt nach Belastung und der Konzentration drei Stunden nach der Belastung (*alle* $p < 0.048$). Bei Frauen in der L-Phase zeigten sich signifikante Unterschiede in der Hämatokritkonzentration vor der Messung, direkt nach und 24 Stunden nach der Belastung. Desweiteren zeigten sich marginal signifikante Unterschiede zwischen der Messung direkt nach der Belastung, drei Stunden und 24 Stunden nach der Belastung (*alle* $p < 0.01$). Im Folgenden werden die signifikanten Effekte bei den Analysen des Blutbildes zwischen Männern und Frauen in der L-Phase graphisch dargestellt.

Abbildung 34. Leukozyten

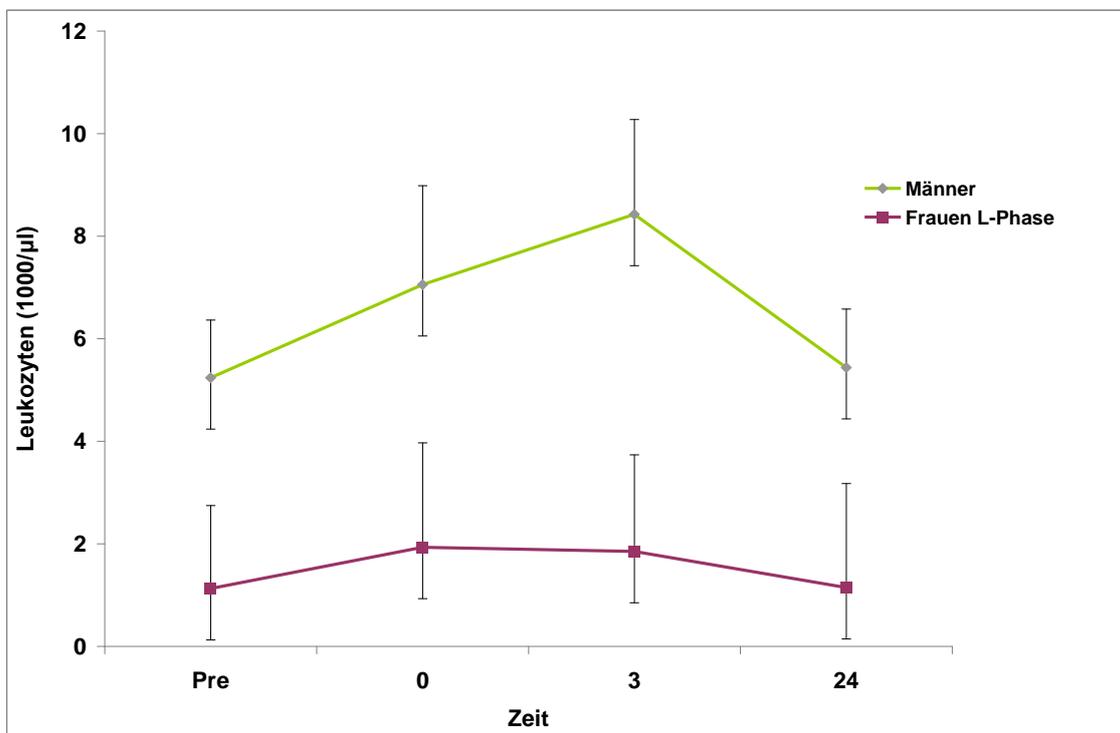


Abbildung 35. Neutrophile

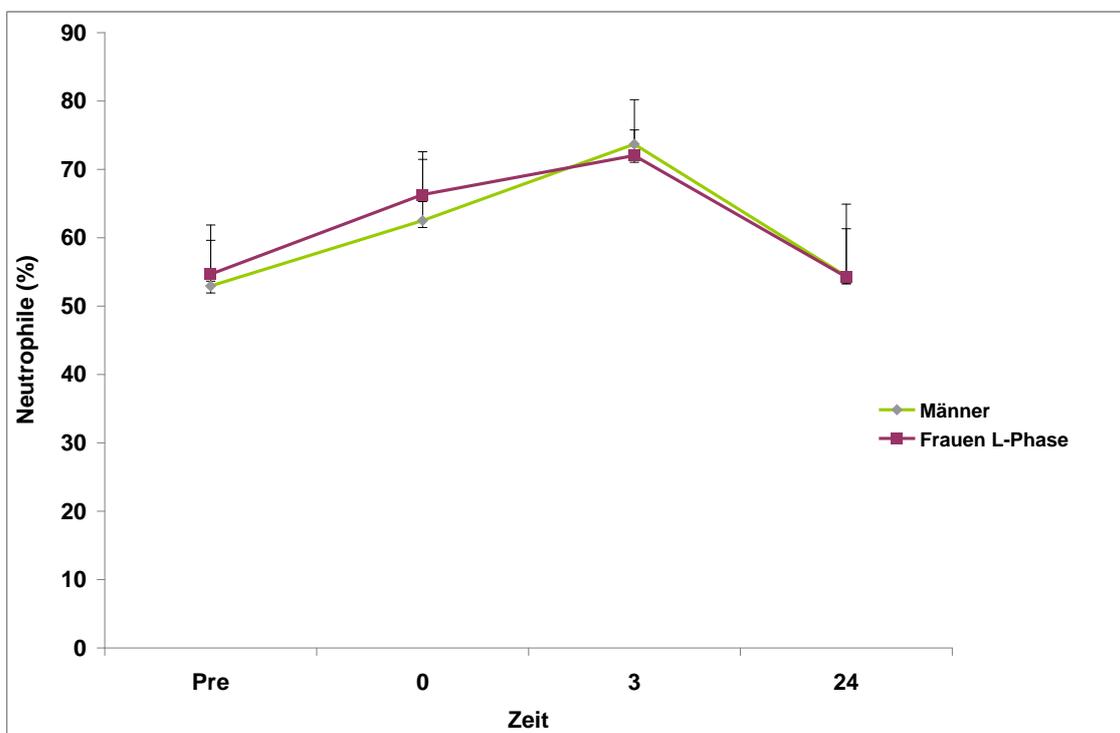


Abbildung 36. Eosinophile

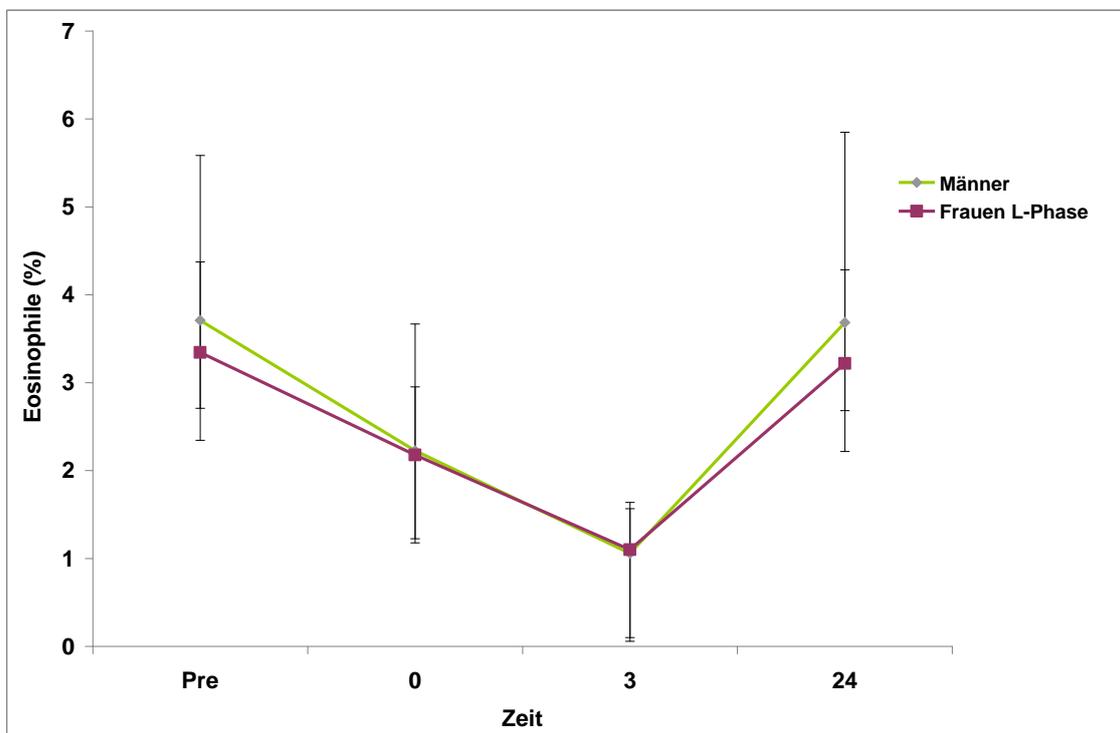


Abbildung 37. Monozyten

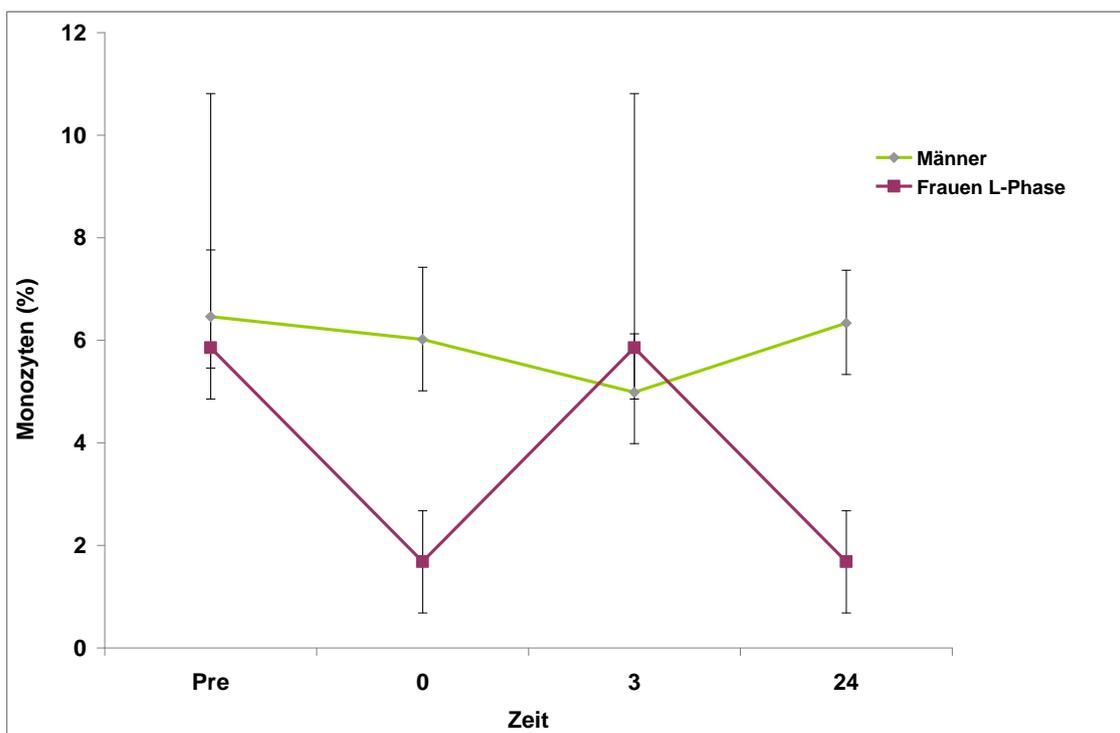
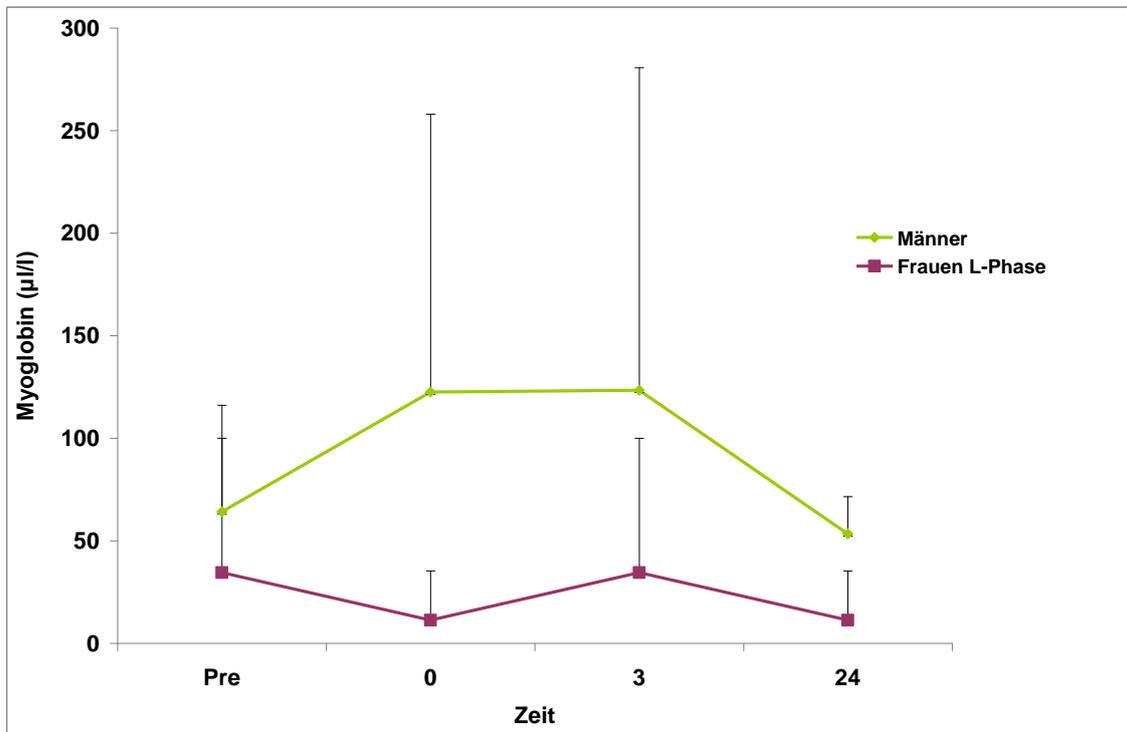


Abbildung 38. Myoglobin



3.4.4. Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK von Männern und Frauen in der L-Phase

Signifikante Gruppenunterschiede zeigten sich bei Cortisol und dem Insulinlike-Growth-Factor“ (IGF). Cortisolkonzentrationen war bei Männern auf einem signifikant höheren Niveau als bei Frauen ($F[1,19]= 8.67, p = 0.008$). Der IGF zeigte das gegenteilige Muster, mit einer höheren Konzentration bei Frauen als bei Männern ($F[1,19]=11.93, p=0.003$). Signifikante Effekte für den Faktor Zeit wurden für Creatinkinase, Fettsäuren, Cortisol, somatotropes Hormon und Noradrenalin beobachtet. Bei Creatinkinase zeigten sich signifikante Anstiege nach der Belastung für die Messzeitpunkte nach drei Stunden und nach 24 Stunden im Vergleich zu Messung vor der Belastung ($F[3,57]=2.78, p=0.08$). Fettsäuren zeigten einen maximal Anstieg für beide Gruppen direkt nach der Belastung im Vergleich zu Messungen vor der Belastung und drei oder 24 Stunden nach der Belastung ($F[3,57]=12.79, p < 0.0004$). Cortisol zeigte einen Abfall in der Konzentration in beiden Gruppen drei Stunden nach der Belastung ($F[3,57]=4.31, p=0.02$). Das somatotropes Hormon ($F[3,57]=10.69, p = 0.00004$) und Noradrenalin ($F[3,57]=7.22, p < 0.009$) zeigten einen signifikanten Anstieg direkt nach der Belastung und einen Abfall in den darauffolgenden Messung zum Zeitpunkt nach drei und 24 Stunden. Signifikante Interaktionen von Messzeitpunkt und Gruppe zeigten sich bei den Fettsäuren und dem somatotropes Hormon. T-Test Analysen getrennt für beiden Gruppen für die Fettsäuren zeigten ein signifikanter Anstieg der Konzentration vor der Belastung im Vergleich zu allen Messzeitpunkten nach der Belastung (alle $p < 0.001$) in der Gruppe der Männer. Darüber hinaus zeigten sich signifikante Unterschiede vom Messzeitpunkt direkt nach der Belastung (erhöhtes Niveau der Konzentration) und den Messzeitpunkten nach drei und 24 Stunden (abfallendes Konzentrationsniveau). Vergleichend, Frauen in der L-Phase zeigte ein ähnliches Muster, jedoch unterschied sich die Messung vor der Belastung nur von den Messungen direkt nach der Belastung und der Belastung nach drei Stunden (alle $p < 0.04$). Desweiteren zeigte sich ein signifikanter Anstieg

zwischen den Messung direkt nach der Belastung im Vergleich zur Konzentration nach drei und 24 Stunden.

Im Folgenden werden die signifikanten Effekte bei den Analysen der Hormone/Fettsäuren/CK zwischen Männern und Frauen in der L-Phase graphisch dargestellt.

Abbildung 39. CK

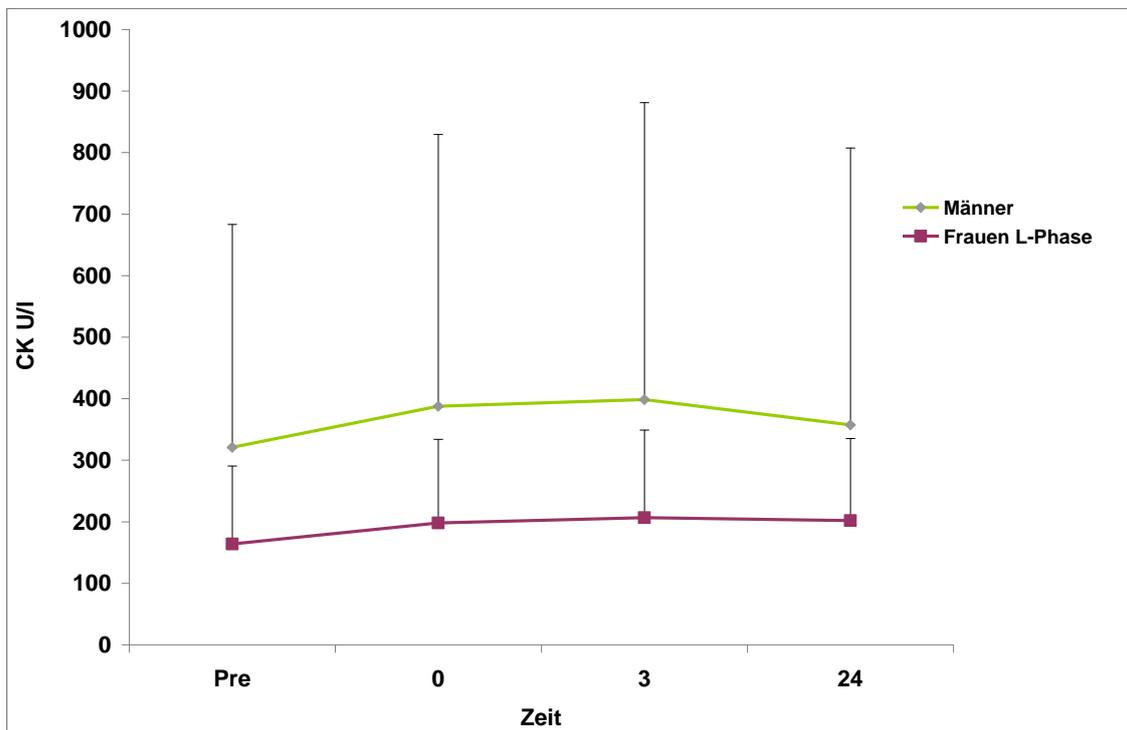


Abbildung 40. Fettsäuren

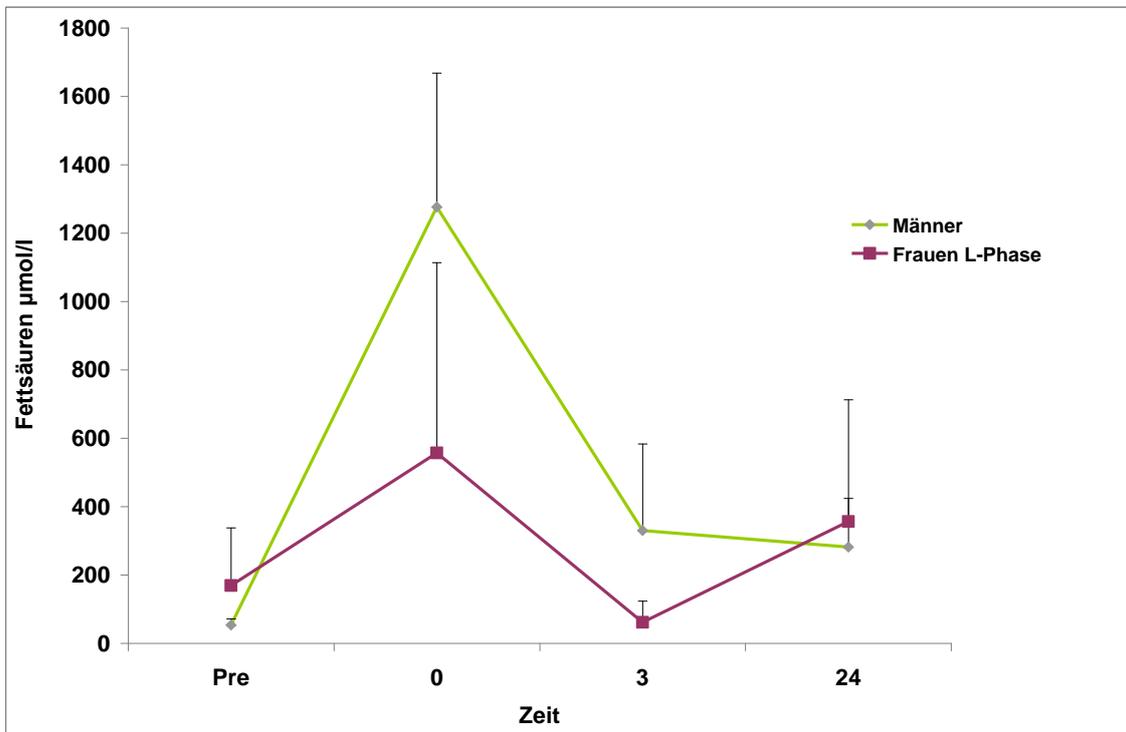


Abbildung 41. Cortisol

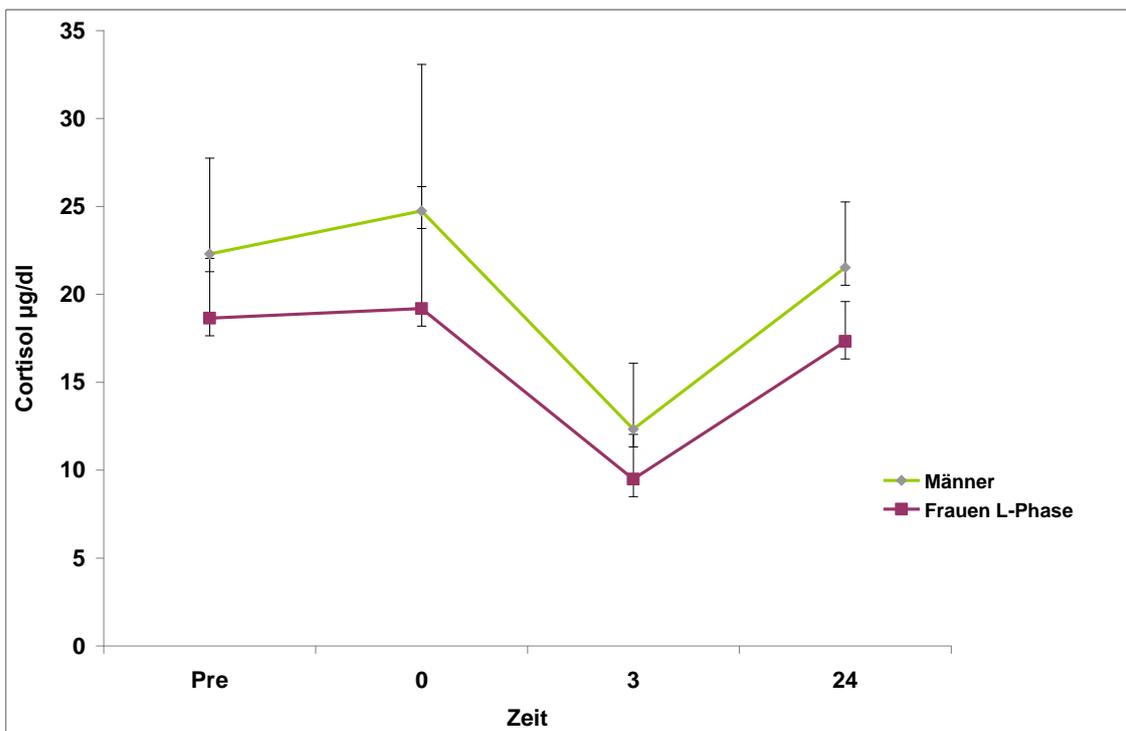


Abbildung 42. STH

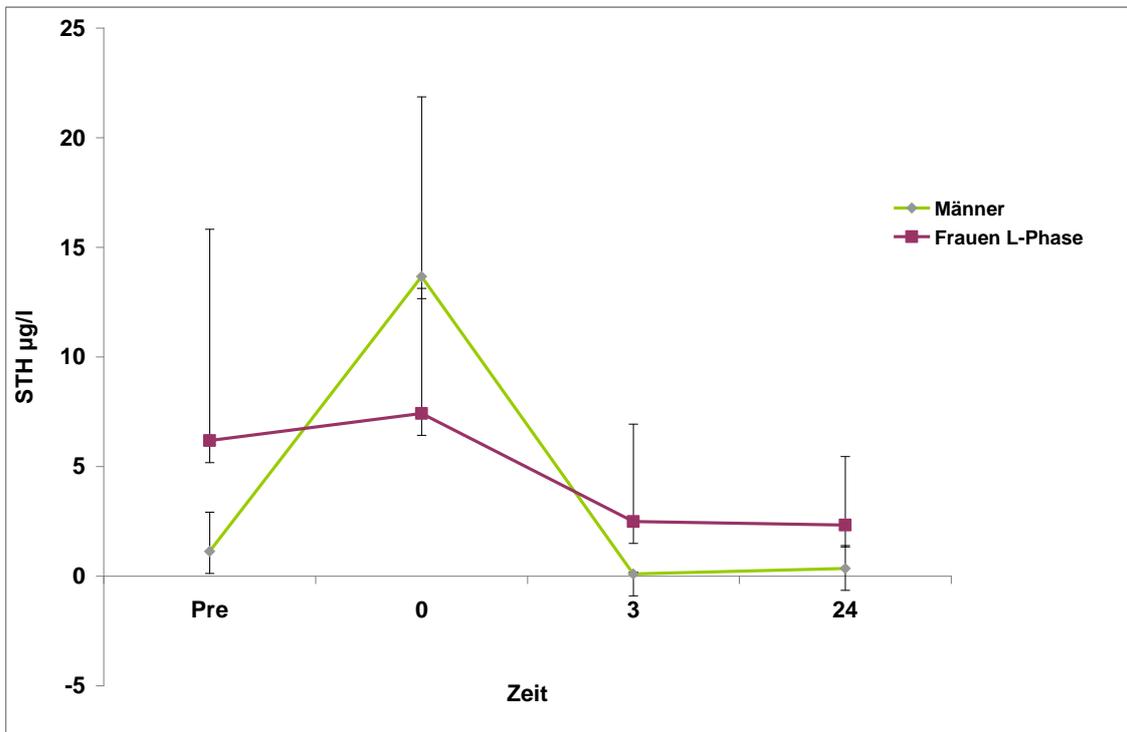


Abbildung 43. Insulinlike growth factor

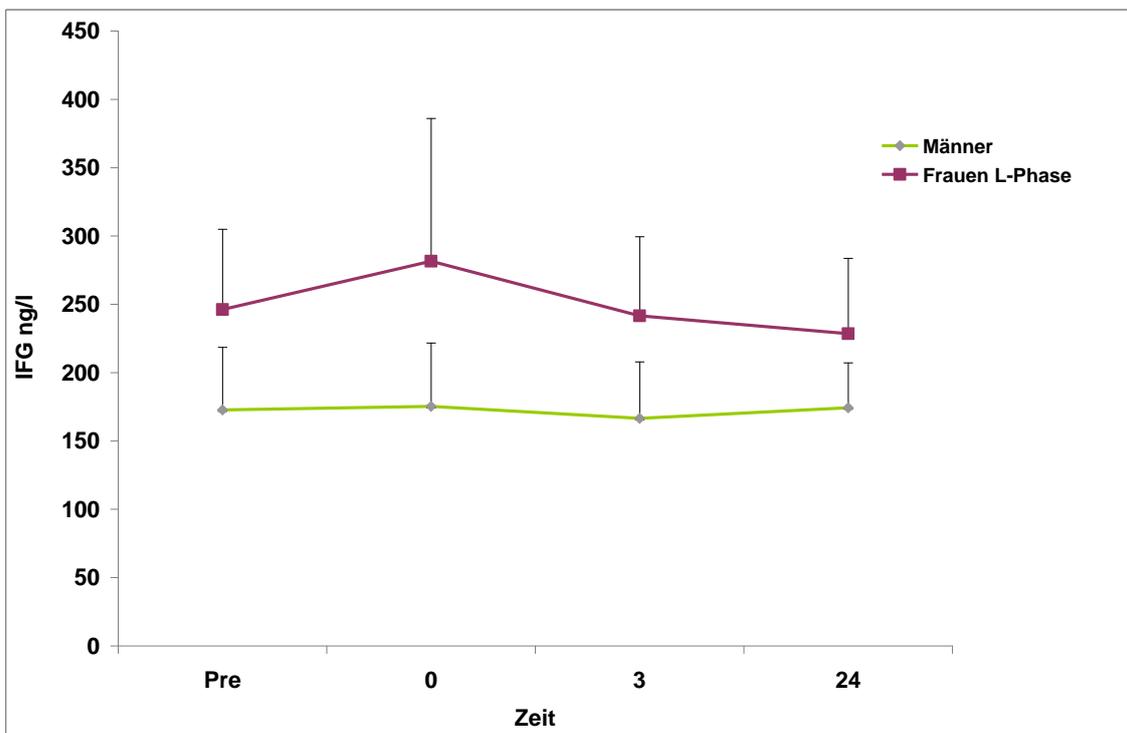
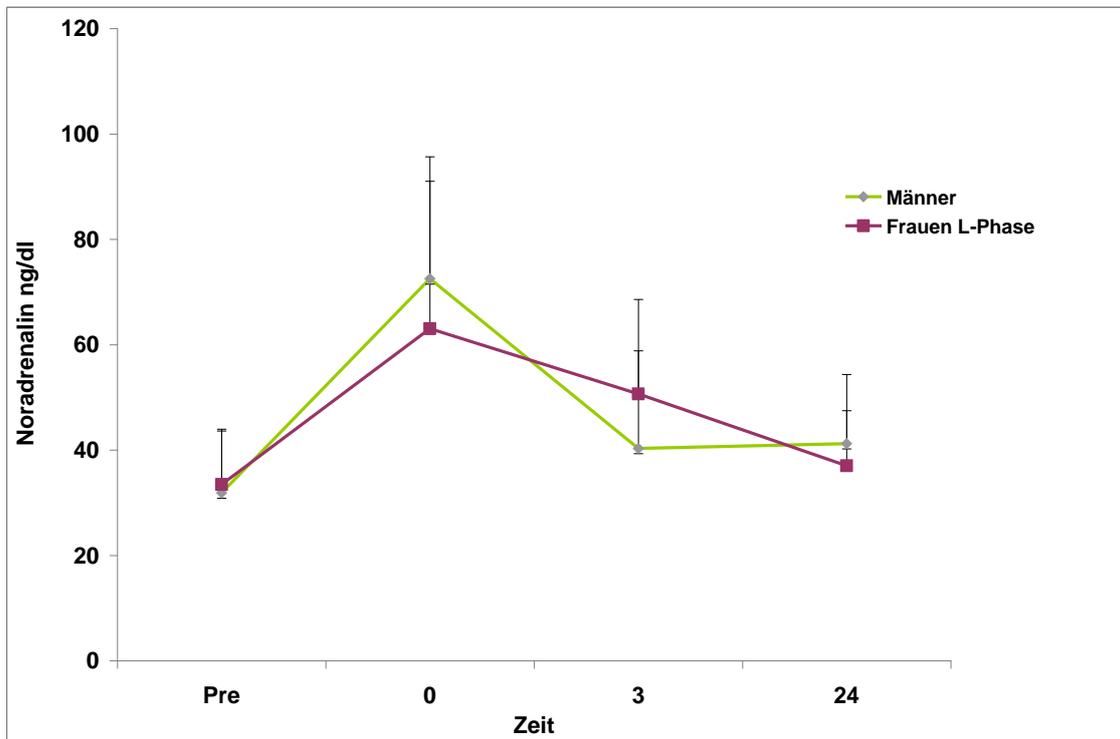


Abbildung 44. Noradrenalin



Im Folgenden werden die Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholungen von Hormonen/Fettsäuren/CK und Blutbild zwischen Männern und Frauen in der L-Phase tabellarisch dargestellt.

Tabelle 18. Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholungen von Hormonen/Fettsäuren/CK und Blutbild zwischen Männern und Frauen in der L-Phase. Fettgedruckt sind signifikante Effekte

Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Leukozyten	F[1,19]= 5.62 p = 0.02	F[3,57]= 4.30 p =0.01	F[3, 57]= 0.41 p = 0.90
Prozent Neutrophile	F[1,19]= 0.13 p = 0.71	F[3,57]= 7.86 p =0.0002	F[3, 57]= 0.86 p = 0.46

Prozent Eosinophile	F[1,19]= 0.15 $p = 0.69$	F[3,57]= 9.84 $p = 0.0005$	F[3, 57]= 0.58 $p = 0.54$
Prozent Basophile	F[1,19]= 0.02 $p = 0.87$	F[3,57]= 1.65 $p = 0.19$	F[3, 57]= 0.33 $p = 0.77$
Lymphozyten	F[1,19]= 1.32 $p = 0.26$	F[3,57]= 0.41 $p = 0.55$	F[3, 57]= 1.29 $p = 0.27$
Monozyten	F[1,19]= 1.86 $p = 0.18$	F[3,57]= 3.50 $p = 0.02$	F[3, 57]= 1.13 $p = 0.34$
Hb	F[1,19]= 32.31 $p = 0.00001$	F[3,57]= 3.023 $p = 0.05$	F[3, 57]= 1.57 $p = 0.21$
Erythrozyten	F[1,19]= 17.82 $p = 0.00462$	F[3,57]= 3.856 $p = 0.01$	F[3, 57]= 1.93 $p = 0.13$
Hämatokrit	F[1,19]= 21.81 $p = 0.0001$	F[3,57]= 4.69 $p = 0.006$	F[3, 57]= 3.30 $p = 0.03$
CK	F[1,19]= 1.33 $p = 0.26$	F[3,57]= 2.78 $p = 0.08$	F[3, 57]= 0.89 $p = 0.40$
Myoglobin	F[1,19]= 1.72 $p = 0.20$	F[3,57]= 4.22 $p = 0.04$	F[3, 57]= 2.64 $p = 0.11$
Fettsäuren	F[1,19]= 0.079 $p = 0.78$	F[3,57]= 12.79 $p = 0.00047$	F[3, 57]= 2.47 $p = 0.09$
Cortisol	F[1,19]= 8.67 $p = 0.008$	F[3,57]= 4.31 $p = 0.02$	F[3, 57]= 0.311 $p = 0.72$
STH	F[1,19]= 0.49 $p = 0.48$	F[3,57]= 10.69 $p = 0.00004$	F[3, 57]= 4.56 $p = 0.009$
IGF	F[1,17]= 11.93 $p = 0.003$	F[3,57]= 0.45 $p = 0.55$	F[3, 57]= 1.18 $p = 0.24$
Adrenalin	F[1,17]= 1.85 $p = 0.18$	F[3,57]= 0.99 $p = 0.35$	F[3, 57]= 0.56 $p = 0.51$
Noradrenalin	F[1,19]= 0.005 $p = 0.93$	F[3,57]= 7.22 $p = 0.009$	F[3, 57]= 1.99 $p = 0.13$

3.4.5. Analysen von Blutbild und Hormonen/Fettsäuren/CK von Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

In den statistischen Analysen zum Unterschied zwischen Frauen in der F-Phase und in der L-Phase zeigten sich lediglich ein marginal signifikanter Haupteffekt von Zeit für Prozent Neutrophile ($F [3,48]= 4.42, p =0.07$). Alle weiteren untersuchten Blutbildparameter und Hormon- und /Stoffwechselproduktkonzentrationen zeigten keine signifikanten Ergebnisse in Abhängigkeit der untersuchten Faktoren Phase, Messzeitpunkt und der Interaktion von Phase und Messzeitpunkt. Die Berechnungen sind der Tabelle 19. zu entnehmen.

Tabelle 19. Ergebnisse der Varianzanalysen mit Messwiederholungen von Hormonen und Blutbild zwischen Frauen in der F- und der L-Phase.

Proteinkonzentration	Phase (F- vs. L-Phase)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Phase
Leukozyten	$F[1,16]= 0.47$ $p = 0.49$	$F[3,48]= 1.25$ $p =0.29$	$F[3,48]= 0.04$ $p = 0.95$
Prozent Neutrophile	$F[1,16]= 1.15$ $p = 0.29$	$F[3,48]= 4.42$ $p =0.07$	$F[3,48]= 1.05$ $p = 0.37$
Prozent Eosinophile	$F[1,16]= 0.01$ $p = 0.90$	$F[3,48]= 1.58$ $p =0.21$	$F[3,48]= 0.34$ $p = 0.74$
Prozent Basophile	$F[1,16]= 0.06$ $p = 0.79$	$F[3,48]= 1.01$ $p =0.39$	$F[3,48]= 0.22$ $p = 0.87$
Lymphozyten	$F[1,16]= 0.44$ $p = 0.51$	$F[3,48]= 0.46$ $p =0.52$	$F[3,48]= 0.97$ $p = 0.34$
Monozyten	$F[1,16]= 0.002$ $p = 0.95$	$F[3,48]= 0.49$ $p =0.63$	$F[3,48]= 0.14$ $p = 0.87$
Hb	$F[1,16]= 0.42$ $p = 0.52$	$F[3,48]= 0.32$ $p =0.80$	$F[3,48]= 0.65$ $p = 0.58$
Erythrozyten	$F[1,16]= 0.16$ $p = 0.68$	$F[3,48]= 1.03$ $p =0.38$	$F[3,48]= 0.71$ $p = 0.53$

Hämatokrit	F[1,16]= 0.32 <i>p</i> = 0.57	F[3,48]= 0.62 <i>p</i> =0.60	F[3,48]= 0.87 <i>p</i> = 0.45
CK	F[1,16]= 0.16 <i>p</i> = 0.68	F[3,48]= 1.32 <i>p</i> =0.68	F[3,48]= 0.04 <i>p</i> = 0.58
Myoglobin	F[1,16]= 0.06 <i>p</i> = 0.93	F[3,48]= 0.17 <i>p</i> =0.85	F[3,48]= 0.34 <i>p</i> = 0.72
Fettsäuren	F[1,16]= 0.14 <i>p</i> = 0.70	F[3,48]= 1.39 <i>p</i> =0.25	F[3,48]= 0.04 <i>p</i> = 0.97
Cortisol	F[1,16]= 0.03 <i>p</i> = 0.84	F[3,48]= 0.56 <i>p</i> =0.58	F[3,48]= 0.14 <i>p</i> = 0.87
STH	F[1,16]= 0.46 <i>p</i> = 0.50	F[3,48]= 0.68 <i>p</i> =0.55	F[3,48]= 0.25 <i>p</i> = 0.84
IGF	F[1,16]= 1.22 <i>p</i> = 0.28	F[3,48]= 0.85 <i>p</i> =0.39	F[3,48]= 1.39 <i>p</i> = 0.25
Adrenalin	F[1,16]= 0.14 <i>p</i> = 0.70	F[3,48]= 0.37 <i>p</i> =0.58	F[3,48]= 0.54 <i>p</i> = 0.49
Noradrenalin	F[1,16]= 0.37 <i>p</i> = 0.55	F[3,48]= 0.20 <i>p</i> =0.88	F[3,48]= 0.17 <i>p</i> = 0.89

3.5. Analysen von Phagozytose- und Burst-Test

Die Analyse der Phagozytose- und Burst-Tests folgte denselben statistischen Evaluierungsmethoden wie die Analysen zu den Blutbildparametern, den HSP- und Hormonkonzentrationen. Es wurden auch hier varianzanalytische Berechnungen mit Messwiederholung und die Effekte -Geschlecht, -Messzeitpunkt und -Messzeitpunkt x Geschlecht auf Signifikanz getestet. Ergaben sich signifikante Interaktionen, wurden diese mit Hilfe von T-Test Analysen für gepaarte Stichproben (getrennt nach Gruppe) detailliert berechnet.

Die erste Analyse bezog sich auf den Vergleich von Männern zu Frauen in der F-Phase.

Die Analyse der phagozytierenden Monozyten zeigte einen marginal signifikanten Effekt für den Faktor Messzeitpunkt ($F[3,51] = 2.56, p = 0.08$) und eine marginal signifikante Interaktion von Messzeitpunkt und Geschlecht ($F[3,51] = 2.88, p = 0.06$). Anschließende T-Test Analysen zeigten bei Männern einen geringen Mittelwertsunterschied zwischen den Messungen direkt nach Belastung im Vergleich zu drei Stunden nach der Belastung als Frauen in der F-Phase in demselben gemessenen Zeitraum. Der numerische Abfall der phagozytierenden Monozyten war bei Frauen in der F-Phase größer als bei Männern. Bei allen weiteren Analysen der entnommenen Proben konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen Männer und Frauen in der F-Phase festgestellt werden (siehe nachfolgende Tabelle)

Tabelle 20. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von Phago und Burst zwischen Männern und Frauen in der F-Phase. Marginal signifikante Ergebnisse sind fett markiert.

Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Phago Monozyten	F[1,17]= 0.718 <i>p</i> = 0.40	F[3, 51]= 2.56 <i>p</i> =0.08	F[3, 51]= 2.88 <i>p</i> = 0.06
Phago Monozyten mfc	F[1,17]= 0.06 <i>p</i> = 0.80	F[3, 51]= 1.56 <i>p</i> =0.75	F[3, 51]= 0.78 <i>p</i> = 0.90
Phago Granulozyten	F[1,17]= 0.313 <i>p</i> = 0.58	F[3, 51]= 0.311 <i>p</i> =0.77	F[3, 51]= 0.51 <i>p</i> = 0.63
Phago Granulozyten mfc	F[1,17]= 0.295 <i>p</i> = 0.59	F[3, 51]= 0.61 <i>p</i> =0.56	F[3, 51]= 0.38 <i>p</i> = 0.70
Burst Monozyten	F[1,17]= 0.175 <i>p</i> = 0.68	F[3, 51]= 0.34 <i>p</i> =0.76	F[3, 51]= 0.42 <i>p</i> = 0.70
Burst Monozyten mfc	F[1,17]= 2.1 <i>p</i> = 0.16	F[3, 51]= 1.0 <i>p</i> =0.88	F[3, 51]= 0.39 <i>p</i> = 0.45
Burst Granulozyten	F[1,17]= 0.46 <i>p</i> = 0.50	F[3, 51]= 0.08 <i>p</i> =0.90	F[3, 51]= 0.13 <i>p</i> = 0.85
Burst Granulozyten mfc	F[1,17]= 2.21 <i>p</i> = 0.155	F[3, 51]= 0.29 <i>p</i> =0.79	F[3, 51]= 0.35 <i>p</i> = 0.79

Die Analysen zu den Gruppenunterschieden zwischen Männern und Frauen in der L-Phase zeigte, dass sich die beiden Gruppen in allen getesteten abhängigen Variablen der Phago- und Burst-Konzentration nicht unterschieden (siehe nachfolgende Tabelle).

Tabelle 21. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von Phago und Burst zwischen Männern und Frauen in der L-Phase.

Proteinkonzentration	Geschlecht (Männer vs. Frauen)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Geschlecht
Phago Monozyten	F[1,18]= 2.73 <i>p</i> = 0.11	F[3, 54]= 1.43 <i>p</i> =0.24	F[3, 54]= 1.25 <i>p</i> = 0.30
Phago Monozyten mfc	F[1,18]= 0.22 <i>p</i> = 0.64	F[3, 54]= 0.65 <i>p</i> =0.58	F[3, 54]= 0.58 <i>p</i> = 0.62
Phago Granulozyten	F[1,18]= 0.03 <i>p</i> = 0.84	F[3, 54]= 0.55 <i>p</i> =0.64	F[3, 54]= 0.78 <i>p</i> = 0.50
Phago Granulozyten mfc	F[1,18]= 2.69 <i>p</i> = 0.11	F[3, 54]= 1.92 <i>p</i> =0.13	F[3, 54]= 1.55 <i>p</i> = 0.21
Burst Monozyten	F[1,18]= 0.004 <i>p</i> = 0.94	F[3, 54]= 0.26 <i>p</i> =0.83	F[3, 54]= 0.24 <i>p</i> = 0.85
Burst Monozyten mfc	F[1,16]= 1.67 <i>p</i> = 0.21	F[3, 48]= 1.32 <i>p</i> =0.27	F[3, 48]= 1.22 <i>p</i> = 0.31
Burst Granulozyten	F[1,16]= 0.02 <i>p</i> = 0.86	F[3, 48]= 0.29 <i>p</i> =0.76	F[3, 48]=0.30 <i>p</i> = 0.75
Burst Granulozyten mfc	F[1,16]= 0.58 <i>p</i> = 0.45	F[3,48]= 0.20 <i>p</i> =0.82	F[3, 48]= 0.10 <i>p</i> = 0.91

Die abschließende Analyse der Phago- und Burst-Konzentration zur Evaluation von Gruppenunterschieden zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase ergab keine Unterschiede zwischen den beiden Zyklusphasen in Abhängigkeit vom Messzeitpunkt (siehe nachfolgende Tabelle).

Tabelle 22. Ergebnisse der Varianzanalyse mit Messwiederholung von Phago und Burst zwischen Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

Proteinkonzentration	Phase (F- vs. L-Phase)	Messzeitpunkt	Messzeitpunkt x Phase
Phago Monozyten	F[1,15]= 0.81 $p = 0.38$	F[3, 45]= 1.3 $p = 0.28$	F[3, 45]= 0.98 $p = 0.40$
Phago Monozyten mfc	F[1,15]= 0.75 $p = 0.39$	F[3, 45]= 0.16 $p = 0.88$	F[3, 45]= 0.23 $p = 0.83$
Phago Granulozyten	F[1,15]= 0.07 $p = 0.79$	F[3, 45]= 1.26 $p = 0.29$	F[3, 45]= 1.31 $p = 0.28$
Phago Granulozyten mfc	F[1,15]= 1.32 $p = 0.26$	F[3, 45]= 0.53 $p = 0.58$	F[3, 45]= 0.55 $p = 0.57$
Burst Monozyten	F[1,15]= 0.45 $p = 0.51$	F[3, 45]= 0.40 $p = 0.75$	F[3, 45]= 0.23 $p = 0.86$
Burst Monozyten mfc	F[1,15]= 0.01 $p = 0.90$	F[3, 45]= 1.52 $p = 0.21$	F[3, 45]= 1.63 $p = 0.19$
Burst Granulozyten	F[1,15]= 0.23 $p = 0.63$	F[3, 45]= 0.96 $p = 0.38$	F[3, 45]= 0.88 $p = 0.41$
Burst Granulozyten mfc	F[1,15]= 0.07 $p = 0.78$	F[3, 45]= 0.34 $p = 0.75$	F[3, 45]= 0.12 $p = 0.91$

4. Diskussion

Dieser Versuch sollte die zyklus- und geschlechtsabhängige Expression der Hitzeschockproteine 27 und 70 und der Hämoxigenase unter Ausdauerlaufbelastung untersuchen. Da nach einer sportlichen Belastung bei Frauen im Vergleich zu Männern eine verringerte Hormonreaktion und eine durch Östrogen bedingte reduzierte Stressreaktion beobachtet werden kann, ist eine geschlechterspezifische Fragestellung in diesem Fall sinnvoll und notwendig.

Wie einleitend berichtet, wurden bei den insgesamt 26 Sportlern beiderlei Geschlechts eine definierte Laufbelastung als Stressreiz gesetzt. Vor der Belastung und nach der Belastung wurden Blutproben entnommen und auf den Leuko- und Phagozytenanstieg bzw. die erhöhte leukozytäre Expression von Hitzeschockproteinen hin untersucht. Die Laufbelastung mit Blutentnahmen wurde bei den Frauen außerdem in beiden Zyklusphasen durchgeführt. Es sollte versucht werden zu zeigen, welchen Einfluss Geschlecht und Zyklusphase auf diese leukozytäre Expression hat.

In diesem Zusammenhang diskutiert ein Positionspaper die generelle Bedeutung von körperlichem Training und der daraus resultierenden Effekte auf das Immunsystem und immunologische Funktionen⁵⁸. Eine zentrale Aussage besagt, dass körperliches Training ("exercise") weitreichenden und zum großen Teil unerforschten Einfluss auf immunologische Funktionen haben kann. Diese Richtung der immunologischen Forschung hat eine große Tragweite, sind doch von weiterführenden Studien Aussagen zu zentralen medizinischen Themen zu erwarten, wie Tumorthherapie, Aging und sportmedizinische Themen.

Aussagen zu geschlechtsabhängigen Unterschieden der Immunantwort konnten auch bereits getroffen werden. Hier handelte es sich allerdings um Daten, welche nicht unter körperlicher Beanspruchung erhoben wurden⁷. Im Jahr 2008 konnten Northoff et al in einer Studie mit jeweils 12 Athleten beiderlei Geschlechts zeigen, dass Geneexpression sich bei weiblichen Athletinnen in der Lutealphase des Zyklus wesentlich von der Genexpression in der

Follikelphase und bei männlichen Athleten unterschied⁴². Waren doch Anstiege der Hitzeschockproteinsynthese nach akuter Belastung bei Frauen in der F-Phase und Männern zu beobachten, während bei den Frauen in der L-Phase ein Abwärtstrend zu sehen war.

Hitzeschockproteine, wie die hier untersuchten, wurden als Proteine, welche in Zusammenhang mit Hitze einwirkung in der Zelle synthetisiert werden, erstmals in den 60er Jahren bekannt. Untersuchungen der letzten zehn Jahre konnten zahlreiche neue Erkenntnisse über die Entstehung der Hitzeschockproteine und deren Funktion in der Zelle gewinnen. Die Synthese dieser Proteine bei sportlicher Belastung (und damit einhergehender Hyperthermie, Zelluntergang des Muskelgewebes, oxidativer Stress usw.) war in den Arbeiten von Fehrenbach et al ein zentrales Thema. Hier ging es darum belastungsinduzierte Reaktionen der Hitzeschockproteine als eine Einheit des körperlichen Immunsystems in vivo zu untersuchen. Es war Ziel herauszufinden, wie sich die Protein und RNA-Expression von HSP unter akuter oder sogenannter chronischer Belastung verhielten.

Es konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass akute Ausdauerbelastung zu einer vermehrten leukozytären Expression von HSP führt^{17, 18, 39}. Außerdem konnte gezeigt werden, dass es eine umgekehrte Beziehung zwischen der HSP-Expression und DNA-Schäden gibt²⁰. Damit ergibt sich ein weiteres Indiz für die Schutzfunktion von Hitzeschockproteinen bei sportlicher Belastung.

Das nicht hitzesensitive antioxidative Stressprotein Hämoxigenase wird ebenfalls in Abhängigkeit von Dauer und Intensität des zellulären Stress stimuliert. Es ist in der Lage die Synthese von Ferritin zu induzieren und reduziert dadurch den zellulären Pool von freiem Eisen, welches prooxidativ wirkt. Fehrenbach et al konnten zeigen, dass ein Halbmarathon, im Sinne einer langen und ausdauernden körperlichen Belastung als Stimulanz wirksam war, eine exzessive und kurze Belastung aber die Expression der Hämoxigenase-1 nicht zu induzieren vermochte¹⁶.

4.1. Ergebnisdiskussion

4.1.1. Antropometrische Daten der Studienteilnehmer

Insgesamt zeigten sich die Männer des Studienkollektivs bei den Vergleichen der Körpergröße, der Laufeinheiten pro Woche und des Umfangs der wöchentlichen Läufe in Kilometern signifikant höher als die Frauen des Studienkollektivs.

Darüberhinaus hatten die Männer eine signifikant höhere Leistung an der IAS, und damit eine höhere Geschwindigkeit in Kilometern pro Stunde bei 93% der IAS, eine signifikant höher maximale Sauerstoffaufnahme und eine ebenfalls signifikant höhere Sauerstoffaufnahme bei 93% der IAS gemessen per Spiroergometrie. Die Unterschiede entsprechen naturgegebenen Erwartungen. Dabei ist der Vergleich bei vorgegebenen % der IAS die beste Möglichkeit eine individuell vergleichbare Belastungssituation darzustellen. Ein größeres Probandenkollektiv wäre wünschenswert gewesen, war jedoch aufgrund des komplexen Studiendesigns besonders in Bezug auf die Probandinnen nicht möglich.

4.1.2. HSP 27/70, Hämoxygenase

Es zeigten sich verschiedentlich signifikante Haupteffekte bei Männern und Frauen bei den Analysen der Expression der Hitzeschockproteine. Ein Unterschied der Frauen in den verschiedenen Zyklusphasen konnte dargestellt werden.

Betrachtet man die Expression von HSP 70-positiven Lymphozyten dann fällt auf, dass bei Frauen in der L-Phase keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit des Messzeitpunktes zu sehen waren. Frauen in der F-Phase und Männer zeigten einen linearen Anstieg der Expression HSP 70-positiver Lymphozyten über alle Zeitbereiche hinweg, wobei Frauen in der F-Phase außerdem ein höheres Niveau über die gemessenen Zeitbereiche zeigten.

Bereits 2001 zeigten Walsh et al, dass körperliche Belastung das Hitzeschockprotein 72 (70) im Serum zu erhöhen vermochten ⁵⁹. Die Probandenzahl war allerdings klein, es waren fünf Männer und eine Frau belastet worden, und die Messung somit nur im geringen Maße repräsentativ. Wir konnten in dieser Versuchsreihe in Teilen zeigen, dass Frauen in der Follikelphase des Zyklus und Männer einen intrazellulärem HSP 70 Anstieg hatten, wohingegen bei den Frauen in der Lutealphase keine relevante Steigerung der HSP 70 Expression zu verzeichnen war.

Anders verhielt es sich bei dem Hitzeschockprotein 27. Während Männer und Frauen in der F-Phase keinen Anstieg der lymphozytären HSP 27 Expression hatten, war ein signifikanter Anstieg bei den Frauen in der L-Phase nach drei und 24 Stunden nach Belastung erhebbbar.

2000 hatten Fehrenbach et al gezeigt, dass sich die mRNA-Level von HSP 70 deutlich durch körperliche Aktivität erhöhten ¹⁷. HSP 27- mRNA zeigte sogar verminderte Level nach intensivem Training. In dieser Studie waren allerdings nur 12 männliche Athleten durch einen Halbmarathon belastet worden und folglich keine Aussage zu Unterschieden zwischen den Geschlechtern zu machen.

Ein ähnliches Muster wie beim HSP 27 zeigte sich bei hämoxygenase-positiven Lymphozyten. Hier ergab sich ein signifikanter Anstieg der Expression hämoxygenase-positiver Lymphozyten bei den Frauen in der L-Phase 24 Stunden nach Belastung, während sich bei den Frauen in der F-Phase keinen Anstieg verzeichnen ließ. In einer 2003 veröffentlichten Studie mit 39 nur männlichen Probanden konnte gezeigt werden, dass das Stresshormon Hämoxygenase -1 eine Expression abhängig von der Art der körperlichen Belastung zeigte. Ein kurzer erschöpfender Lauf und eine exzentrische Belastung, d.h. lediglich eine Muskelkontraktion während eines sogenannten „leg pressure tests“ vermochten die Expression der HO-1 nicht zu induzieren. Nur die ausdauernde längere Belastung eines Halbmarathons ergaben eine signifikante Stimulation der HO-1-Expression ¹⁶. Wie nahezu immer waren auch hier keine Frauen in den Test eingeschlossen. Bei der Hämoxygenase-1 ist die Reagibilität auf pure Hyperthermie nicht sicher nachgewiesen, als

Stresshormon wird es eher als Reaktion auf vermehrte Konzentration freier Radikale exprimiert. Die hier erhobenen Daten lassen auch bei der HO-1 auf eine zyklusspezifisch verschiedene Expression schließen und legen eine genauere Betrachtung nahe.

In Bezug auf die monozytäre HSP 70-Expression lassen sich ähnliche Ergebnisse zeigen, wie in der lymphozytären Expression der HSP 70. Frauen in der F-Phase zeigten einen signifikanten Anstieg nach 24 Stunden im Vergleich zu Frauen in der L-Phase, die keine signifikante Veränderung zeigten. In den Vergleichen von Männern vs. Frauen in der L-Phase ergaben sich keine relevanten signifikanten Ergebnisse der HSP 27- und HSP 70-Expression. Ebenso zeigten sich in den Vergleichen der Männer mit den Frauen in der F-Phase lediglich eine marginal signifikante Veränderung im Haupteffekt Zeit der Prozentanteile HSP 70-positiver Monozyten. In den Analysen der monozytären HSP 27-Expression lassen sich im Unterschied zur lymphozytären HSP 27-Expression nur ein marginal signifikanter Abfall der Expression 24 Stunden nach dem Lauf bei den Frauen in der F-Phase feststellen. Bei den Frauen in der L-Phase ergeben sich auch hier keine signifikanten Ergebnisse. Zusammenfassend betrachtet sind diese wenigen signifikanten Ergebnisse schwer in dem hier untersuchten Kontext zu interpretieren. Aber auch hier läßt zumindest der Unterschied zwischen den Frauen in den beiden Zyklusphasen vermuten, dass eine unterschiedliche hormonelle Ausgangslage die Expression der HSP beeinflusst.

Interpretativ läßt sich sagen, dass sich diese Ergebnisse als Hinweis auf einen zyklusabhängigen Unterschied in der Expression der hier untersuchten Hitzeschockproteine werten lassen. Die Inkonstanz in der Erhebung signifikanter Daten ist hier eine Folge der zu kleinen Probandenanzahl. Auffällig ist aber die relativ deutliche Unterscheidung der Signifikanzen unter den verschiedenen Hitzeschockproteinen. Analog zu den unterschiedlichen Aufgaben, die diese Hitzeschockproteine in der Zelle ausfüllen, ist die unterschiedliche Expression in den beiden Zyklusphasen bzw. im Sinne eines Geschlechterunterschieds messbar.

4.1.3. Hormone/Fettsäuren/CK und Blutbild

Bei der Analyse der Hormone, der Fettsäuren, der Creatinkinase und des Blutbildes ergaben sich insgesamt einige signifikante Aussagen.

Einige Unterschiede der Blutbildparameter zwischen Frauen und Männern sind bereits in der Literatur belegt und betreffen die konstitutionellen Unterschiede bei den Parametern Erythrozytenzahl, Hämoglobingehalt und Hämatokrit ³⁵. Diese zeigten sich bei den Männern im Durchschnitt höher als bei Frauen in beiden Zyklusphasen. Leukozyten zeigten bei beiden Geschlechtern einen signifikanten linearen Anstieg bis drei Stunden nach der Belastung und einen Abfall der Zellen bei der Messung 24 Stunden nach Belastung. Bei der Konzentration der Eosinophilen zeigte sich gegensätzlich dazu ein Abfall bis drei Stunden nach dem Lauf und einem Anstieg auf das Ausgangsniveau nach 24 Stunden. Eine belastungsinduzierte Leukozytose ergibt sich vornehmlich aus der vermehrten Freisetzung der Leukozyten aus Speichern dem sogenannten "marginalen Pool", wobei es sich hierbei um intravaskuläre Reserven also dem Endothel anhaftende Zellen handelt ⁴⁹. Hieran sind regulatorisch die auch höheren Katecholamine- und Zytokinpiegel bei Belastung beteiligt. Dies ließ sich in dieser Versuchsreihe analog hierzu feststellen.

Die Konzentration von Cortisol war bei Männern insgesamt auf einem signifikant höheren Niveau als bei Frauen. Bezogen auf den Meßzeitpunkt zeigte sich außerdem ein Abfall der Konzentration des Cortisols nach drei Stunden in der Gruppe der Frauen unabhängig von der Zyklusphase und ebenso in der Gruppe der Männer. In der Literatur ist kein signifikanter Abfall der Cortisolkonzentration nach ausdauernder Belastung belegt. Lediglich konzentrische Belastung der Muskulatur konnte in Studien zu einem *Anstieg* der Cortisolkonzentration führen ⁵⁴. So ist dieser Abfall der Cortisolkonzentration drei Stunden nach Belastung wahrscheinlich der zirkadianen Rhythmik der Cortisolausschüttung geschuldet und kein Ergebniss der Belastung.

Der IGF zeigte bei Frauen in beiden Zyklusphasen eine insgesamt höhere Konzentration als bei Männern. Signifikante Ergebnisse für den Faktor Zeit ließen sich nicht detektieren, d.h. es gab keine Reaktion der IGF-Konzentration aufgrund der körperlichen Belastung. 2006 zeigten Abellan et al, dass bei hochtrainierten Athleten unabhängig von der ausgeübten Sportart keine IGF-Konzentrationsveränderung nach Belastung gemessen werden konnte ¹. Ebenfalls im Rahmen dieser Studie wurden Freizeitsportler untersucht und festgestellt, dass nach einer höheren körperlichen Belastung eine höhere Konzentration IGF gemessen werden konnte. Vorsichtig interpretiert, stellt dies eine Hinweis für den guten Trainingszustand unserer Probanden dar.

Signifikante Unterschiede beim Faktor Zeit ergaben sich außerdem bei Fettsäuren, somatotropem Hormon und Noradrenalin. Diese zeigten einen maximalen Anstieg für beide Geschlechter (bei Frauen auch unabhängig von der Zyklusphase) direkt nach der Belastung.

Noradrenalin sank nach der Belastung langsam wieder um nach 24 Stunden nahezu beim Ausgangswert anzukommen. Eine Katecholaminausschüttung unter Belastung ist eine langläufig bekannte Tatsache ^{27, 47}. Auch der Anstieg der Fettsäuren nach Belastung ist in der Literatur belegt und akzeptiert ³¹. Hierbei zeigte sich ein ähnliches Muster des Anstiegs nach Belastung und Abfall nach drei und 24 Stunden bei beiden Geschlechtern. Fettsäuren stellen die Energiequelle der Skelettmuskulatur bei längerer Belastung dar und zeigten in der vorliegenden Arbeit keinen Unterschied zwischen den Frauen der verschiedenen Zyklusphasen.

Creatinkinase ist ein bei Muskelschäden z.B. durch intensive körperliche Belastung, erhöht messbares Enzym. Es zeigte sich bei Männern nach drei und 24 Stunden nach Belastung leicht erhöht messbar. Frauen zeigten keine signifikanten Änderungen. Dieser Unterschied ist schwer erklärbar, allerdings sind erhöhte CK-Werte lediglich Ausdruck eines erhöhten Muskelschadens und auch hier möglicherweise durch die zu kleine Probandenzahl nicht realistisch einzubeziehen.

Somatotropes Hormon (STH) ist ein Wachstumshormon, das seine Wirkung über IGF-1 vermittelt. Es wird in den Alphazellen des

Hypophysenvorderlappens gebildet. Somatotropin releasing factor und Somatostatin des Hypothalamus regulieren die Ausschüttung des STH. Der Stimulus für die Ausschüttung allerdings sind fallende Glucosespiegel im Blut und erhöhte Laktatspiegel ²⁹. Auch bei der Ausschüttung des STH gibt es eine circadiane Sekretion. Dickhuth et al. beschrieben in einem Übersichtswerk einen sogenannten Anpassungseffekt durch Training, der sich bei STH in verminderten Ruhewerten und verminderten Submaximalwerten ausdrückte ¹¹. Es zeigte sich bei den Ergebnissen der Bestimmung der STH-Konzentration ein signifikanter Anstieg direkt nach Belastung bei den Männern, es folgte außerdem ein signifikanter Abfall nach drei und 24 Stunden. Bei den Frauen unabhängig von der Zyklusphase zeigte sich ein marginal signifikanter Anstieg direkt nach Belastung und ein signifikanter Abfall nach drei Stunden, wobei der weitere Abfall nach 24 Stunden wieder nur marginal signifikant ausfiel. Interpretierend muss man sagen, dass sich auch hier aufgrund der kleinen Probandenzahl eine echte Aussage nicht treffen läßt. Aber in der Tendenz ergab sich ein Anstieg der Konzentration des somatotropen Hormons direkt nach Belastung in beiden Geschlechtergruppen unabhängig von der Zyklusphase und einen raschen Abfall nach Beendigung der Belastung. Eine vom Geschlecht unabhängige STH-Erhöhung unter Belastung konnte in anderen Versuchsreihen bereits gezeigt werden.

4.1.4. Burst

Der Bursttest erlaubt die quantitative Bestimmung des leukozytären oxidativen Bursts in heparinisiertem Vollblut. Er weist die Prozentzahl und enzymatische Aktivität der Zellen nach, die oxidative Substanzen bilden. Diese etablierte Methode zum indirektem Nachweis von oxidativen Stress der Zelle zeigte in der Versuchsreihe faktisch keine signifikante Unterschied zwischen den Geschlechtern, den Zyklusphasen der Frauen und den Meßzeitpunkten.

4.1.5. Phagozytose

Der Phagozytostest erlaubt die quantitative Bestimmung der leukozytären Phagozytose. Er arbeitet mit Fluoreszein-markierten opsonierten E.coli und misst die Phagozytoseaktivität von Monozyten und Granulozyten (ein oder mehr phagozytierte Bakterien). Der Ablauf der Phagozytose kann eingeteilt werden in Oberflächenanlagerung der zu phagozytierenden Partikel, Ingestion und intrazelluläre Eliminierung. Mit dem Phagozytostest können Aussagen über die ungefähre Menge der phagozytierten Partikel und indirekt über die Güte der Abwehrmechanismen im Rahmen der zellulären Immunantwort getroffen werden. Auch hier zeigte sich bei den Geschlechtern, den Zyklusphasen der Frauen und den Meßzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede.

2009 zeigten Giraldo et al, dass Phagozytose von Neutrophilen, vermittelt über den sogenannten „toll like receptor 2“ (TLR 2), von belastungsinduziertem eHSP 72 stimuliert wurde. Das Probandenkollektiv bestand aus 15 gesunden Frauen zwischen 21 und 26 Jahren. Um einen östrogenvermittelten Effekt auf die Aktivierung der Neutrophilen auszuschließen, wurden die Blutentnahmen in der ersten Woche des Zyklus entnommen. Ob bei einer oralen Kontrazeption der Ausschluss der Probandin erfolgte, wurde im Studiendesign nicht erwähnt. Zusätzlich wurde festgestellt, dass Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K), die extrazelluläre Signal-Regulations-Kinase (ERK) und der nukleäre Transkriptionsfaktor kappa β (NF- κ β) an dem Übertragungsweg mitwirkten. Es musste aber zuletzt auch eingeräumt werden, dass andere (unbekannte) Rezeptoren in dieser Übertragungsreihe eine Rolle spielen könnten²³. Eine weitere Arbeitsgruppe um Hinchado konnte zeigen, dass extrazelluläres HSP 72 zusammen mit Noradrenalin ein intrazelluläres Gefahrensignal aussendet, welches die Phagozytoseprozesse in neutrophilen Granulozyten aktiviert²⁴. Hinsichtlich unserer Ergebnisse lässt sich gegenwärtig nur sagen, dass auch andere Faktoren an den nicht signifikanten Ergebnissen teilhaben könnten.

4.2. Messmethoden und Methodenkritik

In die Analysen der Laufbelastung gingen insgesamt 26 Sportler ein. Hiervon mußten die Daten von drei Frauen bei einer nachgewiesenen Corpus luteum-Insuffizienz ausgeschlossen werden. Ihre Werte gingen demnach nicht in die statistischen Berechnungen mit ein.

Eine Corpus luteum-Insuffizienz kann die Folge einer exzessiven sportlichen Belastung bei Frauen sein. Hierbei ist die auch durch die Insuffizienz selbst bedingt Verkürzung der Lutealphase des Zyklus verantwortlich ¹⁰. Als eine weitere Ursache wird die, dem Trainingsumfang unangemessene, nicht ausreichend hochkalorische Ernährung angeschuldete ⁵⁶. Da also die Zyklusphase im Voraus nicht exakt berechnet werden konnte, mußten diese Werte von den Berechnungen ausgenommen werden. Hierdurch ergab sich ein kleineres Kollektiv von Teilnehmern, deren Werte analysiert wurden. Wenn man sich die F-Werte und p-Werte bei einzelnen abhängigen Variablen anschaut, dann lässt sich hieraus schließen, dass signifikante Unterschiede zustande gekommen wären, wenn mehr Daten von Versuchsteilnehmer hätten ausgewertet werden können. Die zu geringe Größe des Kollektives hat hierbei also die Chance signifikanten Analyseergebnisse zu erhalten, verringert.

Problematisch ist außerdem der Vergleich von männlichen und weiblichen Läufern im Hinblick auf das regelmäßige Trainingsmaß des Einzelnen/der Einzelnen. Betrachtet man die antropometrischen Daten des Kollektivs der Probanden so absolvierten die Männer im Schnitt eine höhere Trainingsdauer pro Lauf und eine höhere Trainingszeit pro Woche. Müssen die Frauen mit einer insgesamt geringeren Wochentrainingszeit und geringerem Laufvolumen in Kilometern im Vergleich als weniger trainiert betrachtet werden? Hinsichtlich dieser Frage muss angemerkt werden, dass alle Läufer und Läuferinnen an ihrer individuellen IAS belastet wurden, so dass die Belastung des Einzelnen als vergleichbar zu betrachten sein sollte.

4.3. Ausdauerlaufen als Induktion von körperlichem und „zellulärem“ Stress

In diesem Versuch wurden eine Situation simuliert, in der der Körper des Studienteilnehmers Stress erfährt. Es mußte ein Verfahren gefunden werden, welches die Studienteilnehmer definiert belastet und reproduzierbar ist. Um die erbrachte Leistung und die damit verbundene körperliche Situation vergleichen zu können, wurde ein Dauerlauf von einer Stunde bei 93% der individuellen anaeroben Schwelle absolviert. Hierbei wurden die Parameter Laktat und Herzfrequenz als stabile Parameter zu Leistungsüberprüfung herangezogen. Mit diesem Verfahren konnte sichergestellt werden, dass jeder Sportler individuell aber doch vergleichbar belastet wird. Zur Errechnung der IAS wurde die Methode von Dickhut et al zugrunde gelegt. Sie wird auch das +1,5mmol/l-Modell genannt und ähnelt in der Ausführung zahlreichen bekannten Methoden zur Errechnung der IAS.

4.4. Statistik

Die statistische Berechnung der vorliegenden Daten erfolgte unter statischen konservativen Bedingungen (hierarchisch Analyse Entscheidungen) und nur Effekte und/ oder Interaktion von $p < 0.05$ wurden statistische Signifikanz zugesprochen. Desweiteren wurden alle hier aufgeführten p -Werte nach der Formel von Huynh und Feldt (1976) korrigiert, um mögliche Verletzungen der Sphärizitätsannahmen (Sphärizität liegt vor, wenn die Varianzen aller möglicher Differenzen der Messwertreihen gleich sein) für Messwiederholungsdesigns (repeated measurement design) in Betracht zu ziehen.

Die Problematik, die sich bezüglich der sogenannten statistischen „Power“ der vorliegende Untersuchung stellte, ist die geringe Stichprobengröße, die zusätzlich durch den Ausschluss von Studienteilnehmerinnen mit Corpus luteum-Insuffizienz verschärft wurde. Aufschluss über die eingeschränkte „Power“ der statischen Analysen zeigten sich zumindest in einigen Analysen (z.B. Burst- und Phagozytostest), wo F-Werte und p -Werte womöglich

Signifikanz erreicht hätten, wenn mehr Studienteilnehmer in die Analyse hätten integriert werden können.

Während das allgemeine lineare Modell robust gegen leichte Verletzungen ihrer Annahmen ist (z.B. Varianzhomogenität und Normalverteilung), und diese in der vorliegenden Arbeit nicht explizit getestet wurden, lässt sich argumentieren, dass nicht-parametrische statistische Verfahren eventuell sensitiver zur Überprüfung statistisch signifikante Effekte gewesen wären. Die explorative Natur der vorliegenden Dissertation und die Vielzahl der untersuchten Variablen, sowie die Robustheit des allgemeinen linearen Modells und die ausschließliche Benutzung korrigierter p -Werte in dem vorliegenden Messwiederholungsdesign rechtfertigten den Einsatz des allgemein parametrischen varianzanalytischen Verfahrens.

Hier ist es sicher sinnvoll weiterführende Untersuchungen von spezifischerer Natur durchzuführen. In diesem Falle sollten in die Wahl statistischer Verfahren die bisher genannten Überlegungen mit einbezogen werden.

4.5. Aussicht

Im Hinblick auf die Unterschiede von Männern und Frauen sowohl in konstitutioneller Hinsicht als auch in der immunologischen Reaktion auf akute körperliche Belastung lässt sich anhand der vorliegenden Daten feststellen, HSP-Reaktionen von Männern und Frauen in der F-Phase des Zyklus unterschieden sich signifikant von der HSP-Antwort der Frauen in der L-Phase des Zyklus.

Immunologische Reaktionen sind so komplexe Regulationsmechanismen, dass es uns gegenwärtig nicht hinreichend gelingt Faktoren zuverlässig zu identifizieren, die die Ergebnisse von Belastungsstudien verfälschen oder beeinflussen. Bei der hier untersuchten Menge von Sportlern und Sportlerinnen waren aufgrund der geringen Fallzahl erwartete Ergebnisse nicht nachweisbar oder gerade nicht signifikant. Es wäre somit wünschenswert die geschlechterspezifische HSP-Antwort in größeren Studien zu beobachten um genauere Daten zu diesem Thema zu erlangen.

5. Zusammenfassung

Zusammenfassend lässt sich wie schon in vorangegangenen Studien ein Zusammenhang zwischen der Expression von intrazellulären Hitzeschockproteinen und einer körperlichen Belastung darstellen. Es war in dieser Versuchsreihe außerdem gelungen zu zeigen, dass der weibliche Zyklus mit seinen komplexen hormonellen Regulationsmechanismen ebenfalls als Einflussgröße auf dem Weg zum genaueren Verständnis der Zellantwort auf (Hitze-) Stress zu werten ist.

Versuchsziel war es die sportliche Belastungsreaktion besonders der genannten Hitzeschockproteine des Körpers anhand geschlechts- und zyklusspezifischen Untersuchungsbedingungen zu untersuchen. Eine Besonderheit stellte hierbei die gezielte Belastung von Männern *und* Frauen in beiden Zyklusphasen dar.

Belastet wurden insgesamt 26 Probanden von denen drei Frauen aufgrund einer nachgewiesenen Corpus luteum-Insuffizienz ausgeschlossen werden mussten. Es zeigten sich Anstiege des HSP 70 bei Frauen in der F-Phase und Männer während Frauen in der L-Phase keinen Anstieg zeigten. Beim HSP 27 wiederum ergab sich eine signifikante Veränderung bei Frauen in der L-Phase wohingegen Männer und Frauen in der F-Phase keine Reaktion zeigten. Bei der Hämoxygenase-1 verhielt es sich ähnlich. Nur Frauen in der L-Phase zeigten einen Anstieg der Hämoxygenase-1 auf Belastung.

Anhand diese Ergebnisse lässt sich bisher nur interpretieren, dass der Reaktionskreis der Hitzeschockproteine wesentlich weiter zu fassen ist und zukünftig durch weitere Studien interessante Ergebnisse und ein weiteres Verständnis von Immunreaktionen zu erwarten ist. Denkbar wäre in diesem Zusammenhang eine zukünftige Form der (z.B. medikamentösen) Therapie im Sinne einer Stärkung der Abwehr von entarteten Zellen oder zur Therapie einer Immunschwäche bei Sepsis, Trauma und kritischen Erkrankungen. Auch Aussagen zu geschlechterspezifischen Fragen der Immunmodulation bei verschiedenen Erkrankungen lassen sich möglicherweise treffen.

Interessant, wenn auch nicht wissenschaftlich war die übereinstimmende Aussage der belasteten Frauen, dass die körperliche Belastung in der zweiten Zyklushälfte (L-Phase) als subjektiv anstrengender empfunden wurde. Hieraus lässt sich zwar keine höhere Stressantwort ableiten, doch ist sie ein Indiz für eine eventuell höher „Stressbelastung“. So wäre es vielleicht auch möglich Trainingsmodi zu finden, die Frauen optimal auf sportliche Wettkämpfe vorbereiten.

6. Anhang

Mittelwertstabellen HSP/HO:

	Lymphozyten 27											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	2.014	1.096	48.742	23.854	1.619	0.87	41.522	14.949	1.718	0.802	33.733	12.461
0	1.966	0.949	44.658	20.735	1.604	0.529	38.556	14.079	1.944	0.685	26.328	17.039
3	2.478	2.665	47.175	16.931	1.664	0.556	42.02	22.778	1.253	0.349	37.489	18.432
24	1.878	0.956	46.436	25.878	1.785	0.524	33.456	23.981	1.173	0.426	57.356	15.308

Tabelle 23. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Lymphozyten 27 zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

	Monozyten 27											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	5.873	4.498	74.108	21.373	4.713	2.868	70.489	25.238	4.826	4.16	68.633	20.875
0	4.863	1.917	79.767	19.815	4.44	2.38	73.956	19.943	4.611	2.457	65.693	26.016
3	5.482	2.658	74.658	21.024	4.714	1.928	67.6	19.815	3.638	2.501	69.056	19.521
24	5.560	3.041	70.767	27.045	5.987	2.785	54.9	29.926	4.804	3.755	77.411	15.519

Tabelle 24. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Monozyten 27 zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

	Lymphozyten 70											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	0.969	0.257	37.622	23.881	1.216	0.454	30.528	25.086	1.191	0.429	22.943	20.273
0	0.968	0.243	36.532	16.262	1.261	0.431	28.236	25.575	1.267	0.577	24.414	21.079
3	1.107	0.465	37.646	24.394	1.376	0.623	34.357	28.642	1.155	0.438	23.132	20.552
24	1.078	0.174	42.645	12.251	1.466	0.529	28.812	29.415	0.887	0.256	36.644	23.423

Tabelle 25. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Lymphozyten 70 zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

	Monozyten 70											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	3.413	1.416	69.425	33.019	3.29	1.219	69.678	27.834	3.083	1.155	66.233	28.858
0	3.252	1.256	75.6	24.292	3.051	1.132	70.778	27.152	3.063	1.464	66.344	28.428
3	4.168	1.923	73.55	26.61	3.544	1.242	74.222	21.318	3.046	1.568	66.444	28.659
24	4.384	1.291	82.427	13.561	5.169	2.955	63.256	27.506	2.938	1.25	81	11.373

Tabelle 26. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Monozyten 70 zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

	Lymphozyten Hämoxygenase											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	1	0.28	36.133	20.92	1.167	0.331	39.4	16.127	1.112	0.305	28.856	15.671
0	1.017	0.239	38.369	24.29	1.207	0.33	37.583	18.475	1.131	0.478	21.902	13.476
3	1.061	0.437	27.355	19.016	1.218	0.498	33.431	19.118	1.045	0.285	23.009	20.764
24	1.129	0.187	41.663	16.227	1.375	0.558	21.251	20.993	0.878	0.197	46.267	18.494

Tabelle 27. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Lymphozyten Hämoxygenase zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

	Monozyten Hämoxygenase											
	Männer				Frauen-F				Frauen-L			
	FL-INT		%		FL-INT		%		FL-INT		%	
	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	4.308	2.173	65.381	30.199	4.253	2.039	58.456	26.291	3.639	1.425	59.389	56.653
0	3.328	1.03	70.692	20.302	3.56	1.526	64.9	23.42	3.452	2.052	26.601	27.397
3	3.899	1.461	66.017	20.876	3.401	0.846	58.378	19.033	2.911	0.98	59.389	56.653
24	3.945	0.615	72.682	16.536	5.32	2.346	50.189	19.354	3.058	1.006	26.601	27.397

Tabelle 28. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Monozyten Hämoxygenase zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase für Fluoreszenzintensität (FL-INT) und Prozentanteil positiver Zellen (%)

Mittelwertstabellen Hormone/Blutbild:

	Leukozyten					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	5.237	1.127	6.238	1.721	6.666	1.62
0	7.055	1.93	7.987	1.918	8.531	2.04
3	8.427	1.849	9.551	1.437	10.226	1.885
24	5.435	1.145	6.412	2.293	6.943	2.031

Tabelle 29. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Leukozyten zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Neutrophile					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	52.933	6.689	51.667	4.213	54.644	7.212
0	62.508	8.956	61.256	6.627	66.289	6.295
3	73.675	6.533	71.633	3.14	72.022	3.767
24	54.367	10.546	53.289	7.527	54.244	7.076

Tabelle 30. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Neutrophile zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Eosinophile					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	3.708	1.877	3.311	1.267	3.344	1.03
0	2.225	1.443	2.089	0.621	2.178	0.774
3	1.058	0.581	1.356	0.816	1.1	0.466
24	3.683	2.167	3.278	1.264	3.218	1.066

Tabelle 31. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Eosinophile zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Basophile					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	0.642	0.281	0.7	0.3	0.644	0.181
0	0.65	0.321	0.611	0.232	0.578	0.282
3	0.383	0.134	0.411	0.22	0.444	0.124
24	0.692	0.254	0.7	0.328	0.656	0.305

Tabelle 32. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Basophile zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Lymphozyten					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	33.908	6.465	36.022	4.712	57.622	24.467
0	26.692	8.068	29	6.146	70.436	6.233
3	18.483	5.32	20.633	2.702	57.622	24.467
24	32.483	9.562	34.456	6.036	70.436	6.233

Tabelle 33. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Lymphozyten zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Monozyten					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	6.458	1.303	5.678	1.089	5.856	4.956
0	6.017	1.408	4.911	0.943	1.682	0.995
3	4.983	1.144	4.711	0.992	5.856	4.956
24	6.333	1.034	5.789	2.076	1.682	0.995

Tabelle 34. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) der Monozyten zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Hämoglobin					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	15.675	1.077	13.522	0.902	13.178	0.692
0	15.733	1.152	13.633	1.127	13.556	0.879
3	15.025	0.866	13.233	0.814	13	0.798
24	15.267	1.259	13.144	0.831	12.8	0.8

Tabelle 35. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Hämoglobin zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Erythrozyten					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	5.078	0.33	4.574	0.291	4.479	4.571
0	5.083	0.323	4.596	0.367	0.289	0.298
3	4.868	0.289	4.441	0.263	4.479	4.571
24	4.921	0.296	4.411	0.237	0.289	0.298

Tabelle 36. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Erythrozyten zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Hämatokrit					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	44.3	2.763	39.756	2.19	38.967	2.057
0	43.725	2.59	39.611	2.771	39.544	2.362
3	42	2.309	38.533	2.04	38.211	2.087
24	43.075	3.155	38.367	1.715	37.356	2.255

Tabelle 37. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Hämatokrit zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Creatinkinase					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	320.917	362.41	179.444	115.835	163.889	126.746
0	387.75	441.746	217.111	132.243	198.111	135.962
3	398.417	482.761	230.333	127.266	206.444	142.44
24	357.417	449.941	240.667	119.438	201.889	133.466

Tabelle 38. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Creatinkinase zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Myoglobin					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	64.167	51.954	36.667	5	34.444	65.556
0	122.5	135.588	64.444	25.055	11.304	24.037
3	123.333	157.326	57.778	22.791	34.444	65.556
24	53.333	18.257	42.222	12.019	11.304	24.037

Tabelle 39. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Myoglobin zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Fettsäuren					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	53.333	18.257	413.222	168.252	342	168.953
0	1,276.25	392.269	1,203.89	513.379	1,154.44	556.9
3	329.667	253.829	209.444	132.4	186	61.67
24	281.583	142.473	322.111	436.01	331.889	356.399

Tabelle 40. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Fettsäuren zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Cortisol					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	22.289	5.456	18.623	5.842	18.642	3.407
0	24.742	8.332	18.637	7.645	19.19	6.937
3	12.322	3.763	10.316	2.224	9.488	2.548
24	21.521	3.734	18.282	3.902	17.323	2.265

Tabelle 41. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Cortisol zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Somatotropes Hormon					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	1.125	1.796	4.101	5.049	6.18	9.641
0	13.663	8.199	8.466	9.187	7.423	5.704
3	0.103	0.089	0.672	1.07	2.493	4.445
24	0.352	1.046	1.697	2.298	2.331	3.128

Tabelle 42. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) des somatotropen Hormons zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase.

	Insulin like growth factor					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	172.6	45.865	228.556	43.767	246.111	58.872
0	175.2	46.423	225.333	41.575	281.556	104.483
3	166.5	41.457	228.556	44.36	241.556	57.938
24	174.25	32.96	211.889	35.589	228.444	55.148

Tabelle 43. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Insulin like growth Faktor zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Adrenalin					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	5.733	3.635	4.756	0.623	4.378	0.62
0	7.396	5.199	4.644	0.662	5.844	5.312
3	5.925	3.18	4.578	0.466	4.6	0.583
24	11.442	19.65	5	1.05	4.844	0.9

Tabelle 44. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Adrenalin zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Noradrenalin					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	31.875	12.109	30.9	9.525	33.467	10.162
0	72.517	23.167	56.344	20.777	63.022	28.023
3	40.317	18.523	46.067	16.506	50.667	17.919
24	41.217	13.146	36.378	13.149	37	10.482

Tabelle 45. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Noradrenalin zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

Mittelwertstabellen Burst/Phago:

	Phago-M					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	63.748	24.028	71.633	12.934	70.022	22.748
0	54.395	27.114	77.389	10.323	79.511	11.333
3	66.665	22.176	59.3	24.959	74.311	22.126
24	67.775	26.053	69.375	20.568	72.144	11.194

Tabelle 46. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Phago M zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Phago M-mfc					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	8.135	3.784	7.471	1.982	6.299	1.997
0	6.804	2.811	7.46	1.789	6.789	1.638
3	7.136	2.937	7.052	2.067	7.021	3.129
24	6.765	1.728	7.136	2.518	6.246	2.005

Tabelle 47. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Phago M mfc zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Phago G					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	92.075	7.246	91.556	5.176	85.867	19.611
0	89.064	10.785	94.478	2.028	89.6	9.691
3	89.758	6.274	87.356	10.365	91.567	5.091
24	89.175	14.813	89.675	9.808	93.089	4.441

Tabelle 48. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Phago G zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Phago G- mfc					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	12.976	3.8	10.996	2.014	10.726	1.617
0	11.863	2.903	12.391	3.002	10.006	1.692
3	11.27	2.518	10.986	3.025	10.957	3.055
24	13.342	3.635	11.834	5.156	10.177	2.366

Tabelle 49. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Phago G mfc zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Burst M					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	48.221	28.154	48.167	21.552	54.233	13.513
0	63.767	29.652	60.022	26.012	67.612	18.519
3	60.08	28.182	61.5	21.143	60.111	11.878
24	58.7	24.714	48.233	14.985	54.733	19.318

Tabelle 50. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Burst M zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Burst M-mfc					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	2.865	1.126	2.627	0.85	2.166	0.787
0	2.589	0.964	2.348	0.506	2.607	0.826
3	3.01	1.189	2.502	0.77	2.342	0.808
24	3.184	1.048	2.236	0.828	2.399	0.876

Tabelle 51. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Burst M mfc zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Burst G					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	90.755	9.218	90	8.929	93.789	91.662
0	94.283	6.345	91.156	9.89	3.445	6.365
3	90.05	17.748	90.511	9.181	93.789	91.662
24	86.89	25.729	80.849	30.334	3.445	6.365

Tabelle 52. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Burst G zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

	Burst G mfc					
	Männer		Frauen-F		Frauen-L	
	M	STD	M	STD	M	STD
Pre	6.65	1.98	6.392	2.137	6.376	1.72
0	6.048	1.894	5.252	1.178	5.6	2.045
3	7.016	2.718	6.341	2.029	6.256	3.748
24	6.902	2.669	5.273	1.741	5.596	2.354

Tabelle 53. Mittelwerte (M) und Standardabweichung (STD) von Burst G mfc zu den verschiedenen Messzeitpunkten (pre, 0, 3, 24) getrennt für Männer und Frauen in der F-Phase und Frauen in der L-Phase

7. Literaturverzeichnis

1. Abellan, R., Ventura, R., Pichini, S. Pascual, J.A., Pacifici, R., Di Carlo, S., Bacosi, A., Segura, J., Zuccaro, P. (2006). Effect of physical fitness and endurance exercise on indirect biomarkers of recombinant growth hormone misuse: insulin-like growth factor I and procollagen type III peptide. *Int J Sports Med*, 27, 976-83.
2. Abraham, N. G., Lin J. H., Schwartzman, M. L., Levere, R. D., Shibahara, S. (1988). The physiological significance of heme oxygenase. *Int J Biochem* 20, 543-558.
3. Arrigo, A. P., Welch, W. J. (1987). Characterization and purification of the small 28,000-dalton mammalian heat shock protein. *J Biol Chem*, 262(32), 15359-15369.
4. Asea, A., Kraeft, S. K., Kurt-Jones, E. A., Stevenson, M. A., Chen, L. B., Finberg, R. W., et al. (2000). HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat Med*, 6(4), 435-442.
5. Ashton, T., Rowlands, C. C., Jones, E., Young, I. S., Jackson, S. K., Davies, B., et al. (1998). Electron spin resonance spectroscopic detection of oxygen-centred radicals in human serum following exhaustive exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 77(6), 498-502.
6. Brenner, I. K., Shek, P. N., Shephard, R. J. (1994). Infection in athletes. *Sports Med*, 17(2), 86-107.
7. Cannon, J. G., St Pierre, B. A. (1997). Gender differences in host defense mechanisms. *J Psychiatr Res*, 31(1), 99-113.
8. Ciocca, D.R., Oesterreich, S., Chamness, G.C., McGuire, W.L., Fuqua, S.A. (1993). Biological and clinical implications of heat shock protein 27,000 (Hsp27): a review. *J Natl Cancer Inst*, 85, 1558-1570
9. Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. et al. (2004). *Innere Medizin*, 5. Auflage, Urban und Fischer-Verlag, München.
10. De Souza, M. J., Van Heest, J., Demers, L. M., and Lasley, B. L. (2003). Luteal phase deficiency in recreational runners: evidence for a hypometabolic state. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 337-346.
11. Dickhuth, H.-H., Mayer, F., Röcker, K., Berg, A. (Hrsg.) (2010). *Sportmedizin für Ärzte*. (2. überarbeitete Auflage) Dt. Ärzte-Verl., Köln.

- 12.** Doshi, M.B., Hightower, L.E., Lee, J (2009). The role of Hsp27 and actin in the regulation of movement in human cancer cells responding to heat shock. *Cell Stress Chaperones*.14(5), 445-57.
- 13.** Essig, D. A., Borger, D. R., Jackson, D. A. (1997). Induction of heme oxygenase-1 (HSP32) mRNA in skeletal muscle following contractions. *Am J Physiol*, 272(1 Pt 1), C59-67.
- 14.** Fehrenbach, E. (2007). Multifarious microarray-based gene expression patterns in response to exercise. *J Appl Physiol*, 102(1), 7-8.
- 15.** Fehrenbach, E., Niess, A. M. (1999). Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev*, 5, 57-77.
- 16.** Fehrenbach, E., Niess, A. M., Passek, F., Sorichter, S., Schwirtz, A., Berg, A., et al. (2003). Influence of different types of exercise on the expression of haem oxygenase-1 in leukocytes. *J Sports Sci*, 21(5), 383-389.
- 17.** Fehrenbach, E., Niess, A. M., Schlotz, E., Passek, F., Dickhuth, H. H., Northoff, H. (2000). Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *J Appl Physiol*, 89(2), 704-710.
- 18.** Fehrenbach, E., Niess, A. M., Veith, R., Dickhuth, H. H., Northoff, H. (2001). Changes of HSP72-expression in leukocytes are associated with adaptation to exercise under conditions of high environmental temperature. *J Leukoc Biol*, 69(5), 747-754.
- 19.** Fehrenbach, E., Schneider, M. E. (2006). Trauma-induced systemic inflammatory response versus exercise-induced immunomodulatory effects. *Sports Med*, 36(5), 373-384.
- 20.** Fehrenbach, E., Veith, R., Schmidt, M., Dickhuth, H-H., Northoff, H., Niess, A. M. (2003). Inverse response of leukocyte heat shock protein and DNA damage to exercise and heat. *Free Radic Res*, 37, 975-982.
- 21.** Gabriel, H., Muller, H. J., Urhausen, A., Kindermann, W. (1994). Suppressed PMA-induced oxidative burst and unimpaired phagocytosis of circulating granulocytes one week after a long endurance exercise. *Int J Sports Med*, 15(7), 441-445.
- 22.** Garrido, C., Bruey, J. M., Fromentin, A., Hammann, A., Arrigo, A. P., Solary, E. (1999). HSP27 inhibits cytochrome c-dependent activation of procaspase-9. *FASEB J*, 13(14), 2061-2070.
- 23.** Giraldo, E., Martin-Cordero, L., Garcia, J. J., Gehrman, M., Multhoff, G., Ortega, E. (2010). Exercise-induced extracellular 72kDa heat shock protein (HSP 72) stimulates neutrophil phagocytic and fungicidal capacities via TLR-2. *Eur J Appl Physiol* 108, 217-225.

- 24.** Hinchado, M., Giraldo, E., Ortega, E. (2012). Adrenoreceptors are Involved in the Stimulation of Neutrophils by Exercise-Induced Circulating Concentrations of Hsp72: cAMP as a Potential "Intracellular Danger Signal". *J Cell Physiol*, 227, 604-608.
- 25.** Hoffman-Goetz, L., Fietsch, C. L., McCutcheon, D., Duerrstein, L. (2001). Effect of 17beta-estradiol and voluntary exercise on lymphocyte apoptosis in mice. *Physiol Behav*, 74(4-5), 653-658.
- 26.** Hoffman-Goetz, L., Quadriatero, J. (2003). Treadmill exercise in mice increases intestinal lymphocyte loss via apoptosis. *Acta Physiol Scand*, 179(3), 289-297.
- 27.** Hollmann, W., Strüder, H. K. (2009). *Sportmedizin: Grundlagen von körperlicher Aktivität, Training und Prävention*. (5. neubearb. u. erw. Aufl.) Schattauer Verlag, Stuttgart.
- 28.** Javid, B., MacAry, P. A., Lehner, P. J. (2007). Structure and Function: Heat Shock Proteins and Adaptive Immunity. *J Immunol*, 179, 2035 -2040.
- 29.** Jezova, D., Radikova, Z., Vidas, M. (2007). Growth hormone response to different consecutive stress stimuli in healthy men: Is there any difference? *Stress* 10, 205-211.
- 30.** Kregel, K. C. (2002). Heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. *J Appl Physiol*. 92 (5), 2177-2186.
- 31.** Martin, W. H., III. (1996). Effects of acute and chronic exercise on fat metabolism. *Exerc Sport Sci Rev*. 24, 203-231.
- 32.** Mayer, M. P., Bukau, B. (2005). Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell Mol Life Sci*, 62(6), 670-684.
- 33.** McCarty, D. A., Dale, M. M. (1988). The leukocytosis of exercise. A review and model. *Sports Med*. 6, 333-363.
- 34.** Mehlen, P., Kretz-Remy, C., Preville, X., Arrigo, A. P. (1996). Human hsp27, Drosophila hsp27 and human alphaB-crystallin expression-mediated increase in glutathione is essential for the protective activity of these proteins against TNFalpha-induced cell death. *EMBO J*, 15(11), 2695-2706.
- 35.** Nebe, T., Bentzien, F., Bruegel, M., Fiedler, G. M., Gutensohn K., Heimpel, H., Krebs, N., Ossendorf, M., Schuff-Werner, P., Stamminger G., Baum, H. (2011). Multizentrische Ermittlung von Referenzbereichen für Parameter des maschinellen Blutbildes. *Laboratoriumsmedizin*, 35(1), 3-28.

- 36.** Nieman, D. C. (1994). Exercise, upper respiratory tract infection, and the immune system. *Med Sci Sports Exerc*, 26(2), 128-139.
- 37.** Nieman, D. C., Nehlsen-Cannarella, S. L. (1991). The effects of acute and chronic exercise of immunoglobulins. *Sports Med*, 11(3), 183-201.
- 38.** Niess A. M., Dickhuth H.-H., Northoff, H, Fehrenbach, E. (1999) Free radicals and oxidative stress in exercise--immunological aspects. *Exerc Immunol Rev*, (5), 22-56.
- 39.** Niess, A. M., Passek, F., Lorenz, I., Schneider, E. M., Dickhuth, H. H., Northoff, H., et al. (1999). Expression of the antioxidant stress protein heme oxygenase-1 (HO-1) in human leukocytes. *Free Radic Biol Med*, 26(1-2), 184-192.
- 40.** Niess, A.M., Veihelmann, S., Passek, F., Roecker, K., Dickhuth, H.-H., Northoff, H., Fehrenbach, E. (1997). Belastungsinduzierter oxidativer Stress: DNA-Schäden und Expression von Stressproteinen in Leukozyten –Eine Übersicht. *Dtsche. Z. Sportmed*, (9), 330-341.
- 41.** Northoff, H., Enkel, S., Weinstock, C., (1995). Exercise, injury and immune function. *Exercise Immunol Rev*, 1, 1-25.
- 42.** Northoff, H., Symons, S., Zieker, D., Schaible, E. V., Schafer, K., Thoma, S., et al. (2008). Gender- and menstrual phase dependent regulation of inflammatory gene expression in response to aerobic exercise. *Exerc Immunol Rev*, 14, 86-103.
- 43.** Northoff, H., Weinstock, C., Berg, A. (1994). The cytokine response to strenuous exercise. *Int J Sports Med*, 15 Suppl 3, 167-171.
- 44.** Okinaga, S., Takahashi, K., Takeda, K., Yoshizawa, M., Fujita, H., Sasaki, H., et al. (1996). Regulation of human heme oxygenase-1 gene expression under thermal stress. *Blood*, 87(12), 5074-5084.
- 45.** Pedersen, BK and Hoffman-Goetz, L. (2000). Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. *Physiol Rev*, 80; 1055-1081.
- 46.** Peronnet F, Cleroux J, Perrault H et al. (1985). Plasma norepinephrine, epinephrine, and dopamine beta-hydroxylase activity during exercise in man. *Med Sci Sports Exerc*, 7, 683-688.
- 47.** Peronnet F, Cleroux J, Perrault H, Cousineau D, de Champlain J, Nadeau R. (1981). Plasma norepinephrine response to exercise before and after training in humans. *J Appl Physiol*, 51(4), 812-815.
- 48.** Rost, R. (Hrsg.) (2001). *Lehrbuch der Sportmedizin*, Dt. Ärzte-Verl., Köln.

- 49.** Scharhag, J. (2004). Die Belastungsleukozytose. *Dtsch Z Sportmed*, 55(2), 57-58.
- 50.** Schlesiger, M. J. (1990). Heat shock proteins. *J Biol Chem* 265(21), 12111-12114. Review.
- 51.** Shephard, R. J. (2001). Sepsis and mechanisms of inflammatory response: is exercise a good model? *Br J Sports Med*, 35(4), 223-230.
- 52.** Shephard, R. J., Fitcher, R. (1997). Physical activity and cancer: how may protection be maximized? *Crit Rev Oncog*, 8(2-3), 219-272.
- 53.** Shibahara, S., Sato, M., Muller, R. M., Yoshida, T. (1989). Structural organization of the human heme oxygenase gene and the function of its promoter. *Eur J Biochem*, 179(3), 557-563.
- 54.** Tremblay, M. S., Copeland, J. L., Van Helder, W. (2004). Effect of training status and exercise mode on endogenous steroid hormones in men. *J Appl Physiol*, 96, 531-539.
- 55.** Tenhunen, R., Marver, H. S., Schmid, R. (1970). The enzymatic catabolism of hemoglobin: stimulation of microsomal heme oxygenase by hemin. *J Lab Clin Med*, 75(3), 410-421.
- 56.** Torstveit, M. K. and Sundgot-Borgen, J. (2005). Participation in leanness sports but not training volume is associated with menstrual dysfunction: a national survey of 1276 elite athletes and controls. *Br J Sports Med*, 39, 141-147.
- 57.** Tvede, N., Heilmann, C., Halkjaer-Kristensen, J., Pedersen, BK. (1989). Mechanisms of B-lymphocyte suppression induced by acute physical exercise. *J Clin Lab Immunol*, 30(4), 169-173.
- 58.** Walsh, N. P., Gleeson, M., Shephard, R. J., Gleeson, M., Woods, J. A., Bishop, N. C., Fleshner, M., Green, C., Pedersen, B. K., Hoffman-Goetz, L., Rogers, C. J., Northoff, H., Abbasi, A., Simon, P. (2011). Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol Rev*, 17, 6-63.
- 59.** Walsh, R. C., Koukoulas, I., Garnham, A., Moseley, P. L., Hargreaves, M., Febbraio, M. A. (2001). Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell Stress Chaperones*, 6(4), 386-393.

8. Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
AIMS	Softwareprogramm zur Ermittlung der Laktatkurve (Eigenentwicklung der Universitätsambulanzen für Sportmedizin Freiburg und Tübingen)
AT	anaerobic threshold
ATP	Adenosintriphosphat
BMI	Body Mass Index
CI	confidence intervall
CK	Creatinkinase
CLI	Corpus luteum Insuffizienz
df	Degrees of freedom (Freiheitsgrade)
dl	Deziliter
DNase	Desoxyribonuklease
DNA	deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
F	follikuläre Phase des weiblichen Zyklus
f	Funktion der Steigung
FACS	Fluorescence-Activated-Cell-Sorter
Fe ²⁺	zweiwertiges Eisen
FITC	Fluorescein-Iso-Thio-Cyanat
FSH	follikel-stimulierendes Hormon
g	Gravitationskonstante
GH	growth hormone
h	Stunde
HO-1	Hämoxygenase-1
HSP 27	heat shock protein 27
IAS	individuelle anaerobe Schwelle
Ig	Immunglobulin
IGF-1	insulin like growth factor-1
IL	Interleukin

k	Kilo
kD	Kilo-Dalton
kg	Kilogramm
L	luteale Phase des weiblichen Zyklus
l	Liter
LH	luteinisierendes Hormon
LT	lactate threshold (Laktatschwelle)
M	Mol
m ²	Quadratmeter
Max	Maximum
mfc	mean fluorescent channel (Fluoreszenzintensität)
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol
Min	Minimum
min	Minute
ml	Milliliter
mM	Millimol/-ar
mmol	milli-mol/-ar
mRNA	messenger ribonucleic acid
n	numerus (lat. = Zahl, Anzahl)
ng	Nanogramm
O ₂	Sauerstoff
p	mathematische Wahrscheinlichkeitsangabe
PBMC	peripheral blood mononuclear cell (mononukleäre Zelle)
PBS-Puffer	Phosphate buffered saline buffer
PCR	polymerase chain reaction
pH	pondus/potentia Hydrogenii (lat.: Gewicht/Kraft des Wasserstoffs)
pO ₂	Sauerstoffpartialdruck
RNA/RNS	Ribonucleinacid/-säure
ROS	freie Sauerstoffradikale (reaktives Sauerstoffderivat)

rpm	rounds per minute
STH	somatotropes Hormon
t	time
TNF α	Tumorenekrosefaktor alpha
T-Zellen	Thymus-abhängige Zellen
U	Units
VO ₂	Sauerstoffaufnahme
VO ₂ max	maximale Sauerstoffaufnahme

9. Publikation

Fehrenbach, E., Steiner, K., Schaible, E., Hauth, M., Lehmann, R., Simon, P., Niess, A. M., Northoff, H. (2007) Gender Dimorphism of the HSP70 Response to Exercise in Human Blood. *Med Sci.Sports Exerc*, 39(5 Suppl): 60.

11. Danksagung

Mein großer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. Elvira Fehrenbach, die leider viel zu früh im Oktober 2008 verstarb. Ihr verdanke ich die Heranführung an diese Arbeit, die sie mit großer Freundlichkeit und Nachdruck leitete.

Weiterhin herzlich danken möchte ich Herrn Professor Hinnak Northoff, dafür, dass er den Platz von Frau Dr. Fehrenbach übernahm und mich mit viel Engagement zur Vollendung dieser Arbeit gebracht hat.

Ferner danke ich Frau Dr. med. Eva Schaible und Herrn Dr. med. Heinrich Griesemann für eine tolle und freundschaftliche Zusammenarbeit und Laborzeit. Außerdem Frau Melanie Hauth und dem gesamten Team des Blutspendelabors für eine beispiellose Unterstützung. Außerdem danke ich allen Teilnehmern der Studie für Ihre Ausdauer und Ihren Einsatz.

Dann danke ich von Herzen meiner gesamten Familie, besonders meinen Eltern Frau Reinhild Müller-Steiner und Herrn Gotthilf Steiner, dass sie mich immer unterstützen und für mich da sind.

Zuletzt danke ich meiner geliebten Frau Corinna für Ihre unendlich große Hilfe und Unterstützung, ohne die diese Dissertation heute nicht fertig wäre.

12. Lebenslauf

Kristoffer Jonathan Steiner, geboren am 28. Januar 1981 in Stuttgart

Schulausbildung	1987- 1989	Grundschule Gaiberg
	1989- 1991	Grundschule Mössingen
	1991- 2000	Quenstedt-Gymnasium Mössingen, Abitur
Zivildienst	07/00- 05/01	Universitätsklinikum Tübingen
Studium	08/01- 06/02	Sprachstudium Schwedisch, Universität Eskilstuna, Schweden, Tisus-Examen
Studium Medizin	10/02	Modellstudiengang POL, Universität Hamburg
	09/05	Physikum
	06/09	2. Staatsexamen am 02. und 03.06.2009
Famulaturen	03/04	Kardiologie, Marienhospital Stuttgart
	08/04	Anästhesie und Intensivmedizin, Mälarsjukhuset, Eskilstuna, Schweden
	03/05	Sportmedizin, Universität Tübingen
	09/06	Pädiatrie, Universitätsklinik Reykjavik, Island
	09/07	Radiologie, Praxis Eppendorfer Baum, Hamburg
Dissertation	04/05	Die geschlechts- und zyklusabhängige Expression der Hitzeschockproteine 70, 27 und der Hämoxygenase unter Ausdauerbelastung bei definierter Laufeinheit. Sportmedizin und Transfusionsmedizin, Universität Tübingen
Praktisches Jahr	02- 06/08	Innere Medizin, Spital Davos, Schweiz
	06- 08/08	Kinderchirurgie, Inselspital Bern, Schweiz
	08- 10/08	Allgemeinchirurgie, Östersund sjukhus, Schweden
	10/08- 01/09	Pädiatrie, Universitätsklinikum Eppendorf
Berufserfahrung	02/07- 08/09	Deutschen Stiftung für Organtransplantation, Studentischer Mitarbeiter
	09/08- 03/10	Assistenzarzt in der Kinderkernklinik, UKE
	Seit 04/10	Assistenzarzt in Kinderkardiologie, UHZ
Fremdsprachen		Englisch und Schwedisch fließend, Französisch Grundkenntnisse

Hamburg, den 31.10.2012