

Aus der
Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung V, Sportmedizin
Leistungsmedizin, spezielle Prävention, spezielle Rehabilitation

**Dynamik zirkulierender Metabolitenkonzentrationen in
Antwort auf körperliches Training und deren
prognostisches Potenzial für individuelle
Trainingsanpassungsreaktionen**

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

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

vorgelegt von

Dick, Laura

2026

Dekanin: Professorin Dr. S.Y. Brucker

1. Berichterstatter: Professorin Dr. B. Munz
2. Berichterstatter: Professorin Dr. K. Klingel

Tag der Disputation: 27.03.2026

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	I
TABELLENVERZEICHNIS	IV
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	V
1 EINLEITUNG	1
1.1 FORSCHUNGSGEGENSTAND UND RELEVANZ	1
1.2 WISSENSCHAFTLICHER HINTERGRUND	3
1.2.1 <i>Trainingsphysiologie</i>	3
1.2.1.1 Energiegewinnung der Skelettmuskulatur	3
1.2.1.2 Trainingsadaptation	8
1.2.2 <i>Metabolomics-Analysen</i>	13
1.2.2.1 Begriffserklärung und Einsatzmöglichkeiten	13
1.2.2.2 Ablauf einer Metabolomics-Studie	16
1.2.2.3 Bisheriger Wissensstand	18
2 FRAGESTELLUNG UND ZIELSETZUNG	22
3 MATERIAL UND METHODEN	24
3.1 STUDIENDESIGN	25
3.1.1 <i>iReAct-Studie</i>	25
3.1.2 <i>MultiPill-Exercise-Studie</i>	26
3.2 TRAININGSPROGRAMME	29
3.2.1 <i>iReAct-Studie</i>	29
3.2.2 <i>MultiPill-Exercise-Studie</i>	32
3.3 PHYSIOLOGISCHE UND ANTHROPOMETRISCHE DATEN DER TEILNEHMENDEN	34
3.3.1 <i>iReAct-Studie</i>	34
3.3.2 <i>MultiPill-Exercise-Studie</i>	35
3.4 DIAGNOSTIK	36
3.4.1 <i>iReAct-Studie</i>	36
3.4.2 <i>MultiPill-Exercise-Studie</i>	39
3.4.3 <i>Analytik der Metaboliten</i>	40
3.5 STATISTISCHE METHODEN	43
4 ERGEBNISSE	44
4.1 <i>BASELINE</i> -METABOLITENKONZENTRATIONEN	45

4.1.1 Überblick über die baseline-Metabolitenkonzentrationen.....	45
4.1.2 Geschlechterunterschiede bei den baseline-Metabolitenkonzentrationen ..	49
4.2 VERÄNDERUNGEN DER METABOLITENKONZENTRATIONEN WÄHREND DES TRAININGS.....	55
4.2.1 Allgemeine Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen während des Trainings.....	55
4.2.2 Vergleich der Zeitpunkte t0 und t1.....	63
4.2.3 Vergleich der Zeitpunkte t0 und t2.....	65
4.2.4 Vergleich der Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2.....	69
4.3 KORRELATION ZWISCHEN METABOLITENKONZENTRATIONEN UND TRAININGSINDUZIERTEN ANPASSUNGSREAKTIONEN	72
4.3.1 Korrelation zwischen den baseline-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2max$	72
4.3.2 Korrelation zwischen $\Delta[Metabolit]$ und $\Delta\dot{V}O_2max$	75
4.4 VERGLEICH DER METABOLITENKONZENTRATIONEN ZWISCHEN iReAct- UND MULTIPILL-EXERCISE-PROBANDINNEN.....	78
4.4.1. Deskriptiver Vergleich der Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen	78
4.4.2 Vergleich der baseline-Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen	80
4.4.3 Vergleich der t12-Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen ...	82
5 DISKUSSION	89
5.1 DISKUSSION DER METABOLOMICS-ANALYSE	90
5.1.1 Bewertung und Vergleich der baseline-Metabolitenkonzentrationen mit Literaturdaten.....	90
5.1.2 Bewertung und Vergleich der trainingsinduzierten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen mit Literaturdaten	94
5.1.3 Bewertung der Korrelationsanalysen	102
5.1.4 Bewertung der Vergleichsanalysen zwischen iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen	109
5.2 DISKUSSION METHODISCHER ASPEKTE.....	116
5.2.1 Limitationen bei Durchführung und Auswertung der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie.....	116
5.2.2 Bewertung der $\Delta\dot{V}O_2max$ als Marker der ausdauerbasierten Trainingsadaptation.....	121
5.2.3 Limitationen und Potenzial von Metabolomics-Studien	124
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	130
9 LITERATURVERZEICHNIS	134
10 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL	141
11 DANKSAGUNG	142

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Überblick über die Art der Energiebereitstellung in Abhängigkeit der Belastungsdauer.....	7
Abbildung 2: Anpassungserscheinungen des menschlichen Körpers an Ausdauertraining.	9
Abbildung 3: Ablauf einer Metabolomics-Studie.....	17
Abbildung 4: Ablauf der iReAct-Studie.	26
Abbildung 5: Ablauf der MultiPill-Exercise-Studie.....	28
Abbildung 6: Grafische Darstellung der Trainingsinterventionen MICT und HIIT.....	30
Abbildung 7: Blutlaktatkurve eines repräsentativen Teilnehmenden während des Stufentests.....	32
Abbildung 8: ProbandInnen sortiert nach Geschlecht und Trainingszuweisung zu den Diagnostikzeitpunkten t0, t1 und t2.	39
Abbildung 9: Übersicht über den strukturellen Aufbau der (Acyl-)Carnitine.	46
Abbildung 10: Freies Carnitin und Gesamtcarnitin zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.	51
Abbildung 11: kurzkettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.....	52
Abbildung 12: mittelkettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.....	53
Abbildung 13: langkettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.....	54
Abbildung 14: Durchschnittliche Konzentrationen der Aminosäuren [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.	58
Abbildung 15: Durchschnittliche Konzentrationen des freies Carnitins und des Gesamtcarnitins [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.....	59
Abbildung 16: Durchschnittliche Konzentrationen der kurzkettigen Acylcarnitine [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.	60

Abbildung 17: Durchschnittliche Konzentrationen der mittelkettigen Acylcarnitine [$\mu\text{mol/l}$] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.....	61
Abbildung 18: Durchschnittliche Konzentrationen der langkettigen Acylcarnitine [$\mu\text{mol/l}$] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.....	62
Abbildung 19: Metabolite mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t1.	64
Abbildung 20: Aminosäuren und deren Abbauprodukte mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.....	66
Abbildung 21: Kurzkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.....	67
Abbildung 22: Mittelkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.....	68
Abbildung 23: Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2.....	71
Abbildung 24: Ergebnis der Korrelationsanalyse des Metaboliten $\Delta[\text{C2}]$ und $\Delta\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{max}}$.....	77
Abbildung 25: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t0.	81
Abbildung 26: Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t0.	82
Abbildung 27: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.	84
Abbildung 28: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.	85
Abbildung 29: Kurzkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.	86

Abbildung 30: Mittelkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12. 87

Abbildung 31: Langkettige Acylcarnitin C14-u und Gesamtcarnitin mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12..... 88

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über die anthropometrischen und physiologischen Daten der Teilnehmenden der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie.....	34
Tabelle 2: Überblick über die deskriptive Statistik der ausgewerteten Metaboliten zum Zeitpunkt t0 (Zahl der ProbandInnen n=13)	48
Tabelle 3: Überblick über die deskriptive Statistik aller Metaboliten im zeitlichen Verlauf	56
Tabelle 4: Überblick über die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen den <i>baseline</i> -Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$	74
Tabelle 5: Überblick über die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen $\Delta[\text{Metabolit}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$	76
Tabelle 6: Überblick über die deskriptive Statistik der Metabolitenkonzentrationen bei den iReAct- und den MultiPill-Exercise-ProbandInnen im zeitlichen Verlauf	79

Abkürzungsverzeichnis

AC	<i>Acylcarnitin</i>
ATP	<i>Adenosintriphosphat</i>
BCAA	<i>verzweigtkettige Aminosäuren</i>
BIA	<i>bioelektrische Impedanzanalyse</i>
BMI	<i>Body-Mass-Index</i>
Co	<i>freies Carnitin</i>
CE	<i>Kapillarelektrophorese</i>
CE-MS	<i>Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie</i>
CID	<i>kollisionsinduzierte Dissoziation</i>
Cit	<i>Citrullin</i>
CK	<i>Kreatinkinase</i>
CoA	<i>Coenzym A</i>
Cr	<i>Kreatin</i>
CVD	<i>kardiovaskuläre Erkrankungen</i>
CxGes	<i>Gesamtcarnitin</i>
DMT2	<i>Diabetes Mellitus Typ 2</i>
EKG	<i>Elektrokardiogramm</i>
FU	<i>follow-up-Diagnostik</i>
GC-MS	<i>Gaschromatographie-Massenspektrometrie</i>
GDRS	<i>German Diabetes Risk Score</i>
HIIT	<i>Hoch-Intensitäts Interval Training</i>
HR _{max}	<i>maximalen Herzfrequenz</i>
ICF	<i>internationale Klassifikation von Funktionsfähigkeit, Behinderung und Gesundheit</i>	
Ile	<i>Isoleucin</i>
IQR	<i>Interquartilsabstand</i>
IR	<i>iReAct -Studie</i>
iReAct	<i>individual response to physical activity</i>
LC-MS	<i>Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie</i>
Leu	<i>Leucin</i>

LT ₁	<i>erste Laktatschwelle</i>
LT ₂	<i>zweite Laktatschwelle</i>
LTP ₁	<i>individuelle anaerobe Schwelle</i>
m/z.....	<i>Masse-zu-Ladungs-Verhältnis</i>
MB.....	<i>Metabolite</i>
Met.....	<i>Methionin</i>
MICT.....	<i>kontinuierliches Training mittlerer Intensität</i>
MP.....	<i>MultiPill-Exercise-Studie</i>
MS.....	<i>Massenspektrometrie</i>
MW.....	<i>Mittelwert</i>
NMR.....	<i>Kernresonanzspektroskopie</i>
PCr.....	<i>Kreatinphosphat</i>
PDH.....	<i>Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes</i>
Phe.....	<i>Phenylalanin</i>
RER.....	<i>respiratorischer Quotient</i>
SAC.....	<i>Succinylaceton</i>
SD.....	<i>Standardabweichung</i>
Tyr.....	<i>Tyrosin</i>
Val.....	<i>Valin</i>
$\dot{V}O_2\text{max}$	<i>maximale Sauerstoffaufnahme</i>
$\dot{V}O_2\text{peak}$	<i>Sauerstoffaufnahme Peak</i>
WHO.....	<i>Weltgesundheitsorganisation</i>
Xle.....	<i>Summe von Leucin und Isoleucin</i>
$\Delta[\text{MB}]$	<i>Veränderung der Metabolitkonzentrationen</i>
$\Delta\dot{V}O_2\text{max}$	<i>Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme</i>

1 Einleitung

1.1 Forschungsgegenstand und Relevanz

Diese Dissertation widmet sich der systematischen Analyse der Reaktionen und dynamischen Veränderungen des menschlichen Metaboloms im Verlauf sportlicher Trainingsphasen. Ziel ist es, die Wechselwirkungen zwischen körperlichem Training, metabolischen Veränderungen und daraus resultierender Leistungsentwicklung sowohl bei gesunden Personen als auch bei Individuen mit chronischen Erkrankungen umfassend zu untersuchen.

Das Forschungsfeld der Metabolomik hat in den letzten Jahren erheblich an Aufmerksamkeit gewonnen, da es einen unmittelbaren Einblick in biochemische Prozesse des Körpers ermöglicht. Dennoch steht die Anwendung im sportwissenschaftlichen Kontext noch am Anfang. Bestehende Arbeiten sind oft durch kleine Stichproben, heterogene Studiendesigns und schwer vergleichbare Ergebnisse limitiert. Eine belastbare Evidenzbasis, die eine klare Bewertung des Potenzials metabolomischer Marker für Training, Leistungsentwicklung und Gesundheit erlaubt, fehlt bislang (Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022).

Die Bedeutung dieser Forschung reicht weit über die klassische Sportwissenschaft hinaus und berührt grundlegende Fragen der Humanphysiologie, Prävention und Gesundheitsförderung. Metabolomics stellt ein hochsensibles Analyseinstrument dar, mit dem sich komplexe physiologische Zustände nahezu in Echtzeit und mit hoher Auflösung erfassen lassen. Dadurch wird es möglich, molekulare Veränderungen abzubilden, die durch Training, Ernährung oder Regeneration hervorgerufen werden, lange bevor sie auf klinischer oder leistungsdiagnostischer Ebene sichtbar werden. Auf dieser Basis eröffnet sich das Potenzial, Trainings- und Regenerationsprozesse deutlich präziser zu steuern, Überlastungen frühzeitig zu erkennen und individuelle Anpassungsprozesse nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ messbar zu machen. Zudem kann die metabolomische Analyse zur langfristigen Förderung der Gesundheit beitragen, indem sie Risikofaktoren für Verletzungen oder chronische Belastungssyndrome identifiziert und so präventive Strategien

unterstützt (Johnson and Gonzalez, 2012; Bongiovanni *et al.*, 2019; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Khoramipour *et al.*, 2022). Trotz dieses erheblichen Potenzials sind metabolomische Verfahren bislang kaum in den sportwissenschaftlichen oder klinischen Alltag integriert. Die Gründe hierfür liegen weniger in einer unzureichenden Relevanz oder fehlender Praktikabilität, sondern vielmehr im Mangel an robusten wissenschaftlichen Grundlagen, standardisierten Protokollen und validierten Anwendungsstrategien. Erst durch systematische Forschung und methodische Weiterentwicklung kann die Übersetzung metabolomischer Daten in praxisrelevante Handlungsempfehlungen gelingen (Contrepolis *et al.*, 2020; Khoramipour *et al.*, 2022).

Die vorliegende Arbeit adressiert damit eine zentrale Forschungslücke. In den folgenden Kapiteln wird systematisch aufgezeigt, wie die Analyse metabolomischer Profile neue Einsichten in trainingsinduzierte Anpassungsprozesse ermöglicht, welche methodischen Herausforderungen dabei bestehen und welche Perspektiven sich daraus für Forschung, sportpraktische Anwendung und die Förderung der Gesundheit ergeben. Auf diese Weise leistet die Dissertation einen substantiellen Beitrag zur Weiterentwicklung der Trainingswissenschaft und trägt zugleich dazu bei, Metabolomics als vielversprechendes Instrument sowohl in der sportwissenschaftlichen als auch in der klinischen Forschung und Praxis zu etablieren.

1.2 Wissenschaftlicher Hintergrund

Die nachfolgenden Kapitel dienen der Darstellung der physiologisch-biochemischen Grundlagen dieser Arbeit. Zunächst werden die physiologischen Mechanismen der muskulären Energiegewinnung erläutert, wobei insbesondere auf die beteiligten metabolischen Pfade, deren Regulation sowie deren Bedeutung unter Belastungsbedingungen eingegangen wird. Anschließend werden die durch Sport hervorgerufenen adaptiven Anpassungsreaktionen in der Skelettmuskulatur behandelt. Dabei stehen sowohl strukturelle als auch funktionelle Anpassungsprozesse im Vordergrund, die durch wiederholte physische Beanspruchung ausgelöst werden und längerfristig zu einer verbesserten Leistungsfähigkeit führen. Auf dieser physiologisch-biochemischen Grundlage wird das interdisziplinäre Forschungsfeld der Metabolomik sowie der aktuelle Wissensstand über die in dieser Arbeit untersuchten Metabolite erläutert.

1.2.1 Trainingsphysiologie

Um die trainingsphysiologischen Prozesse sowie die Entstehung und Metabolisierung der in dieser Arbeit behandelten Stoffwechselprodukte besser zu verstehen, werden in folgenden Abschnitten zunächst die grundlegenden Prozesse der Energiegewinnung der Skelettmuskulatur beschrieben. Anschließend werden die unterschiedlichen trainingsinduzierten Anpassungsprozesse in der Skelettmuskulatur erläutert.

1.2.1.1 Energiegewinnung der Skelettmuskulatur

Um die Kontraktionsfähigkeit der Skelettmuskulatur aufrechtzuerhalten, benötigt sie eine ständige Energieversorgung. Diese Energie wird im Körper hauptsächlich durch den oxidativen Abbau von Adenosintriphosphat (ATP) bereitgestellt. ATP spielt eine entscheidende Rolle, insbesondere bei ATP-abhängigen Membrantransportprozessen und der Querbrückenbildung zwischen Aktin- und Myosin-Filamenten (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Egan and Zierath, 2013; Hargreaves and Spriet, 2020). Die intrazellulären ATP-Reserven sind jedoch sehr gering (5-6mM) und unter Belastung schnell erschöpft, sodass

andere Stoffwechselwege zur Energiegewinnung aktiviert werden müssen (Westerblad, Bruton and Katz, 2010).

Die Energiegewinnung der Skelettmuskulatur erfolgt dabei hauptsächlich über zwei primäre Stoffwechselwege, die sich hinsichtlich ihrer Sauerstoffabhängigkeit, Geschwindigkeit und Effizienz unterscheiden. Die Stoffwechselwege werden dabei in eine aerobe und anaerobe Energiegewinnung unterschieden. Die aerobe Energiegewinnung kennzeichnet sich durch den Verbrauch von Sauerstoff und stellt die effizienteste Methode der Energiegewinnung dar. Die Synthese von ATP findet bei der aeroben Energiegewinnung hauptsächlich in den Mitochondrien statt, wo Kohlenhydrate und Lipide oxidiert werden. Dabei werden zunächst Kohlenhydrate, insbesondere Muskelglykogen und extrazelluläre Glukose, durch den Prozess der Glykolyse in Pyruvat umgewandelt. Anschließend wird bei ausreichender Sauerstoffversorgung das Pyruvat in den Mitochondrien im Citratzyklus weiterverarbeitet (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Hargreaves and Spriet, 2020). Bei diesem Prozess entstehen Kohlenstoffdioxid (CO_2), Wasser (H_2O) und eine beachtliche Menge an ATP, wobei theoretisch aus einem Glucosemolekül 30 bis 32 ATP-Moleküle metabolisiert werden können (via medici, 2025).

Neben Kohlenhydraten können auch Fette in den Mitochondrien durch den Vorgang der β -Oxidation abgebaut werden. Die Fette stammen dabei vor allem von Triglyceriden des Muskel- und Fettgewebes und werden in Form von freien Fettsäuren für die Metabolisierung freigegeben (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Hargreaves and Spriet, 2020). Um in die Mitochondrien zu gelangen, müssen die freien Fettsäuren zunächst durch Veresterung mit freiem Coenzym A (CoA) zu Acyl-CoA aktiviert. Danach wird die Acylgruppe auf L-Carnitin übertragen. Die so entstandenen Acylcarnitine können dann über den Carnitin-*Shuttle* durch die Mitochondrienmembran transportiert werden. In den Mitochondrien wird die Acylgruppe wieder auf das CoA übertragen, so dass das entstehende Acyl-CoA anschließend in den Citratzyklus eingeschleust werden kann. Acylcarnitine spielen somit eine wichtige Rolle als Transportform der Lipide im Rahmen der Energiegewinnung (Dambrova *et al.*, 2022). Die Verfügbarkeit von Carnitin ist entscheidend für die Syntheserate der Acylcarnitine und hat somit einen großen Einfluss auf die Konzentration der Acylcarnitine im Plasma sowie

auf den Fettstoffwechsel (Liepinsh *et al.*, 2015). Insgesamt ergibt die aerobe Metabolisierung von Fettsäuren (Lipolyse) die größte Energieausbeute, stellt jedoch im Vergleich zu den anderen Stoffwechselwegen die langsamste Form der Energiegewinnung dar (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Hargreaves and Spriet, 2020). Insgesamt wird die ATP-Produktion der Lipolyse mit $7n-6$ ATP-Molekülen pro Acylcarnitin angegeben. Dabei steht die Zahl n für die Anzahl der Kohlenstoffatome in der Acylgruppe (Dambrova *et al.*, 2022).

Neben Fetten und Kohlenhydraten können bei längerer Belastung und im Hungerzustand auch Aminosäuren aus dem Abbau von Muskelproteinen zur Energiegewinnung herangezogen werden. Besonders die verzweigtkettigen Aminosäuren (*branched chain amino acids*, BCAA) Valin, Leucin und Isoleucin sind in der Lage durch Oxidation mit dem α -Ketosäure-Dehydrogenase-Komplex Energie bereitzustellen. Dabei liefern sie die Aminogruppen und Kohlenstoffgerüste, die für die Synthese der Citratzyklus-Zwischenprodukte Glutamin und Alanin benötigt werden. Leucin und ein Teil des Isoleucinmoleküls können sogar durch Transaminierung und Decarboxylierung vollständig in Acetyl-CoA umgewandelt werden, was ebenfalls einen kleinen Teil zur Energiegewinnung beiträgt. Dennoch ist der Beitrag dieser Substrate zur Energieproduktion im Vergleich zu Kohlenhydraten und Lipiden eher gering (Egan and Zierath, 2013; Joannis *et al.*, 2022).

Im Gegensatz zur aeroben Energiegewinnung steht der anaerobe Stoffwechselweg, bei dem kein Sauerstoff zur Energiebereitstellung benötigt wird. Die Energiereserven der Muskelzellen werden mittels schnellen Stoffwechselwegen kurzfristig aufrechterhalten. Dabei findet die ATP-Produktion nicht wie bei der aeroben Energiegewinnung im Mitochondrium statt, sondern direkt im Zytoplasma der Muskelzellen. Die ATP-Synthese findet somit in unmittelbarer Nähe zu den Orten des ATP-Verbrauchs, wie den Aktin-Myosin-Filamenten und den ATP-abhängigen Transportern wie den Calcium-, Natrium- und Kalium-ATPase, statt (Spriet, 2022). Den wichtigsten anaeroben Stoffwechselweg stellt die Verstoffwechslung von Kreatinphosphat (PCr) dar. Dabei wird das im Muskelgewebe gespeicherte PCr durch die Kreatinkinase (CK) in einer Reaktion mit ADP zu Kreatin (Cr) und ATP umgesetzt. Die Metabolisierung von PCr ist der schnellste Weg zur ATP-Gewinnung. Diese kann

jedoch durch die begrenzte Menge an PCr nur für eine kurze Dauer aufrechterhalten werden.

Bei intensiver Belastung und sobald die PCr-Reserven erschöpft sind, erfolgt die ATP-Produktion durch den Abbau von Muskelglykogen. Dabei wird Glukose durch die anaerobe Glykolyse zu Pyruvat abgebaut. Bei einer unzureichenden Sauerstoffversorgung wird das Pyruvat jedoch nicht wie bei der aeroben Glykolyse in den Citratzyklus eingeschleust, sondern direkt in Laktat umgewandelt. Der Prozess der anaeroben Glykolyse läuft deutlich schneller ab als der oxidative Abbau des Glykogens, liefert jedoch im Gegenzug auch weniger Energie (zwei ATP-Moleküle pro Glukose). Des Weiteren kann es bei einer hohen Laktatproduktion zu einer Übersäuerung des Muskels kommen, das wiederum die Leistungsfähigkeit einschränkt (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Hargreaves and Spriet, 2020).

Beide Stoffwechselwege arbeiten in der Muskulatur eng zusammen und ergänzen sich je nach Art, Dauer und Intensität der Belastung. Darüber hinaus ist die Energiebereitstellung auch vom Trainingszustand, Geschlecht, Alter, Ernährung und Umweltfaktoren (Egan and Zierath, 2013; Hargreaves and Spriet, 2020) sowie von metabolischen Faktoren wie enzymatischen Kapazitäten und Substratlieferungsraten abhängig (Egan and Zierath, 2013). Dennoch gilt die anaerobe Energiebereitstellung als besonders geeignet für kurzzeitige, hochintensive Belastungen, bei denen eine schnelle Energiebereitstellung essenziell ist. Bei intensiven Belastungen erfolgt die Energiebereitstellung zunächst über den Abbau von Phosphatverbindungen wie ATP und PCr. Dies geschieht innerhalb von Millisekunden. Danach liefert bei weiterer intensiver Belastung die anaerobe Glykolyse unter Laktatbildung die notwendige Energie. Bei länger andauernden Belastungen findet die ATP-Produktion vorzugsweise über die aerobe Glykolyse statt. Bei sehr lang andauernden Belastungen mit niedrigerer Intensität dominiert jedoch die Fettoxidation als Hauptenergielieferant (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Hargreaves and Spriet, 2020; Mandler, 2021).

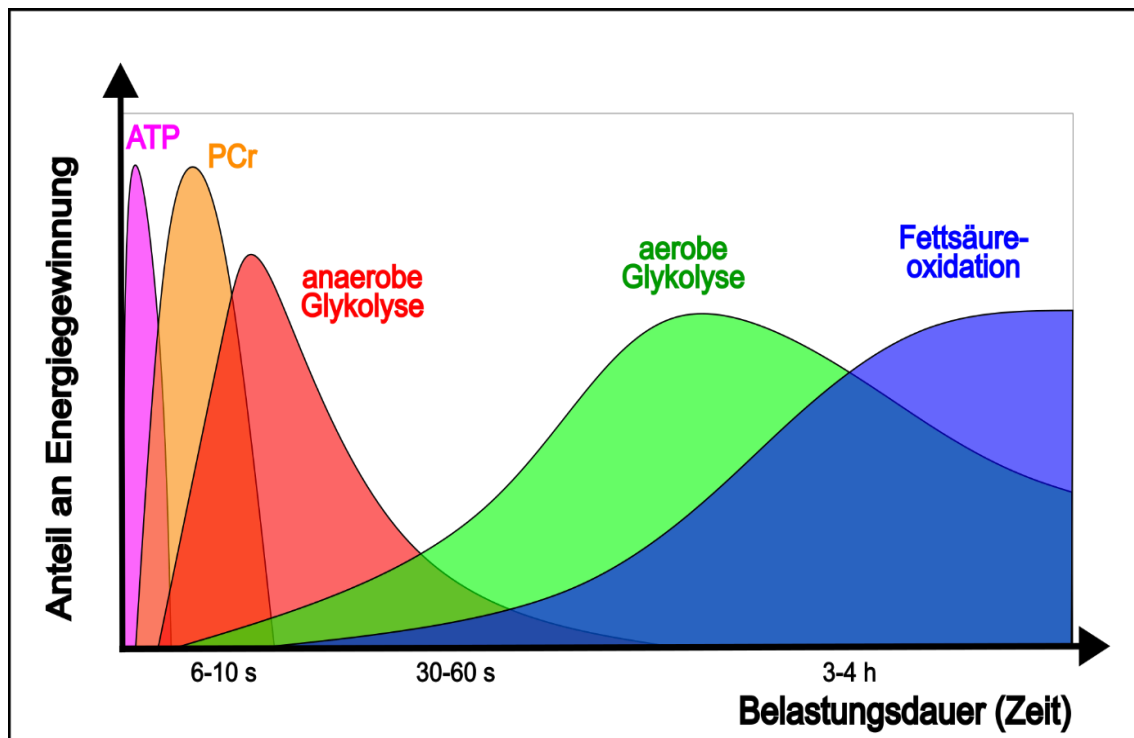


Abbildung 1: Überblick über die Art der Energiebereitstellung in Abhängigkeit der Belastungsdauer

Die Abbildung zeigt den Verlauf der anteiligen Energiegewinnung aus verschiedenen Energiesystemen in Abhängigkeit von der Belastungsdauer. Zu Beginn einer körperlichen Belastung dominiert die sofortige Bereitstellung von Energie durch phosphathaltige Verbindungen wie ATP und PCr, gefolgt von der anaeroben Glykolyse als vorherrschendem Energielieferanten bei kurzfristiger, intensiver Belastung. Mit zunehmender Dauer nimmt die Bedeutung der aeroben Glykolyse zu, während bei längerer Belastung die Fettsäureoxidation als Hauptquelle der Energiegewinnung dominiert. ATP: Adenosintriphosphat, PCr: Kreatinphosphat, s: Sekunden, h: Stunden [eigene Darstellung in Anlehnung an Mendler, 2021]

Abbildung 1 gibt einen Überblick über die Art der Energiebereitstellung in Abhängigkeit von der Belastungsdauer. Es muss jedoch betont werden, dass es immer zu einem Zusammenspiel aller Stoffwechselwege kommt. Dies ist für die vielfältigen Anforderungen der Muskelarbeit unerlässlich und stellt eine effiziente Anpassung an unterschiedliche Belastungssituationen dar. So findet auch zu Beginn einer moderaten Ausdauerbelastung zunächst eine anaerobe Energiebereitstellung statt, um den Zeitraum der verzögerten aeroben Energiebereitstellung, welcher dadurch entsteht, dass die Anpassung von Atmung und Herz-Kreislaufsystem relativ träge ist, zu überbrücken (Hargreaves and Spriet, 2020).

1.2.1.2 Trainingsadaptation

Im sportphysiologischen Kontext wird Training als eine Serie wiederholter Übungseinheiten definiert, die über einen Zeitraum von wenigen Tagen bis hin zu mehreren Jahren durchgeführt werden (MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Das primäre Ziel besteht darin, die funktionelle Leistungsfähigkeit des Körpers zu verbessern und die Fähigkeit zur Bewältigung von Ermüdungsreaktionen zu optimieren (Hargreaves and Spriet, 2020; MacInnis, Egan and Gibala, 2022). In Reaktion auf einen Trainingsreiz treten im menschlichen Organismus vielfältige Anpassungsprozesse auf, deren Komplexität weiterhin Gegenstand intensiver wissenschaftlicher Untersuchungen ist. Die Art und Ausprägung dieser Anpassungen sind maßgeblich von der spezifischen Ausführung der Übungen, der Intensität und Dauer der einzelnen Trainingseinheiten sowie der Gesamtdauer des Trainingsprogramms abhängig. Dabei interagieren zahlreiche physiologische Systeme miteinander, was das Verständnis der ganzheitlichen Reaktionen auf Training erheblich erschwert.

Auf zellulärer Ebene bewirkt Training die Aktivierung oder Hemmung verschiedener intrazellulärer Signaltransduktionswege, prä- und posttranskriptioneller Prozesse sowie der Regulation der Proteintranslation und -stabilität. Zudem finden epigenetische Veränderungen statt, die darauf abzielen, den Sauerstofftransport sowie den Substratstoffwechsel im gesamten Organismus zu optimieren. Diese Anpassungsreaktionen manifestieren sich in veränderten Substratverwertungswegen und im mitochondrialen Metabolismus, wobei insbesondere die Protein- und Enzymaktivität im Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel gesteigert wird. Darüber hinaus beeinflusst Training die neurohumorale Kontrolle, das Säure-Basen-Gleichgewicht sowie die Thermoregulation. Ein weiterer bedeutender Effekt ist die Förderung der Angiogenese und Kapillarbildung, was die Sauerstoffzufuhr zu den Mitochondrien verbessert und somit die metabolische Flexibilität erhöht (Egan and Zierath, 2013; MacInnis, Egan and Gibala, 2022).

Die Einteilung von Trainingsprogrammen erfolgt in drei primäre Bereiche: Ausdauertraining, Krafttraining und Sprinttraining. Obwohl in den nachfolgenden Kapiteln die spezifischen Anpassungserscheinungen für jeden dieser Bereiche separat dargestellt werden, ist es von zentraler Bedeutung zu betonen, dass die Trainingsadaptation stets als ein komplexes und integriertes System betrachtet

werden muss. Es treten kontinuierlich vielfältige Reaktionen im Organismus auf, die miteinander interagieren und sich gegenseitig beeinflussen. Diese simultanen und vernetzten Prozesse führen dazu, dass die Anpassungsreaktionen nicht auf einzelne, isolierte Veränderungen reduziert werden können, sondern vielmehr als ein dynamisches Zusammenspiel verschiedener physiologischer, molekularer und zellulärer Mechanismen zu verstehen sind (MacInnis, Egan and Gibala, 2022).

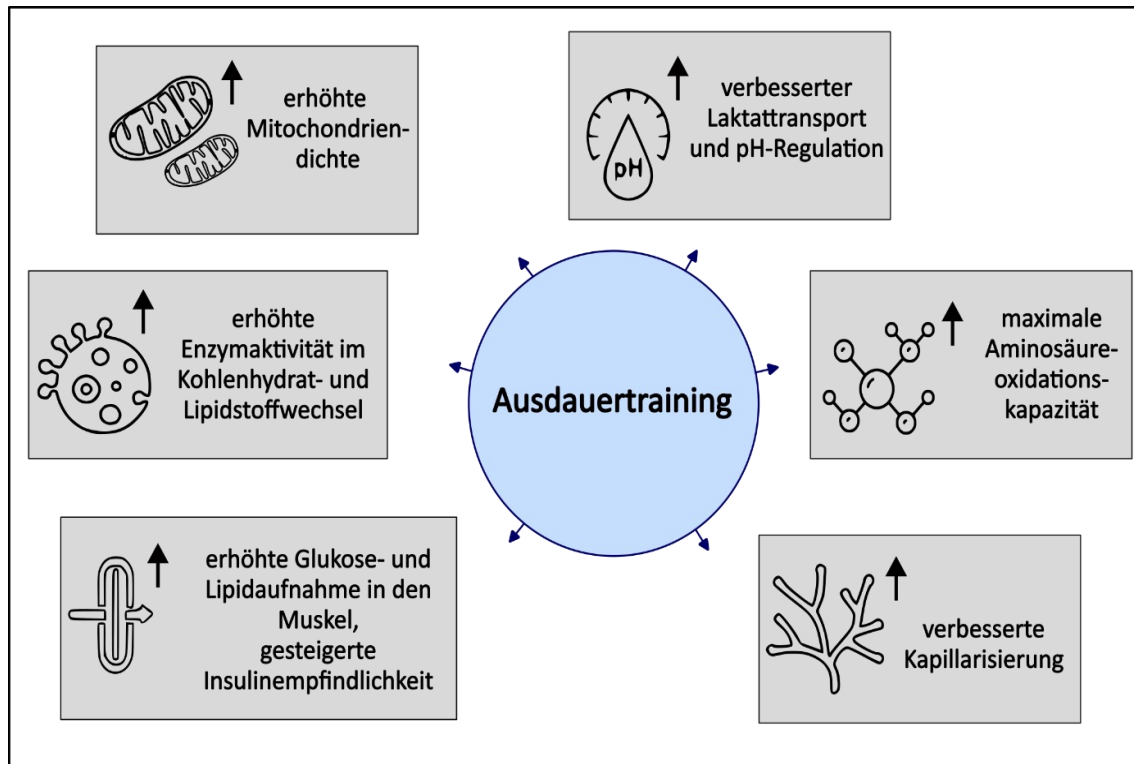


Abbildung 2: Anpassungserscheinungen des menschlichen Körpers an Ausdauertraining.

Die Abbildung zeigt eine Darstellung der zentralen physiologischen Anpassungsreaktionen des menschlichen Körpers an Ausdauertraining. Zu den wichtigsten Effekten zählen eine Zunahme der Mitochondriendichte und -aktivität, sowie einer verbesserten Glukose-, Aminosäure- und Fettstoffwechselkapazität, was zu einer verbesserten aeroben Energiebereitstellung führt. Des Weiteren kommt es zu einer gesteigerten Kapillardichte und einer verbesserten pH-Regulation. Diese Veränderungen führen zu einer erhöhten Ermüdungsresistenz und verbesserten Leistungsfähigkeit bei ausdauernder Belastung. [eigene Darstellung]

Die Anpassungserscheinungen des Körpers an Ausdauertraining gelten als die am besten untersuchten Phänomene im Bereich der Trainingsadaptation. Diese werden von Abbildung 2 zusammengefasst. Ausdauertraining kann entweder durch kontinuierliche moderate Belastung oder durch Intervalltraining

durchgeführt werden (MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Dabei beeinflusst es eine Vielzahl von Aspekten des Energiestoffwechsels in der Skelettmuskulatur positiv.

Insbesondere führt es zu einer Erhöhung sowohl der Qualität als auch der Quantität der Mitochondrien im Muskelgewebe, was eine gesteigerte oxidative Kapazität sowie eine erhöhte Belastungstoleranz zur Folge hat (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Huffman *et al.*, 2014). Studien haben gezeigt, dass die Mitochondrien-Dichte in der Skelettmuskulatur bei Ausdauertrainierten um 50 bis 100 % ansteigen kann (Egan and Zierath, 2013). Dieser Effekt ist auf komplexe, trainingsinduzierte Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Enzymen wie Kinasen, Phosphatasen, Acetylasen und Deacetylasen sowie Transkriptionsfaktoren und Co-Aktivatoren zurückzuführen, die die Genexpression durch Modifikation ihrer Aktivität regulieren. Es kommt zu einer erhöhten Expression von Genen, die die Stoffwechselaktivität der Mitochondrien fördern.

Darüber hinaus führt Ausdauertraining zu einer erhöhten maximalen Aktivität von Enzymkomplexen, die am Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel beteiligt sind. Insbesondere erfolgt im trainierten Zustand ein „Substratwechsel“, bei dem die Nutzung von Lipiden gegenüber Kohlenhydraten bei gleicher Belastungsintensität bevorzugt wird (MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Dieser Wechsel in der Substratverwertung bewirkt, dass bei längerer Belastung durch den erhöhten Fettstoffwechsel die Glykogenspeicher im Muskel besser erhalten bleiben (Westerblad, Bruton and Katz, 2010). Weiterhin postulieren MacInnis, Egan und Gibala, 2022, dass durch einen reduzierten glykolytischen Fluss die Konzentrationen an freiem Carnitin besser aufrechterhalten werden, wodurch mehr Substrate für den mitochondrialen Lipidtransport zur Verfügung stehen. Zudem steigert Ausdauertraining die Insulinempfindlichkeit sowie die maximale Aufnahmefähigkeit für Glucose und Lipide in die Skelettmuskulatur, indem es die Expression von Genen erhöht, die für Transportproteinen für Glucose und freie Fettsäuren kodieren. Ebenso stimuliert es die Expression der Gene von Membranproteinen, die für den Laktattransport und die pH-Regulation verantwortlich sind, was die Ermüdungsresistenz und die Leistungsfähigkeit verbessert. Darüber hinaus fördert Ausdauertraining die maximale Kapazität der Aminosäureoxidation, wobei jedoch zu betonen ist, dass die Verstoffwechslung

von Aminosäuren zur Energiegewinnung bei den meisten Trainingsformen eine untergeordnete Rolle spielt (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Schließlich stimuliert Ausdauertraining die Angiogenese und Kapillarbildung, was zu einer verbesserten Sauerstoffzufuhr zu den Mitochondrien sowie zur Optimierung der oxidativen Stoffwechselwege führt (Westerblad, Bruton and Katz, 2010). Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Ausdauertraining durch die Zunahme von Form und Funktion der Mitochondrien sowie deren oxidativer Kapazität eine schnellere und effizientere aerobe Energiegewinnung vorzugsweise mittels Lipidoxidation ermöglicht (MacInnis, Egan and Gibala, 2022).

Im Gegensatz zu den Adaptationsmechanismen des Ausdauertrainings sind die durch Krafttraining induzierten physiologischen Veränderungen primär durch hypertrophiebezogene Prozesse charakterisiert. Im Zentrum des Krafttrainings stehen Übungen, bei denen externe Widerstände überwunden werden müssen. Diese können sowohl unter Einsatz des eigenen Körpergewichts als auch unter Zuhilfenahme von Trainingsgeräten oder freien Gewichten durchgeführt werden. Die Trainingsgestaltung im Krafttraining variiert dabei je nach Zielsetzung: Entweder erfolgt das Training mit hohen Lasten in der Nähe der individuellen Maximalkraft bei einer geringen Wiederholungszahl oder mit vergleichsweise geringeren Widerständen (etwa 30 % der Maximalkraft) bei einer höheren Wiederholungsanzahl. Zentrale physiologische Anpassung des Krafttrainings ist eine Zunahme des Muskelquerschnitts, die im Wesentlichen auf eine erhöhte Muskelproteinsynthese zurückgeführt werden kann (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Diese Zunahme der Faserdimensionen sowie die erhöhte Anzahl paralleler Myofibrillen innerhalb der Muskelfasern tragen wesentlich zur Steigerung der maximalen Kraftleistung bei (Westerblad, Bruton and Katz, 2010).

Im Gegensatz zum Ausdauertraining beeinflusst Krafttraining in der Regel nicht signifikant die Mitochondriendichte. Die Datenlage zu den Auswirkungen von Krafttraining auf Transportproteine, Enzymaktivitäten sowie Substratutilisation ist in der wissenschaftlichen Literatur heterogen, sodass keine eindeutigen Schlussfolgerungen gezogen werden können (Westerblad, Bruton and Katz, 2010; Egan and Zierath, 2013; Joannis *et al.*, 2022; MacInnis, Egan and Gibala, 2022). Es wird jedoch vermutet, dass eine erhöhte Kapazität der anaeroben

Energiegewinnung durch eine Zunahme verschiedener Metaboliten wie ATP, PCr sowie intramuskulärer Glykogen- und Triglyzeridvorräte besteht, um den erhöhten Energiebedarf bei intensiven Kraftbelastungen zu decken. Somit greift Krafttraining primär in die Optimierung der anaeroben Energiegewinnung ein, während Ausdauertraining vermehrt die Prozesse der aeroben Energiegewinnung beeinflusst.

Darüber hinaus scheinen neuronale Adaptationsprozesse eine zentrale Rolle bei den Reaktionen auf Krafttraining zu spielen. Verbesserte neuronale Vernetzung sowie eine effizientere Synchronisation der Aktivierung der Muskelfasern tragen dazu bei, die Kraftleistung zu steigern und sind bei Kraftsportlern vermehrt nachweisbar (MacInnis, Egan and Gibala, 2022).

Während Krafttraining somit primär zu hypertrophen und neuronalen Anpassungen führt, zeigt Sprinttraining eine Kombination von Anpassungserscheinungen, die sowohl denen des Krafttrainings als auch denen des Ausdauertrainings ähneln. Sprinttraining umfasst dabei eine Vielzahl von Trainingsformen, die durch kurze, hochintensive Belastungsintervalle gekennzeichnet sind. Der Schwerpunkt liegt dabei auf kurzen Sprints mit hoher Belastung, wobei Umfang, Dauer der Belastungsphasen sowie die Erholungsintervalle nicht einheitlich festgelegt sind. Auf molekularer Ebene aktiviert Sprinttraining Signalwege, die mit der mitochondrialen Biogenese in Verbindung stehen, was zu einer erhöhten oxidativen Stoffwechselaktivität führt. Darüber hinaus werden erhöhte Enzymkapazitäten und Substratkonzentrationen beobachtet, die die aerobe Glykolyse und Lipolyse unterstützen. Ein Beispiel hierfür ist die erhöhte Aktivität des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes (PDH), eines Enzyms der aeroben Glykolyse, das eine zentrale Rolle beim oxidativen Abbau von Kohlenhydraten ohne Laktatbildung spielt. Außerdem kommt es zu einer Zunahme von Membranproteinen, die für die Regulation des Laktat- und Ionenhaushalts verantwortlich sind, wodurch die Kapazität der anaeroben Glykolyse optimiert wird. Neben einer effizienteren anaeroben Energiebereitstellung fördert Sprinttraining, ähnlich wie Krafttraining, eine leichte Muskelhypertrophie. Dies äußert sich in einer erhöhten Muskelproteinsynthese und fördert den Umsatz von Aminosäuren und Proteinen (MacInnis, Egan and Gibala, 2022).

Abschließend lässt sich feststellen, dass die Art, Dauer und Intensität des Trainings entscheidend die Vielfalt der daraus resultierenden Adaptationsprozesse beeinflussen. Die Komplexität der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen sind jedoch bislang nur unvollständig verstanden und beschrieben, wodurch die Analyse trainingsinduzierter Veränderungen und Anpassungserscheinungen weiterhin ein zentrales Forschungsfeld darstellt. Aufgrund der Komplexität des Gesamtprozesses der Anpassung bieten sich hierfür umfassende, sogenannte „*Omics*“-Ansätze – wie Proteomik, Transkriptomik, Genomik, Metabolomik, Lipidomik und Epigenomik an (Micheel *et al.*, 2012). Im Rahmen dieser Arbeit liegt der Schwerpunkt auf der Untersuchung der trainingsinduzierten Veränderungen von Stoffwechselintermediaten („*Metabolomics*“).

1.2.2 Metabolomics-Analysen

Die nachfolgenden Kapitel bieten zunächst eine knappe Begriffserklärung sowie eine Übersicht über die vielfältigen Anwendungsfelder von *Metabolomics*-Untersuchungen. Im Anschluss wird der systematische Ablauf einer *Metabolomics*-Studie ausführlich dargestellt. Abschließend erfolgt eine Zusammenfassung des aktuellen Forschungsstandes in diesem Fachgebiet, wobei der Fokus auf die für diese Arbeit relevanten Aspekte gelegt wird.

1.2.2.1 Begriffserklärung und Einsatzmöglichkeiten

Metaboliten werden definiert als „organische und anorganische Chemikalien mit niedrigem Molekulargewicht (im Vergleich zu Proteinen und Nukleinsäuren), die Reaktanten, Zwischenprodukte oder Produkte enzymvermittelter biochemischer Reaktionen sind“ [Übers. d. Verf.; „low molecular weight (in relation to proteins and nucleic acids) organic and inorganic chemicals which are the reactants, intermediates or products of enzymemediated biochemical reactions“] (Dunn *et al.*, 2011, S.387). Dabei umfasst diese Definition Moleküle mit einer Molekularmasse von weniger als 1,5 kDa, die im Rahmen des Stoffwechsels eines Lebewesens entstehen, modifiziert werden oder reagieren. Metaboliten können in verschiedenen biologischen Proben nachgewiesen werden, darunter Gewebe, Bioflüssigkeiten wie Plasma, Serum, Urin oder Stuhl sowie in

verflüchtigter Form in ausgeatmetem Atemgas. Neben endogenen Metaboliten, die vom Organismus selbst synthetisiert werden, gehören auch exogene Metaboliten dazu, welche beispielsweise durch Mikroorganismen im Darm produziert werden oder aus Nährstoffen und Medikamenten stammen. Diese externen Substanzen werden als Xenometaboliten bezeichnet. Die Gesamtheit aller in einem Organismus vorhandenen Metaboliten wird als „Metabolom“ bezeichnet und repräsentiert die Endprodukte komplexer biochemischer Stoffwechselwege, die sich aus dem Zusammenspiel des Genom-, Transkriptom- und Proteom-Stoffwechsels ableiten lassen. Die Charakterisierung des Metaboloms kann wertvolle Einblicke in den physiologischen Zustand des Organismus sowie in dessen Reaktionen auf Umweltfaktoren oder pharmakologische Eingriffe liefern (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Schraner *et al.*, 2020).

Weiterführend ist die *Metabolomics*-Forschung die wissenschaftliche Disziplin, die sich mit der quantitativen und qualitativen Analyse dieser Metaboliten beschäftigt. Sie umfasst die unvoreingenommene, globale Erfassung aller niedermolekularen Moleküle in biologischen Proben wie Bioflüssigkeiten, Zellen, Geweben, Organen oder ganzen Organismen (Johnson and Gonzalez, 2012) und wird im *Oxford English Dictionary* definiert als „die wissenschaftliche Untersuchung der Gesamtheit der in einem Organismus, einer Zelle oder einem Gewebe vorhandenen Stoffwechselprodukte“ [Übers. d. Verf.; „the scientific study of the set of metabolites present within an organism, cell, or tissue“] (Deda *et al.*, 2015, S.137). Ziel der Metabolomik ist es, die dynamischen, multiparametrischen Stoffwechselreaktionen lebender Systeme zu untersuchen, um beispielsweise krankheitsbedingte Veränderungen oder Umweltinteraktionen zu identifizieren. Die Annahme hierbei ist, dass die in biologischen Medien gemessenen Metaboliten Aufschluss über den physiologischen Zustand oder die Reaktionsmechanismen des Organismus geben. Durch diese Herangehensweise wird ein vertieftes Verständnis der biochemischen Abläufe in lebenden Zellen und Organismen ermöglicht und es können neue biochemische Mechanismen entdeckt werden, die durch andere Ansätze bislang verborgen geblieben sind (Johnson and Gonzalez, 2012; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019).

Ein weiteres, dem Feld der Metabolomik entspringendes innovatives Forschungsfeld stellt die „Sportomik“ dar. Sie fokussiert sich dabei auf die Untersuchung von Metabolitenänderungen während oder nach sportlicher Aktivität, Trainingseinheiten oder Wettkämpfen. Dieser Ansatz basiert auf der Analyse eines breiten Spektrums an herkömmlichen Stoffwechselvariablen, wodurch eine umfassende Erfassung der metabolischen Reaktionen des Organismus ermöglicht wird. Im Gegensatz dazu überwacht eine nicht zielgerichtete *Metabolomics*-Analyse eine größere Vielfalt an Metaboliten, was die Identifikation neuartiger Biomarker für Anpassungsreaktionen an Sport bezüglich Gesundheit und Leistungsfähigkeit erleichtert (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). *Metabolomics*- und *Sportomics*-Analysen sind wertvolle Techniken, um Trainingsphysiologie, insbesondere durch Training induzierte Anpassungsprozesse, besser zu verstehen. In bisherigen Studien wurden dabei bereits Proben von AthletInnen verschiedener Sportarten wie Laufen, Radfahren, Fußball, Basketball und Rugby analysiert, was die Vielseitigkeit dieses Ansatzes unterstreicht (Bongiovanni *et al.*, 2022). Die zahlreichen Einsatzmöglichkeiten von *Metabolomics*-Analysen im Sport umfassen dabei insbesondere die Identifikation neuer Biomarker, die Entwicklung individualisierter Trainings- und Ernährungsstrategien sowie die Optimierung der Leistungsfähigkeit (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Zudem kann die Sportmetabolomik dazu beitragen, Verletzungen vorzubeugen und Erschöpfungszustände vorherzusagen (Bongiovanni *et al.*, 2019).

Da körperliche Betätigung zu tiefgreifenden Veränderungen im Stoffwechsel zahlreicher Organe und Gewebe führt, ist das Verständnis von metabolischen Anpassungsreaktionen von großem Interesse und zugleich eine große Herausforderung (Khoramipour *et al.*, 2022). Im Vergleich zu Genen und Proteinen, deren Funktion stark von epigenetischen Modifikationen und posttranslationalen Veränderungen beeinflusst wird, stellen Metaboliten direkte Endprodukte biochemischer Prozesse dar. Sie sind daher leistungsstarke und zuverlässige Indikatoren für den aktuellen physiologischen Zustand, da sie gewissermaßen die „Endergebnisse“ der Genexpression, insbesondere die Aktivitätsmuster spezifischer Enzyme, widerspiegeln. Veränderungen im Metabolom treten innerhalb von Sekunden bis Minuten auf und geben somit präzise Auskunft über den momentanen Zustand des Körpers (Bragazzi *et al.*,

2020). Die Metabolomik hat sich somit als ein vielseitiges und sich kontinuierlich weiterentwickelndes Analyseinstrument etabliert, das in zahlreichen wissenschaftlichen Disziplinen Anwendung findet (Johnson and Gonzalez, 2012).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Metabolomik im sportphysiologischen Kontext eingesetzt, um Veränderungen der Metaboliten bei gesunden sowie chronisch kranken ProbandInnen im Zusammenhang mit körperlichem Training zu untersuchen. Ziel war es, „*Monitoring*“- und prädiktive Marker zu identifizieren, die eine trainingsinduzierte Leistungssteigerung vorhersagen können.

1.2.2.2 Ablauf einer Metabolomics-Studie

Der Ablauf einer *Metabolomics*-Studie kann in sechs aufeinanderfolgende Schritte unterteilt werden, die eine systematische und strukturierte Vorgehensweise gewährleisten (Bongiovanni *et al.*, 2022).

Abbildung 3 zeigt den Ablauf einer *Metabolomics*-Studie. Am Anfang steht die Festlegung des Studiendesigns, bei der die Forschungsfrage präzise formuliert, die Zielpopulation definiert und die geeigneten Probenotypen und Probenentnahmeverfahren ausgewählt werden. Die Wahl der Probenart hängt von der jeweiligen Fragestellung ab, wobei jede Methode spezifische Vor- und Nachteile hinsichtlich Invasivität, Probenvolumen und Stabilität der Metaboliten aufweist. Zu den meistgewählten Probenotypen zählen neben invasiv gewonnenen Proben (z.B. Blut, Gewebe) vor allem die, die nicht-invasiv gewonnen werden können, wie Urin, Speichel oder Stuhl.

Im zweiten Schritt steht die Standardisierung der Probengewinnung im Mittelpunkt. Insbesondere müssen alle Proben unter soweit wie möglich kontrollierten Bedingungen entnommen werden, um eine hohe Reproduzierbarkeit und Validität der Ergebnisse zu gewährleisten (Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022).

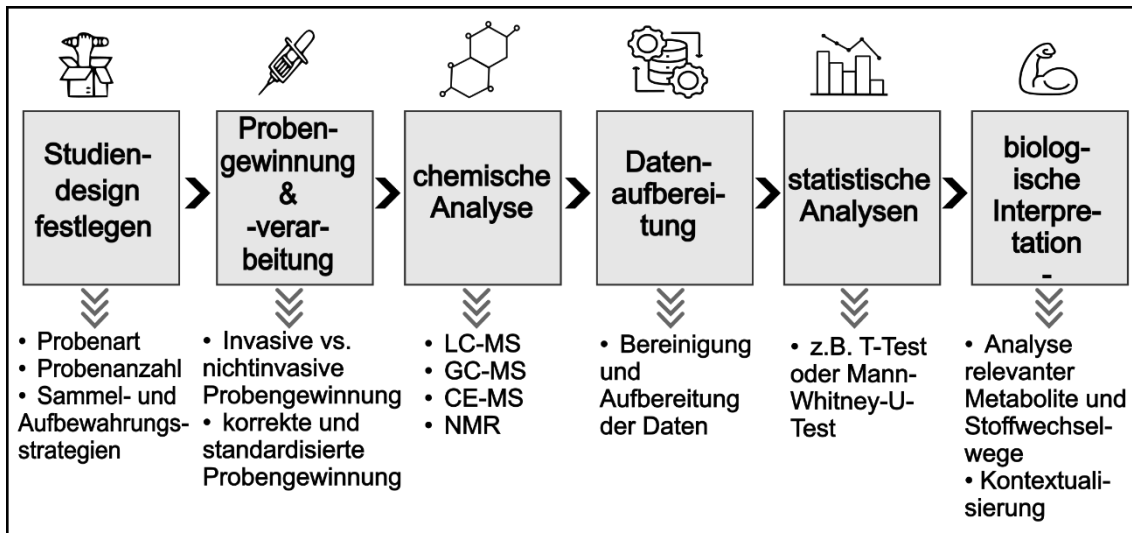


Abbildung 3: Ablauf einer Metabolomics-Studie.

Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des Studienvorgehens einer *Metabolomics*-Studie. Der Prozess umfasst sechs aufeinanderfolgende Schritte: (1) Festlegung des Studiendesigns mit Definition der biologischen Fragestellung, (2) Probengewinnung und -verarbeitung unter standardisierten Bedingungen, (3) chemische Analyse mittels geeigneter Messverfahren (z.B. MS oder NMR), (4) Datenaufbereitung und -bereinigung, (5) statistische Analysen und Datenauswertung, (6) biologische Interpretation und Hypothesengenerierung. Die lineare Anordnung verdeutlicht den systematischen Ablauf von der Planung bis zur Interpretation der metabolomischen Ergebnisse. LC-MS: Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie, GC-MS: Gaschromatographie-Massenspektrometrie, CE-MS: Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie, NMR: Kernresonanzspektroskopie [eigene Darstellung in Anlehnung an Bongiovanni *et al.*, 2022]

Im Anschluss erfolgt im dritten Schritt die chemische Analyse. Hier kommen verschiedene Methoden zum Einsatz, wobei die Massenspektrometrie (MS) die am häufigsten verwendete Technik ist (Schranner *et al.*, 2020; Bongiovanni *et al.*, 2022). Die Erweiterung der MS mit chromatografischen Methoden in Form der Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS) und der Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS) sowie das kombinierte Analyseverfahren der Kapillarelektrophorese-Massenspektrometrie (CE-MS) ermöglichen eine hochempfindliche und breite Detektion der Metaboliten. Alternativ kann die Kernresonanzspektroskopie (NMR) eingesetzt werden, die eine genauere Identifizierung und Quantifizierung ermöglicht, jedoch höhere Kosten und zumeist eine geringere Empfindlichkeit aufweist (Bongiovanni *et al.*, 2022). Bei der Analyse kann zwischen zielgerichteten (*targeted*) und nicht zielgerichteten (*untargeted*) Ansätzen unterschieden werden. Gezielte Analysen konzentrieren sich auf die Quantifizierung vordefinierter Metaboliten, die mit

bekanntem biologischen Prozessen in Verbindung stehen. Ungerichtete Analysen hingegen erfassen ein möglichst breites Spektrum an Metaboliten, um neue Biomarker oder Stoffwechselwege zu entdecken, was vor allem in explorativen Studien zum Einsatz kommt (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bongiovanni *et al.*, 2022).

Im vierten Schritt erfolgt die Datenaufbereitung, bei der die Rohdaten bereinigt, normalisiert und aufbereitet werden, um eine vergleichbare Basis für die nachfolgenden Analysen zu schaffen. Dieser Schritt ist notwendig, um technische Variabilitäten zu minimieren und die Datenqualität zu sichern.

Im fünften Schritt werden die Daten dann mittels statistischer Methoden interpretiert (Bongiovanni *et al.*, 2022).

Schließlich erfolgt im sechsten Schritt die biologische Interpretation der identifizierten Metabolitenmuster. Hierbei werden die Ergebnisse in den Kontext der biologischen Fragestellung eingebettet, um die Bedeutung der Biomarker oder Stoffwechselwege zu verstehen. Ziel ist es, aus den Metabolomdaten Erkenntnisse über die zugrundeliegenden biologischen Prozesse zu gewinnen, potenzielle Biomarker zu validieren und schließlich neue Hypothesen für weiterführende Studien zu entwickeln. Dieser strukturierte Prozess stellt sicher, dass *Metabolomics*-Studien systematisch, nachvollziehbar und wissenschaftlich durchgeführt werden (Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022).

1.2.2.3 Bisheriger Wissensstand

Die Metabolomik hat sich in den letzten Jahren zu einem bedeutenden Instrument in der sportmedizinischen Forschung entwickelt. Aktuellen Schätzungen zufolge existieren im menschlichen Körper mehr als 110.000 Metabolite sowie über 46.000 bekannte Stoffwechsel- oder Signalkaskaden (Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022). Diese Vielfalt unterstreicht die enorme Komplexität des menschlichen Stoffwechsels und die Herausforderung, einzelne metabolische Veränderungen präzise zu verstehen und zu interpretieren. Bereits eine Vielzahl von Studien haben Zusammenhänge zwischen Erkrankungen wie Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Stoffwechselstörungen, insbesondere Diabetes, und spezifischen Metaboliten identifizieren können (Johnson and Gonzalez, 2012; Egan and Zierath, 2013; Huffman *et al.*, 2014; Audano *et al.*,

2018; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Contrepolis *et al.*, 2020; Bongiovanni *et al.*, 2022; Dambrova *et al.*, 2022).

Im Gegensatz dazu ist die Forschung im sportmedizinischen Bereich noch vergleichsweise begrenzt, wobei bisher nur wenige Metaboliten in Zusammenhang mit sportlicher Aktivität untersucht wurden. Die meisten Studien konzentrierten sich zudem auf einzelne Metaboliten oder wenige Stoffwechselwege, was die Komplexität der metabolischen Reaktionen auf sportliche Belastung nur unzureichend abbildet und somit das Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen einschränkt (Bongiovanni *et al.*, 2022). Vor diesem Hintergrund besteht ein erheblicher Forschungsbedarf, um den Stoffwechsel im sportmedizinischen Kontext umfassend und detailliert zu untersuchen (Peake *et al.*, 2014; Bongiovanni *et al.*, 2019; Hargreaves and Spriet, 2020). Darüber hinaus ist die Gewinnung von insbesondere venösem Blut immer nur zeitlich verzögert möglich, was die Echtzeitbeobachtung metabolischer Veränderungen erschwert (Bragazzi *et al.*, 2020). Um dieses Defizit zu überwinden, wurden in den letzten zwei Dekaden zunehmend Metabolom-Untersuchungen an nicht- oder wenig-invasiv gewonnenen Proben etabliert, die etwa Kapillarblut, Speichel, Urin oder Schweiß nutzen (Kell, 2004; Bongiovanni *et al.*, 2022). Diese ermöglichen im Vergleich zu Blutproben eine detaillierte und zeitlich aufgelöste Momentaufnahme trainingsinduzierter physiologischer Veränderungen (Bragazzi *et al.*, 2020; Bongiovanni *et al.*, 2022).

Die zahlreichen Studien der letzten Jahre haben gezeigt, dass trainingsinduzierte Veränderungen des Metaboloms wertvolle Rückschlüsse auf die körperliche Leistungsfähigkeit und den Trainingszustand ermöglichen (Huffman *et al.*, 2014; Peake *et al.*, 2014; Bongiovanni *et al.*, 2019, 2022; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Contrepolis *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2022; Gehlert *et al.*, 2022). Dabei wurden insbesondere Metaboliten identifiziert, die am Glukose- und Lipidstoffwechsel beteiligt sind und deren Konzentrationsveränderungen Hinweise auf eine intensivere sowie verlängerte Lipidoxidation während und nach körperlicher Belastung liefern. Zu diesen zählen vor allem mittel- und langkettige Acylcarnitine (Bongiovanni *et al.*, 2019; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Khoramipour *et al.*, 2022) sowie verzweigtkettige Aminosäuren wie Valin, Leucin und Isoleucin (Khoramipour *et al.*, 2022). In weiteren Studien konnten mehrere Metaboliten, darunter ungesättigte Fettsäuren und verschiedene Aminosäuren, identifiziert

werden, deren Konzentrationen signifikant mit dem Trainingszustand korrelieren (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Cai *et al.*, 2022). In Bezug auf die Trainierbarkeit und die aktuelle Leistungsfähigkeit von Individuen konnten Metaboliten ebenfalls als prädiktive Marker identifiziert werden. So wurden beispielsweise einige Aminosäuren beschrieben, deren Konzentrationen mit der maximalen Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2max}$) korrelieren (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Contrepolis *et al.*, 2020), was auf eine potenzielle Verwendung als Marker im Rahmen einer indirekten Leistungsdiagnostik hinweist. Dies könnte vor allem in Situationen, in denen eine klassische Leistungsdiagnostik nicht möglich oder nicht erwünscht ist, etwa bei Erkrankungen, Verletzungen oder während Wettkampfphasen, von Nutzen sein (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Zusätzlich konnten in weiteren Studien spezifische Zusammenhänge zwischen den BCAAs und $\dot{V}O_{2max}$ festgestellt werden (Khoramipour *et al.*, 2022). Bei Untersuchungen an herzinsuffizienten PatientInnen konnten Ahmad *et al.*, 2016, eine Assoziation zwischen insbesondere langkettigen Acylcarnitinen und $\dot{V}O_{2max}$ beobachten. Huffman *et al.*, 2014, konnten zudem bei Untersuchungen von Muskelbiopsien älterer und jüngerer ProbandInnen nach einer sechsmonatigen Trainingsphase eine Assoziation von erhöhten Konzentrationen bestimmter Acylcarnitine im Muskelgewebe mit einer verbesserten kardiorespiratorischen Fitness ($\dot{V}O_{2peak}$) feststellen.

Ein weiterer zentraler Forschungsschwerpunkt liegt in der Identifikation von Biomarkern, die mit oxidativem Stress und Immundefunktion assoziiert sind (Meeusen *et al.*, 2013; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bragazzi *et al.*, 2020; Contrepolis *et al.*, 2020; Bongiovanni *et al.*, 2022). Diese Parameter sind insbesondere zur Prävention von Übertraining und infektionsbedingten Trainingsausfällen - wie beispielsweise bei Atemwegsinfekten - bei AthletInnen von großer Relevanz (Meeusen *et al.*, 2013). Hierbei zeigten sich erhöhte Konzentrationen der Aminosäuren Valin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Phenylalanin und Tryptophan nach dem Training insbesondere bei SportlerInnen, die stärkere Erschöpfungssymptome angaben. Diese Erhöhungen könnten demnach als potenzielle Marker für ein erhöhtes Erschöpfungsniveau interpretiert werden (Bongiovanni *et al.*, 2022).

Nicht zuletzt zeigen sich markante Unterschiede im Aminosäureprofil zwischen trainierten und untrainierten Personen. Diese Unterschiede deuten darauf hin,

dass das Ruhemetabolom potenziell als Reflexion der physischen Kapazität und Leistungsfähigkeit herangezogen werden kann (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bongiovanni *et al.*, 2022). Zudem weisen sowohl Ausdauer- als auch KraftsportlerInnen ein deutlich differenziertes metabolisches Profil im Vergleich zu weniger trainierten Individuen auf (Khoramipour *et al.*, 2022), was die Bedeutung des Metaboloms für die individualisierte Trainingssteuerung und sportmedizinische Diagnostik unterstreicht.

Trotz dieser Fortschritte bleibt das Verständnis der komplexen Wechselwirkungen zwischen körperlicher Aktivität und metabolischen Anpassungsprozessen begrenzt. Eine systematische Analyse metabolischer Signalwege sowie eine präzisere Definition physiologischer Marker ist bislang nur unzureichend realisiert worden (Johnson and Gonzalez, 2012; Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022). Die aktuelle Datenlage zeigt zudem insgesamt noch sehr heterogene Ergebnisse. Die bisher identifizierten Metaboliten, die mit sportinduzierten Anpassungsreaktionen in Verbindung gebracht werden, liefern zwar Hinweise auf zugrunde liegende Mechanismen, jedoch führen unterschiedliche Studiendesigns zu teilweise widersprüchlichen Ergebnissen (Johnson and Gonzalez, 2012; Krumsiek *et al.*, 2015; Cai *et al.*, 2022). Dies ist vor allem auf die vielfältigen Variablen in den Studien, wie unterschiedlichen Probandengruppen, Trainingsprotokollen und Messmethoden, zurückzuführen. Daraus ergibt sich eine klare Notwendigkeit für weiterführende Forschung, die standardisierte und umfassende Analysen des metabolischen Profils unter sportlicher Belastung ermöglicht (Khoramipour *et al.*, 2022). Vor diesem Hintergrund verfolgt die vorliegende Arbeit das Ziel, trainingsinduzierte Veränderungen des Metaboloms bei gesunden sowie chronisch erkrankten ProbandInnen zu analysieren und deren Zusammenhang mit der kardiorespiratorischen Leistungsfähigkeit zu untersuchen.

2 Fragestellung und Zielsetzung

In dieser Arbeit werden die Metabolitenkonzentrationen im Blut der Teilnehmenden der iReAct- und MultiPill-Studien untersucht und hinsichtlich ihrer Reaktion auf mehrwöchige Trainingsinterventionen analysiert. Dabei werden die Metabolitenkonzentrationen auch im Kontext individueller trainingsinduzierter Anpassungsreaktionen betrachtet, insbesondere werden mögliche Korrelationen mit der allgemeinen Leistungssteigerung sowie - im Vergleich der beiden Kohorten - ein möglicher Einfluss von (Multi-)Morbidität auf die Metabolitenmuster untersucht. Insbesondere folgende Fragen werden beantwortet:

1) Können trainingsinduzierte Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen festgestellt werden und variieren die Anpassungsreaktionen des Metaboliten-Profiles je nach Art bzw. Reihenfolge des Trainings (HIIT-MICT vs. MICT-HIIT)?

Zu diesem Zweck werden zunächst die *baseline*-Konzentrationen der Metaboliten bestimmt und auf mögliche Geschlechterunterschiede hin untersucht. Im Anschluss erfolgt die Analyse der trainingsassoziierten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen. Dafür werden die Metabolitenkonzentrationen nach einer sechs- bzw. zwölfwöchigen Trainingsphase bestimmt und hinsichtlich signifikanter Unterschiede zu den *baseline*-Daten getestet. Nach Abschluss der Trainingsinterventionen erfolgt eine Gegenüberstellung der Metaboliten-Profile der beiden Trainingsgruppen (HIIT-MICT vs. MICT-HIIT), um die Daten hinsichtlich einer Einflussnahme der Trainingsreihenfolge zu untersuchen.

2) Kann die Trainingsreaktion als Form der Leistungssteigerung bereits vor dem Training anhand der *baseline*-Metabolitenkonzentrationen vorhergesagt werden und/oder kann sie durch trainingsinduzierten Konzentrationsänderungen der Metabolite ($\Delta[MB]$) überwacht werden?

Diese Fragestellung wird durch die Untersuchung potenzieller Korrelationen zwischen den Metabolitenkonzentrationen und trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen erörtert. Mittels

Korrelationsanalysen zwischen den *baseline*-Daten und der Leistungssteigerung (gemessen mittels $\Delta\dot{V}O_{2\max}$) sollen zum einen mögliche Prädiktoren für Letztere identifiziert werden. Diese könnten potenziell bereits vor den sportlichen Interventionen Hinweise auf die Trainierbarkeit bzw. das Ansprechen der Testperson auf Trainingsreize liefern. Des Weiteren erfolgt eine Analyse der Datenkollektivs mittels Korrelationsanalysen zwischen den trainingsinduzierten Konzentrationsänderungen der Metabolite ($\Delta[MB]$) und $\Delta\dot{V}O_{2\max}$ auf mögliche „*Monitoring*“-Marker. Dabei sollen Blutwerte ermittelt werden, die durch ihre spezifischen trainingsinduzierten Veränderungen Rückschlüsse auf den Verlauf der Trainingsadaptation der Testperson zulassen könnten.

3) Hat Multimorbidität einen Einfluss auf das Metabolom, sodass sich die Metabolitenkonzentrationen von gesunden und kranken Personen vor und nach mehrwöchigen Trainingsphasen unterscheiden?

Um dieser Frage nachzugehen, werden die Metabolitenkonzentrationen der Teilnehmenden der iReAct-Studie mit denen von Testpersonen aus der MultiPill-Exercise-Studie verglichen. Die vorliegende Untersuchung zielt darauf ab, die Auswirkungen von chronischen Erkrankungen wie Diabetes Mellitus Typ 2 (DMT2), kardiovaskulären Erkrankungen (CVD), Übergewicht / Adipositas oder muskuloskelettalen Erkrankungen auf die Metaboliten-Profile zu erforschen. Ein weiterer Schwerpunkt liegt auf der Analyse der Auswirkungen von Multimorbidität auf metabolische Veränderungen in Antwort auf eine Trainingsintervention im Vergleich zu gesunden ProbandInnen.

3 Material und Methoden

Ein wesentlicher Teil der für diese Arbeit relevanten Daten wurde im Rahmen der iReAct („*individual response to physical activity*“) -Studie erhoben. Diese Studie wurde konzipiert, um interindividuelle Unterschiede in der physiologischen und metabolischen Antwort auf körperliches Training systematisch zu untersuchen. Im nachfolgenden Kapitel werden die Methoden der Probengewinnung, die Studiendesigns sowie die Verfahren zur Erhebung und Auswertung der metabolischen und physiologischen Daten detailliert dargestellt. Darüber hinaus erfolgt im weiteren Verlauf dieser Arbeit ein Vergleich der in der iReAct-Studie gewonnenen Daten mit Ergebnissen aus einer zweiten Trainingsstudie, der sogenannten MultiPill-Exercise-Studie. Auch diese Untersuchung verfolgte das Ziel die Wirkung strukturierter körperlicher Aktivität auf verschiedene gesundheitsrelevante Parameter, insbesondere bei Personen mit chronischen Erkrankungen, zu erfassen. Um die Vergleichbarkeit und die Interpretation der Resultate zu gewährleisten, werden im Anschluss ebenfalls die methodischen Grundlagen, das Studiendesign sowie zentrale Charakteristika der MultiPill-Exercise-Studie systematisch beschrieben.

3.1 Studiendesign

Die folgenden Abschnitte sollen ein Überblick über den Ablauf und das Design der beiden Studien iReAct und MultiPill-Exercise geben. Dabei wird zunächst auf den Ablauf der iReAct-Studie und im Anschluss auf den Ablauf der MultiPill-Exercise-Studie eingegangen.

3.1.1 iReAct-Studie

Schwerpunktmäßig befasst sich diese Arbeit mit den Daten, die im Rahmen der iReAct-Studie (IR) gewonnen wurden. Das entsprechende Studienprotokoll wurde bereits publiziert (Thiel *et al.*, 2019; Maturana *et al.*, 2021). Die Genehmigung der Studie durch die zuständige Ethikkommission erfolgte am 22. Januar 2018 unter der Referenznummer 882/2017B01 (Thiel *et al.*, 2019).

Ziel der Studie war es, die Ursachen individueller Reaktionen auf körperliche Aktivität mittels biopsychosozialer Analysen zu ermitteln. Dabei wurden vor allem die physiologischen, epigenetischen, kognitiven und affektiven Reaktionen der Individuen auf körperliche Belastungsreize untersucht.

Als Trainingsintervention wurden zwei Programme durchgeführt, die zwar in ihrem Energieverbrauch vergleichbar waren, allerdings in der Intensität signifikante Unterschiede zeigten. Die genauen Modalitäten der Trainingsprogramme werden in Kapitel 3.2 erörtert. Des Weiteren wurde in der iReAct-Studie auch die Fragestellung adressiert, inwieweit die Art und die Reihenfolge der Trainingsprogramme die finale Trainingsadaptation beeinflussten. Es wurden insgesamt zu drei Messzeitpunkten (t_0 , t_1 und t_2) Daten erhoben, der genaue zeitliche Ablauf ist Abbildung 4 zu entnehmen. Die iReAct-Studie galt als Verbundprojekt, das versuchte, disziplinübergreifende Forschungsfragen zu klären. Eine Teilfragestellung, nämlich die nach trainingsinduzierten Veränderungen von Metabolitenkonzentrationen im Blut, greift diese Arbeit auf.

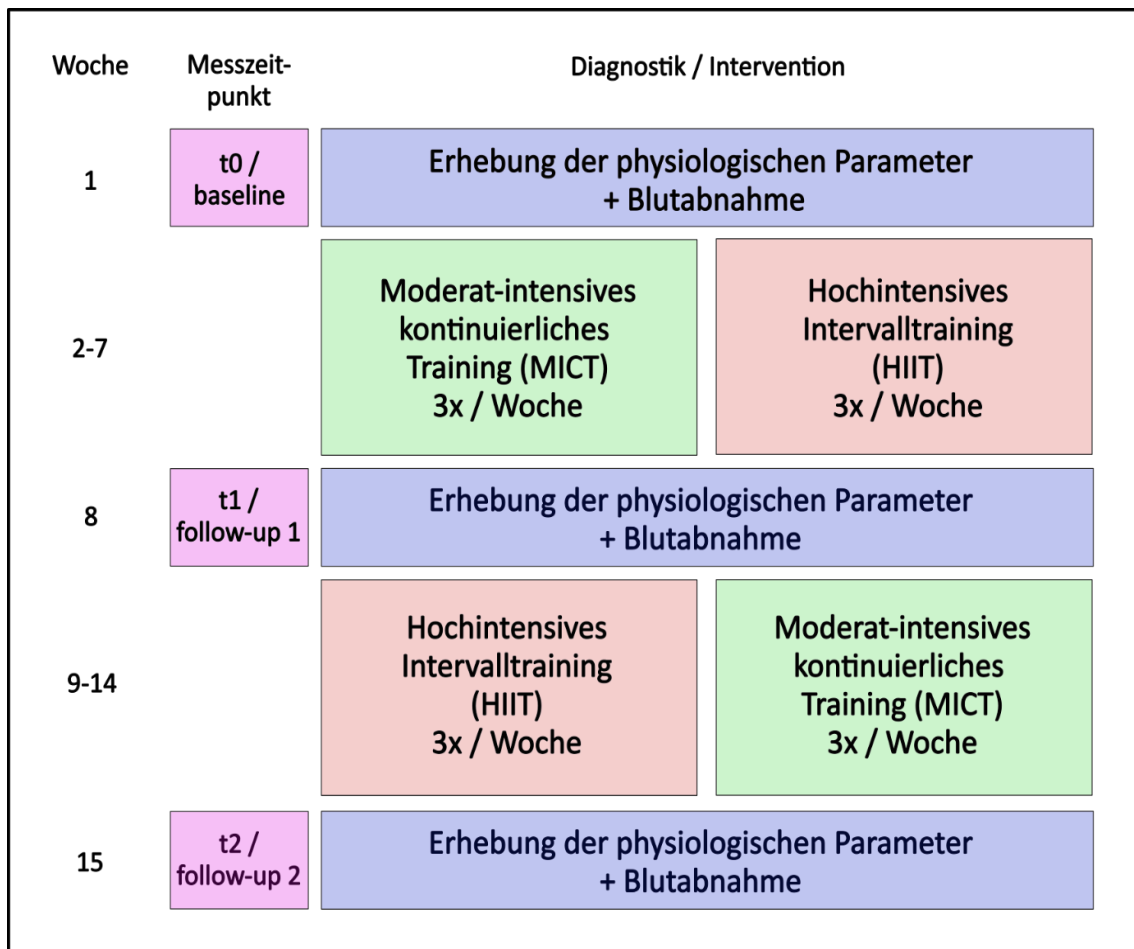


Abbildung 4: Ablauf der iReAct-Studie.

Die Abbildung zeigt den Studienablauf der iReAct-Studie mit Interventions- und Messzeitpunkten über 15 Wochen. In Woche 1 erfolgt zum Messzeitpunkt t0 die *baseline*-Erhebung der physiologischen Parameter einschließlich der ersten Blutabnahme zur Metabolitenbestimmung. In den Wochen 2-7 absolvieren die Teilnehmenden als Interventionsprogramm entweder moderat-intensives kontinuierliches Training (MICT) oder hochintensives Intervalltraining (HIIT), jeweils dreimal pro Woche. In Woche 8 (t1) findet eine erste *follow-up*-Untersuchung mit erneuter physiologischer Diagnostik und Blutentnahme statt. In der zweiten Interventionsphase (Woche 9-14) werden die Trainingsformen zwischen den Gruppen gewechselt. In Woche 15 (t2) folgt die zweite *follow-up*-Untersuchung mit finaler Diagnostik und Blutentnahme. [eigene Darstellung in Anlehnung an Thiel *et al.*,2019]

3.1.2 MultiPill-Exercise-Studie

Weitere Daten dieser Arbeit stammen von der Pilotstudie der MultiPill-Exercise-Studie (MP). Die Studie wurde am 30. September 2021 unter der Nummer DRKS00025033 registriert und durch die zuständige Ethikkommission unter der

Referenznummer 628/2021BO2 genehmigt. Primäres Ziel der Hauptstudie war es, die Wirksamkeit, Effizienz und Sicherheit von körperlicher Aktivität an PatientInnen zu evaluieren. Sie betrachtet dabei die Auswirkungen einer 24-wöchigen umfassenden Lebensstil-Intervention bei Personen mit chronischen Erkrankungen wie T2DM, Übergewicht, Arthrose oder einer kardiovaskulären Grunderkrankung. Nach einem umfassenden Screening anhand definierter Ein- und Ausschlusskriterien zu Beginn der Pilotstudie wurde eine Baseline-Diagnostik (t0) durchgeführt. Im Anschluss nahmen die Teilnehmenden am MultiPill-Exercise-Programm teil, das durch seine Vielseitigkeit gekennzeichnet ist und den Schwerpunkt sowohl auf personalisierte Bewegungsinterventionen als auch auf die Förderung bereichsspezifischer Gesundheitskompetenzen legt. Nach Abschluss der 12-wöchigen Basisinterventionsphase erfolgte eine erste *follow-up*-Diagnostik (FU), die im Studienprotokoll als t3-Diagnostik (nach drei Monaten) ausgewiesen wird. Daran anschließend absolvierten die Teilnehmenden eine weitere 12-wöchige Interventionsphase (Phase 2 – Follow-up-Intervention), in der die Aktivitäten der ersten Phase fortgeführt wurden. Weitere Messungen fanden nach sechs (t6), zwölf (t12) sowie achtzehn Monaten (t18) statt (Schweda *et al.*, 2022). Für den Vergleich mit der iReAct-Studie sind jedoch ausschließlich die Ergebnisse der t3-Diagnostik von Relevanz, da diese – analog zu den t2-Daten der iReAct-Studie – nach Abschluss eines 12-wöchigen Interventionsprogramms erhoben wurden. Zur Veranschaulichung des zeitlichen Ablaufs der MultiPill-Exercise-Studie dient Abbildung 5.

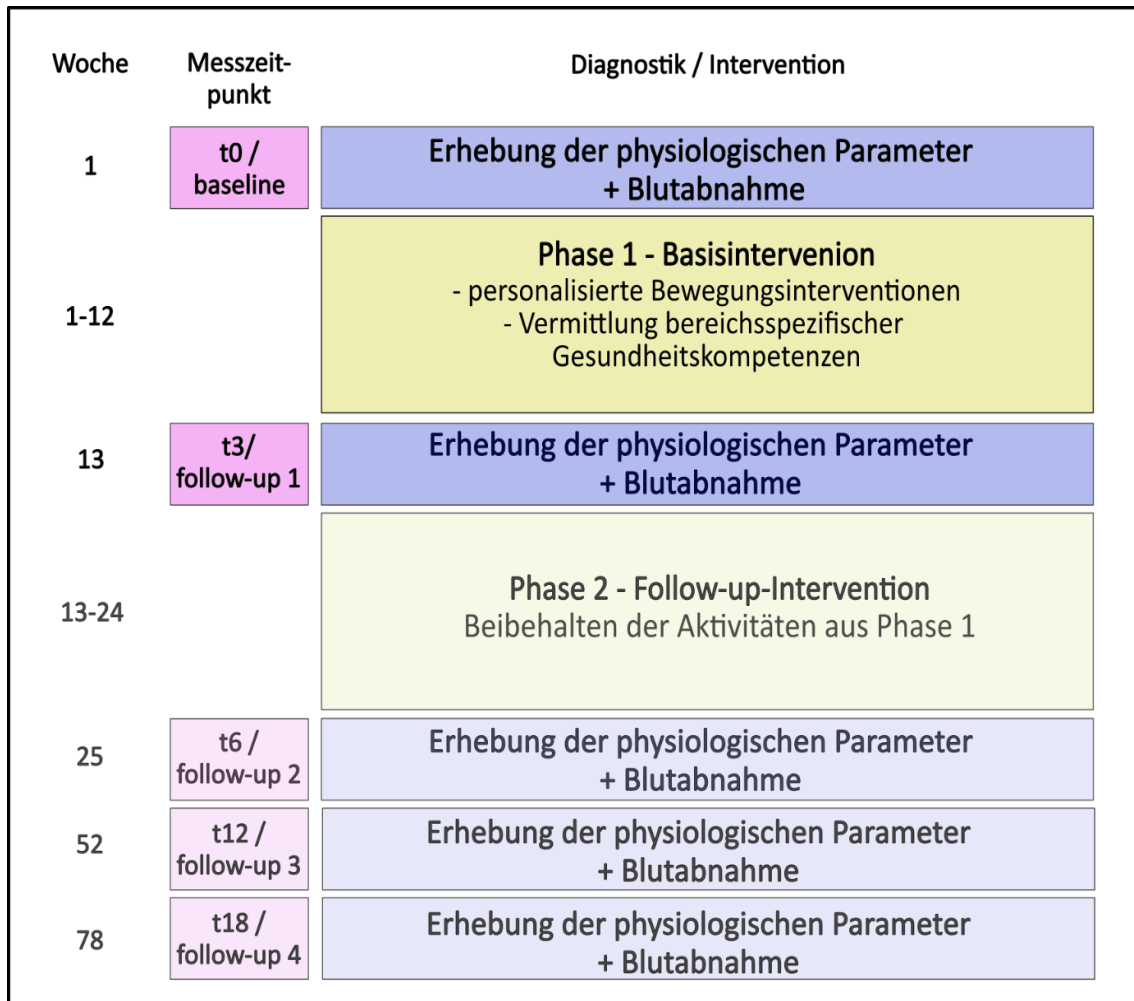


Abbildung 5: Ablauf der MultiPill-Exercise-Studie.

Die Abbildung zeigt den Studienablauf der MultiPill-Exercise Studie mit Interventions- und Messzeitpunkten über 78 Wochen (18 Monate). Das MultiPill-Exercise-Programm umfasst insgesamt eine 24-wöchige Bewegungs- und Lebensstil-Intervention. In Woche 1 erfolgt zum Messzeitpunkt t0 die *baseline*-Erhebung der physiologischen Parameter einschließlich der ersten Blutabnahme zur Metabolitenbestimmung. In den Wochen 1-12 absolvieren die Teilnehmenden das Basisinterventionsprogramm, das neben personalisierten Bewegungsinterventionen auch die Vermittlung von bereichsspezifischen Gesundheitskompetenzen umfasst. In Woche 13 (nach drei Monaten, t3) findet eine erste *follow-up*-Untersuchung mit erneuter physiologischer Diagnostik und Blutentnahme statt. In der zweiten Phase (Follow-up-Intervention, Woche 13-24) werden die Aktivitäten der ersten Phase für weitere 12 Wochen fortgeführt. In Woche 25 (nach sechs Monaten, t6) folgt die zweite, nach 52 Wochen (nach 12 Monaten, t12) die dritte und nach 78 Wochen (nach 18 Monaten, t18) die vierte *follow-up*-Untersuchung mit finaler Diagnostik und Blutentnahme. Für die vorliegende Arbeit wurden ausschließlich die Daten der *baseline*- und der t3-Diagnostik berücksichtigt; die übrigen Mess- und Interventionsphasen sind daher in der Abbildung abgedunkelt dargestellt [eigene Darstellung in Anlehnung an Schweda *et al.*, 2022]

3.2 Trainingsprogramme

Beiden Studien ist gemeinsam, dass sie die Auswirkungen von körperlicher Aktivität auf ProbandInnen untersuchen. Dennoch unterschieden sich die Trainingsprogramme maßgeblich voneinander, weshalb im Folgenden die Unterschiede dargestellt werden sollen.

3.2.1 iReAct-Studie

Nach Prüfung der Ein- bzw. Ausschlusskriterien, die dem Studienprotokoll zu entnehmen sind, wurden die Teilnehmenden randomisiert einer von zwei Trainingsgruppen zugeteilt. Da die individuelle Antwort auf Training auch maßgeblich von der Trainingsintensität abhängt (Thiel *et al.*, 2019), wurden in dieser Studie zwei verschiedene Methoden von Ausdauertraining verglichen. Die Trainingsinterventionen werden grafisch in Abbildung 6 dargestellt. Während die eine Gruppe mit einem „*moderate-intensity continuous training*“ (MICT) begann, startet die andere Gruppe mit einem „*high-intensity interval training*“ (HIIT). Zunächst wurde für sechs Wochen mit jeweils drei Einheiten pro Woche nach den zugeteilten Trainingsplänen trainiert. Nach einer einwöchigen Pause, während der die Diagnostik FU1 erfolgte, wurden dann die Trainingsmethoden getauscht, sodass die Gruppe, die mit MICT begonnen hatte, für weitere sechs Wochen das HIIT-Programm absolvierte und die Gruppe, die mit HIIT begonnen hatte, anschließend nach dem MICT-Programm trainierte. Alle Trainingseinheiten wurden auf einem kalibrierten Fahrradergometer unter der Aufsicht geschulten Personals abgeleistet.

High-Intensity Interval Training (HIIT)

Eine Trainingseinheit aus dem HIIT-Plan umfasste insgesamt 43 min. In den ersten 10 min starteten die Teilnehmenden mit einem Aufwärmprogramm bei einer Leistung, die bei ca. 70 % der individuellen maximalen Herzfrequenz (HR_{max}) erreicht wurde. Anschließend folgten vier Intervalle à vier Minuten, in denen eine Leistung erreicht werden sollte, die 90 % der individuellen HR_{max} entsprach. Zwischen den Belastungsintervallen erfolgte eine vierminütige aktive Pausenperiode. In dieser Zeit trainierten die Teilnehmenden mit einem

Widerstand von 30 W. Nach dem letzten Intervall erfolgte eine fünfminütige „cool-down“-Periode, während der ebenfalls ein 30 W-Widerstand eingestellt wurde (Thiel *et al.*, 2019).

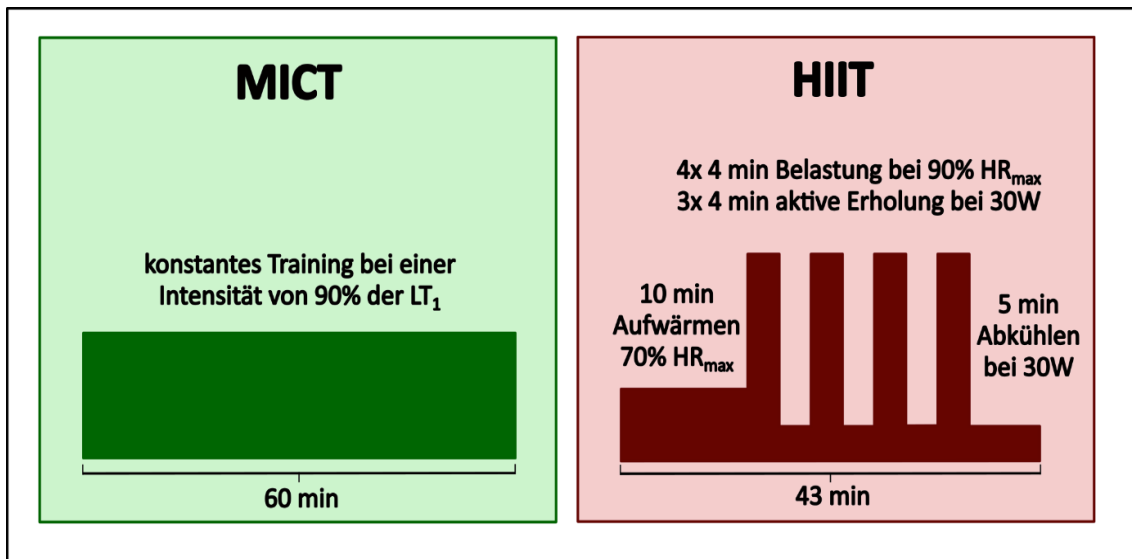


Abbildung 6: Grafische Darstellung der Trainingsinterventionen MICT und HIIT.

Die Abbildung zeigt eine Darstellung der Trainingsprotokolle der beiden Interventionsformen in der iReAct-Studie. Beim moderat-intensiven kontinuierlichen Training (MICT) absolvieren die Teilnehmenden ein konstantes Ausdauertraining über 60 Minuten bei 90 % der individuellen ersten Laktatschwelle (LT_1). Das hochintensive Intervalltraining (HIIT) besteht aus einem 10-minütigen Aufwärmen bei 70 % der maximalen Herzfrequenz (HR_{max}), gefolgt von vier Belastungsintervallen à 4 Minuten bei 90 % HR_{max} und drei dazwischenliegenden Erholungsphasen à 4 Minuten bei 30 W Leistung sowie einem 5-minütigen Abkühlen bei 30 W. Die Gesamtdauer der HIIT-Einheit beträgt 43 Minuten. MICT: Moderate-Intensity Continuous Training, HIIT: High-Intensity Interval Training, LT_1 : erste Laktatschwelle, HR_{max} : maximale Herzfrequenz [eigene Darstellung]

Moderate-Intensity Continuous Training (MICT)

Die Teilnehmenden aus der MICT-Gruppe absolvieren drei Mal pro Woche ein jeweils 60-minütiges Trainingsprogramm. Als Intensitätsrichtwert wurde eine Leistung angestrebt, mit der sich die ProbandInnen bei 90 % der Leistung befanden, die für die Erreichung der bei der ersten Ergometer-Diagnostik bestimmten individuellen ersten Laktatschwelle (LT_1 : *first lactate threshold*, LTP_1 : *lactate turning point 1*) notwendig ist (Binder *et al.*, 2008). Abbildung 6 stellt die Abläufe der Trainingsinterventionen grafisch dar.

Bei beiden Trainingsinterventionen wurde darauf geachtet, einen ähnlichen Energieverbrauch pro Trainingseinheit zu induzieren. Dieser lag bei den oben

beschriebenen Programmen bei ca. 8 MET-Stunden (metabolisches Äquivalent) pro Einheit (Thiel *et al.*, 2019). Für das MIC- bzw. das HII-Training wurden jedoch jeweils unterschiedliche Parameter zur Steuerung der Intensität gewählt. Die Gründe hierfür werden nachfolgend dargestellt:

Um sicherzustellen, dass das MICT-Programm im Bereich der mittleren Intensität lag, eignete sich besonders die Laktatschwelle als Bezugswert. Diese konnte bei der ersten Ergometer-Diagnostik zuverlässig individuell ermittelt werden. Da die Teilnehmenden einen Stufen- und keinen Rampentest durchliefen, war die Bestimmung der LT_1 möglich und als submaximaler Parameter geeigneter zur Bestimmung der individuellen Fitness als ventilatorische Größen (Widmann *et al.*, 2022). Abbildung 7 zeigt ein beispielhaftes Ergebnis einer solchen Lactatanalyse eines Stufentests. Die für das Erreichen der ersten Laktatschwelle notwendige Leistung konnte dieser Grafik direkt entnommen werden. Folglich war auch der Intensitätsrichtwert für das MIC-Training (90 % der LTP_1 zugehörigen Leistung) zuverlässig und direkt ermittelbar (Maturana *et al.*, 2021). Anders verhält es sich bei dem intensiveren Training des HIIT-Programms. Hier wurde als Richtwert für die Intensität der Trainingseinheit statt der zweiten Laktatschwelle (LT_2) die HR_{max} herangezogen. Grund dafür war, dass die Herzfrequenz ein Parameter ist, der bei jedem Training und nicht nur bei den Diagnostiken überwacht wurde und daher mit höherer Genauigkeit bestimmbar war. Bei den anfangs sehr wenig trainierten ProbandInnen war vor allem zu Beginn der Studie ein schneller Leistungszuwachs zu erwarten. Um daher sicherzustellen, dass die Teilnehmenden spezifisch im Rahmen des HIITs immer mit ausreichender Auslastung trainierten, musste die Intensität des Trainings regelmäßig überwacht und wöchentlich angepasst werden. Dementsprechend galt das Erreichen von 90 % der jeweiligen HR_{max} als der am besten geeignete Richtwert, um eine ausreichende Belastung durch das HIIT zu gewährleisten (Maturana *et al.*, 2021; Widmann *et al.*, 2022).

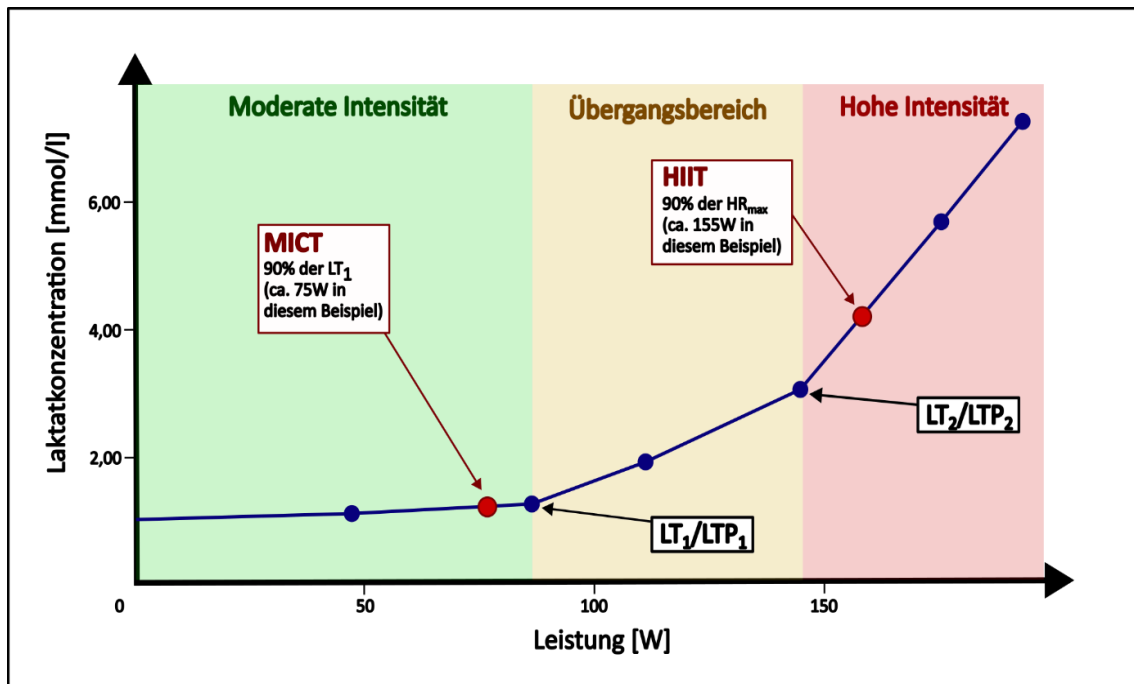


Abbildung 7: Blutlaktatkurve eines repräsentativen Teilnehmenden während des Stufentests.

Die Abbildung zeigt eine beispielhafte Laktatleistungskurve eines repräsentativen Teilnehmenden während des Stufentests mit Kennzeichnung der individuellen Laktatschwellen. Dargestellt ist die Blutlaktatkonzentration [mmol/l] auf der y-Achse in Abhängigkeit der erbrachten Leistung [W] auf der x-Achse. Die erste Laktatschwelle (LT_1/LTP_1) kennzeichnet den ersten detektierbaren Anstieg der Laktatkonzentration. Sie dient als Grundlage für die Trainingsintensität im MICT (90 % der LT_1 , ca. 75 W in diesem Beispiel). Die zweite Laktatschwelle (LT_2/LTP_2) markiert den zweiten starken Anstieg der Laktatkurve. Bei steigender Belastungsintensität übersteigt das anfallende Laktat die Stoffwechselleistung des Organismus, sodass es zu einem exponentiellen Anstieg der Blutlaktatkonzentration kommt. Das HIIT erfolgt im Bereich von 90 % der maximalen Herzfrequenz (HR_{max}), was in diesem Beispiel ca. 155 W entspricht und damit im hochintensiven Bereich liegt. MICT: Moderate-Intensity Continuous Training, HIIT: High-Intensity Interval Training, LT_1/LTP_1 : erste Laktatschwelle, LT_2/LTP_2 : zweite Laktatschwelle, HR_{max} : maximale Herzfrequenz [eigene Darstellung in Anlehnung an Maturana *et al.*, 2021]

3.2.2 MultiPill-Exercise-Studie

Im Rahmen der MultiPill-Exercise-Studie durchliefen die Teilnehmenden das „MultiPill-Exercise“-Programm, ein personenorientiertes, umfassendes Bewegungsprogramm auf Basis des biopsychosozialen Gesundheitsmodells der internationalen Klassifikation von Funktionsfähigkeit, Behinderung und

Gesundheit (ICF) (Pfeifer and Rütten, 2017). Es umfasste zwei zwölfwöchige Phasen, in denen neben personalisierten Bewegungsinterventionen auch bereichsspezifische Gesundheitskompetenzen vermittelt werden. Ziel war es, die Teilnehmenden zu einer langfristigen, selbstbestimmten Veränderung des Lebensstils zu motivieren. Neben Ernährungsinterventionen wurden gemeinsam mit den Teilnehmenden individualisierte Bewegungsprogramme entwickelt, die sich an nationalen und internationalen Empfehlungen orientieren. Angestrebt wurden wöchentlich 150 Minuten moderates oder 75 Minuten intensives Ausdauertraining bzw. eine Kombination aus beidem sowie ergänzendes Krafttraining bis zu zweimal pro Woche. In den ersten 12 Wochen wurden vier aufeinander aufbauende Phasen mit unterschiedlichen Trainingsmethoden und -prinzipien durchlaufen. Zu Beginn wurden zwei Wochen lang mit dem Ziel der Gewöhnung an Bewegung und motorisches Lernen verschiedene 40–60-minütige Trainingseinheiten absolviert, die sowohl Gruppen-, Einzel-, Outdoor-, Indoor-, Vor-Ort- und Heimtrainings umfassten. Darauf folgten vier Wochen Grundlagenausdauertraining in Form von sowohl kontinuierlichen Ausdauertraining als auch hochintensiven Intervalltraining. In den anschließenden vier Wochen wurden der Schwerpunkt durch eine Erhöhung der Intensität des Gerätetrainings vermehrt auf den Muskelaufbau gelegt. In den abschließenden zwei Wochen war das Erhaltungstraining mit nur einer betreuten Trainingseinheit/Woche der Förderung der selbstständigen Durchführung von Bewegungseinheiten gewidmet. Jede/-r Teilnehmende erhielt wöchentlich einen individualisierten Trainingsplan, der auf die jeweiligen Grundvoraussetzungen und den aktuellen Leistungsstand abgestimmt war (Schweda *et al.*, 2022).

3.3 Physiologische und anthropometrische Daten der Teilnehmenden

Die folgenden Abschnitte verschaffen einen Überblick über die physiologischen und anthropometrischen Daten der Teilnehmenden der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie. Die Daten sind vorab in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Übersicht über die anthropometrischen und physiologischen Daten der Teilnehmenden der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie

	iReAct					
	m		w		gesamt	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Anzahl	4		15		19	
Alter	27.50	4.93	28.11	6.93	28.11	6.45
BMI [kg/m²]	24.61	3.82	23.54	3.22	23.54	3.29

	MultiPill-Exercise					
	m		w		gesamt	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Anzahl	11		24		35	
Alter	53.46	11.72	55.63	9.32	54.93	10.01
BMI [kg/m²]	31.49	2.22	30.82	3.35	31.03	3.02

BMI: Body-Mass-Index, m: männlich, w: weiblich, MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

3.3.1 iReAct-Studie

In die iReAct-Studie wurden insgesamt 12 gesunde Männer und 30 gesunde Frauen in einem Alter zwischen 20 und 40 Jahren eingeschlossen (Maturana *et al.*, 2021). Für die in dieser Arbeit beschriebene Substudie „Metabolomics“ wurden Proben von n=15 Frauen und n=4 Männern ausgewertet. Alle Teilnehmenden waren NichtraucherInnen mit einem Body-Mass-Index (BMI) zwischen 18,5 und 30,0 kg/m². Der BMI wird aus dem Verhältnis von Gewicht und Körpergröße ermittelt. Dabei setzt die Formel das Gewicht (in kg) mit dem Quadrat der Körpergröße (in m) ins Verhältnis:

$$\text{BMI [kg/m}^2\text{]} = \text{Körpergewicht [kg]} \div (\text{Körpergröße [m]})^2 \text{ (Barmer, 2022).}$$

Des Weiteren litten die Studienteilnehmenden an keiner akuten oder chronischen physischen oder psychischen Erkrankung. Ihr Aktivitätsumfang lag unter dem

spezifisch für die Studie festgelegtem Wert von 60 min/Woche sportlicher Betätigung wie Ausdauer- oder Krafttraining (Thiel *et al.*, 2019) und damit auch deutlich unter dem zum Zeitpunkt der Studienplanung von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) empfohlenen Richtwert von mindestens 150 min/Woche moderater oder mindestens 75 min/Woche intensiver körperlicher Aktivität (World Health Organization, 2018).

3.3.2 MultiPill-Exercise-Studie

In die Pilotstudie der MultiPill-Exercise-Studie wurden insgesamt 39 Teilnehmende eingeschlossen. Bei vier Teilnehmenden konnte aus diversen Gründen kein Blut für die Bestimmung der Metaboliten abgenommen werden, weshalb für die in dieser Arbeit stattfindende Auswertung eine Stichprobengröße von $n=35$ resultierte. Ein Überblick über die physiologischen und anthropometrischen Daten der TeilnehmerInnen verschafft auch hier Tabelle 1. Bei den inkludierten PatientInnen handelte es sich um volljährige Personen, die zwei bis drei der folgenden Diagnosen und/oder Risikofaktoren aufwiesen:

- i) Knie- und/oder Hüftosteoarthritis;
- ii) Diabetes Mellitus Typ 2 bzw. Deutsche Diabetes-Risiko-Test (GDRS) ≥ 57 Punkte;
- iii) Kardiovaskuläre Risikofaktoren bspw. PROCAM-Score für das 10-Jahres-Myokard-Infarkt-Risiko $> 10\%$ in der alters- und geschlechtsspezifischen Referenzgruppe;
- iv) Übergewicht/Fettleibigkeit mit einem BMI ≥ 27 kg/m².

Der Bewegungsumfang der Teilnehmenden durfte vor den Studieninterventionen nicht mehr als 75 % des für Erwachsene empfohlenen nationalen Richtwerts für körperliche Aktivität betragen (Schweda *et al.*, 2022). Dieser empfiehlt für Erwachsene bis 65 Jahre wöchentlich einen Umfang von entweder mindestens 150 Minuten moderate oder 75 Minuten intensive Ausdaueraktivität bzw. eine kombinierte Variante – ergänzt durch Kräftigungsübungen an mindestens zwei Tagen pro Woche (Pfeifer and Rütten, 2017).

3.4 Diagnostik

Die iReAct-Studie und die MultiPill-Exercise-Studie teilten bei den diagnostischen Methoden einige Gemeinsamkeiten. Bei beiden Studien wurden neben physiologischen und anthropometrischen Daten auch Parameter der physischen Fitness bestimmt. Beiden gemein war ebenfalls die Abnahme und Bestimmung der Metaboliten im Blut. Diese Methodiken werden ausführlich im Kapitel zur iReAct-Studie beschrieben. Im Anschluss werden kurz die Unterschiede zur MultiPill-Exercise-Studie dargestellt.

3.4.1 iReAct-Studie

Im Verlauf der iReAct-Studie wurden wie bereits erwähnt zu insgesamt drei Zeitpunkten Daten erhoben. Zu Beginn (t_0 , Woche 1) der Studie wurden die sogenannten *baseline*-Daten erfasst. Dazu zählten neben den physiologischen und psychosozialen Daten auch anthropometrische Messwerte wie der BMI und die jeweilige Muskel- und Fettmasse. Letztere wurden mit Hilfe einer bioelektrischen Impedanzanalyse (BIA) (InBody770, InBody, Seoul, South Korea) gemessen. Des Weiteren wurde bei der *baseline*-Diagnostik eine Muskelbiopsie aus dem *M. vastus lateralis* entnommen (Thiel *et al.*, 2019).

Darüber hinaus wurde bei den ProbandInnen der Substudie „*Metabolomics*“ kapilläres Blut am Ohrläppchen abgenommen und auf Trockenblutkarten, sogenannte Guthrie Cards, aufgetragen. Diese Karten sind bereits aus dem Neugeborenen-Screening bekannt und dienen dort anhand der Bestimmung ausgewählter Metabolitenkonzentrationen der frühzeitigen Erkennung von Stoffwechselkrankheiten wie beispielsweise der Phenylketonurie (Partington and Sinnott, 1964). Das Bestücken der Guthrie-Cards erfolgte jeweils *pre-exercise*, sodass sich die ProbandInnen zu diesem Zeitpunkt in einem körperlichen Ruhezustand befanden.

Anschließend folgte die Bestimmung der physischen Fitness, die im Rahmen einer Spiroergometrie ermittelt wurden. Dies umfasste Werte wie die maximale Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_{2max}$), die HR_{max} und die Laktatschwellen (LT1 und LT2). Bei der entsprechenden Spiroergometrie wurde auf einem

Fahrradergometer (Ergoselect 200, Ergoline GmH, Bitz, Deutschland) ein Stufentest gefahren. Dabei wurde die Leistungsintensität, für Teilnehmerinnen beginnend bei 25W, für Teilnehmer beginnend bei 50W, alle 3 Minuten um 25W gesteigert. Der Test endete bei subjektiver Erschöpfung der Testperson. Die durch das dauerhaft laufende 12-Kanal-PC-EKG (custo med GmbH, Ottobrunn, Deutschland) registrierte höchste Herzfrequenz wurde anschließend als HR_{\max} definiert. Die ventilatorischen Werte wie der pulmonale Gasaustausch und die Sauerstoffaufnahme wurden mit einem Spiroergometrie-System (MetaLyzer, CORTEX Biophysics, Leipzig, Deutschland) erhoben. Die daraus resultierenden $\dot{V}O_2$ -Daten wurden zunächst bearbeitet. Die Datenpunkte, die außerhalb des 95 % Konfidenzintervalls des Mittelwerts (± 2 SD) lagen, wurden als Ausreißer angesehen und nachfolgend entfernt. Anschließend wurden alle Daten sekundenweise interpoliert und in 30-Sekunden-Blöcke eingeteilt. Um daraus die maximale Sauerstoffaufnahme ableiten zu können, wurde der Block mit dem höchsten Durchschnittswert herangezogen (Maturana *et al.*, 2021). $\dot{V}O_{2\max}$ galt als erreicht, wenn gemäß der Empfehlungen des *American College of Sports Medicine* zwei der drei zusätzlichen Kriterien erfüllt werden:

- i) eine HF_{\max} von höchstens zehn Schlägen pro Minute (bpm) unter der anzunehmenden altersabhängigen maximalen Herzfrequenz ($220 - \text{Lebensalter}$);
- ii) ein respiratorischer Quotient (RER, *respiratory exchange ratio*) von $>1,1$; und
- iii) eine maximale Blutlaktatkonzentration >8 mmol/l (Maturana *et al.*, 2021).

Die Laktatkonzentration wurde amperometrisch gemessen. LT_1 definiert den Punkt des ersten Anstiegs der Laktatkurve über die ursprüngliche Basislaktatkonzentration. LT_2 hingegen markiert den zweiten, exponentiellen Anstieg der Laktatkurve (s. Abbildung 7) (Binder *et al.*, 2008).

Die Messung der biopsychosozialen Charakteristika wurde jeweils nach der ersten Trainingsperiode beim *Follow-up 1* (t_1 , Woche 8) und nach der zweiten Trainingsperiode beim *Follow-up 2* (t_2 , Woche 15) wiederholt (Thiel *et al.*, 2019). Um zu verhindern, dass sich akute Effekte der letzten Trainingseinheit bei den *Follow-up*-Diagnostiken zeigten, wurden diese mindestens 48h nach der letzten Trainingseinheit durchgeführt (Widmann *et al.*, 2022).

Die Abnahme und Anwendung der Guthrie Cards konnte jedoch nicht bei jedem/r Teilnehmenden zu allen drei Messzeitpunkten (t_0 , t_1 , t_2) erfolgen. Grund dafür war zum einen, dass die Metabolitenbestimmung erst nach Beginn der iReAct-Studie durchgeführt wurde. Dementsprechend wurde die Trockenblutabnahme zu einem Zeitpunkt in das Studienprotokoll aufgenommen, zu dem einige ProbandInnen bereits ihre ersten beiden Diagnostiktermine wahrgenommen hatten. Folglich konnten von diesen Teilnehmenden nur noch Proben zum Zeitpunkt t_2 gewonnen werden. Zum anderen konnten einige StudienteilnehmerInnen aufgrund der Covid-19-Pandemie ihre *follow-up*-Termine nicht wahrnehmen, sodass auch dort eine Metabolitenbestimmung nicht stattfinden konnte.

Abbildung 8 verschafft hierbei einen Überblick darüber, zu welchen Messzeitpunkten und von welchen ProbandInnen Metabolitenkarten gewonnen werden konnten. Die einzelnen Personen sind dabei mit ihrer ProbandInnennummer aufgelistet, unter der sie auch in der Studie geführt wurden.

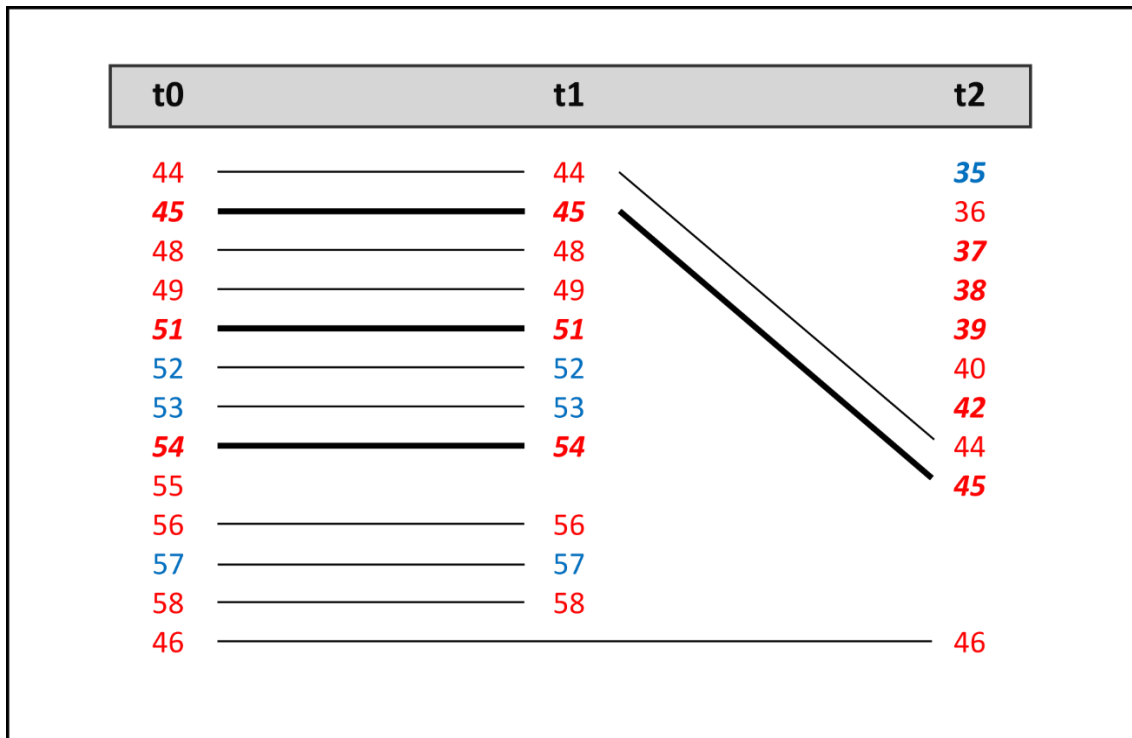


Abbildung 8: ProbandInnen sortiert nach Geschlecht und Trainingszuweisung zu den Diagnostikzeitpunkten t0, t1 und t2.

Die Abbildung zeigt eine Darstellung der einzelnen ProbandInnen, aufgelistet anhand ihrer individuellen ProbandInnennummer, über die Diagnostikzeitpunkte t0, t1 und t2, sortiert nach Geschlecht und Trainingszuweisung. Die Abbildung erlaubt eine individuelle Verfolgung der Trainingsinterventionen im zeitlichen Verlauf, sowie einen Überblick darüber, zu welchen Messzeitpunkten und von welchen ProbandInnen Metabolitenkarten und die weiteren diagnostischen Parameter gemessen werden konnten. Zum Zeitpunkt t0 liegen Blut- und Messwerte von insgesamt n=13 Teilnehmenden, darunter drei Männer und 10 Frauen, vor. Zum Zeitpunkt t1 konnten Blut- und Messwerte von n=11 (drei Männer und acht Frauen) und zum Zeitpunkt t2 von n=10 (ein Mann und neun Frauen) Teilnehmenden gewonnen werden. blau: männlich, rot: weiblich, dünne Schrift / Linie: MICT-HIIT, fette und kursive Schrift / Linie: HIIT-MICT [eigene Darstellung]

3.4.2 MultiPill-Exercise-Studie

Die MultiPill-Exercise-Studie umfasst ebenfalls die Erhebung und Auswertung einer Vielzahl von Daten. So wurden neben Parametern der körperlichen Zusammensetzung und der physischen Fitness auch Daten bezüglich des Ess- und Sportverhaltens mittels Fragebögen eruiert. Da jedoch für den in Kapitel 4.4 stattfindenden Vergleich der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie nur die Daten der Metaboliten relevant waren, wird folglich nur auf die entsprechenden

Diagnostikzeitpunkte zusätzlich eingegangen. Die Bestimmung der Metaboliten erfolgte genau wie bei der iReAct-Studie mit Hilfe von Guthrie Cards zunächst im Rahmen der *baseline*-Diagnostik (t0). Die Kapillarblutentnahme wurde dann beim ersten *follow-up*-Termin nach 12 Wochen (drei Monaten, t3) wiederholt. Eine dritte Bestimmung der Metaboliten fand zum Zeitpunkt t6 nach sechs Monaten statt. Bei der t6-Diagnostik wurden zusätzlich zu den standardmäßigen Blutabnahmen vor Belastung auch Guthrie Cards nach der im Rahmen der Spiroergometrie-Diagnostik stattfindenden Belastung bestückt (Schweda *et al.*, 2022). Diese Arbeit befasst sich jedoch nur mit Metabolitenkonzentrationen der t3-Diagnostik, da nur zu diesem Zeitpunkt (nach 12-wöchiger Trainingsintervention) ein Vergleich zu den t2-iReAct-Daten (ebenfalls nach 12-wöchiger Trainingsintervention) sinnvoll ist.

3.4.3 Analytik der Metaboliten

Nachdem das Blut bei den Diagnostiken abgenommen und auf die Guthrie Cards aufgetragen worden war, wurden diese gesammelt und in das *Screening*-Labor Hannover zur Auswertung geschickt. Die Analytik der Metaboliten erfolgte bei beiden Studien identisch. Um biologischen Proben für ein *Metabolomic*-Experiment in einen geeigneten Zustand für eine chemische Analyse zu überführen, müssen diese zunächst weiterverarbeitet oder extrahiert werden. Flüssigproben wie Plasma, Serum, Urin oder Speichel werden üblicherweise zunächst gefiltert. Dabei werden Proteine oder andere Zelltrümmer entfernt, um unter anderem auch enzymatische Reaktionen, die den Metabolitenspiegel verändern können, zu verhindern. Eine Alternative zur Filtration ist die Extraktion mittels organischer Lösungsmittel. So können mit Hilfe polarer Lösungsmittel wie Methanol ebenfalls polare Metabolite aus den Proben extrahiert werden. Unpolare Lösungsmittel (z.B. Chloroform) werden verwendet, um unpolare Metaboliten oder Lipide aus dem Biofluid zu extrahieren. Durch die Lösungsmittelextraktion kann somit ebenfalls eine enzym- und proteinfreie Probe generiert werden. Nach den Schritten der Probenvorbereitung folgt die chemische Analyse der Metabolite. Die beiden hierfür am häufigsten verwendeten Methoden sind die MS- und die NMR-Spektroskopie (Khoramipour

et al., 2022). Die dominierende Methode ist hierbei die MS-basierte Metabolomik (Schranner *et al.*, 2020). Die MS bietet eine schnelle, genaue und hochempfindliche Analyse von Metaboliten. Sie findet häufig ihre Anwendung bei den sogenannten *non-targeted Metabolomics*-Analysen und ist gut dafür geeignet, mehrere Moleküle in einem Analyseverfahren zu messen (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Bei der MS werden die Metaboliten auf Grund ihrer spezifischen Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse (m/z) identifiziert. Bevor die Probe jedoch in das Massenspektrometer injiziert wird, werden in den meisten Fällen vorher chemische Trennschritte durchgeführt. Diese dienen der Reduktion der Komplexität der Probe und erhöhen somit die Empfindlichkeit der MS und ihre Fähigkeit, einzelne Metaboliten nachzuweisen.

Die am häufigsten angewandten Trennverfahren sind die Gas- und Flüssigkeitschromatographie sowie die Kapillarelektrophorese (CE). Bei jeder der genannten Methoden werden die in der Probe enthaltenen Moleküle aufgrund ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften getrennt (Khoramipour *et al.*, 2022). Die Gaschromatographie eignet sich besonders für flüchtige Metabolite und Atemgasanalysen, da die Metaboliten bei diesem Trennverfahren in der Gasphase in das Analysesystem gelangen müssen (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Dabei werden sie basierend auf ihren Siedepunkten und Massen sowie ihrer Polarisierbarkeit und molekularen Form aufgetrennt (Khoramipour *et al.*, 2022). Die Flüssigkeitselektrophorese hingegen eignet sich besonders für nichtflüchtige Metaboliten, die in Blut- oder Urinproben enthalten sind (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Hier werden die einzelnen Komponenten hinsichtlich ihrer Ladung, Größe und Hydrophobizität aufgetrennt. Die CE trennt die Moleküle aufgrund ihrer Ladung und der dadurch abhängigen Bewegung im elektrischen Feld (Khoramipour *et al.*, 2022).

Um das Analyseverfahren der MS neben zusätzlichen Trennschritten noch sensitiver zu machen, kann das Verfahren der kollisionsinduzierten Dissoziation (CID) angewandt werden. Dabei werden die Molekülonen in einem elektrischen Feld beschleunigt und kollidieren anschließend mit einem neutralen Zielgas. Die Kollision führt zur Fragmentierung der Ionen, sodass kleinere und genauer identifizierbare Moleküle entstehen (Mitchell Wells and McLuckey, 2005). Die Metaboliten und deren Fragmente können dann durch den Vergleich der Massenspektren mit und ohne angewendeter Kollisionsenergie genauer

analysiert werden. Die Verfahren mit zusätzlicher Anwendung von Kollisionsenergie werden auch Tandem-MS oder MS/MS genannt. Mit Hilfe der Kombination einer Trennmethode und MS können zunächst bekannte Standardreferenzverbindungen ermittelt werden. Der anschließende Vergleich der Retentions- bzw. Migrationszeiten, Massenspektren und MS/MS-Spektren führt zur endgültigen Identifizierung der Metaboliten (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019). Die Methode der Tandem-MS fand auch bei der Auswertung und Analyse der in dieser Studie gewonnenen Guthrie Cards ihre Anwendung (Screening-Labor Hannover, 2025).

3.5 Statistische Methoden

Für die Durchführung der statistischen Analysen wurde das Programm IBM SPSS Statistics Version 26.0 (IBM, Armonk, NY, USA) verwendet. Alle Tests wurden zweiseitig berechnet; p-Werte $\leq 0,05$ galten als signifikant (*) und $\leq 0,01$ als hochsignifikant (**). Zur Prüfung der Normalverteilung kamen der Shapiro-Wilk- und der Kolmogorov-Smirnov-Test zum Einsatz. Aufgrund der geringen Fallzahl wurde dem Shapiro-Wilk-Test wegen seiner höheren Teststärke bei kleinen Stichproben mehr Bedeutung beigemessen (Mohd Razali and Yap, 2011). Die Nullhypothese H_0 postuliert eine Normalverteilung; bei $p < 0,05$ wird sie zugunsten der Alternativhypothese verworfen. Zum Vergleich der Mittelwerte wurden t-Tests für normalverteilte sowie Mann-Whitney-U-Tests bzw. Vorzeichenstests für nicht normalverteilte Daten angewandt. Für den Vergleich von t_0 und t_1 kam ein t-Test für abhängige Stichproben bzw. der Vorzeichenstest zur Anwendung, wobei die Fälle IR0046 und IR0055 ausgeschlossen wurden, da sie nicht zum verbundenen Datensatz gehörten. Für das übrige Kollektiv wurden t-Tests für unabhängige Stichproben bzw. der Mann-Whitney-U-Test genutzt. Bei den zeitlich differenzierten Gruppen t_0 und t_2 mussten IR0044, IR0045 und IR0046 ausgeschlossen werden, da sie verbundene Werte darstellten. Korrelationen zwischen kontinuierlichen Variablen wurden mittels Spearman-Korrelationskoeffizient r berechnet, der gegenüber Ausreißern weniger sensitiv ist als der Pearson-Koeffizient und daher besonders bei kleinen Stichproben Anwendung findet. Zur Orientierung für die Interpretation können die Richtlinien nach Cohen, 1988, herangezogen werden: Korrelationen ab $|r|=0,1$ gelten als schwach, ab $|r|=0,3$ als moderat und ab $|r|=0,5$ als stark.

Die deskriptive Statistik wurde mittels JASP 0.16.3.0 (JASP, Amsterdam, NH, Niederlande) erstellt. Für die grafischen Darstellungen wie Boxplots und Liniendiagramme wurde das Programm IBM SPSS Statistics Version 26.0 (IBM, Armonk, NY, USA) verwendet.

Zur sprachlichen Optimierung einzelner Textpassagen, insbesondere zur Korrektur von Grammatik, Satzbau sowie zur stilistischen Überarbeitung in Richtung eines wissenschaftlichen Schreibstils wurde die KI-Anwendung ChatGPT (Version GPT-4, Stand Juli 2025) der Firma OpenAI unterstützend eingesetzt.

4 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit systematisch dargestellt und analysiert. Zunächst erfolgt eine deskriptive Darstellung der Ausgangskonzentrationen (*baseline*-Werte) der untersuchten Metaboliten zum Erhebungszeitpunkt vor Beginn der Trainingsinterventionen. In diesem Zusammenhang wird auch auf mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede in der metabolischen Ausgangslage eingegangen. Im Anschluss daran wird die zeitliche Dynamik der Metabolitenkonzentrationen über den Verlauf der Trainingsphasen hinweg untersucht. Dabei liegt der Fokus auf der Identifikation potenzieller Zusammenhänge zwischen den beobachteten metabolischen Veränderungen und den trainingsinduzierten physiologischen Anpassungsreaktionen. Im abschließenden Teil der Ergebnispräsentation erfolgt ein vergleichender Analyseansatz, in dem die metabolischen Profile der Teilnehmenden der iReAct-Studie jenen der MultiPill-Exercise-Studie gegenübergestellt werden. Dabei werden Gemeinsamkeiten und Unterschiede in den metabolischen Reaktionen auf körperliche Aktivität in unterschiedlichen Studienkontexten herausgearbeitet und versucht dadurch ein vertieftes Verständnis möglicher Einflussfaktoren auf individuelle Trainingsantworten zu gewinnen.

4.1 *baseline*-Metabolitenkonzentrationen

In diesem Abschnitt wird ein kurzer Überblick über die gemessenen Metaboliten zum Zeitpunkt t_0 gegeben. Dieser soll die Ausgangslage der Teilnehmenden vor den Sportprogrammen aufzeigen und stellt somit den Grundzustand der untrainierten Testpersonen dar. Anschließend wird auf mögliche Geschlechterunterschiede der Metaboliten-Muster in diesem Datensatz eingegangen. Die Beschreibung der *baseline*-Konzentrationen erfolgt in einem ersten Schritt rein deskriptiv, während der Vergleich der Geschlechtergruppen in einem zweiten Schritt statistisch aufbereitet wird.

4.1.1 Überblick über die *baseline*-Metabolitenkonzentrationen

Im Rahmen der *baseline*-Diagnostik wurden von insgesamt 13 Testpersonen eine Vielzahl von Metaboliten bestimmt. Diese Arbeit beschränkt sich jedoch auf die Auswertung solcher Faktoren, zu denen ein vollständiger Datensatz vorlag. Bei einigen verzweigt-kettigen Acylcarnitinen wurde erst im späteren Verlauf der Studie damit begonnen, die Konzentrationen zu bestimmen, sodass von den TeilnehmerInnen der früheren Kohorte (IR0035-IR0042) diesbezüglich keine Daten vorlagen. Dementsprechend wurden manche verzweigt-kettigen Acylcarnitine zum Zeitpunkt „ t_0 “ lediglich bei 5 ProbandInnen und zum Zeitpunkt „ t_1 “ bei 9 Testpersonen bestimmt. Zum Zeitpunkt „ t_2 “ waren zu diesen Acylcarnitinen zudem ebenfalls keine Daten verfügbar, da der entsprechende Termin von der späteren Kohorte (IR0044-IR0058) aufgrund der Covid-19 Pandemie nicht wahrgenommen werden konnte. Besonders das Fehlen der t_2 -Daten und die ansonsten geringen Fallzahlen sind dafür verantwortlich, dass manche Metaboliten nicht zielführend hinsichtlich ihrer zeitlichen Entwicklung und ihrer Reaktionen auf Trainingsreize ausgewertet werden konnten. Dementsprechend wurden sie in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

Der restliche Datensatz beinhaltete für jeden Messzeitpunkt eine Vielzahl an gemessenen Metaboliten. Diese können in chemische Gruppen unterteilt werden. In der Gruppe der Aminosäuren wurden neben den BCAAs Valin (Val), Leucin (Leu) und Isoleucin (Ile) auch die Aminosäuren Citrullin (Cit), Methionin

(Met), Phenylalanin (Phe) und Tyrosin (Tyr) sowie dessen Abbauprodukt Succinylaceton (SAC) untersucht. Metaboliten, die aufgrund eines identischen Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses (m/z) im Massenspektrometer nicht zu unterscheiden sind, werden als gemeinsame Summe angegeben. Dazu zählen unter anderem die Aminosäuren Leucin und Isoleucin. Dementsprechend werden diese in der Auswertung als gemeinsame Summe (Xle) angegeben.

Des Weiteren wurden die Konzentrationen des freien Carnitins (C0) und des Gesamtcarnitins (CxGes) analysiert. Schließlich wurden in dieser Arbeit die Konzentrationen verschiedener Acylcarnitine (AC) untersucht. Diese wurden hierfür in kurzkettige (C2, C3, C4, C5), mittelkettige (C6, C8, C10, C10:1, C12, C12:1) und langkettige (C14, C16, C18, C18:1, C18:2) Acylcarnitine eingeteilt. Die Zahl beschreibt jeweils die Anzahl der Kohlenstoffatome in der Seitenkette. Weisen die Moleküle Doppelbindungen zwischen Kohlenstoffatomen auf, so werden diese in ihrer Anzahl nach dem Doppelpunkt aufgeführt.

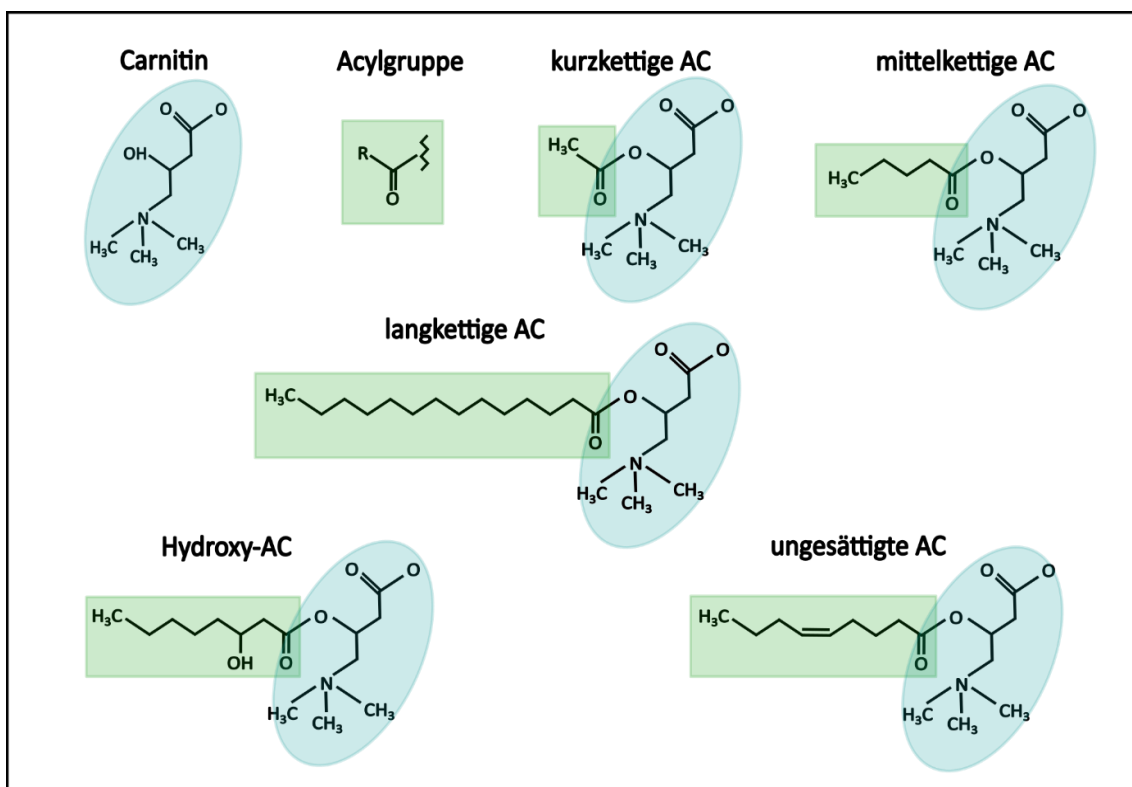


Abbildung 9: Übersicht über den strukturellen Aufbau der (Acyl-)Carnitine. Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung des strukturellen Aufbaus von (Acyl-)Carnitinen. Die Grundstruktur besteht aus Carnitin (blau hervorgehoben), das mit einer Acylgruppe (grün hervorgehoben) verestert ist. Die Acylkette variiert in Länge, Sättigungsgrad und Substituenten und bestimmt die Einteilung in kurzkettige, mittelkettige, langkettige, ungesättigte und Hydroxy-Acylcarnitine. AC: Acylcarnitin [eigene Darstellung in Anlehnung an Dambrova *et al.*, 2022]

Zur Verdeutlichung der Strukturformeln der Acylcarnitine dient Abbildung 9. Weitere, aufgrund ihres identischen Masse-zu-Ladungs-Verhältnisses in Summe angegebene, Verbindungen sind Malonyl (C3DC)- und 3-Hydroxybutyryl (C4OH)-AC (C3-DC+C4-OH), Methylmalonyl-Succinyl (C4DC)- und 3-Hydroxyisovaleryl (C5OH)-AC (C4-DC+C5-OH) sowie Glutaryl (C5DC)- und Hydroxyhexanoyl (C6OH)-AC (C5-DC+C6-OH). Alle Metaboliten werden mit der Zusatzbezeichnung „-u“ angegeben. Dies bedeutet, dass die Bestimmung der Parameter im Labor mit einer underivatisierten Methode erfolgte. Die Bezeichnung ist für die Unterscheidung im *Screening*-Labor Hannover wichtig, da dort die gleichen Parameter auch in einer derivatisierten (butylierten) Form bestimmt werden können. Alle Metaboliten werden stets in der Einheit $\mu\text{mol/l}$ angegeben.

Einen Überblick über die *baseline*-Konzentrationen der insgesamt 27 betrachteten Metaboliten verschafft Tabelle 2. Auffällig ist, dass bei den (Acyl-)Carnitinen neben dem Gesamtcarnitin und dem freien Carnitin besonders der Metabolit C2 in hoher Konzentration vorlag.

Tabelle 2: Überblick über die deskriptive Statistik der ausgewerteten Metaboliten zum Zeitpunkt t0 (Zahl der ProbandInnen n=13)

Metabolit	Mittelwert [$\mu\text{mol/l}$]	Standardabweichung [$\mu\text{mol/l}$]	Minimum [$\mu\text{mol/l}$]	Maximum [$\mu\text{mol/l}$]
Aminosäuren				
Citrullin	27.300	9.440	17.000	52.200
Methionin	12.892	2.238	9.300	17.200
Phenylalanin	42.015	3.932	35.400	47.900
Tyrosin	38.492	8.666	25.500	53.800
Valin	93.738	15.268	66.100	118.300
(Iso-)Leucin	105.946	13.789	85.300	136.500
Abbauprodukte				
Succinylaceton	0.701	0.063	0.610	0.820
Carnitin				
freies Carnitin	19.050	5.038	11.860	26.710
Gesamtcarnitin	32.231	9.058	20.300	49.400
Kurzkettige Acylcarnitine				
C2	8.802	3.969	4.290	15.880
C3	1.163	0.563	0.440	2.340
C4	0.155	0.062	0.090	0.270
C5	0.084	0.030	0.050	0.150
C3-DC+C4-OH	0.047	0.023	0.020	0.100
C4-DC+C5-OH	0.202	0.061	0.100	0.310
C5-DC+C6-OH	0.118	0.043	0.080	0.230
Mittelkettige Acylcarnitine				
C6	0.028	0.009	0.020	0.050
C8	0.043	0.026	0.020	0.120
C10	0.089	0.067	0.040	0.270
C10:1	0.030	0.012	0.020	0.050
C12	0.029	0.018	0.010	0.070
C12:1	0.018	0.011	0.010	0.050
Langkettige Acylcarnitine				
C14	0.067	0.025	0.040	0.120
C16	0.686	0.304	0.320	1.320
C18	0.494	0.225	0.160	0.950
C18:1	0.827	0.300	0.310	1.280
C18:2	0.198	0.070	0.060	0.290

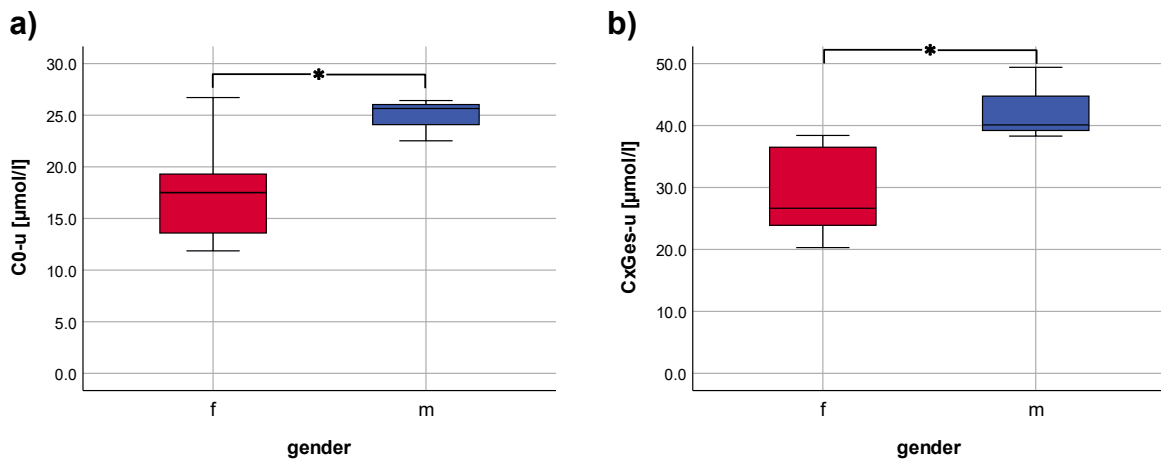
4.1.2 Geschlechterunterschiede bei den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen

Zum Zeitpunkt t0 wurden von insgesamt zehn Frauen und drei Männern die metabolischen Profile bestimmt. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Unterschiede der Metabolitenkonzentrationen zwischen Frauen und Männern ausschließlich zum Zeitpunkt t0 betrachtet. Um auf die Differenzen der zeitlichen Entwicklung der Metaboliten bei Frauen und Männern einzugehen, war der vorliegende Datensatz nicht geeignet: Zum Messzeitpunkt t2 lagen lediglich Blutwerte eines einzigen männlichen Probanden vor, weshalb ein Vergleich der Mittelwerte der weiblichen und männlichen Kohorte nicht sinnvoll erscheint. Zum Zeitpunkt t1 lagen zwar ebenso wie zum Zeitpunkt t0 insgesamt drei Datensätze männlicher Probanden vor, allerdings waren die entsprechenden Männer unterschiedlichen Trainingsgruppen zugeteilt. Demensprechend hatten zwei Männer zum Zeitpunkt der t1-Diagnostik für sechs Wochen nach dem HIIT-Programm trainiert, wohingegen nur ein Mann nach dem MICT-Programm trainiert hatte. Ein nach Trainingsprogramm aufgeteilter Vergleich der Daten der beiden Geschlechter wäre denkbar, ist aber auf Grund der geringen Fallzahlen in der Gruppe der Männer ebenfalls nicht sinnvoll. Ein Geschlechtervergleich aller t1-Daten wird durch die Tatsache erschwert, dass die jeweils unterschiedlich durchlaufenen Trainingsprogramme zum Zeitpunkt t1 eine erhebliche Störvariable darstellen könnten. So hatten nach sechs Wochen insgesamt drei Frauen das HIIT-Training und fünf Frauen das MICT-Training absolviert, wohingegen zwei Männer das HIIT- bzw. nur ein Mann das MICT-Programm durchlaufen hatten. Unterschiede bezüglich der t1-Konzentrationen der einzelnen Metaboliten hätten demensprechend nur mit großer Vorsicht auf die Geschlechterdifferenz zurückgeführt werden können.

Einen Vergleich der *baseline*-Metabolitenkonzentrationen von Frauen und Männern lässt der Datensatz, der dieser Arbeit zugrunde liegt, hingegen zu. In der Gruppe der Aminosäuren konnten dabei keine signifikanten Differenzen zwischen den Mittelwerten der weiblichen und männlichen Kohorte festgestellt werden.

Bei den (Acyl-)Carnitinen fielen dagegen vor allem für das freie Carnitin ($MW_m: 24,86 \pm 2,07 \mu\text{mol/l}$; $MW_f: 17,31 \pm 4,27 \mu\text{mol/l}$; $p=0,015^*$) und das Gesamtcarnitin

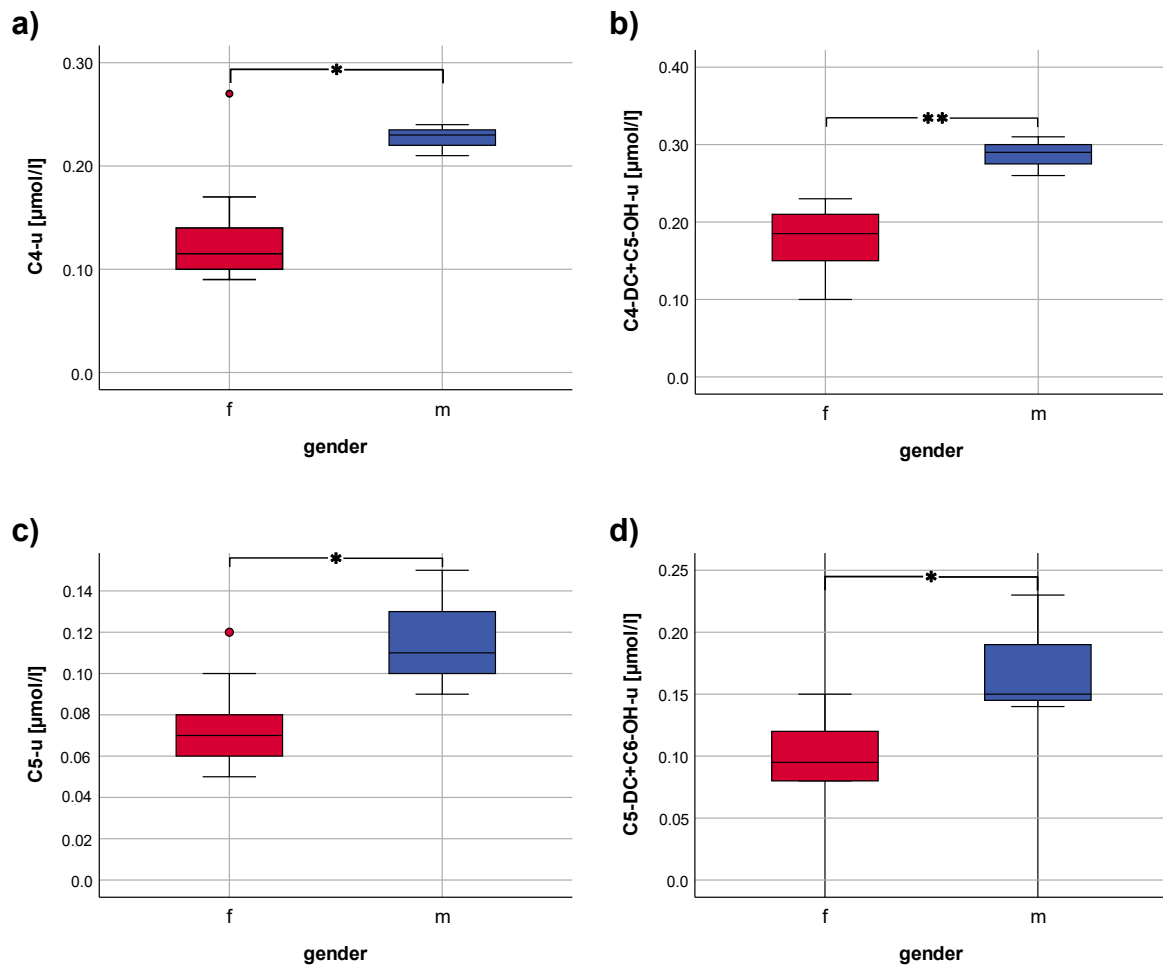
(MW_m: 42,60 ± 5,96 µmol/l; MW_f: 29,12 ± 7,41 µmol/l; p=0,016*) signifikant höhere Werte bei den Männern als bei den Frauen auf. Bei den kurzkettigen Acylcarnitinen wiesen die Probanden bei den Metaboliten C4 (MW_m: 0,22 ± 0,02 µmol/l; MW_f: 0,13 ± 0,05 µmol/l; p=0,049*) und C5 (MW_m: 0,12 ± 0,03 µmol/l; MW_f: 0,07 ± 0,02 µmol/l; p=0,022*), sowie bei den Summen der Metabolite C4-DC+C5-OH (MW_m: 0,29 ± 0,03 µmol/l; MW_f: 0,18 ± 0,04 µmol/l; p=0,001**) und C5-DC+C6-OH (MW_m: 0,17 ± 0,05 µmol/l; MW_f: 0,10 ± 0,02 µmol/l; p=0,014*) signifikant höhere Konzentrationen auf als die Probandinnen. Auch die mittelkettigen Acylcarnitine C6 (MW_m: 0,04 ± 0,01 µmol/l; MW_f: 0,02 ± 0,01 µmol/l; p=0,028*), C8 (MW_m: 0,08 ± 0,04 µmol/l; MW_f: 0,03 ± 0,01 µmol/l; p=0,028*), C10:1 (MW_m: 0,04 ± 0,01 µmol/l; MW_f: 0,03 ± 0,01 µmol/l; p=0,049*) und C12 (MW_m: 0,05 ± 0,02 µmol/l; MW_f: 0,02 ± 0,01 µmol/l; p=0,014*) waren bei den männlichen Teilnehmenden im Vergleich erhöht. In der Gruppe der langkettigen Acylcarnitine konnten für die Metabolite C14 (MW_m: 0,10 ± 0,03 µmol/l; MW_f: 0,06 ± 0,02 µmol/l; p=0,012*) und C18 (MW_m: 0,75 ± 0,20 µmol/l; MW_f: 0,42 ± 0,17 µmol/l; p=0,016*) ebenfalls signifikant höhere Werte bei den Männern festgestellt werden. Die Abbildungen 10-13 sollen die Unterschiede zwischen den Geschlechtergruppen verdeutlichen.



f: Frauen (n=10), m: Männer (n=3)
*: signifikanter Unterschied

Abbildung 10: Freies Carnitin und Gesamtcarnitin zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] vom **a)** freien Carnitin (C0) ($p=0,015^*$) und **b)** Gesamtcarnitin (CxGes) ($p=0,016^*$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach Geschlecht. Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Geschlechtergruppen männlich (blau) und weiblich (rot). Die Box zeigt den Interquartilsabstand (IQR) (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box.

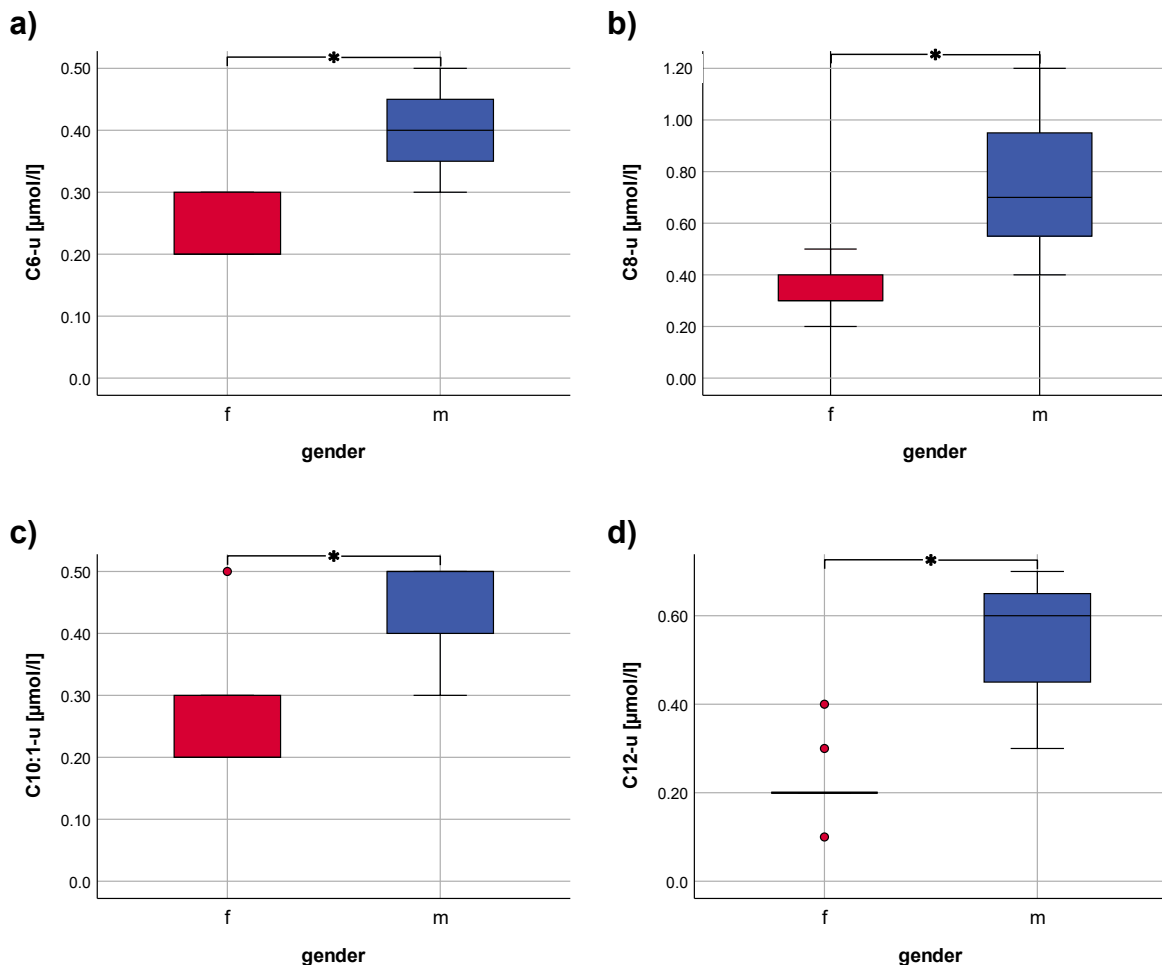


f: Frauen (n=10), m: Männer (n=3)

*: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 11: kurz-kettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.

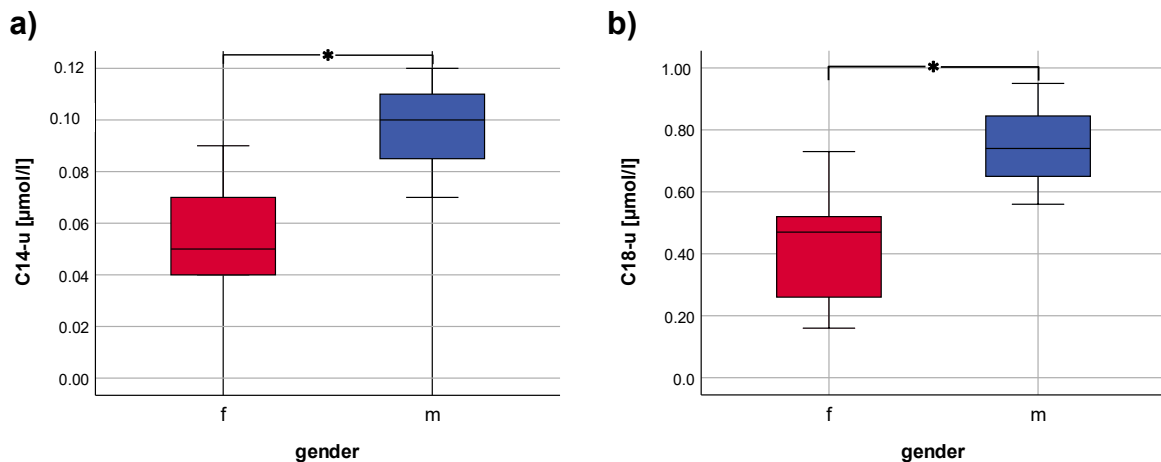
Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den Metaboliten **a)** C4-u ($p=0,049^*$), **b)** C4-DC+C5-OH-u ($p=0,001^{**}$), **c)** C5-u ($p=0,022^*$) und **d)** C5-DC+C6-OH-u ($p=0,014^*$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach Geschlecht. Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Geschlechtergruppen männlich (blau) und weiblich (rot). Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box. Das Fehlen eines unteren Whiskers der Darstellung der weiblichen Daten des Metaboliten C5-DC+C6-OH-u erklärt sich dadurch, dass der kleinste Wert in diesem Kollektiv am 25. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unterkante der Box zusammenfällt. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden.



f: Frauen (n=10), m: Männer (n=3)
*: signifikanter Unterschied

Abbildung 12: mittelkettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den Metaboliten **a)** C6-u ($p=0,028^*$), **b)** C8-u ($p=0,028^*$), **c)** C10:1-u ($p=0,049^*$) und **d)** C12-u ($p=0,014^*$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach Geschlecht. Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Geschlechtergruppen männlich (blau) und weiblich (rot). Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der fette (Mittel)Strich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden. Das Fehlen einiger Whiskers erklärt sich dadurch, dass der kleinste bzw. größte Wert in diesem Kollektiv am 25. bzw. 75. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unter- bzw. Oberkante der Box zusammenfällt. Bei den C12-Werten der weiblichen Probanden fallen Median sowie erstes und drittes Quartil aufgrund einer geringen Streuung im IQR zusammen, sodass der IQR null beträgt und die Box auf eine Linie reduziert wird.



f: Frauen (n=10), m: Männer (n=3)
*: signifikanter Unterschied

Abbildung 13: langkettige Acylcarnitine zum Zeitpunkt t0 sortiert nach Geschlecht.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den Metaboliten **a)** C14-u ($p=0,012^*$) und **b)** C18-u ($p=0,016^*$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach Geschlecht. Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Geschlechtergruppen männlich (blau) und weiblich (rot). Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box. Das Fehlen eines unteren Whiskers der Darstellung der weiblichen Daten des Metaboliten C14-u erklärt sich dadurch, dass der kleinste Wert in diesem Kollektiv am 25. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unterkante der Box zusammenfällt.

4.2 Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen während des Trainings

Ein weiteres Ziel dieser Arbeit bestand in der Analyse der Metabolitenkonzentrationen über den zeitlichen Verlauf. Hierbei wurden neben den *baseline*-Daten auch die Parameter zum Zeitpunkt t1 nach 6 Wochen Training bzw. zum Zeitpunkt t2 nach 12 Wochen Training betrachtet. In den folgenden Abschnitten wird zunächst ein allgemeiner rein deskriptiver Überblick über die zeitliche Entwicklung der Metabolitenkonzentrationen gegeben. Anschließend wird auf die Konzentrationsunterschiede der Metaboliten zwischen dem Referenzzeitpunkt t0 und den FUs eingegangen. Abschließend werden die Metabolitenkonzentrationen der zwei unterschiedlichen Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2 verglichen.

4.2.1 Allgemeine Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen während des Trainings

Um die Reaktionen der Metabolitenkonzentrationen auf die Trainingsreize zu beurteilen, muss deren zeitlicher Verlauf betrachtet werden. Tabelle 3 soll dabei einen Überblick über die Mittelwerte der einzelnen Metaboliten zu den drei Messzeitpunkten t0, t1 und t2 geben. Diese Tabelle und die folgenden Grafiken zeigen zunächst eine rein deskriptive Beschreibung der Metabolitenentwicklung. Die statistischen Auswertungen werden erst in den nachfolgenden Abschnitten des Kapitels 4.2 beschrieben. Die Werte der Metabolitenkonzentrationen zum Zeitpunkt t0 sind bereits in Tabelle 2 dargestellt, um eine bessere Gesamtübersicht zu gewährleisten, sind diese allerdings nochmal in der nachfolgenden Tabelle aufgegriffen.

Tabelle 3: Überblick über die deskriptive Statistik aller Metaboliten im zeitlichen Verlauf

Metabolit	Messzeitpunkt					
	t0		t1		t2	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Aminosäuren						
Citrullin	27.300	9.440	30.309	6.944	21.180	3.848
Methionin	12.892	2.238	12.855	4.021	4.740	1.079
Phenylalanin	42.015	3.932	41.345	4.884	37.320	6.016
Tyrosin	38.492	8.666	37.773	6.644	37.520	10.654
Valin	93.738	15.268	107.118	30.397	81.100	12.579
(Iso-)Leucin	105.946	13.789	121.082	28.442	93.930	25.668
Abbauprodukte						
Succinylaceton	0.701	0.063	0.712	0.106	0.575	0.049
Carnitin						
Freies Carnitin	19.050	5.038	20.772	6.295	22.355	5.302
Gesamtcarnitin	32.231	9.058	36.064	11.275	28.510	6.449
Kurzkettige Acylcarnitine						
C2	8.802	3.969	10.464	3.503	3.020	0.774
C3	1.163	0.563	1.317	0.650	0.671	0.163
C4	0.155	0.062	0.176	0.096	0.098	0.037
C5	0.084	0.030	0.105	0.040	0.066	0.021
C3-DC+C4-OH	0.047	0.023	0.050	0.015	0.023	0.007
C4-DC+C5-OH	0.202	0.061	0.201	0.050	0.157	0.067
C5-DC+C6-OH	0.118	0.043	0.135	0.052	0.106	0.024
Mittelkettige Acylcarnitine						
C6	0.028	0.009	0.028	0.008	0.018	0.006
C8	0.043	0.026	0.039	0.022	0.025	0.010
C10	0.089	0.067	0.073	0.053	0.038	0.023
C10:1	0.030	0.012	0.025	0.012	0.015	0.007
C12	0.029	0.018	0.027	0.014	0.014	0.005
C12:1	0.018	0.011	0.020	0.010	0.010	0.005
Langkettige Acylcarnitine						
C14	0.067	0.025	0.081	0.035	0.059	0.016
C16	0.686	0.304	0.784	0.347	0.552	0.162
C18	0.494	0.225	0.587	0.254	0.396	0.089
C18:1	0.827	0.300	0.878	0.310	0.644	0.216
C18:2	0.198	0.070	0.195	0.071	0.153	0.060

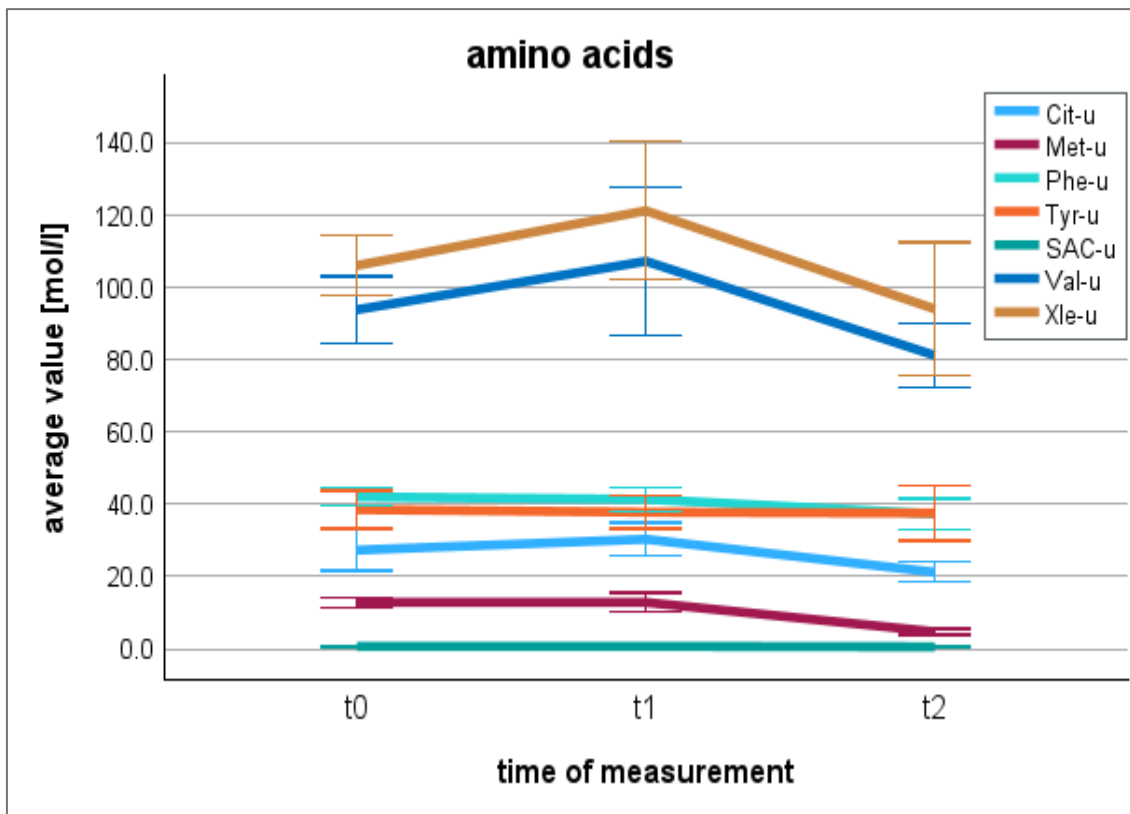
MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung

 $n_{t0}=13, n_{t1}=11, n_{t2}=10$ Alle Werte sind in $\mu\text{mol/l}$ angegeben

- ◆ Konzentration >10% des Ausgangswertes angestiegen
 ◆ Konzentration >10% des Ausgangswertes abgefallen
 ◆ Konzentration gleichbleibend ($\pm 10\%$ des Ausgangswertes)

Zum Messzeitpunkt t1 zeigte sich eine sehr heterogene Entwicklung der Metaboliten. 13 der insgesamt 27 Metaboliten stiegen zu diesem Zeitpunkt in ihrer Konzentration an. Die Durchschnittswerte von drei Metaboliten hingegen sanken, während insgesamt 11 Metaboliten in ihrer Konzentration gleichbleibend waren. Zum Zeitpunkt t2 konnte ein Abfall der Werte bei fast allen Metaboliten beobachtet werden. Das freie Carnitin stieg als einziger Metabolit in seiner Konzentration merklich über dessen Ausgangswert an.

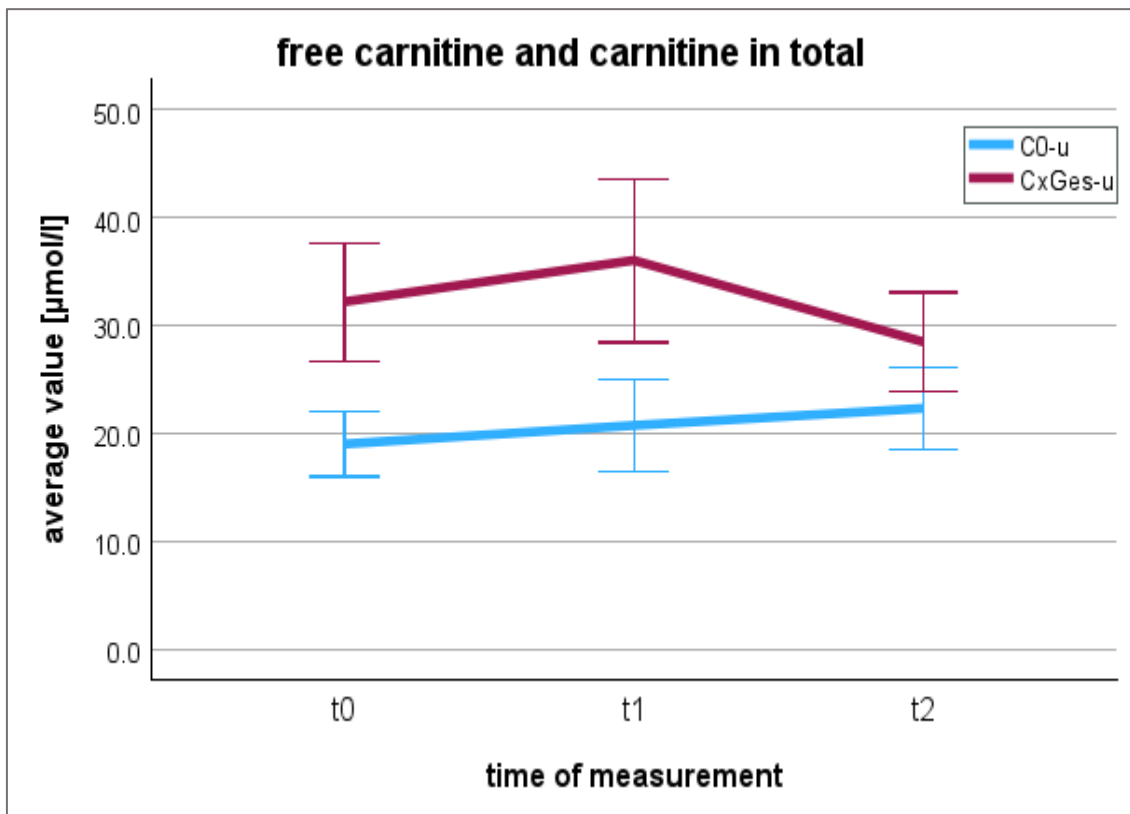
Die Abbildungen 14 bis 18 geben einen grafischen deskriptiven Überblick über die zeitliche Entwicklung der Metabolitenkonzentrationen.



$n_{t0}=13, n_{t1}=11, n_{t2}=10$; Fehlerbalken: 95% CI

Abbildung 14: Durchschnittliche Konzentrationen der Aminosäuren [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.

Die Abbildung zeigt die mittleren Konzentrationen [µmol/l] der Aminosäuren Citrullin, Methionin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin, (Iso-)Leucin und des Abbauproduktes Succinylaceton im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkte t0, t1 und t2. Die einzelnen Metabolite sind farblich differenziert dargestellt. Die angegebenen Mittelwerte werden jeweils durch Fehlerbalken ergänzt, die das 95%-Konfidenzintervall repräsentieren. Die Verbindung der Datenpunkte erfolgt ausschließlich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit und stellt keine Interpolation oder Modellierung dar. Zum Messzeitpunkt t1 zeigt sich ein heterogenes Bild. Während Citrullin, Valin und (Iso-)Leucin einen Anstieg der Konzentrationen verzeichnen, zeigen die Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Succinylaceton eine Stabilisierung und Methionin einen Abfall der Konzentrationen. Im weiteren Verlauf zeigen sich zum Zeitpunkt t2 bei fast allen Aminosäuren geringere Konzentrationen im Vergleich zu t0. Lediglich die Konzentration von Tyrosin bleibt weiterhin gleichbleibend.

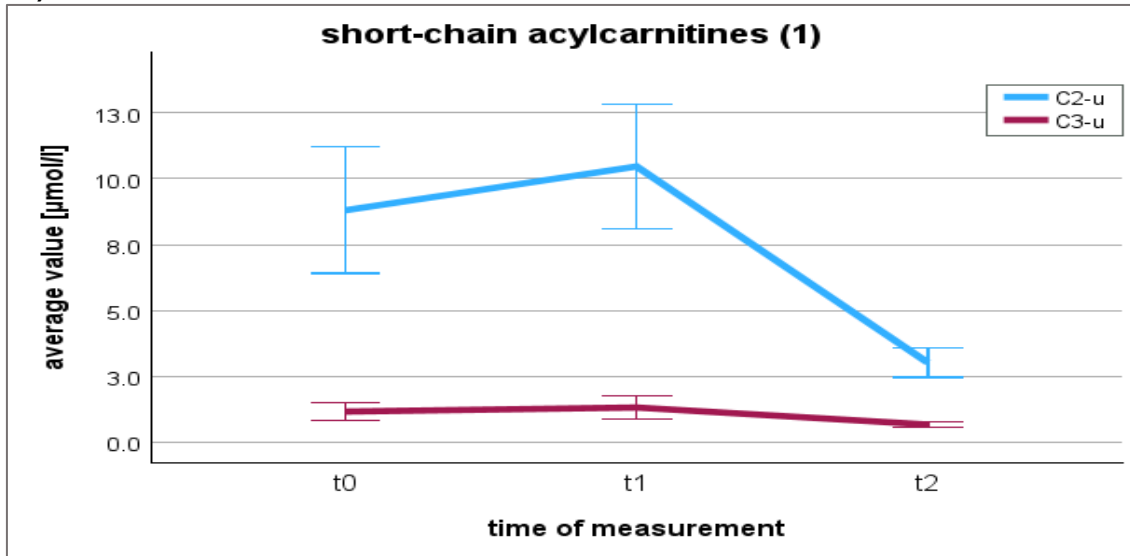


$n_{t0}=13$, $n_{t1}=11$, $n_{t2}=10$; Fehlerbalken: 95% CI

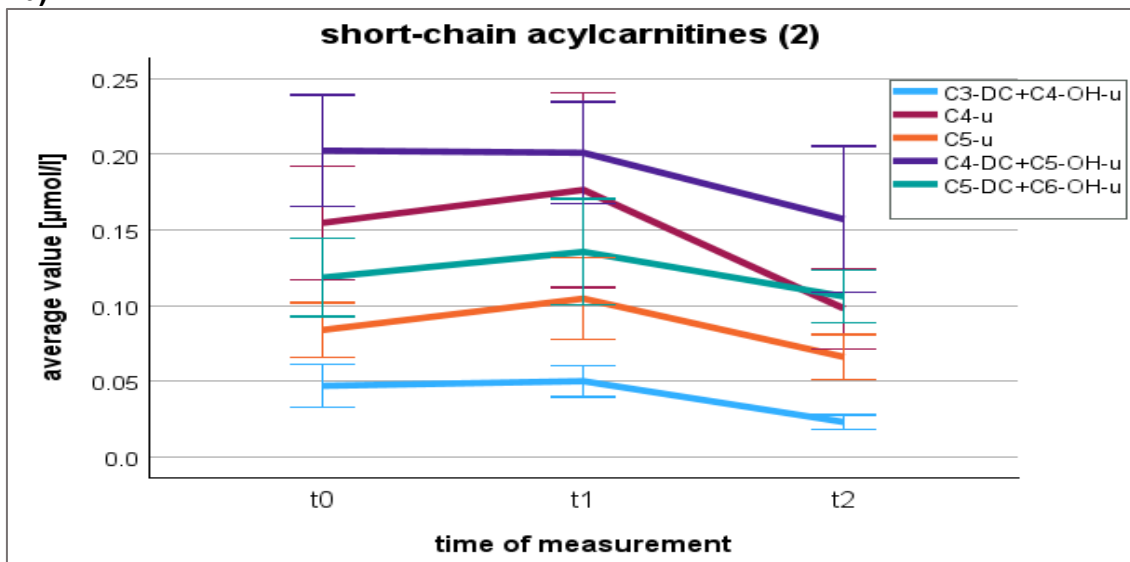
Abbildung 15: Durchschnittliche Konzentrationen des freien Carnitins und des Gesamtcarnitins [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.

Die Abbildung zeigt die mittleren Konzentrationen [µmol/l] des freien Carnitins (C0-u) und des Gesamtcarnitins (CxGes-u) im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2. Die einzelnen Metabolite sind farblich differenziert dargestellt. Die angegebenen Mittelwerte werden jeweils durch Fehlerbalken ergänzt, die das 95%-Konfidenzintervall repräsentieren. Die Verbindung der Datenpunkte erfolgt ausschließlich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit und stellt keine Interpolation oder Modellierung dar. Zum Messzeitpunkt t1 ist bei beiden Metaboliten ein Anstieg der Konzentrationen zu beobachten. Im weiteren Verlauf zeigen sich zum Zeitpunkt t2 beim freien Carnitin weiterhin ein Anstieg der durchschnittlichen Konzentration, während beim Gesamtcarnitin zum Zeitpunkt t2 eine geringere Konzentration im Vergleich zu t0 vorliegt.

a)



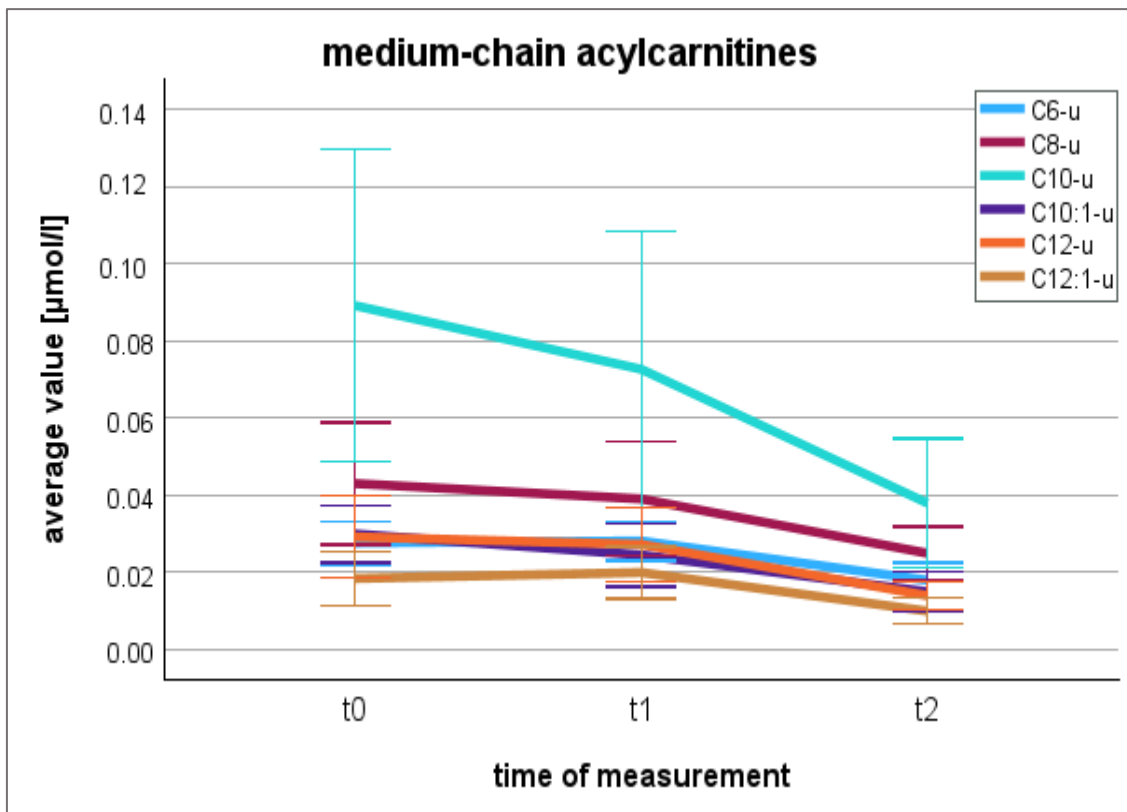
b)



$n_{t0}=13$, $n_{t1}=11$, $n_{t2}=10$; Fehlerbalken: 95% CI

Abbildung 16: Durchschnittliche Konzentrationen der kurzkettigen Acylcarnitine [µmol/l] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.

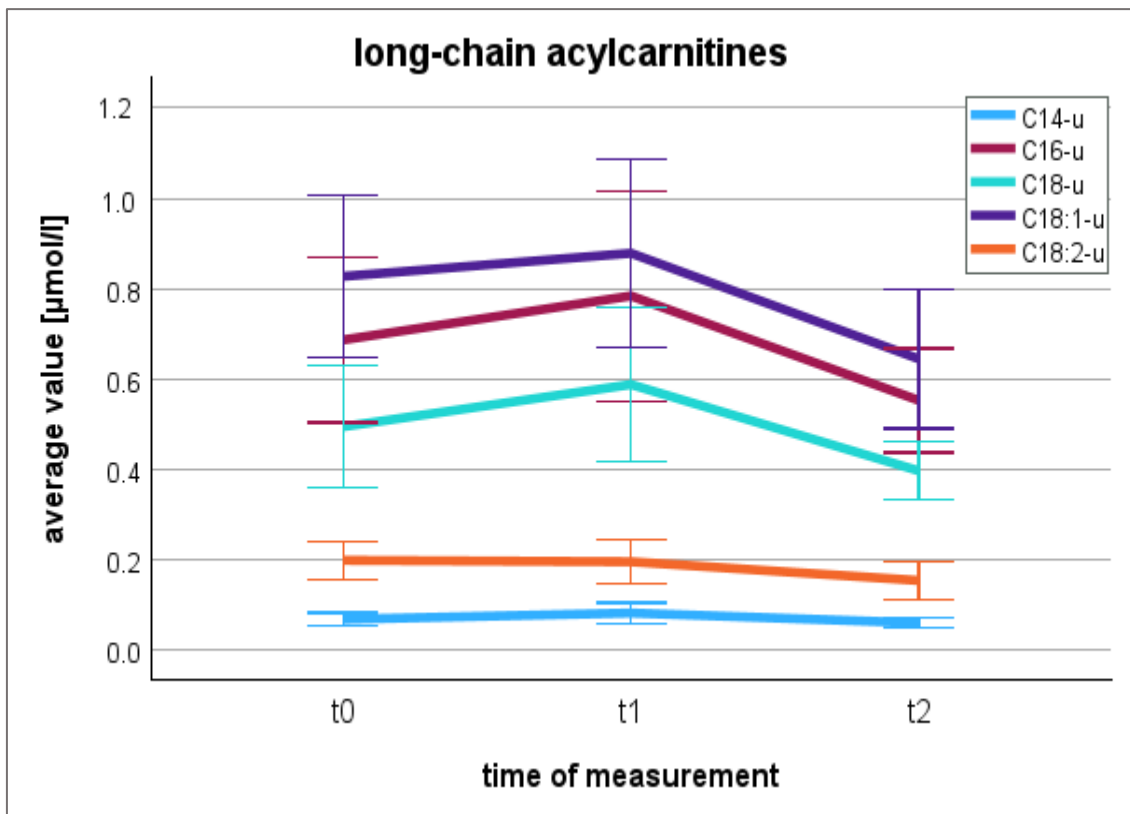
Die Abbildung zeigt die mittleren Konzentrationen [µmol/l] der kurzkettigen Acylcarnitine **a)** C2-u und C3-u und **b)** C3-DC+C4-OH-u, C4-u, C5-u, C4DC+C5-OH-u und C5-DC+C6-OH-u im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2. Die einzelnen Metabolite sind farblich differenziert dargestellt. Die angegebenen Mittelwerte werden jeweils durch Fehlerbalken ergänzt, die das 95%-Konfidenzintervall repräsentieren. Die Verbindung der Datenpunkte erfolgt ausschließlich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit und stellt keine Interpolation oder Modellierung dar. Zum Messzeitpunkt t1 ist bei den meisten Metaboliten ein Anstieg bzw. ein Gleichbleiben der Konzentrationen zu beobachten. Im weiteren Verlauf zeigen sich zum Zeitpunkt t2 bei sämtlichen langkettigen Acylcarnitinen geringere Konzentrationen im Vergleich zu t0.



$n_{t0}=13$, $n_{t1}=11$, $n_{t2}=10$; Fehlerbalken: 95% CI

Abbildung 17: Durchschnittliche Konzentrationen der mittelkettigen Acylcarnitine [$\mu\text{mol/l}$] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t_0 , t_1 und t_2 .

Die Abbildung zeigt die mittleren Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] der mittelkettigen Acylcarnitine C6-u, C8-u, C10-u, C10:1-u, C12-u und C12:1-u im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkte t_0 , t_1 und t_2 . Die einzelnen Metabolite sind farblich differenziert dargestellt. Die angegebenen Mittelwerte werden jeweils durch Fehlerbalken ergänzt, die das 95%-Konfidenzintervall repräsentieren. Die Verbindung der Datenpunkte erfolgt ausschließlich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit und stellt keine Interpolation oder Modellierung dar. Zum Messzeitpunkt t_1 ist bei den meisten Metaboliten ein Abfall bzw. ein Gleichbleiben der Konzentrationen zu beobachten. Lediglich der Metabolit C12:1-u verzeichnet zum Zeitpunkt t_1 einen Konzentrationsanstieg. Im weiteren Verlauf zeigen sich zum Zeitpunkt t_2 bei sämtlichen mittelkettigen Acylcarnitinen geringere Konzentrationen im Vergleich zu t_0 .



$n_{t0}=13, n_{t1}=11, n_{t2}=10$; Fehlerbalken: 95% CI

Abbildung 18: Durchschnittliche Konzentrationen der langkettigen Acylcarnitine [$\mu\text{mol/l}$] im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkten t0, t1 und t2.

Die Abbildung zeigt die mittleren Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] der langkettigen Acylcarnitine C14-u, C16-u, C18-u, C18:1-u und C18:2-u im zeitlichen Verlauf zu den Messzeitpunkte t0, t1 und t2. Die einzelnen Metabolite sind farblich differenziert dargestellt. Die angegebenen Mittelwerte werden jeweils durch Fehlerbalken ergänzt, die das 95%-Konfidenzintervall repräsentieren. Die Verbindung der Datenpunkte erfolgt ausschließlich zur Verbesserung der Übersichtlichkeit und stellt keine Interpolation oder Modellierung dar. Zum Messzeitpunkt t1 ist bei den meisten Metaboliten ein Anstieg bzw. eine Stabilisierung der Konzentrationen zu beobachten. Im weiteren Verlauf zeigen sich zum Zeitpunkt t2 bei sämtlichen langkettigen Acylcarnitinen geringere Konzentrationen im Vergleich zu t0.

4.2.2 Vergleich der Zeitpunkte t0 und t1

Im Folgendem werden die Ergebnisse der statistischen Analysen einer verbundenen Stichprobe gezeigt. Es werden die Mittelwertvergleiche zwischen den Metabolitenkonzentrationen zu den Zeitpunkten t0 und t1 dargestellt, mit dem Ziel, zu analysieren, ob sich die Konzentrationen einiger Metaboliten bereits nach einer sechswöchigen Trainingsintervention verändern. Dafür wurden statistische Tests für verbundene Stichproben gewählt, da von fast allen Teilnehmenden der t0-Diagnostik auch zum Zeitpunkt t1 metabolische Parameter bestimmt wurden (vgl. Abbildung 8).

Lediglich die Daten der Probandinnen mit den Fallnummern IR0046 und IR0055 konnten bei dieser Auswertung nicht berücksichtigt werden, da diese nicht zu dem Kollektiv der verbundenen Stichproben zählten. Demnach ergibt sich für den t0/t1-Vergleich eine Stichprobengröße von $n=11$, darunter acht Frauen und drei Männer. Die Ergebnisse weisen auf einen signifikanten Unterschied zwischen den t0- und t1-Konzentrationen einiger kurzkettiger Acylcarnitine hin. Der Metabolit C2 lag bei der t1-Diagnostik im Mittel in einer signifikant höheren Konzentration vor als zum Zeitpunkt t0 ($MW_{t0}: 9,33 \pm 4,05 \mu\text{mol/l}$; $MW_{t1}: 10,46 \pm 3,50 \mu\text{mol/l}$; $p=0,045^*$). Auch die Acylcarnitine C3 ($MW_{t0}: 1,22 \pm 0,59 \mu\text{mol/l}$; $MW_{t1}: 1,32 \pm 0,65 \mu\text{mol/l}$; $p=0,044^*$) und C5 ($MW_{t0}: 0,09 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $MW_{t1}: 0,10 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $p=0,042^*$) wiesen beim t1-*follow-up* signifikant höhere Mittelwerte auf als bei der *baseline*-Diagnostik. Der zeitliche Verlauf sowie die signifikanten (*) bzw. die hochsignifikanten (**) Unterschiede der Mittelwertvergleiche dieser Metaboliten soll Abbildung 19 verdeutlichen. Bei den übrigen Metaboliten konnten beim Vergleich der t0/t1-Daten keine signifikanten Konzentrationsunterschiede festgestellt werden.

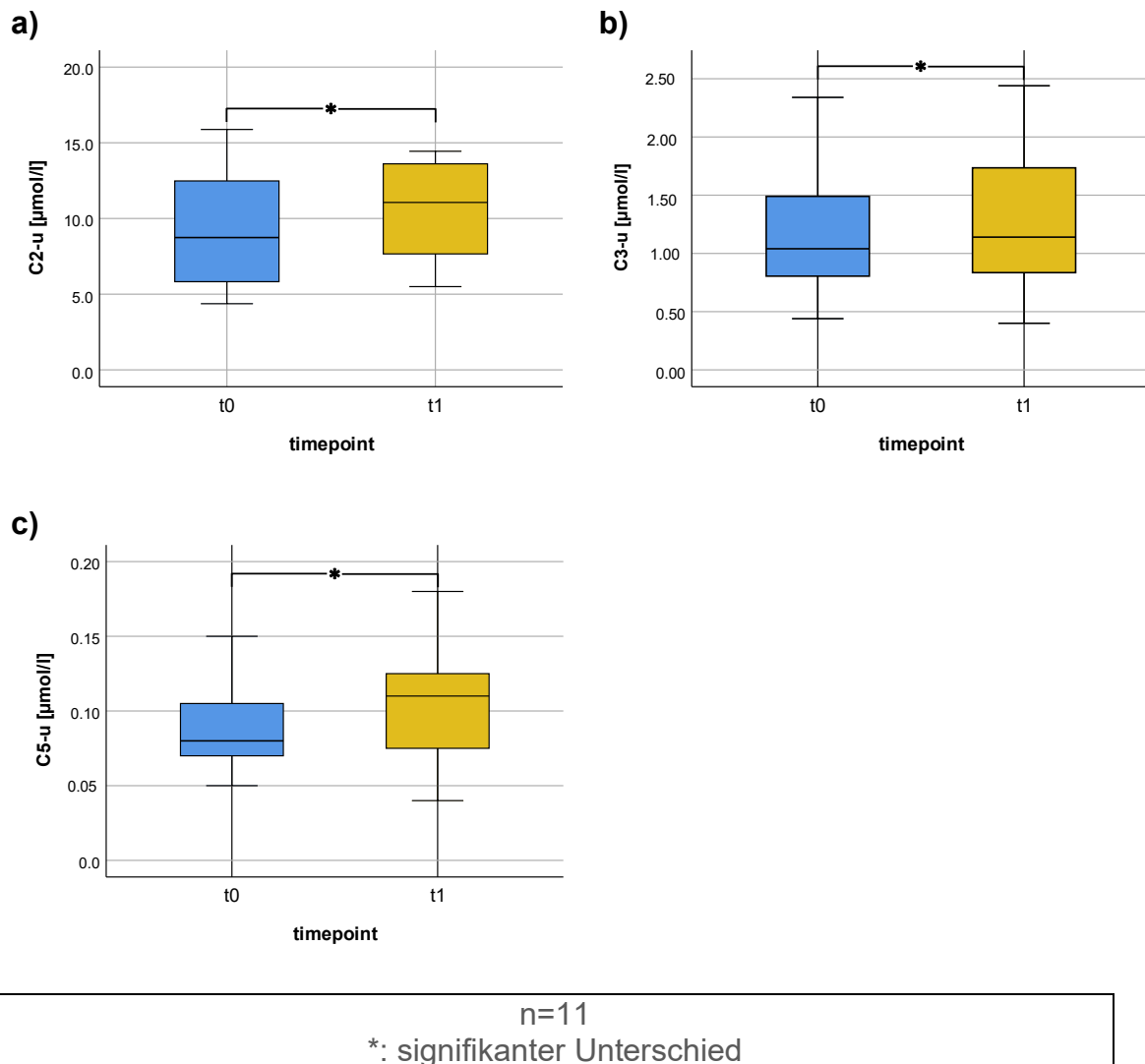
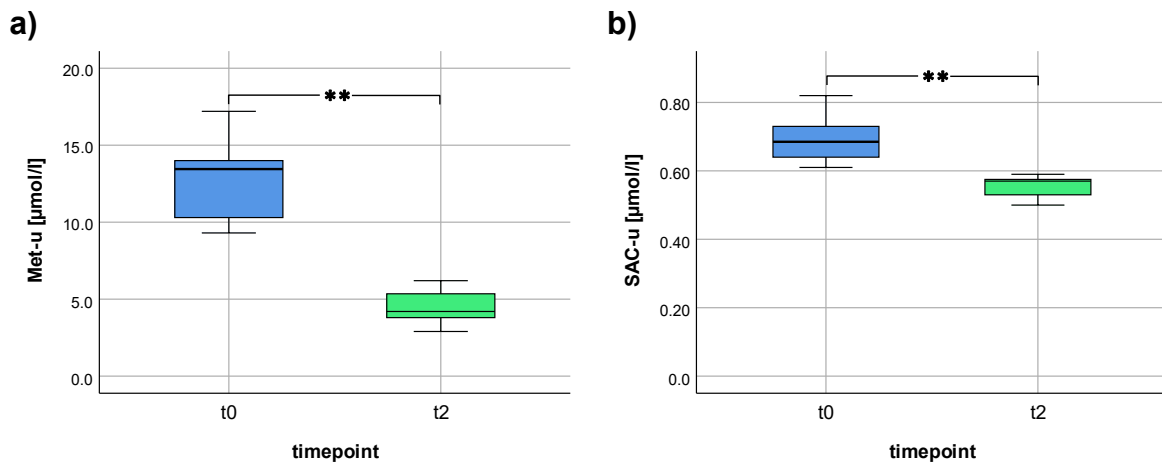


Abbildung 19: Metabolite mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t1.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [µmol/l] von den Metaboliten **a)** C2-u ($p=0,045^*$), **b)** C3-u ($p=0,044^*$) und **c)** C5-u ($p=0,042^*$), aufgeschlüsselt nach den Messzeitpunkten t0 (blau) und t1 (gelb). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Messzeitpunkten t0 und t1. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box.

4.2.3 Vergleich der Zeitpunkte t0 und t2

In Bezug auf die zeitlichen Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen zeigte sich auch der statistische Vergleich von t0- und t2-Daten als interessant. Dieser Vergleich markiert die Veränderungen, die nach einer insgesamt 12 Wochen umfassenden Trainingsphase auftraten. Im Gegensatz zum verbundenen Vergleich der t0/t1-Daten mussten die t0/t2-Daten jedoch als nicht-verbundene Stichprobe ausgewertet werden. Wie Abbildung 8 zu entnehmen ist, stammen die t2-Daten größtenteils von Teilnehmenden, von denen keine *baseline*-Daten vorlagen. Für diesen Mittelwertvergleich konnten folglich die Daten der ProbandInnen mit den Nummern IR0044, IR0045 und IR0046 nicht berücksichtigt werden, da diese verbundene Stichproben darstellten. Demnach ergibt sich für den t0-Datensatz eine Stichprobengröße von $n=10$, darunter sieben Frauen und drei Männer, sowie eine t2-Stichprobengröße von $n=7$ mit Daten von sechs Frauen und einem Mann. Insgesamt zeigten sich bei dem Mittelwertvergleich der t0/t2-Daten 12 Metaboliten als signifikant unterschiedlich. Diese werden in den Abbildungen 20-22 in ihrem zeitlichen Verlauf dargestellt.

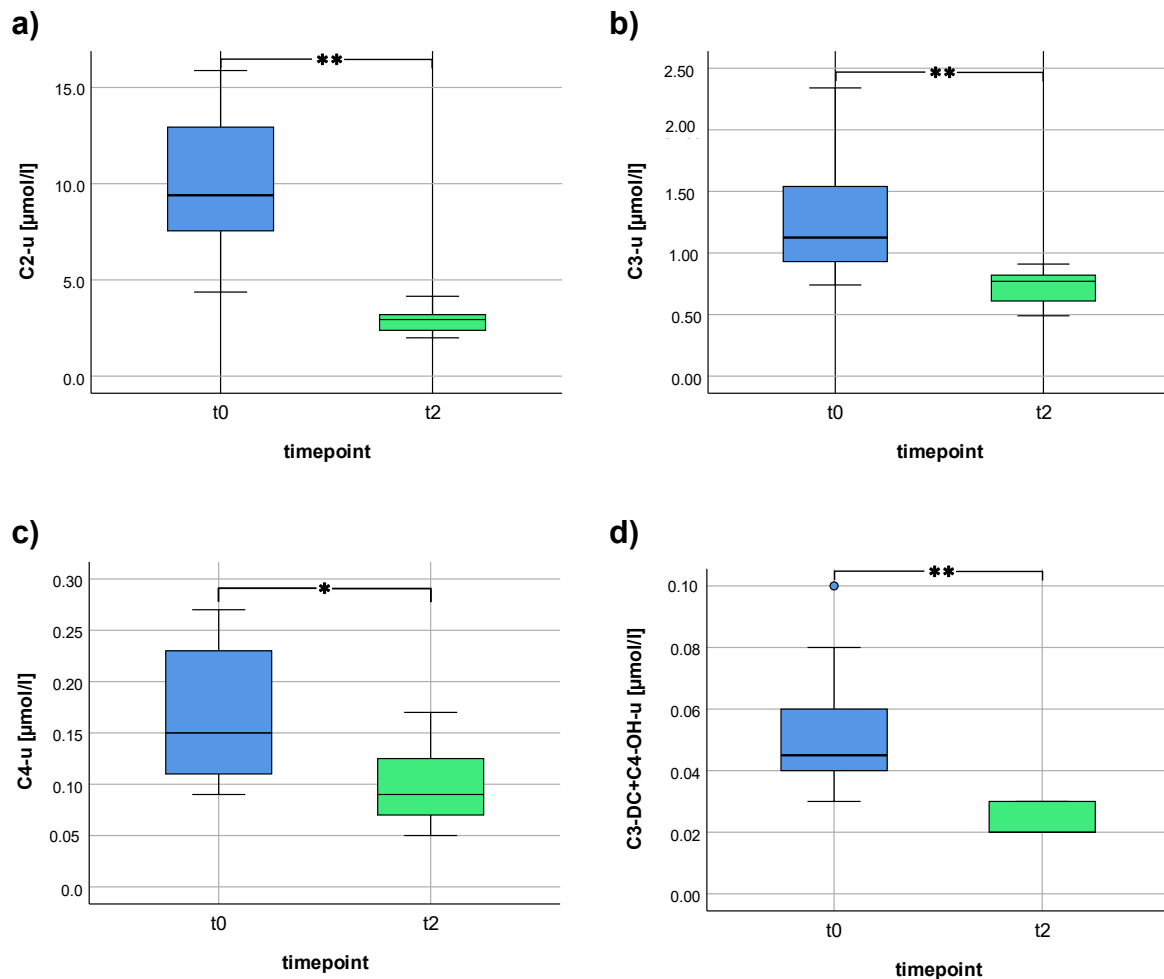


t0: n=10, t2: n=7

** : hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 20: Aminosäuren und deren Abbauprodukte mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [µmol/l] von der Aminosäure bzw. deren Abbauprodukte **a)** Methionin ($p < 0,001^{**}$) und **b)** Succinylaceton ($p < 0,001^{**}$), aufgeschlüsselt nach den Messzeitpunkten t0 (blau) und t2 (grün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten hochsignifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Messzeitpunkten t0 und t2. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box.

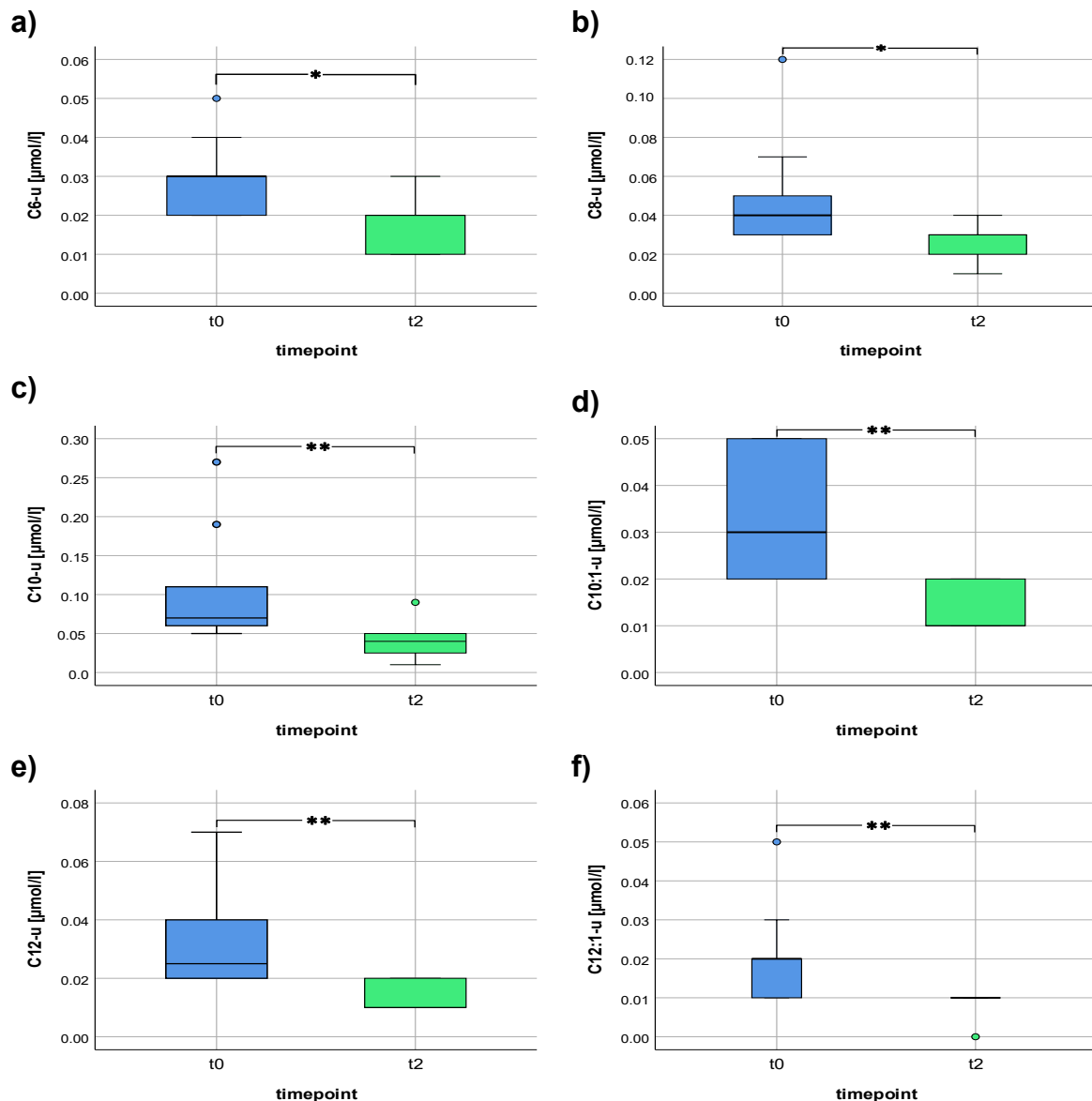


t0: n=10, t2: n=7

*: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 21: Kurzkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den kurzkettigen Acylcarnitinen **a)** C2-u ($p < 0,001^{**}$), **b)** C3-u ($p = 0,007^{**}$), **c)** C4-u ($p = 0,025^*$), und **d)** C3-DC+C4-OH-u ($p = 0,003^{**}$), aufgeschlüsselt nach den Messzeitpunkten t0 (blau) und t2 (grün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Messzeitpunkten t0 und t2. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der fette (Mittel)Strich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box. Das Fehlen einiger Whiskers erklärt sich dadurch, dass der kleinste bzw. größte Wert in diesem Kollektiv am 25. bzw. 75. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unter- bzw. Oberkante der Box zusammenfällt. Einzelne Punkte markieren Messwerte außerhalb des Bereichs der Whisker und werden als Ausreißer dargestellt.



t0: n=10, t2: n=7

*: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 22: Mittelkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Zeitpunkten t0 und t2.

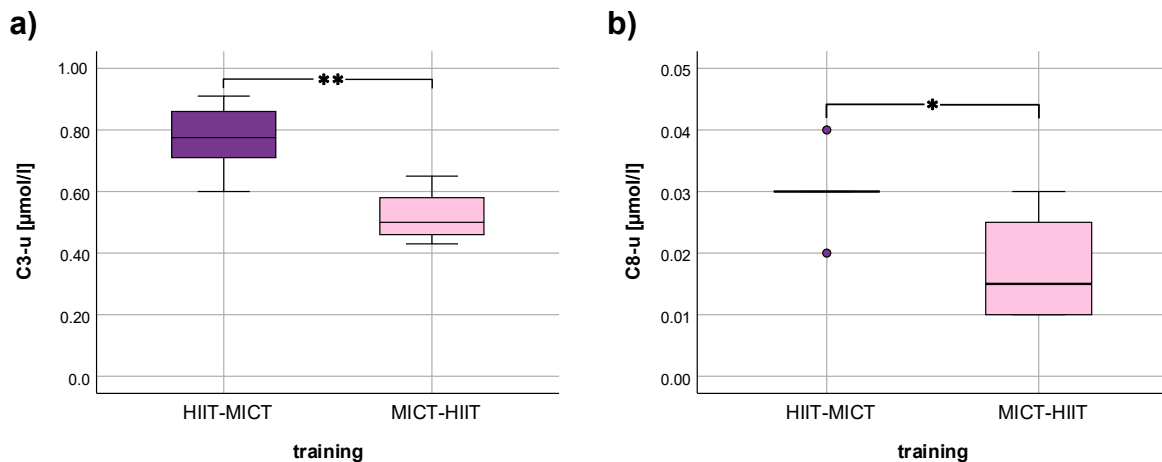
Die Abbildung zeigt die Konzentrationen $[\mu\text{mol/l}]$ von den mittelkettigen Acylcarnitinen **a) C6-u** ($p=0,025^*$), **b) C8-u** ($p=0,033^*$), **c) C10-u** ($p=0,007^{**}$), **d) C10:1-u** ($p=0,003^{**}$), **e) C12-u** ($p=0,005^{**}$) und **f) C12:1-u** ($p=0,010^{**}$), aufgeschlüsselt nach den Messzeitpunkten t0 (blau) und t2 (grün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Messzeitpunkten t0 und t2. Der Boxplot stellt den Interquartilsabstand (25.–75. Perzentil) sowie den Median dar; Werte außerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ erscheinen als Ausreißer. Fehlen Whisker, so liegen Minimal- bzw. Maximalwerte exakt am 25. bzw. 75. Perzentil. Bei den C12:1-Werten zum Zeitpunkt t2 fallen Median, erstes und drittes Quartil zusammen, wodurch der IQR null beträgt und die Box auf eine Linie reduziert wird.

In der Gruppe der Aminosäuren wurden für Methionin (MW_{t0} : $12,91 \pm 2,53 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $4,51 \pm 1,19 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$) zum Zeitpunkt t_2 hochsignifikant niedrigere Werte als zum Zeitpunkt t_0 gemessen. Auch das Abbauprodukt Succinylaceton (MW_{t0} : $0,69 \pm 0,06 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $0,55 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$) konnte mit signifikant niedrigeren Werten als zu t_0 nachgewiesen werden (vgl. Abb. 20). Auch einige kurzkettige Acylcarnitine lagen nach Ende des Trainingsprogramms in (hoch)signifikant niedrigeren Konzentrationen vor. Dazu zählen die Metaboliten C2 (MW_{t0} : $9,96 \pm 3,79 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $2,89 \pm 0,73 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$), C3 (MW_{t0} : $1,32 \pm 0,54 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $0,72 \pm 0,16 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,007^{**}$), C4 (MW_{t0} : $0,17 \pm 0,07 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $0,10 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,025^*$) und C3DC+C4-OH (MW_{t0} : $0,05 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; MW_{t2} : $0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,003^{**}$). Die zeitliche Entwicklung der signifikant veränderten kurzkettigen Acylcarnitine im t_0/t_2 -Vergleich wird in Abbildung 21 dargestellt. Des Weiteren präsentierten sich alle mittelkettigen Acylcarnitine zu t_2 mit signifikant niedrigeren Durchschnittswerten (C6: MW_{t0} : $0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,025^*$; C8: MW_{t0} : $0,05 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,033^*$; C10: MW_{t0} : $0,10 \pm 0,07 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,04 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,007^{**}$; C10:1: MW_{t0} : $0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,01 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,003^{**}$; C12: MW_{t0} : $0,03 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,01 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,005^{**}$; C12:1: MW_{t0} : $0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$, MW_{t2} : $0,01 \pm 0,004 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,010^{**}$) (vgl. Abb. 22). In der Gruppe der langkettigen Acylcarnitine waren hingegen keine Konzentrationsunterschiede statistisch signifikant.

4.2.4 Vergleich der Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t_2

Im Hinblick auf die zeitliche Entwicklung der Metaboliten werden abschließend die Ergebnisse des Vergleichs der Trainingsgruppen präsentiert. Dabei sollte analysiert werden, ob die unterschiedlichen Trainingsformen bzw. deren Reihenfolge einen Einfluss auf die Metabolit-Spiegel der Teilnehmenden haben. Dabei wurden die Metabolitenkonzentrationen der beiden Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t_2 anhand statistischer Analysen verglichen. Die Auswertung erfolgte mithilfe eines Mittelwertvergleichs für unverbundene Stichproben. Zum Zeitpunkt t_2 hatten beide Gruppen das 12-wöchige Trainingsprogramm abgeschlossen. Während Gruppe 1 mit dem HIIT-Training begonnen hatte und die Studie mit dem

MIC-Training abschloss, trainierte Gruppe 2 zuerst nach dem MICT-Plan und beendete die Interventionsphase mit dem HIIT-Training. Aus Gruppe 1 wurden von fünf Frauen und einem Mann die Metaboliten bestimmt. Für die Trainingsgruppe 2 lagen insgesamt vier Datensätze weiblicher Teilnehmender vor. Bei der statistischen Auswertung traten zwei Metaboliten als signifikant verändert hervor. Das kurzkettige Acylcarnitin C3 lag mit einer hochsignifikant ($MW_1: 0,77 \pm 0,11 \mu\text{mol/l}$; $MW_2: 0,52 \pm 0,09 \mu\text{mol/l}$; $p=0,006^{**}$) höheren Konzentration bei Gruppe 1 als bei Gruppe 2 vor. Auch das mittelkettige Acylcarnitin C8 wies eine signifikant ($MW_1: 0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_2: 0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p=0,036^*$) höhere Konzentration in der Trainingsgruppe 1 auf. Bei den übrigen Metaboliten konnten zum Zeitpunkt t2 keine signifikanten Unterschiede zwischen den Trainingsgruppen festgestellt werden. Abbildung 23 soll dabei die Unterschiede der Metaboliten C3 und C8 für die beiden Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2 verdeutlichen.



HIIT-MICT: n=6, MICT-HIIT: n=4

*: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 23: Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen den Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [µmol/l] von den Acylcarnitinen **a)** C3-u ($p=0,006^{**}$) und **b)** C8-u ($p=0,036^{*}$) zum Zeitpunkt t2, aufgeschlüsselt nach den Trainingsgruppen (HIIT-MICT (lila) vs. MICT-HIIT (rosa)). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den jeweiligen Trainingsgruppen. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der fette (Mittel)Strich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden. Das Fehlen einiger Whiskers erklärt sich dadurch, dass der kleinste bzw. größte Wert in diesem Kollektiv am 25. bzw. 75. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unter- bzw. Oberkante der Box zusammenfällt. Bei den C8-Werten der Trainingsgruppe HIIT-MICT fallen Median sowie erstes und drittes Quartil aufgrund einer geringen Streuung im IQR zusammen, sodass der IQR null beträgt und die Box auf eine Linie reduziert wird.

4.3 Korrelation zwischen Metabolitenkonzentrationen und trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen

Als vorletzter Punkt der Ergebnispräsentation dieser Arbeit werden im Folgendem die Ergebnisse der Korrelationsanalysen aufgezeigt. Zunächst wird hierbei auf mögliche Zusammenhänge zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ eingegangen. Des Weiteren folgen die Auswertungen der Korrelationsanalysen zwischen den Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen in Antwort auf das Training und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$.

4.3.1 Korrelation zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$

Zu Beginn der Korrelationsanalysen wurden die *baseline*-Metabolitenkonzentrationen (t_0) betrachtet. Diese wurden auf mögliche Zusammenhänge mit trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen hin untersucht. Als Parameter für die trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen wurde die $\dot{V}O_2\text{max}$ bzw. deren Veränderung in Antwort auf das Training herangezogen. $\dot{V}O_2\text{max}$ gilt als guter Parameter für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des kardiorespiratorischen Systems und steigt mit zunehmender Fitness der ProbandInnen. Sie wurde, wie in Kapitel 3.4.1. bzw. Abbildung 4 beschrieben, ebenfalls zu den Zeitpunkten t_0 , t_1 , und t_2 gemessen. Da zum Zeitpunkt t_0 jedoch nur von der zweiten Kohorte (IR0044-IR0058) *baseline*-Metabolitenwerte vorlagen, konnten auch nur die $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werte dieser ProbandInnen für die Analysen herangezogen werden. Um die Anpassungsreaktionen und die Entwicklungen der Fitnesszustände zu beurteilen, wurde die Zu- bzw. Abnahme der $\dot{V}O_2\text{max}$ errechnet. $\Delta[\dot{V}O_2\text{max}]$ ergibt sich dementsprechend aus folgender Formel:

$$\Delta\dot{V}O_2\text{max} = \dot{V}O_2\text{max}(t_1) - \dot{V}O_2\text{max}(t_0) \text{ [mlO}_2\text{/min/kg]}$$

Eine positive $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ bedeutet, dass die maximale Sauerstoffaufnahme einer/eines Teilnehmenden nach der ersten Trainingsphase zugenommen hat. Eine negative Differenz zeigt eine Abnahme der maximalen Sauerstoffaufnahme

über den zeitlichen Verlauf der Studie an. Hinzuzufügen ist, dass für die Berechnung von $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ nur $\dot{V}O_2\text{max}$ -Daten des Diagnosezeitpunkts *follow-up-1* (t1) zur Verfügung standen. Die t2-Diagnostik und somit auch die Erhebung der t2- $\dot{V}O_2\text{max}$ -Daten, fiel, wie in Kapitel 3.4.1 beschrieben, bei den ProbandInnen der zweiten Kohorte aufgrund der Covid19-Pandemie aus. Pro Metabolit konnten von insgesamt 12 Teilnehmenden Korrelationen mit $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ durchgeführt werden. Bei der statistischen Auswertung wurden jedoch keine signifikanten Zusammenhänge gefunden. Die Korrelationskoeffizienten schwankten dabei zwischen den Werten -0,302 und 0,476. Es zeigten sich insgesamt 15 schwache Korrelationen ($|r| \geq 0.10$), davon 4 positive und 11 negative, sowie 3 moderate Korrelationen ($|r| \geq 0.30$), davon 1 positive und 2 negative. Einen detaillierteren Überblick über die Ergebnisse der Korrelationsanalysen verschafft Tabelle 4.

Tabelle 4: Überblick über die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$

	Korrelationskoeffizient r nach Spearman	p-Wert
Aminosäuren		
Citrullin	0.056	0.863
Methionin	0.161	0.616
Phenylalanin	-0.070	0.829
Tyrosin	0.476	0.118
Valin	-0.049	0.880
(Iso-)Leucin	-0.315	0.319
Abbauprodukte		
Succinylaceton	-0.302	0.340
Carnitin		
Freies Carnitin	-0.252	0.430
Gesamtcarnitin	-0.130	0.688
Kurzkettige Acylcarnitine		
C2	0.091	0.779
C3	-0.035	0.914
C4	-0.268	0.400
C5	0.032	0.922
C3-DC+C4-OH	0.011	0.974
C4-DC+C5-OH	-0.168	0.602
C5-DC+C6-OH	-0.170	0.598
Mittelkettige Acylcarnitine		
C6	-0.196	0.541
C8	-0.209	0.514
C10	-0.276	0.385
C10:1	-0.250	0.433
C12	-0.172	0.593
C12:1	-0.118	0.715
Langkettige Acylcarnitine		
C14	-0.075	0.818
C16	0.130	0.688
C18	0.235	0.463
C18:1	0.147	0.649
C18:2	0.014	0.965

n=12	
◇ $ r \geq 0.10$ schwache Korrelation	◇ $ r \geq 0.30$ moderate Korrelation

4.3.2 Korrelation zwischen $\Delta[\text{Metabolit}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$

Ein weiterer Aspekt der Korrelationsanalysen bezog sich auf die Frage, ob Zusammenhänge zwischen der Veränderung der Konzentration eines Metaboliten und trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen bestehen. Spezifisch galt es dabei zu klären, ob die Zu- oder Abnahme der Konzentration eines Metaboliten mit der Zu- oder Abnahme der maximalen Sauerstoffaufnahme korreliert. Um die Entwicklung der Metabolitenkonzentrationen zu erfassen, wurde die Differenz zwischen den t1- und den t0-Daten betrachtet. Dementsprechend ergab sich für die Berechnung der Metabolitenzu- bzw. abnahme folgende Formel:

$$\Delta[\text{Metabolit}] = [\text{Metabolit}(t1)] - [\text{Metabolit}(t0)]$$

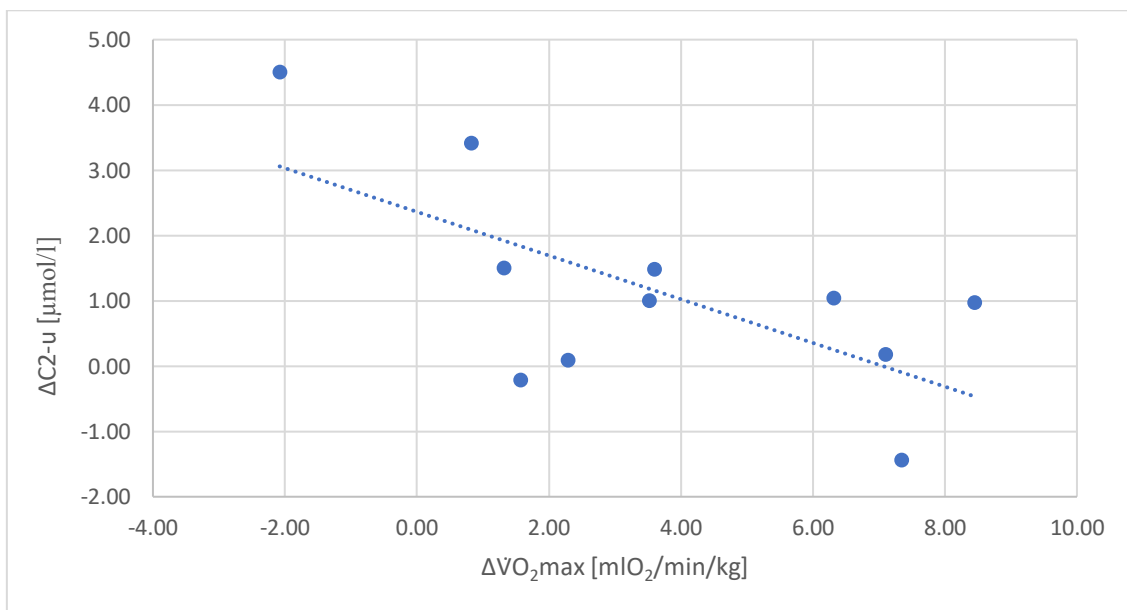
Eine positive Differenz beschreibt eine Zunahme, eine negative eine Abnahme der Blutkonzentration des Metaboliten nach der ersten Trainingsphase. Für die Betrachtung der Konzentrationsdifferenzen eigneten sich, analog den $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ -Daten, nur die Werte der zweiten Kohorte um die ProbandInnen IR0044-IR0058, da nur von diesen Metabolitenwerte zu beiden Zeitpunkten, also t0 und t1 vorlagen. Für die Korrelationsanalyse zwischen $\Delta[\text{Metabolit}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ ergab sich eine Fallzahl von n=11. Tabelle 5 präsentiert dabei die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen $\Delta[\text{Metabolit}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ und zeigt die Korrelationskoeffizienten und p-Werte auf.

Tabelle 5: Überblick über die Ergebnisse der Korrelationsanalysen zwischen Δ [Metabolit] und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$

	Korrelationskoeffizient r nach Spearman	p-Wert
Aminosäuren		
Δ Citrullin	0.036	0.915
Δ Methionin	-0.064	0.853
Δ Phenylalanin	-0.191	0.574
Δ Tyrosin	-0.478	0.137
Δ Valin	-0.136	0.689
Δ (Iso-)Leucin	-0.173	0.612
Abbauprodukte		
Δ Succinylaceton	0.345	0.298
Carnitin		
Δ Freies Carnitin	0.045	0.894
Δ Gesamtcarnitin	-0.455	0.160
Kurzkettige Acylcarnitine		
Δ C2	-0.600	0.051
Δ C3	-0.327	0.326
Δ C4	-0.118	0.729
Δ C5	-0.032	0.925
Δ C3-DC+C4-OH	-0.396	0.227
Δ C4-DC+C5-OH	-0.244	0.469
Δ C5-DC+C6-OH	0.155	0.649
Mittelkettige Acylcarnitine		
Δ C6	0.237	0.483
Δ C8	0.224	0.508
Δ C10	0.314	0.346
Δ C10:1	0.166	0.626
Δ C12	0.397	0.226
Δ C12:1	0.290	0.388
Langkettige Acylcarnitine		
Δ C14	-0.055	0.872
Δ C16	-0.355	0.284
Δ C18	-0.218	0.519
Δ C18:1	-0.200	0.555
Δ C18:2	-0.014	0.968

◇	$ r \geq 0.10$ schwache Korrelation	n=11	◇	$ r \geq 0.30$ moderate Korrelation	◇	$ r \geq 0.50$ starke Korrelation
---	--	------	---	--	---	--

Insgesamt variierten die Korrelationskoeffizienten zwischen Werten von -0,600 und 0,397. Von den insgesamt 27 Metaboliten zeigten 21 Metabolite einen Korrelationskoeffizienten mit $|r| \geq 0,10$. Davon waren 8 Korrelationen positiv, darunter 5 schwache Korrelationen und 3 moderate Korrelationen. 13 Metabolitenverläufe wiesen hingegen eine negative Korrelation mit $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ auf, von denen 8 als schwach, 4 als moderat und eine Korrelation als stark einzustufen sind. Keiner der Zusammenhänge stellte sich jedoch als signifikant heraus. Hervorzuheben ist dennoch das Ergebnis der Analyse des Metaboliten C2. Dieses wies den Korrelationskoeffizienten mit dem größten Betrag ($r = -0,600$) aller Metaboliten auf und der Zusammenhang der beiden Größen war fast signifikant ($p = 0,051^*$). Abbildung 24 stellt den Zusammenhang zwischen der Veränderung der C2-Konzentration und der maximalen Sauerstoffaufnahme grafisch dar.



gestrichelte Linie: Regressionsgerade mit $r = -0,600$; $p = 0,051^*$; $n = 11$

Abbildung 24: Ergebnis der Korrelationsanalyse des Metaboliten $\Delta[C2]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$.

Die Abbildung zeigt den Zusammenhang zwischen der trainingsinduzierten Konzentrationsänderung des Metaboliten C2 ($\Delta[C2]$) und der Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme ($\Delta\dot{V}O_2\text{max}$). Die blaue Linie stellt die Regressionsgerade mit den Werten $r = -0,600$; $p = 0,051$ und $n = 11$ dar. Einzelne Messwerte sind mittels Punkten dargestellt. Ein tendenziell negativer Trend lässt sich erkennen. Allerdings zeigt die Korrelationsanalyse keine ausreichende Signifikanz und somit ein statistisch nicht signifikantes Ergebnis.

4.4 Vergleich der Metabolitenkonzentrationen zwischen iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen

Nachdem in den vorangegangenen Abschnitten ausschließlich die Daten der iReAct-Studie hinsichtlich geschlechtsspezifischer Unterschiede sowie trainingsphasenabhängiger Veränderungen im Metabolom untersucht wurden, wird im Folgenden der Fokus erweitert. Bislang beschränkten sich die Analysen somit auf gesunde ProbandInnen, sodass offenbleibt, inwiefern chronische Erkrankungen das Metabolom beeinflussen und ob diese zugleich die trainingsinduzierten Veränderungen modifizieren können. Um dieser Fragestellung nachzugehen, werden im abschließenden Teil dieser Arbeit die Ergebnisse eines Vergleichs zwischen der iReAct-Studie und der MultiPill-Exercise-Studie detailliert dargestellt. Während die iReAct-Studie ein Kollektiv gesunder Personen einschließt, umfasst die MultiPill-Exercise-Studie ausschließlich Teilnehmende mit mindestens zwei chronischen Erkrankungen. Beide Studien weisen eine vergleichbare methodische Anlage auf, indem sie Metabolitenkonzentrationen sowohl im Ausgangszustand als auch nach definierten Trainingsinterventionen erfassen. Durch diesen Ansatz wird es möglich, systematisch zu untersuchen, in welchem Ausmaß sich die Metabolitenprofile gesunder und chronisch erkrankter Personen unterscheiden – sowohl unabhängig vom Training als auch in Bezug auf trainingsinduzierte metabolische Anpassungen. Ziel dieser Analyse ist es, potenzielle Unterschiede in der metabolischen Reaktion auf körperliche Aktivität zwischen beiden Populationen zu identifizieren und daraus Implikationen für personalisierte Trainingsstrategien sowie für das Verständnis der metabolischen Adaptionfähigkeit bei chronischen Erkrankungen abzuleiten.

4.4.1. Deskriptiver Vergleich der Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen

Um einen Überblick über die Datensätze beider Studien im Vergleich zu erlangen, werden diese zunächst deskriptiv beschrieben. Die genauen Werte sind Tabelle 6 zu entnehmen.

Tabelle 6: Überblick über die deskriptive Statistik der Metabolitenkonzentrationen bei den iReAct- und den MultiPill-Exercise-ProbandInnen im zeitlichen Verlauf

	t0				t12			
	IR		MP		IR		MP	
	MW	SD	MW	SD	MW	SD	MW	SD
Aminosäuren								
Citrullin	27.300	9.440	36.204	12.618	21.180	3.848	33.394	7.684
Methionin	12.892	2.238	12.627	5.920	4.740	1.079	13.438	3.703
Phenylalanin	42.015	3.932	53.015	13.992	37.320	6.016	53.594	14.926
Tyrosin	38.492	8.666	61.673	23.256	37.520	10.654	59.125	14.583
Valin	93.738	15.268	124.608	34.477	81.100	12.579	122.487	31.127
(Iso-)Leucin	105.94	13.789	149.142	52.317	93.930	25.668	160.356	51.577
Abbauprodukte								
Succinylaceton	0.701	0.063	0.670	0.096	0.575	0.049	0.655	0.075
Carnitin								
Freies Carnitin	19.050	5.038	23.504	7.275	22.355	5.302	23.146	3.556
Gesamtcarnitin	32.231	9.058	36.377	10.347	28.510	6.449	35.994	4.939
Kurzkettige Acylcarnitine								
C2	8.802	3.969	8.203	4.157	3.020	0.774	8.492	1.678
C3	1.163	0.563	1.305	0.663	0.671	0.163	1.289	0.509
C4	0.155	0.062	0.157	0.059	0.098	0.037	0.136	0.039
C5	0.084	0.030	0.109	0.036	0.066	0.021	0.103	0.047
C3-DC+C4-OH	0.047	0.023	0.048	0.027	0.023	0.007	0.043	0.015
C4-DC+C5-OH	0.202	0.061	0.209	0.080	0.157	0.067	0.198	0.043
C5-DC+C6-OH	0.118	0.043	0.140	0.047	0.106	0.024	0.132	0.042
Mittelkettige Acylcarnitine								
C6	0.028	0.009	0.036	0.013	0.018	0.006	0.029	0.011
C8	0.043	0.026	0.047	0.024	0.025	0.010	0.039	0.013
C10	0.089	0.067	0.088	0.048	0.038	0.023	0.064	0.028
C10:1	0.030	0.012	0.033	0.015	0.015	0.007	0.026	0.007
C12	0.029	0.018	0.033	0.017	0.014	0.005	0.028	0.009
C12:1	0.018	0.011	0.023	0.013	0.010	0.005	0.018	0.008
Langkettige Acylcarnitine								
C14	0.067	0.025	0.086	0.027	0.059	0.016	0.078	0.025
C16	0.686	0.304	0.737	0.239	0.552	0.162	0.676	0.210
C18	0.494	0.225	0.476	0.165	0.396	0.089	0.436	0.075
C18:1	0.827	0.300	0.844	0.226	0.644	0.216	0.761	0.179
C18:2	0.198	0.070	0.187	0.065	0.153	0.060	0.189	0.049

MW: Mittelwert, SD: Standardabweichung, IR: iReAct-Studie, MP: MultiPill-Exercise-Studie
 $n_{IR,t0}=13$, $n_{MP,t0}=26$, $n_{IR,t12}=10$, $n_{MP,t12}=16$

Alle Werte sind in $\mu\text{mol/l}$ angegeben

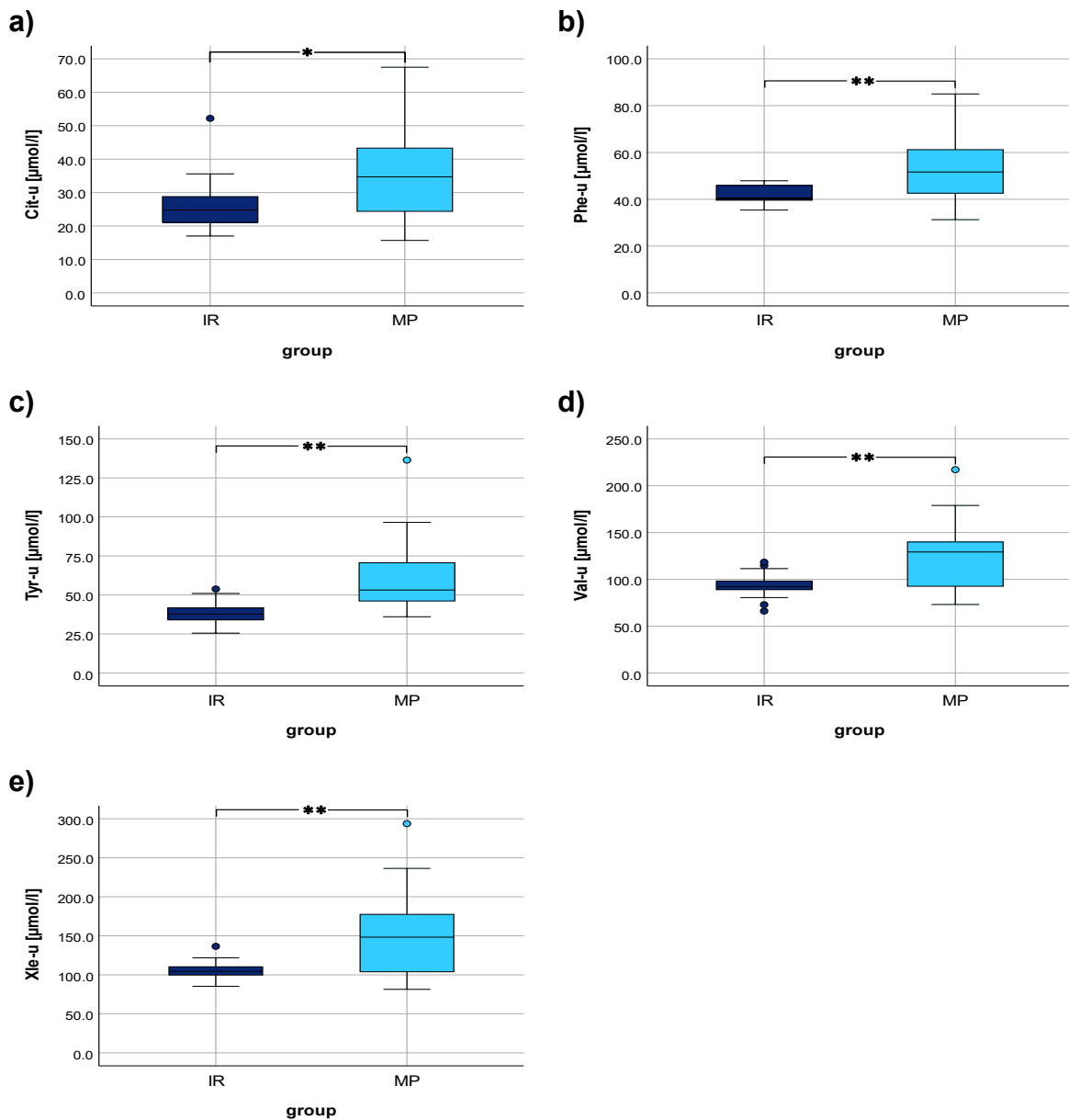
◇ (hoch)signifikanter MW-Unterschied bei t0 ◇ (hoch)signifikanter MW-Unterschied bei t12

Zu beachten ist, dass, wie in den Kapiteln 3.1.1 und 3.1.2 beschrieben, die FUs zu unterschiedlichen Zeitpunkten erfolgten. Bei der iReAct-Studie markiert die t2-Diagnostik den zweiten *follow-up*-Termin, der nach insgesamt 12 Wochen Training erfolgte. Bei der MultiPill-Exercise-Studie hingegen fand die erste FU nach drei Monaten statt. Die dort generierten Daten werden als t3-Daten bezeichnet. Der t3-Zeitpunkt der MultiPill-Exercise-Studie markiert somit, in Übereinstimmung mit dem t2-Zeitpunkt der iReAct-Studie, einen Messzeitpunkt nach einer 12-wöchigen Trainingsintervention. Um den Vergleich beider Studien

übersichtlicher zu gestalten, werden demnach bei der vergleichenden Analyse die Messzeitpunkte einheitlich beschrieben. Die Daten, die bei der *baseline*-Diagnostik erhoben wurden, werden als t0-Daten bezeichnet. Die t2-Daten der iReAct-Studie werden im Folgendem als t12-Daten (nach 12 Wochen Training) beschrieben. Ebenso werden die t3-Daten der MultiPill-Exercise-Studie als t12-Daten betitelt.

4.4.2 Vergleich der *baseline*-Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen

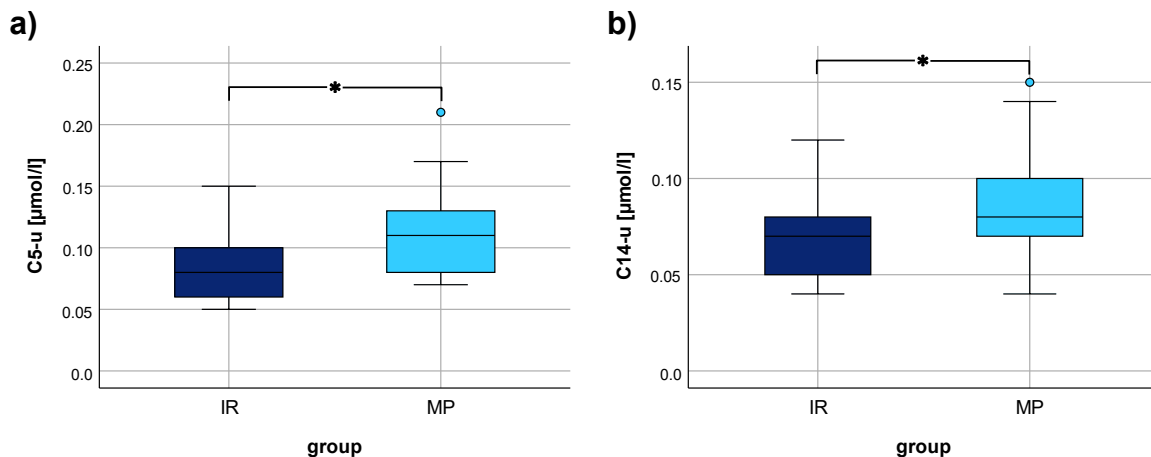
Um die Frage nach signifikanten Unterschieden im Metabolom der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen zu klären, wird zunächst der Zeitpunkt t0 betrachtet. Dabei wiesen sieben Metaboliten (hoch)signifikante Unterschiede zwischen den *baseline*-Konzentrationen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe auf. Fünf der insgesamt sieben gemessenen Aminosäuren zeigten eine signifikant höhere Anfangskonzentration in der MultiPill-Exercise-Kohorte. Dazu zählten neben Citrullin ($MW_{MP}: 36,20 \pm 12,62 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 27,30 \pm 9,44 \mu\text{mol/l}$; $p=0,018^*$), Phenylalanin ($MW_{MP}: 53,02 \pm 13,99 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 42,02 \pm 3,93 \mu\text{mol/l}$; $p=0,001^{**}$) und Tyrosin ($MW_{MP}: 61,67 \pm 23,26 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 38,49 \pm 8,67 \mu\text{mol/l}$; $p<0,001^{**}$) auch die BCAAs Valin ($MW_{MP}: 124,61 \pm 34,48 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 93,74 \pm 15,27 \mu\text{mol/l}$; $p<0,001^{**}$) und (Iso)Leucin ($MW_{MP}: 149,14 \pm 52,32 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 105,95 \pm 13,79 \mu\text{mol/l}$; $p<0,001^{**}$). Bei den Acylcarnitinen zeigten sich insgesamt zwei Metaboliten als signifikant unterschiedlich. Sowohl der Metabolit C5 ($MW_{MP}: 0,11 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,08 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $p=0,029^*$), als auch der Metabolit C14 ($MW_{MP}: 0,09 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,07 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $p=0,040^*$) zeigten bei der *baseline*-Diagnostik eine signifikant höhere Konzentration in der MultiPill-Exercise-Gruppe. Die Unterschiede der beiden Studien -Gruppen zeigen die Abbildungen 25 und 26 grafisch auf.



IR: iReAct (n=13); MP: MultiPill-Exercise (n=26)
 *: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 25: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t0.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den Aminosäuren **a)** Citrullin ($p=0,018^*$), **b)** Phenylalanin ($p=0,001^{**}$), **c)** Tyrosin ($p<0,001^*$), **d)** Valin ($p<0,001^{**}$) und **e)** (Iso)Leucin ($p<0,001^{**}$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach den Studiengruppen iReAct (dunkelblau) und MultiPill-Exercise (hellblau). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten zum Zeitpunkt t0 (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Der Boxplot stellt den Interquartilsabstand (25.–75. Perzentil) sowie den Median dar; Werte außerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ erscheinen als Ausreißer.



IR: iReAct (n=13); MP: MultiPill-Exercise (n=26)
*: signifikanter Unterschied

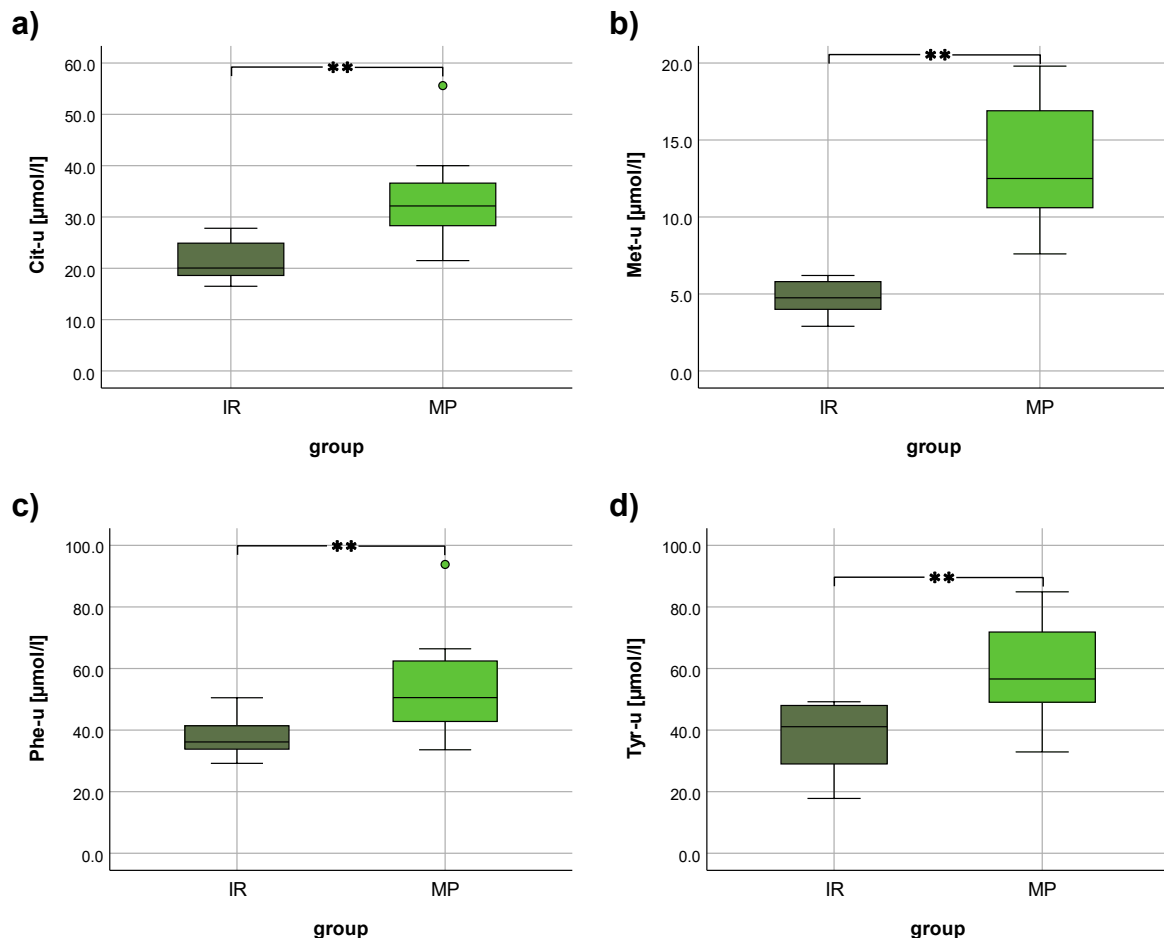
Abbildung 26: Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t0.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [µmol/l] von den Acylcarnitinen **a)** C5-u ($p=0,029^*$) und **b)** C14-u ($p=0,040^*$) zum Zeitpunkt t0, aufgeschlüsselt nach den Studiengruppen iReAct (dunkelblau) und MultiPill-Exercise (hellblau). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten zum Zeitpunkt t0 signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden.

4.4.3 Vergleich der t12-Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen

Abschließend werden die Ergebnisse des Vergleichs der t12-Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen präsentiert. Zum Zeitpunkt t12 galten insgesamt 21 Metaboliten als statistisch signifikant unterschiedlich. Alle 21 Metaboliten zeigten in der MultiPill-Exercise-Kohorte höhere Durchschnittswerte als in der iReAct-Gruppe: Neben den fünf Aminosäuren Citrullin, Phenylalanin, Tyrosin, Valin und (Iso)Leucin, die bereits zum Zeitpunkt t0 signifikante Gruppenunterschiede gezeigt hatten (vgl. Abb. 25), lagen bei der t12-Diagnostik auch die Aminosäuren Methionin und das Abbauprodukt Succinylaceton bei den MultiPill-Exercise-ProbandInnen in signifikant höheren Konzentrationen vor. Damit wiesen alle gemessenen Aminosäuren, sowie das Abbauprodukt der Aminosäure

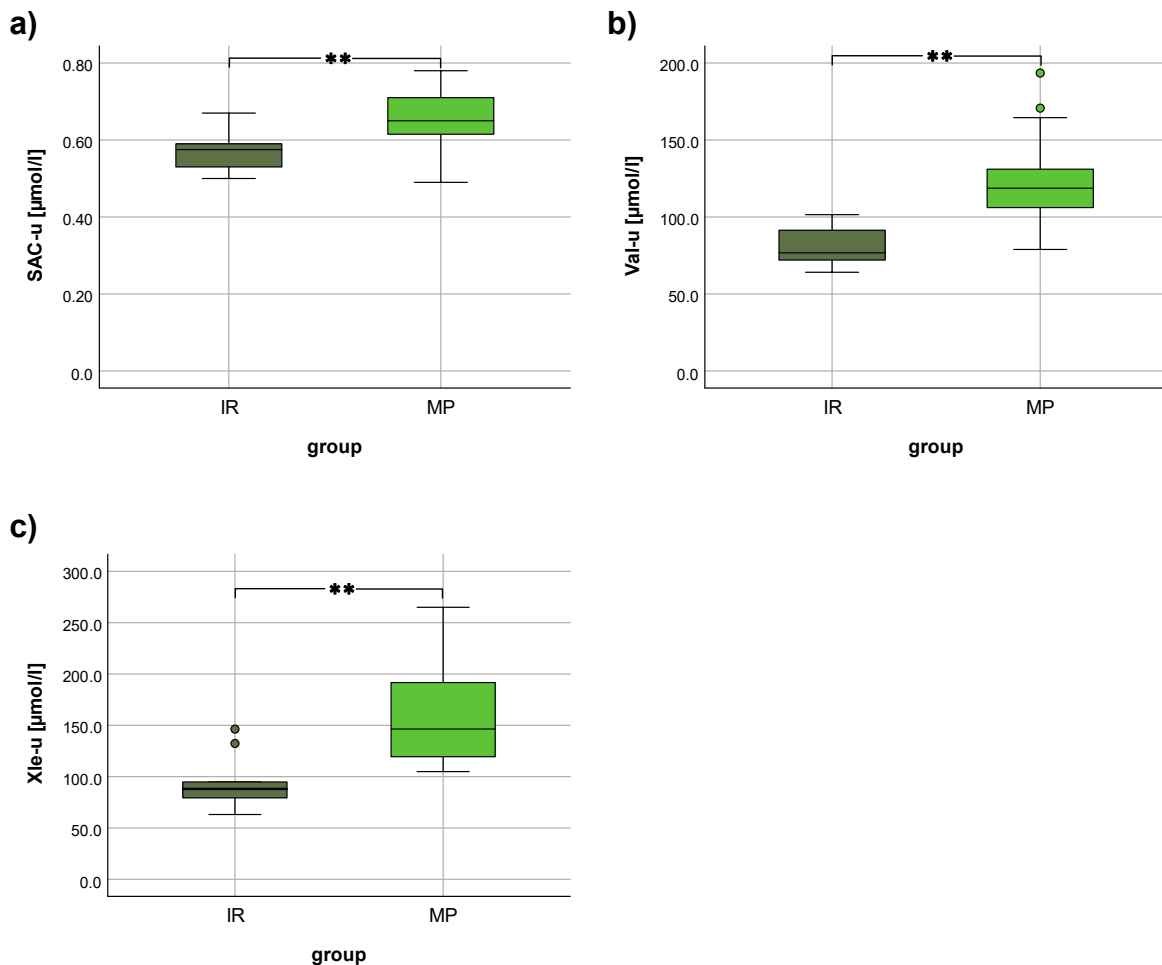
Tyrosin, zum Messzeitpunkt t12 statistisch signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Studiengruppen auf. Es ergaben sich folgende Werte: Citrullin: $MW_{MP}: 33,39 \pm 7,68 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 21,18 \pm 3,85 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,001^{**}$; Methionin: $MW_{MP}: 13,44 \pm 3,70 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 4,74 \pm 1,08 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,001^{**}$; Phenylalanin: $MW_{MP}: 53,59 \pm 14,93 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 37,32 \pm 6,02 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,001^{**}$; Tyrosin: $MW_{MP}: 59,13 \pm 14,58 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 37,52 \pm 10,65 \mu\text{mol/l}$, $p < 0,001^{**}$; Succinylaceton: $MW_{MP}: 0,66 \pm 0,08 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 0,58 \pm 0,05 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,007^{**}$; Valin: $MW_{MP}: 122,49 \pm 31,13 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 81,10 \pm 12,58 \mu\text{mol/l}$, $p = 0,001^{**}$ und (Iso)Leucin: $MW_{MP}: 160,36 \pm 51,58 \mu\text{mol/l}$, $MW_{IR}: 93,93 \pm 25,67 \mu\text{mol/l}$ $p < 0,001^{**}$. Abbildungen 27 und 28 stellen die Konzentrationsunterschiede der Aminosäuren und deren Abbauprodukte grafisch dar. Bei den (Acyl-)Carnitinen konnte das Gesamtcarnitin ($MW_{MP}: 35,99 \pm 4,94 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 28,51 \pm 6,45 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,003^{**}$) mit einer hochsignifikant höheren Konzentration in der MultiPill-Exercise-Gruppe gemessen werden (vgl. Abb. 31). In der Gruppe der kurzkettigen Acylcarnitine waren insgesamt sechs von sieben Metaboliten signifikant unterschiedlich zwischen den Gruppen: Die Parameter C2 ($MW_{MP}: 8,49 \pm 1,68 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 3,02 \pm 0,77 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$), C3 ($MW_{MP}: 1,29 \pm 0,51 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,67 \pm 0,16 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$), C4 ($MW_{MP}: 0,14 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,10 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,021^*$), C5 ($MW_{MP}: 0,10 \pm 0,05 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,07 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,004^{**}$), C3-DC+C4-OH ($MW_{MP}: 0,04 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$) und C4-DC+C5-OH ($MW_{MP}: 0,20 \pm 0,04 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,16 \pm 0,07 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,031^*$) zeigten dabei ebenfalls allesamt zum Zeitpunkt t12 (hoch)signifikant höhere Konzentrationen in der MultiPill-Exercise-Kohorte (vgl. Abb. 29). Bei den mittelkettigen Acylcarnitinen waren die Konzentrationen aller sechs Metaboliten signifikant unterschiedlich: C6 ($MW_{MP}: 0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,007^{**}$), C8 ($MW_{MP}: 0,04 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,007^{**}$), C10 ($MW_{MP}: 0,06 \pm 0,03 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,04 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,014^*$), C10:1 ($MW_{MP}: 0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,002^{**}$), C12 ($MW_{MP}: 0,03 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,01 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $p < 0,001^{**}$) und C12:1 ($MW_{MP}: 0,02 \pm 0,01 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,01 \pm 0,005 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,014^*$) lagen ebenfalls in der MultiPill-Exercise-Studie in höheren Konzentrationen vor (vgl. Abb. 30). Das langkettige Acylcarnitin C14 ($MW_{MP}: 0,08 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; $MW_{IR}: 0,06 \pm 0,02 \mu\text{mol/l}$; $p = 0,039^*$) wies neben dem Zeitpunkt t0 auch bei t12 einen höheren Mittelwert in der MultiPill-Exercise-Gruppe auf (vgl. Abb. 31).



IR: iReAct (n=10); MP: MultiPill-Exercise (n=16)
 **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 27: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.

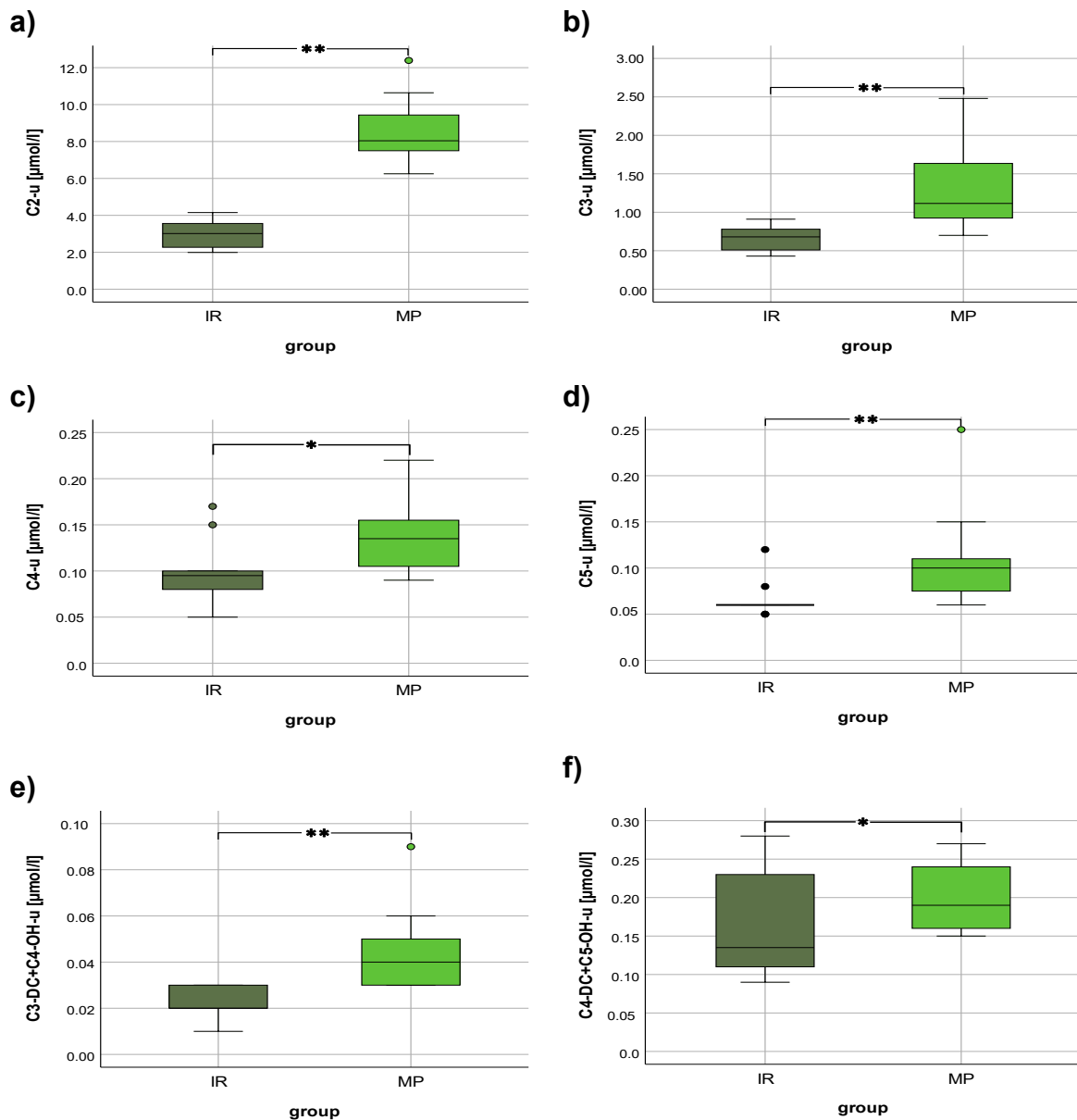
Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [µmol/l] von den Aminosäuren bzw. deren Abbauprodukte **a)** Citrullin ($p < 0,001^{**}$), **b)** Methionin ($p < 0,001^{**}$), **c)** Phenylalanin ($p = 0,001^{**}$) und **d)** Tyrosin ($p < 0,001^{**}$) zum Zeitpunkt t12, aufgeschlüsselt nach den Studiengruppen iReAct (dunkelgrün) und MultiPill-Exercise (hellgrün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten zum Zeitpunkt t12 (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der fette (Mittel)Strich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times$ IQR ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden. Das Fehlen eines Whiskers erklärt sich dadurch, dass der größte Wert in diesem Kollektiv am 75. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Oberkante der Box zusammenfällt.



IR: iReAct (n=10); MP: MultiPill-Exercise (n=16)
 **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 28: Aminosäuren mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.

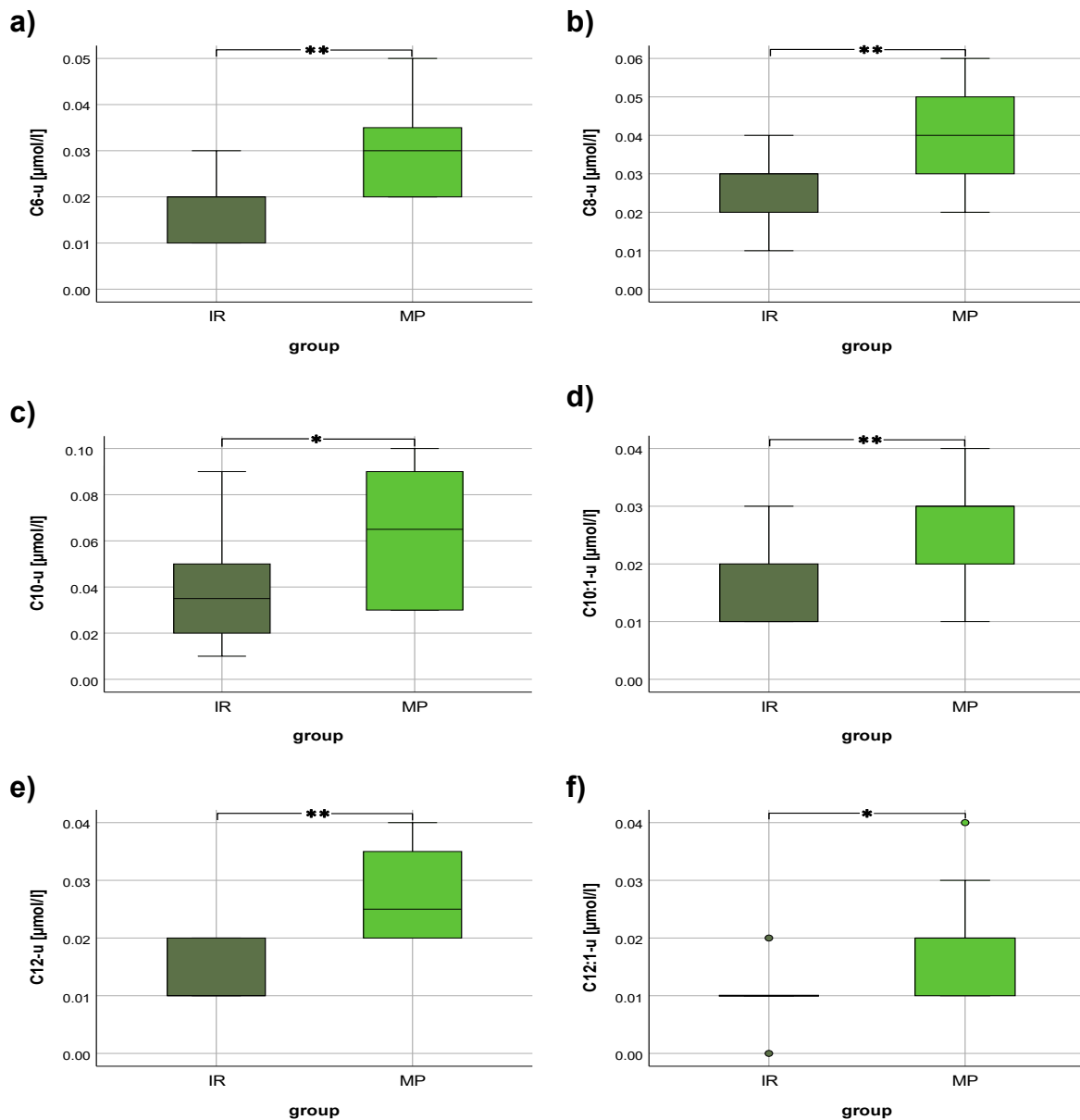
Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von den Aminosäuren bzw. deren Abbauprodukte **a)** Succinylacetone ($p=0,007^{**}$), **b)** Valin ($p=0,001^{**}$) und **c)** (Iso)Leucin ($p<0,001^{**}$) zum Zeitpunkt t12, aufgeschlüsselt nach den Studiengruppen iReAct (dunkelgrün) und MultiPill-Exercise (hellgrün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten zum Zeitpunkt t12 (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der fette (Mittel)Strich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden. Das Fehlen eines Whiskers erklärt sich dadurch, dass der größte Wert in diesem Kollektiv am 75. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Oberkante der Box zusammenfällt.



IR: iReAct (n=10); MP: MultiPill-Exercise (n=16)
 *: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 29: Kurzkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] der kurzkettigen Acylcarnitine **a)** C2-u ($p < 0,001^{**}$), **b)** C3-u ($p < 0,001^{**}$), **c)** C4-u ($p = 0,021^*$), **d)** C5-u ($p = 0,004^{**}$), **e)** C3-DC+C4-OH-u ($p < 0,001^{**}$) und **f)** C4-DC+C5-OH-u ($p = 0,031^*$) zum Zeitpunkt t12, differenziert nach den Studiengruppen iReAct (dunkelgrün) und MultiPill-Exercise (hellgrün). Für diese Metaboliten zeigen sich (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen. Der Boxplot stellt Median und Interquartilsabstand dar; Ausreißer sind als Werte außerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ markiert. Bei den C5-Werten der IR-ProbandInnen fallen Median sowie erstes und drittes Quartil zusammen, wodurch die Box auf eine Linie reduziert wird.

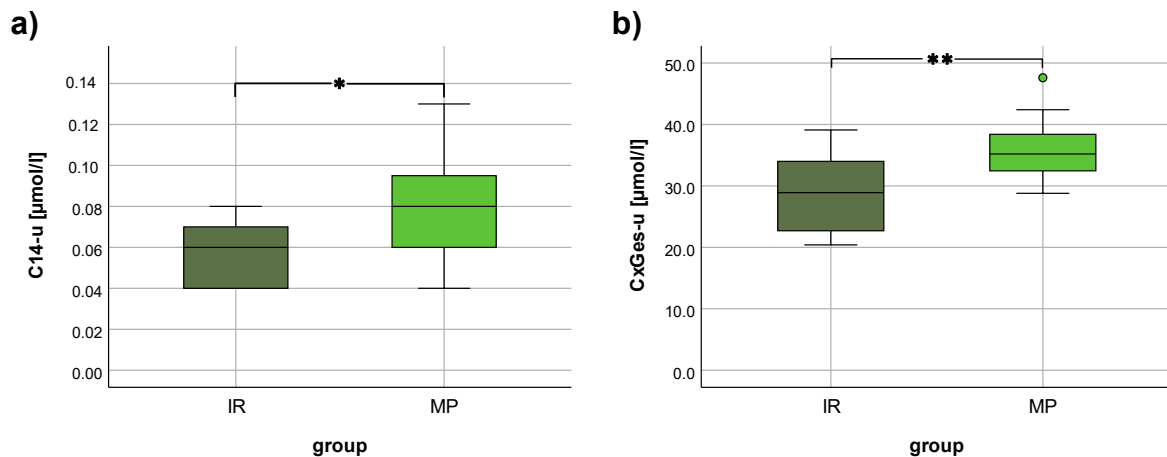


IR: iReAct (n=10); MP: MultiPill-Exercise (n=16)

*: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 30: Mittelkettige Acylcarnitine mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] der mittelkettigen Acylcarnitine **a) C6-u** ($p=0,007^{**}$), **b) C8-u** ($p=0,007^{**}$), **c) C10-u** ($p=0,014^*$), **d) C10:1-u** ($p=0,002^{**}$), **e) C12-u** ($p<0,001^{**}$) und **f) C12:1-u** ($p=0,014^*$) zum Zeitpunkt t12, differenziert nach den Studiengruppen iReAct (dunkelgrün) und MultiPill-Exercise (hellgrün). Für diese Metaboliten zeigen sich zum Zeitpunkt t12 (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen den Gruppen. Der Boxplot gibt Median und Interquartilsabstand an, Ausreißer sind als Werte außerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ markiert. Bei den C12:1-Werten der IR-ProbantInnen fallen Median sowie erstes und drittes Quartil zusammen, wodurch die Box auf eine Linie reduziert wird.



IR: iReAct (n=10); MP: MultiPill-Exercise (n=16)
 *: signifikanter Unterschied; **: hochsignifikanter Unterschied

Abbildung 31: Langkettige Acylcarnitin C14-u und Gesamtcarnitin mit signifikanten Konzentrationsunterschieden zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe zum Zeitpunkt t12.

Die Abbildung zeigt die Konzentrationen [$\mu\text{mol/l}$] von des Acylcarnitins **a)** C14-u ($p=0,039^*$) und **b)** Gesamtcarnitin (CxGes) ($p=0,003^{**}$) zum Zeitpunkt t12, aufgeschlüsselt nach den Studiengruppen iReAct (dunkelgrün) und MultiPill-Exercise (hellgrün). Dabei zeigen sich bei diesen Metaboliten zum Zeitpunkt t12 (hoch)signifikante Konzentrationsunterschiede zwischen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Die Box zeigt den IQR (25.–75. Perzentil), der Mittelstrich den Median. Die Whisker kennzeichnen die Werte innerhalb von $1,5 \times \text{IQR}$ ober- bzw. unterhalb der Box. Einzelne Punkte stellen Werte dar, die außerhalb des Bereichs der Whisker liegen und somit als Ausreißer klassifiziert werden. Das Fehlen eines Whiskers erklärt sich dadurch, dass der kleinste Wert in diesem Kollektiv am 25. Perzentil liegt und somit rechnerisch mit der Unterkante der Box zusammenfällt.

5 Diskussion

Die im vorhergehenden Kapitel dargelegten Ergebnisse bilden die Grundlage für die nachfolgende kritische Auseinandersetzung im Rahmen der Diskussion. In den folgenden Abschnitten werden die Befunde der *Metabolomics*-Analysen systematisch interpretiert und im Kontext bestehender wissenschaftlicher Literatur eingeordnet. Dabei wird nicht nur auf die biologische und klinische Relevanz der identifizierten metabolischen Unterschiede eingegangen, sondern auch auf mögliche Limitationen der Datenerhebung und -auswertung. Darüber hinaus erfolgt eine differenzierte Betrachtung der methodischen Rahmenbedingungen der zugrunde liegenden Studien, insbesondere im Hinblick auf Studiendesign, Kohortencharakteristika sowie die Durchführung der Trainingsinterventionen. Ziel dieser Diskussion ist es, die Aussagekraft der gewonnenen Ergebnisse zu bewerten, Limitationen darzustellen und Implikationen für zukünftige Forschungsvorhaben abzuleiten.

5.1 Diskussion der *Metabolomics*-Analyse

Im nachfolgenden Abschnitt werden die Ergebnisse der durchgeführten *Metabolomics*-Analysen eingehend diskutiert. Ziel ist es, die identifizierten statistisch signifikanten Veränderungen im Metabolitenprofil systematisch zu analysieren und hinsichtlich ihrer biologischen Relevanz zu bewerten. Dabei steht die Interpretation einzelner metabolischer Marker im Fokus, die auf physiologische Anpassungsprozesse oder krankheitsspezifische Besonderheiten hinweisen können. Es wird berücksichtigt, inwieweit die beobachteten Effekte mit bisherigen Erkenntnissen aus der Literatur übereinstimmen oder neue Hypothesen generieren. Zudem wird reflektiert, welche metabolischen Veränderungen möglicherweise eine Reaktion auf die Trainingsintervention darstellen und welche Unterschiede zwischen gesunden und chronisch erkrankten Teilnehmenden bestehen.

5.1.1 Bewertung und Vergleich der *baseline*-Metabolitenkonzentrationen mit Literaturdaten

Bei der Auswertung der *baseline*-Metabolitenkonzentrationen stellte sich der Einflussfaktor „Geschlecht“ als äußerst relevant heraus. Es zeigte sich, dass insgesamt 12 Metaboliten bei Probanden in einer signifikant höheren Ausgangskonzentration vorlagen als bei Probandinnen (vgl. Abb. 10-13). Auch in der Literatur gibt es bereits zahlreiche Hinweise darauf, dass das Geschlecht ein wichtiger Einflussfaktor auf die metabolische Zusammensetzung von Blut und Plasma ist (Krumstiek *et al.*, 2015; Rist *et al.*, 2017; Audano *et al.*, 2018; Darst *et al.*, 2019; Rodas *et al.*, 2022). Einige AutorInnen postulieren sogar, dass das Geschlecht neben dem Alter die wichtigste Variable bei der Beeinflussung der Metaboliten-Profile ist (Rist *et al.*, 2017; Audano *et al.*, 2018; Rodas *et al.*, 2022). Dementsprechend bedeutsam ist es, dieser Einflussgröße bei der Auswertung einer *Metabolomics*-Studie Beachtung zu schenken.

Bei der Auswertung der *baseline*-Aminosäurekonzentrationen zeigten sich jedoch in dieser Studie keine signifikanten Differenzen zwischen den Mittelwerten der weiblichen und männlichen Kohorte. Dies steht im Widerspruch zu den Daten

anderer Arbeitsgruppen: Darst *et al.*, 2019, konnten für 15 Aminosäuren einen signifikanten Konzentrationsunterschied zwischen den Geschlechtern nachweisen. Dabei waren in dieser Arbeitsgruppe mit Ausnahme von Glycin und Serin die übrigen 13 Aminosäuren bei Frauen in einer geringeren Konzentration vorhanden als bei Männern. Zu diesen zählten auch die in dieser Arbeit gemessenen Aminosäuren Tyrosin, Methionin und Phenylalanin sowie die drei BCAAs Valin, Leucin und Isoleucin (Darst *et al.*, 2019). Auch Rist *et al.*, 2017, beschrieben eine höhere Konzentration der BCAAs im Blutplasma von Männern im Vergleich zu Frauen und deklarierten diese Metaboliten als auffälligstes Unterscheidungsmerkmal zwischen den Geschlechtern. Besonders die BCAAs spielen beim Muskelmetabolismus eine wichtige Rolle und liegen sowohl in Ruhe als auch während körperlicher Belastung bei Männern in einer höheren Konzentration vor. Gründe für die höheren Aminosäurespiegel bei Männern könnten eine größere Muskelmasse und eine im Vergleich zu Frauen erhöhte Proteinaufnahme sein (Rist *et al.*, 2017).

Bei den (Acyl-)Carnitinen zeigte sich in dieser Studie vor allem, dass das freie Carnitin und das Gesamtcarnitin bei den Teilnehmern in signifikant höheren Basalkonzentrationen vorlagen als bei den Teilnehmerinnen. Zum gleichen Ergebnis kam auch die Arbeitsgruppe um Takiyama und Matsumoto, 1998. Diese stellten bei einer männlichen Kohorte im Alter von 15-50 Jahren ebenfalls höhere Konzentrationen des freien Carnitins als bei einer entsprechenden weiblichen Gruppe fest. Darüber hinaus zeigte sich in der entsprechenden Studie bei den Probandinnen eine negative Korrelation zwischen der Östrogen-Konzentration und dem Spiegel des freien Carnitins. Dies könnte ein Anhaltspunkt dafür sein, dass die Carnitin-Konzentration von Sexualhormonen wie Östrogen beeinflusst wird und könnte erklären, dass bei Frauen mit Beginn der Menopause die Carnitin-Spiegel ansteigen (Takiyama and Matsumoto, 1998). Da die Teilnehmerinnen der iReAct-Substudie ein maximales Alter von 40 Jahren aufwiesen, ist davon auszugehen, dass alle Probandinnen prämenopausal waren (Minkin, 2019). Dies wiederum deckt sich mit den niedrigeren Gesamt- und freien Carnitin-Werten der weiblichen Gruppe im Vergleich zur männlichen Gruppe.

In Bezug auf die Acylcarnitine fielen in dem im Rahmen dieser Arbeit analysierten ProbandInnenkollektiv insgesamt 10 von 18 gemessenen Acylcarnitine mit signifikant höheren *baseline*-Werten bei Männern auf, darunter 4 kurzkettige, 4

mittelkettige und 2 langkettige Acylcarnitine. Ähnliche Effekte beobachteten auch Darst *et al.*, 2019, die bei 17 von 26 gemessenen Acylcarnitinen bei Frauen geringere Werte im Vergleich zu Männern feststellten. Takiyama und Matsumoto, 1998, hingegen konnten keine geschlechterspezifischen signifikanten Unterschiede bei Acylcarnitin-Werten finden. Konträre Ergebnisse hingegen beobachteten Audano *et al.*, 2018, bei Studien an Ratten. Die AutorInnen postulierten, dass die Acylcarnitine C16:0, C18:0 und C20:0 die wichtigsten Metaboliten für eine Differenzierung zwischen den Geschlechtern sind und präsentierten Daten, die zeigen, dass sich diese Acylcarnitine vor allem bei weiblichen Ratten anreichern. Sie deuteten dies als Hinweis auf eine unzureichende β -Oxidation der Fettsäuren bei weiblichen Ratten. Des Weiteren bestätigte sich in gezielten Genexpressionsanalysen, dass männliche Ratten eine gesteigerte Expression von Genen, die für Enzyme der β -Oxidation kodieren, zeigen. Dies lässt darauf schließen, dass dieser Stoffwechselweg in der Tat bei männlichen Tieren aktiver ist.

Insgesamt kann und konnte also bisher noch nicht abschließend geklärt werden, welchen Einfluss das Geschlecht auf die Metabolitenkonzentrationen im Blut hat. Zwar zeigen auch die Ergebnisse dieser Arbeit, dass das Geschlecht einen signifikanten Einflussfaktor darstellt, allerdings muss bei der Beurteilung dieser Daten beachtet werden, dass durch die geringen Fallzahlen der Studie nur Ergebnisse mit einer sehr geringen Teststärke präsentiert werden können. Eine geringe Fallzahl reduziert die Teststärke statistischer Verfahren, da die Schätzung von Mittelwerten und Varianzen mit zunehmender Stichprobengröße präziser wird. Bei kleinen Stichproben ist die Streuung der Daten höher, wodurch sich Unterschiede zwischen Gruppen weniger zuverlässig von zufälligen Schwankungen unterscheiden lassen. Folglich steigt die Wahrscheinlichkeit eines β -Fehlers, also dass tatsächlich vorhandene Effekte nicht als signifikant erkannt werden (*Statistical Power*, 2025). Des Weiteren wird bei der Interpretation der *baseline*-Daten berücksichtigt, dass die Gruppengrößen zwischen Frauen ($n = 10$) und Männern ($n = 3$) ungleich verteilt waren, sodass mögliche geschlechtsspezifische Unterschiede nur eingeschränkt vergleichbar sind. Dies kann mögliche Verzerrungen zur Folge haben. Auch bei der Betrachtung der weiteren Daten und Resultate dieser Arbeit, auch über den Zeitpunkt t_0 hinaus, sollte stets berücksichtigt werden, dass der Faktor

„Geschlecht“ und das ungleiche Verhältnis Männer zu Frauen sowie die ungleichmäßige Verteilung der Männer auf die zu vergleichenden Gruppen eine ständige Störvariable darstellt. Zwar hätte ein Vergleich der Geschlechtergruppe auch zum Zeitpunkt t1 und t2 mehr Aufschluss über den Einfluss der Variable „Mann“ bzw. „Frau“ auf die Metabolitenkonzentrationen sowie eine mögliche geschlechterspezifische Metabolitendynamik geben können, allerdings waren die Datensätze zu diesen Zeitpunkten nicht für eine solche Testung geeignet: Unterschiede bezüglich der t1-Konzentrationen der einzelnen Metaboliten zwischen der weiblichen (n=8) und männlichen (n=3) Gruppe hätten nur mit großer Vorsicht auf die Geschlechterdifferenz zurückgeführt werden können. Grund dafür ist, dass bis zu diesem Zeitpunkt zwei Männer nach dem HIIT-Programm trainiert hatten, während nur ein Mann mit dem MIC-Training trainiert hatte. Da das Verhältnis in der Gruppe der Frauen von HIIT-Trainierenden (n=3) zu MICT-Trainierenden (n=5) fast gegenteilig war und dies eine große Störvariable dargestellt hätte, wäre ein Vergleich der „männlichen“ und „weiblichen“ Metabolitenkonzentrationen zum Zeitpunkt t1 nicht zielführend gewesen. Auch zum Zeitpunkt t2 stellte sich ein Vergleich der Mittelwerte von Frauen und Männern mit nur einem Datensatz vom einem Mann als nicht sinnvoll heraus. Dennoch ist festzuhalten, dass bereits einige Studien einen geschlechterspezifischen Konzentrationsunterschied der Metabolite in Ruhe nachweisen konnten (Krumsiek *et al.*, 2015; Rist *et al.*, 2017; Audano *et al.*, 2018; Darst *et al.*, 2019; Rodas *et al.*, 2022). Die Frage, ob der Faktor "Geschlecht" auch nach sportlichen Interventionen weiterhin vorhanden ist, ist ein sicherlich lohnender Ansatzpunkt für weitere Studien. Ebenso lohnend wäre die Untersuchung, inwiefern geschlechtsspezifische Unterschiede in der Dynamik der Metaboliten im Kontext des Trainings existieren. Dies war jedoch aufgrund der oben beschriebenen limitierten Datenlage in dieser Arbeit ebenfalls nicht möglich.

Nichtsdestotrotz besteht auch in der Literatur allgemeiner Konsens darüber, dass das Geschlecht eine individuelle Signatur im Metaboliten-Profil hinterlässt und es dementsprechend in jeder *Metabolomics*-Studie beachtet werden sollte (Rist *et al.*, 2017).

5.1.2 Bewertung und Vergleich der trainingsinduzierten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen mit Literaturdaten

Bewertung der trainingsinduzierten Veränderungen zu den Zeitpunkten t1 und t2

Ein elementarer Bestandteil dieser Arbeit war die Frage, inwieweit sich die Metabolitenkonzentrationen der Teilnehmenden durch das Training verändern. Die Metabolitenkonzentrationen wurden zunächst rein deskriptiv zu den einzelnen Zeitpunkten betrachtet. Die Ergebnisse stellt Tabelle 3 dar. Nach einer anfänglich sehr heterogenen Entwicklung der Metaboliten zum Zeitpunkt t1, bei dem 13 der insgesamt 27 Metabolite um mehr als 10 % ihres Ausgangswertes angestiegen waren, 11 gleichbleibend und 3 abfallend waren, ergab sich zum Messzeitpunkt t2 ein homogeneres Bild: Mit Ausnahme eines erhöhten und eines unveränderten Metaboliten zeigten 25 von 27 Metaboliten niedrigere Konzentrationen zu t2 im Vergleich zur *baseline*-Messung. In den folgenden statistischen Analysen zeigten sich neben den bereits zum Zeitpunkt t1 signifikant veränderten kurzkettigen Acylcarnitinen C2 und C3 gleiche auch zum Zeitpunkt t2 mit signifikanten Konzentrationsabfällen. Zudem konnten auch die Acylcarnitine C4 und C3-DC+C4-OH sowie alle mittelkettigen Acylcarnitine (C6, C8, C10, C10:1, C12 und C12:1) zu t2 in signifikant geringeren Konzentrationen gemessen werden. Auch die Aminosäuren Methionin und das Tyrosin-Abbauprodukt Succinylaceton wurden in der t2-Probe als signifikant niedriger bestimmt. Besonders interessant erscheint die Entwicklung der Metaboliten C2 und C3. Diese waren die einzigen, die zu beiden Zeitpunkten signifikante Veränderungen zeigten.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass die Konzentration der Acylcarnitine C2 und C3 nach einer anfänglichen kürzeren Trainingsperiode zunächst ansteigt. Erst in Reaktion auf längere Trainingsphasen scheinen sich die Stoffwechselforgänge um diese Metaboliten wieder zu verändern, so dass ihre Konzentration im Blut abnimmt. Der genaue Verlauf der C2- und C3-Metabolitenkonzentrationen über einen längeren Trainingszeitraum eröffnet sich als ein interessanter Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen. Die Ergebnisse dieser Arbeit deuten darauf hin, dass Veränderungen im Konzentrationsverlauf dieser kurzkettigen Acylcarnitine Rückschlüsse auf deren Metabolismus

zulassen und zukünftig die Möglichkeit eröffnen, Trainierende anhand ihres C2- bzw. C3-Verlaufs einer individuellen Trainingsphase zuzuordnen.

Die übrigen Metaboliten aus der Reihe der kurz- und mittelkettigen Acylcarnitine sowie Methionin und Succinylaceton scheinen erst durch längere Trainingsphasen, wie in diesem Fall 12 Wochen, beeinflusst zu werden. Dabei nahmen die Blutkonzentrationen aller mittelkettigen Acylcarnitine und von 4/7 der kurzkettigen Acylcarnitine hier signifikant ab. Zu gegenteiligen Ergebnissen kam hingegen die Arbeitsgruppe um Huffman *et al.*, 2014, die ähnlich wie die vorliegende Arbeit die Auswirkungen von längeren Trainingsinterventionen auf Metabolitenmuster beschreibt. In den Untersuchungen von Huffman *et al.*, 2014, trainierten die TeilnehmerInnen insgesamt sechs Monate lang in einer von fünf zufällig zugeteilten Aerobic- und/oder Krafttrainingsgruppen: wenig Training mit moderater Intensität (5.02 kJ/Woche [1.200 kcal/Woche] bei 40-55 % $\dot{V}O_2\text{max}$); wenig Training mit hoher Intensität (5.021 kJ/Woche [1.200 kcal/Woche] bei 65-80 % $\dot{V}O_2\text{max}$); viel Training mit hoher Intensität (8.368 kJ/Woche [2.000 kcal/Woche] bei 65-80 % $\dot{V}O_2\text{max}$); Krafttraining (3 Einheiten/Woche) und kombiniertes, niedrigintensives Kraftausdauertraining. Nach letzterem wurden vermehrt kurz- und mittelkettige Acylcarnitine nachgewiesen. Nach Trainingseinheiten mit hohem Energieverbrauch waren dagegen vor allem mittel- und langkettige Acylcarnitine erhöht.

Kuehnbaum *et al.*, 2015, beschreiben für ihre Studie, in der neun übergewichtige Frauen sechs Wochen lang dreimal wöchentlich ein HIIT-Programm absolvierten, eine Erhöhung des Acylcarnitins C2 nach der Interventionsphase. Die AutorInnen führten dabei sowohl vor der sechswöchigen Trainingsphase als auch danach eine Leistungsdiagnostik durch und bestimmten dabei die Metabolitenkonzentrationen zu drei Zeitpunkten (vor Belastung (0 min), *post exercise* (20 min), *recovery* (40 min)). Beim Vergleich der Metabolitenkonzentrationen vor der Leistungsdiagnostik (Zeitpunkt 0 min) konnten sie erhöhte C2-Werte nach der HIIT-Trainingsphase feststellen. Zu den anderen Zeitpunkten wurden dagegen keine Veränderungen nachgewiesen. Aufgrund dieser Ergebnisse postulierten sie, dass der C2-Metabolit ein guter Marker sein könnte, um den Trainingszustand einer Person zu bestimmen.

Weitere Ergebnissen im Bereich der Acylcarnitine beschreibt die Arbeitsgruppe um Koay *et al.*, 2021: Sie beobachteten die Entwicklung der

Metabolitenkonzentrationen im Plasma von 52 gesunden Soldaten vor und nach einem einheitlichen 80-tägigen Kraft- und Ausdauerprogramm mit einer Belastung von ca. 1,3 Stunden pro Tag. Dabei stellten sie fest, dass die kurzkettigen Acylcarnitine nach der 80-tägigen Trainingsintervention verringert waren. Die Abnahme der kurzkettigen Acylcarnitine wird von Koay *et al.*, 2021, damit erklärt, dass es als Anpassung an die Trainingsintervention zu einer Erhöhung der muskulären Kapazität für die Metabolisierung von Fettsäuren kommt. Acylcarnitine sind als Transportform der Fettsäuren auch elementare Bestandteile der β -Oxidation und damit maßgeblich an der aeroben Energiebereitstellung beteiligt. Die aerobe Energiebereitstellung ist insbesondere bei Langzeitbelastungen von großer Bedeutung, während sie bei Belastungen mit höherer Intensität nur eine untergeordnete Rolle spielt (Khoramipour *et al.*, 2022). Eine Abnahme der Acylcarnitinkonzentrationen spricht daher nach Koay *et al.*, 2021, für eine verbesserte Effizienz der β -Oxidation, während eine inkomplette β -Oxidation zu einer Akkumulation von Acylcarnitinen führen kann. Die t2-Ergebnisse dieser Arbeit könnten in ähnlicher Art und Weise erklärt werden, dahingehend, dass eine erhöhte Effizienz der β -Oxidation in Reaktion auf das Training kausal für die Abnahme einiger kurz- und mittelkettiger Acylcarnitine sein könnte. Diese Hypothese würde in ihrer Umkehrung teilweise auch die Ergebnisse von Huffman *et al.*, 2014, und Kuehnbaum *et al.*, 2015, erklären. Diese beobachteten die Anreicherung bestimmter Acylcarnitine insbesondere nach hochintensiven Trainingseinheiten, bei denen es zu einer überwiegend anaeroben Energiebereitstellung und einer Repression der Fettsäureoxidation und damit möglicherweise unvollständigen β -Oxidation kommen kann (Hargreaves and Spriet, 2020).

Für freies Carnitin und Gesamtcarnitin ergaben sich für den Datensatz, der dieser Arbeit zugrunde lag, keine Unterschiede. Zwar zeigte das freie Carnitin als einziger Metabolit zum Messzeitpunkt t2 leicht erhöhte Konzentrationen im Vergleich zu den Basiswerten, dieser Konzentrationsanstieg war jedoch nicht signifikant. Auch das Gesamtcarnitin zeigte weder zum Messzeitpunkt t1 noch zum Messzeitpunkt t2 signifikante Veränderungen. Auch Huffman *et al.*, 2014, beobachteten innerhalb der im Rahmen ihrer Studie durchgeführten sechsmonatigen Interventionsphase keine konstante Veränderung des freien Carnitins, unabhängig von der Art des Trainings. Kuehnbaum *et al.*, 2015,

hingegen stellten bei den neun von ihnen untersuchten Probandinnen nach einer sechswöchigen HIIT-Intervention erhöhte Werte des freien Carnitins in Ruhe fest. Die Carnitinkonzentration war dabei mit dem Trainingsstatus (untrainiert vs. trainiert) der Teilnehmenden assoziiert und wird von den AutorInnen als bester Marker betitelt, um den Trainingszustand einer Person zu bestimmen. Sie erklären den Anstieg der Konzentration des freien Carnitins damit, dass das HIIT-Training die Mitochondrienbiogenese steigert und damit die oxidative Kapazität der Muskeln fördert. Um jedoch auch ausreichend Substrate für die Energiegewinnung in die Mitochondrien zu transportieren, wird das freie Carnitin in größeren Mengen benötigt. Dieses wird als Co-Faktor für die Carnitin-Palmitoyltransferase 1 benötigt, um die Fettsäuren zur β -Oxidation über die innere Mitochondrienmembran zu transportieren. Ein erhöhter Status des freien Carnitins zeigt sich demnach eher bei trainierten Personen (Kuehnbaum *et al.*, 2015).

Auch im Bereich der Aminosäuren zeigen die Ergebnisse verschiedener *Metabolomics*-Studien zu trainingsinduzierten Veränderungen insgesamt sehr heterogene Ergebnisse. In den dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen fielen insbesondere die Konzentrationen der Aminosäure Methionin und des Tyrosin-Abbauprodukts Succinylaceton bis zum Messzeitpunkt t2 signifikant ab. Gehlert *et al.*, 2022, konnten zudem einen Abfall der BCAA- und Phenylalanin-Konzentrationen nach chronischem Training beobachten. Die Teilnehmenden der entsprechenden Studie hatten dabei insgesamt 13 Einheiten eines Krafttrainings absolviert. Die Metaboliten wurden jeweils 45 Minuten nach der 1. und der 13. Trainingseinheit bestimmt. Auch Huffman *et al.*, 2014, die die trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen der Metaboliten nach einer insgesamt sechsmonatigen Trainingsintervention, bestehend aus Kraft- und/oder Aerobic-Einheiten, betrachteten, postulierten, dass Aminosäuren besonders in der Erholungsphase nach einem Trainingsreiz vorzugsweise für die Muskelproteinsynthese und nicht nur für die mitochondriale Energieproduktion verwendet werden. Einen gesteigerten Katabolismus der BCAAs und damit eine Abnahme ihrer Konzentrationen konnte auch von Koay *et al.*, 2021, nach einem 80-tägigem Kraft- und Ausdauerprogramm beobachten werden. Da sowohl akutes als auch chronisches Kraft- und Ausdauertraining die mitochondriale, sakroplasmatische und myofibrilläre Proteinsynthese steigern,

wird dies oft von AutorInnen als Erklärung für die trainingsinduzierte Abnahme der Aminosäurekonzentrationen herangezogen (Huffman *et al.*, 2014; Hargreaves and Spriet, 2020; Gehlert *et al.*, 2022). Auch Kujala *et al.*, 2013, stellten in ihrer Zwillingsstudie geringere Konzentrationen der Aminosäuren Isoleucin, Tyrosin und Phenylalanin bei der aktiven Kohorte fest. In ihrer Arbeit werteten sie dabei unter anderem Daten von 16 Zwillingspaaren aus. Diese unterschieden sich seit mehr als 30 Jahren in ihrer Freizeitgestaltung, wobei stets ein Zwilling als inaktiv und ein Zwilling als aktiv zu beschreiben war. Neben der Beobachtung der erniedrigten Konzentrationen der oben genannten Aminosäuren in der Gruppe der aktiven Zwillinge, konnte in dieser Gruppe auch die vermehrte Expression von Genen, die für BCAA-Abbauenzyme kodieren, im Muskel und Fettgewebe festgestellt werden.

Zu konträren Ergebnissen im Bereich der Aminosäuren gelangten jedoch die Arbeitsgruppen um Zhang *et al.*, 2020 und Pechlivanis *et al.*, 2013. Zhang *et al.*, 2020, beschrieben eine Zunahme der Isoleucinkonzentration im Blut ihrer Probanden. Dabei verglichen sie die Werte von 24 Männern vor und nach einer sechsmonatigen Trainingsintervention, während der diese drei- bis fünfmal pro Woche ein Aerobic- oder Nordic-walking-Training absolvierten. Pechlivanis *et al.*, 2013, verglichen die Metabolitenwerte von 14 gesunden Männern vor und nach einer dreiwöchigen Trainingsphase mit drei wöchentlichen Sprintintervalleinheiten. Hierbei fiel bei der Ruhemessung nach der dreiwöchigen Trainingsphase nur die Aminosäure Valin mit signifikant höheren Konzentrationen auf.

Abschließend soll nun noch auf die Aminosäure Tyrosin eingegangen werden. Die Tyrosinwerte im in dieser Arbeit analysierten iReAct-Datensatz waren als einzige Metabolitenwerte sowohl zum Messzeitpunkt t1 als auch zum Messzeitpunkt t2 nicht erniedrigt, sondern konstant. Einige AutorInnen beschreiben, dass Tyrosin in Antwort auf eine akute Belastung nicht wie andere Aminosäuren verbraucht wird, sondern als Produkt des Zellmetabolismus akkumuliert (Peake *et al.*, 2014; Contrepolis *et al.*, 2020). Ähnliches beschreiben auch Koay *et al.*, 2021. Die AutorInnen konnten zwar, wie bereits beschrieben, nach einem 80-tägigen Kraft- und Ausdauerprogramm einen erhöhten Katabolismus der BCAA nachweisen, jedoch zeigten sich parallel dazu erhöhte Tyrosinwerte. Tyrosin ist mit der trainingsinduzierten Proteolyse assoziiert und

wird von Koay *et al.*, 2021, als Marker für Protein-*turnover* betitelt. Da jedoch andere Studien auch von einem „aktivitätsinduzierten“ Absinken der Tyrosinkonzentrationen berichten (Kujala *et al.*, 2013), gilt die Studienlage hier als nicht abschließend geklärt.

Zusammenfassend lässt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit ableiten, dass mehrwöchiges Ausdauertraining zu charakteristischen Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen in Ruhe führt. In der vorliegenden Studie konnten insbesondere nach einer zwölfwöchigen Trainingsphase zahlreiche Metaboliten beobachtet werden, deren Konzentration in Abhängigkeit von den Trainingsreizen ab- bzw. zunahm. Ein Vergleich mit Literaturdaten zeigte jedoch in allen Bereichen eine sehr heterogene Studienlage (Kujala *et al.*, 2013; Pechlivanis *et al.*, 2013; Huffman *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2020; Koay *et al.*, 2021; Gehlert *et al.*, 2022). Zwar wurde im Rahmen dieser Arbeit darauf geachtet, für den Vergleich nur Studienergebnisse zu berücksichtigen, die auch die Entwicklung der Stoffwechselprodukte in Abhängigkeit von einer längeren Trainingsintervention beschreiben, jedoch wird auch hier der Vergleich durch eine breite Streuung der Interventionsdauer und -art erschwert. Zudem ist bei der Bewertung der Ergebnisse dieser Studie zu berücksichtigen, dass sie mit einer sehr geringen Teilnehmerzahl durchgeführt wurde. Darüber hinaus ist zu beachten, dass die Daten für den t0/t1-Vergleich von denselben Probandinnen und Probanden stammten, während der t2-Datensatz von einer anderen Teilnehmerkohorte kam. Der t0/t1-Vergleich kommt dabei zumindest in Bezug auf die signifikanten Anstiege einiger kurzkettiger Acylcarnitine zu ähnlichen Ergebnissen, wie sie bereits von anderen AutorInnen beschrieben wurden. Die Tatsache, dass die t2-Daten von anderen TeilnehmerInnen stammten als die t0-Daten, muss jedoch eindeutig als störender Einfluss gewertet werden. Die Feststellung, dass alle signifikant veränderten Metaboliten zum Zeitpunkt t2 im Vergleich zu t0 in niedrigeren Konzentrationen vorlagen, sollte nur mit Vorsicht ausschließlich auf den Trainingseffekt zurückgeführt werden. Es ist denkbar, dass die Durchschnittswerte der Metaboliten in der t2-Kohorte generell niedriger waren als in der Kohorte, aus der die t0-Werte stammten. Ein Indiz dafür ist, dass in der „t0-Gruppe“ Daten von insgesamt drei Männern und sieben Frauen erhoben wurden, während beim t2-Datensatz die Metabolitenkonzentrationen von nur einem Mann und sechs Frauen bestimmt wurden. Wie bereits in Kapitel

5.1.1 beschrieben, treten eine Reihe von Metaboliten bei Männern in höheren Konzentrationen auf als bei Frauen. Die Tatsache, dass in die t2-Stichprobe nur der Datensatz eines Mannes anstelle von drei in der t0-Stichprobe eingegangen war, ist einer der Einflussfaktoren, dass die Metabolitenkonzentrationen der „t2-Gruppe“ generell niedrigere Mittelwerte aufweisen. Angesichts der insgesamt geringen Fallzahl wurde jedoch auf eine nachträgliche Anpassung des Geschlechterverhältnisses zwischen den Gruppen verzichtet, da eine solche Maßnahme mit weiteren Stichprobenverlusten einhergegangen wäre und dadurch die statistische Aussagekraft sowie die Generalisierbarkeit der Ergebnisse zusätzlich eingeschränkt worden wären. Um Störvariablen, wie beispielsweise das Geschlecht, zu eliminieren und ausschließlich trainingsinduzierte Veränderungen zu beobachten, wäre es sinnvoll, die Daten der gleichen Personen zu den verschiedenen Messzeitpunkten zu vergleichen oder auf ein ausgewogenes oder zumindest konstantes Geschlechterverhältnis zu achten.

Bewertung des Vergleichs der Trainingsgruppen zum Zeitpunkt t2

Ein weiterer Teil dieser Arbeit bestand darin, zu untersuchen, ob die Reihenfolge der Trainingseinheiten einen Einfluss auf die Metabolitenkonzentrationen der Teilnehmenden hat. Dazu wurden die Mittelwerte der Trainingsgruppe 1 und 2 zum Zeitpunkt t2 verglichen. Während sechs Personen aus Gruppe 1 bis zu diesem Zeitpunkt zunächst das HII- und anschließend das MIC-Trainingsprogramm absolviert hatten, schlossen vier Personen aus Gruppe 2 die Studie nach anfänglichen MIC-Trainingseinheiten mit einem HIIT-Block ab. In der statistischen Auswertung zeigen sich höhere C3- und C8-Metabolitenwerte bei Gruppe 1 im Vergleich zur Gruppe 2, sodass davon ausgegangen werden kann, dass Trainierende höhere Endkonzentrationen der Metaboliten C3 und C8 erreichen, wenn sie zunächst mit hoher Intensität trainieren und dann auf Einheiten mit moderater Intensität wechseln (vgl. Abb. 23). Weitere Untersuchungen zu dieser Thematik sind jedoch lohnend, um besser zu verstehen, wie der zeitliche Ablauf von Trainingsprogrammen und metabolische Veränderungen zusammenhängen.

Jedoch sollte bei der Bewertung der hier aufgeführten Ergebnisse beachtet werden, dass die entsprechenden Fallzahlen sehr klein waren. Für Gruppe 1 standen insgesamt sechs Datensätze zur Verfügung, während für Gruppe 2 sogar nur vier Datensätze in die Auswertung einbezogen werden konnten. Diese geringen Fallzahlen beeinträchtigen die Teststärke. Es ist nicht unwahrscheinlich, dass es sich bei den signifikanten Mittelwertsunterschieden der Trainingsgruppen um zufällig entstandene Unterschiede handelt, die auf die geringe Anzahl der Teilnehmenden zurückzuführen sind. Es ist daher sicherlich lohnend, die entsprechenden Untersuchungen in einer größeren Kohorte zu wiederholen, um zwischen tatsächlich vorhandenen und zufällig entstandenen Unterschieden zu differenzieren. Weiterhin ist es möglich, dass nicht die gesamte Abfolge der Trainingseinheiten, sondern nur der erste oder letzte Trainingsblock oder auch nur akute Effekte der jeweils letzten Trainingseinheiten für die unterschiedlichen Konzentrationen der Acylcarnitine verantwortlich sind. Um den Einfluss der letzten Trainingseinheit möglichst gering zu halten, wurden die Metabolite zwar frühestens 48 Stunden nach zuletzt erfolgter Trainingsintervention bestimmt. Dennoch ist es denkbar, dass auch nach dieser Latenzzeit akute Effekte in Form von kurzfristigen Konzentrationsanstiegen oder -minderungen weiterhin auftreten können und die langfristigen Anpassungserscheinungen des Metaboloms überschatten.

Zu beachten ist zudem, dass, wie bereits weiter oben schon erwähnt, auch das Geschlecht einen signifikanten Einfluss auf die Mittelwertsunterschiede der beiden Trainingsgruppen hat. Bei der Auswertung der *baseline*-Daten hatte sich gezeigt, dass der Metabolit C8 bei Männern in höheren Konzentrationen vorlag als bei Frauen. Zudem gibt es, wie bereits in Kapitel 5.1.1 beschrieben, auch in der Literatur starke Hinweise darauf, dass Männer im Vergleich zu Frauen höhere Acylcarnitinwerte aufweisen (Darst *et al.*, 2019). Bei der Auswertung des Vergleichs der Trainingsgruppen konnten für Gruppe 1 insgesamt fünf Datensätze von Frauen und der Datensatz eines Mannes berücksichtigt werden, was einem Männeranteil von 17 % entspricht. In Gruppe 2 waren jedoch nur die Metabolitenwerte von vier Frauen verfügbar, sodass der Männeranteil in Gruppe 2 bei 0 % liegt. Dass Gruppe 1 im Vergleich zu Gruppe 2 einen höheren Anteil an männlichen Teilnehmern aufwies, trägt somit dazu bei, dass Gruppe 1 höhere Acylcarnitinwerte zum Zeitpunkt t2 zeigte. Allerdings wurden in den

Literaturdaten, die diese These stützen, die Metaboliten der TeilnehmerInnen nicht im Kontext von sportlichen Interventionen gemessen (Krumstiek *et al.*, 2015; Rist *et al.*, 2017; Audano *et al.*, 2018; Darst *et al.*, 2019; Rodas *et al.*, 2022). Es wäre auch an dieser Stelle interessant gewesen zu untersuchen, ob auch die Dynamik der Metaboliten in Zusammenhang mit körperlichem Training geschlechtsspezifisch und trainingspezifisch differiert. Jedoch erwies sich der t2-Datensatz mit nur n=1 Mann (HIIT-MICT) und n=9 Frauen (davon n=5 HIIT-MICT und n=4 MICT-HIIT) als ungeeignet zur Untersuchung einer solchen Fragestellung. Selbst zu t1 wäre ein Vergleich der Entwicklung der Metabolitenkonzentrationen über die Zeit abhängig vom Geschlecht und Trainingsgruppe aufgrund der niedrigen Fallzahlen und unterschiedlichen Gruppengrößen nicht zielführend gewesen. So fanden sich zum Zeitpunkt t1 jeweils nur drei Frauen und zwei Männer im HIIT-Programm und fünf Frauen sowie ein Mann im MICT-Programm. Daher konnte der Einfluss des Geschlechts und der Trainingsform bzw. die Trainingsreihfolge auf die trainingsinduzierte Metabolitendynamik zu diesen Zeitpunkten nicht eindeutig herausgearbeitet werden.

5.1.3 Bewertung der Korrelationsanalysen

Weitere Aspekte der *Metabolomics*-Analysen umfassten die Korrelationsanalysen zwischen den Metabolitenkonzentrationen und den durch Training induzierten Anpassungsreaktionen. Zur Beschreibung dieser Anpassungsreaktionen wurde die $\dot{V}O_2\text{max}$ bzw. deren Veränderung im Laufe der Zeit ($\Delta\dot{V}O_2\text{max}$) verwendet. Die maximale Sauerstoffaufnahme gilt als ein guter Indikator für die Beurteilung der Leistungsfähigkeit des kardiorespiratorischen Systems und nimmt mit der zunehmenden Fitness der ProbandInnen zu. Positive Werte von $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ können somit mit einer Leistungssteigerung assoziiert werden.

Im ersten Schritt wurde eine Korrelation zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ untersucht. Das Ziel dieser Untersuchung war es, festzustellen, ob es einen Zusammenhang zwischen den Ruhekonzentrationen bestimmter Metaboliten und einer nachfolgenden, durch

Training induzierten Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit gibt. Solche Prädiktorwerte könnten in Zukunft als Biomarker zur Erstellung personalisierter Trainingspläne genutzt werden. Stoffwechselprodukte, die durch einen Bluttest bestimmt werden können und Einblicke in die körperliche Leistungsfähigkeit und deren Entwicklung ermöglichen könnten, zeigen sowohl im medizinischen Bereich als auch im Bereich der Spotphysiologie großes Potenzial (Bongiovanni *et al.*, 2019; Muniz-Santos *et al.*, 2023).

Bei den hier durchgeführten Korrelationsanalysen zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ konnten jedoch keine signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden (siehe Kapitel 4.3.1). Ähnliche Untersuchungen von Contrepolis *et al.*, 2020, hatten ergeben, dass hohe Ruhekonzentrationen der BCAAs Valin, Leucin und Isoleucin negativ mit der maximalen Sauerstoffaufnahme korrelieren. Contrepolis *et al.*, 2020, postulieren demnach, dass das Vorhandensein von hohen Ruhekonzentrationen der BCAAs Valin, Leucin und Isoleucin im Blut mit einer schlechteren Leistungsfähigkeit des kardiorespiratorischen Systems einhergeht. Allerdings muss bei einem Vergleich mit den Daten dieser Arbeit beachtet werden, dass bei den entsprechenden Korrelationsanalysen ausschließlich die Absolutwerte der maximalen Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_2\text{max}$) und nicht ihr zeitlicher Verlauf ($\Delta\dot{V}O_2\text{max}$) als Indikator für eine Leistungszunahme oder -abnahme als Reaktion auf eine nachfolgende Trainingsintervention berücksichtigt wurden. Während Contrepolis *et al.*, 2020, bei 36 ProbandInnen die $\dot{V}O_2\text{max}$ während einer einmaligen kardiopulmonalen Belastung bestimmten und diese mit den zuvor erhobenen Ruhewerten der Metaboliten korrelierten, wurde in dieser Arbeit die Veränderung der maximalen Sauerstoffaufnahme durch Training, also die individuelle Trainingsreaktion, betrachtet. Der Unterschied zwischen den $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werten zum Zeitpunkt t_0 und t_1 spiegelt dabei die trainingsinduzierte Zunahme oder Abnahme der körperlichen Leistungsfähigkeit wieder. Im Gegensatz dazu lassen die einmalig gemessenen $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werte bei Contrepolis *et al.*, 2020, lediglich Rückschlüsse auf die gegenwärtige Fitness der ProbandInnen zu.

Ein weiterer Bestandteil neben den Korrelationsanalysen der *baseline*-Werte und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ war die Suche nach Zusammenhängen zwischen der Veränderung der Konzentration eines Metaboliten ($\Delta[\text{Metabolit}]$) und der Änderung der maximalen Sauerstoffaufnahme. Das Ziel dieser Untersuchung war die Identifizierung

möglicher „*Monitoring*“-Metaboliten, also Stoffwechselintermediaten, die dazu geeignet sein könnten, die individuelle Trainingsreaktion zu überwachen. Durch die Beobachtung und Bestimmung solcher Metaboliten über den Verlauf der Trainingsinterventionen hinweg wäre es möglich, auf etwaige Trainingsanpassungsreaktionen zu schließen, ohne regelmäßig eine Leistungsdiagnostik durchführen zu müssen. Diese Möglichkeit des Leistungs-*Monitorings* mittels Metaboliten-*Monitoring* könnte vor allem in Situationen Vorteile bieten, in denen z.B. aufgrund von körperlicher Krankheit, Verletzung oder auch zu Zeiten der Wettkampfvorbereitung eine körperlich belastende Leistungsdiagnostik nicht durchgeführt werden sollte. Zudem ist eine solche zeit- und personalintensiv. Dadurch könnten Trainingspläne kontinuierlicher und individueller angepasst werden.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Korrelationsanalysen zwischen $\Delta[\text{Metabolit}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ konnten jedoch keine signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden. Hervorzuheben ist dennoch das Ergebnis der Korrelationsanalyse zum kurzkettigen Acylcarnitin C2, da dieser Metabolit als einziger einen stark negativen Zusammenhang ($r=-0,600$) mit den $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ -Werten zeigte. Die zweiseitige Signifikanzprüfung ergab dabei einen fast signifikanten Zusammenhang ($p=0,051$). Aber auch hier kann sicherlich nicht ausgeschlossen werden, dass es sich um eine zufällige Korrelation handelt. Nichtsdestotrotz kann die Hypothese formuliert werden, dass die Entwicklung der C2-Konzentration möglicherweise in Zusammenhang mit der Entwicklung der Fitness der Teilnehmenden im Verlauf des Trainingsprogramms steht. Die deutlich negative Korrelation deutet dabei darauf hin, dass ein Rückgang der C2-Werte nach sechs Wochen Training mit einer besseren Entwicklung der Fitness einhergehen könnte, während ein entsprechender Anstieg für eine schlechtere Trainingsanpassungsreaktion spricht.

Andere Ergebnisse wurden von Huffman *et al.*, 2014, erzielt. Die AutorInnen bestimmten $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werte sowie die Konzentrationen zahlreicher Acylcarnitine und Aminosäuren bei einer *baseline*-Messung und 16 bis 24 Stunden nach der letzten Trainingseinheit einer sechsmonatigen Trainingsphase (Ausdauer- und/oder Krafttraining). Anschließend korrelierten sie die prozentuale Zu- bzw. Abnahme der Metaboliten vor und nach dem Training mit der prozentualen Veränderung der $\dot{V}O_2\text{max}$. In der Gruppe der Aminosäuren konnten keine

signifikanten Zusammenhänge festgestellt werden. Bei den Acylcarnitinen hingegen zeigte sich, dass die Konzentrationsveränderung zahlreicher, insbesondere geradkettiger, Acylcarnitine in einem positiven Verhältnis zu der prozentualen Veränderung der $\dot{V}O_2\text{max}$ standen. Zwar konnten Huffman *et al.*, 2014, für den Metaboliten C2 keine signifikante Korrelation zu der prozentualen Veränderung von $\dot{V}O_2\text{max}$ feststellen, allerdings zählten zu den statistisch auffälligen Acylcarnitinen unter anderem auch die in dieser Arbeit gemessenen Acylcarnitine C4-OH, C6, C8, C10, C10:1, C12, C12:1 und C14. Die prozentuale Zunahme all dieser Acylcarnitinkonzentrationen korrelierten dabei signifikant positiv mit der prozentualen Veränderung der $\dot{V}O_2\text{max}$, sodass Huffman *et al.*, 2014, postulierten, dass eine trainingsinduzierte Zunahme bestimmter geradkettiger Acylcarnitine mit einer gesteigerten Fitness einhergeht. Darüber hinaus wurde in der entsprechenden Analyse festgestellt, dass eine trainingsinduzierte Zunahme von geradkettigen Acylcarnitinen positiv mit einer gesteigerten Expression von Genen korreliert, die mit der Sauerstoffaufnahme im Muskel in Zusammenhang stehen. Des Weiteren wurde eine positive Korrelation zwischen den Acyl-carnitinkonzentrationen und der Expression von Genen festgestellt, die für Enzyme der Fettsäureoxidation kodieren. Dies deutet darauf hin, dass eine Zunahme der Acylcarnitinkonzentrationen nach einer längeren Trainingsintervention auf einen gesteigerten Sauerstofftransport in den Muskel, eine bessere aerobe Energiegewinnung der Muskulatur und eine bessere Leistungsfähigkeit hinweisen könnte (Huffman *et al.*, 2014).

Ähnlich wie bei Huffman *et al.*, 2014, wurden auch in der dieser Arbeit zugrunde liegenden Studie mögliche Zusammenhänge zwischen der Veränderung von Metabolitenkonzentrationen und der Trainingsanpassung in Form der Veränderung der $\dot{V}O_2\text{max}$ analysiert. Dieses Vorgehen wurde im Rahmen dieser Arbeit aus folgendem Grund gewählt: Das Geschlecht hatte sich bereits bei den vorangegangenen Analysen als Faktor von permanenter Einflussnahme bzw. Störung erwiesen. Für die Korrelationsanalysen wurden jeweils $n=12$ (*baseline*[MB]) bzw. $n=11$ (Δ [MB]) Datensätze ausgewertet, von denen insgesamt 9 bzw. 8 von Frauen und 3 von Männern stammten. Wie bereits in den Kapiteln 4.1.2 und 5.1.1 beschrieben, zeigen Männer im Vergleich zu Frauen tendenziell höhere Konzentrationen von Metaboliten auf (Darst *et al.*, 2019; Daten dieser Arbeit). Auch bei der maximalen Sauerstoffaufnahme zeigen sich

aufgrund von geschlechtsspezifischen körperlichen Merkmalen Unterschiede zwischen Männern und Frauen, wobei Männer im Durchschnitt um 10-20 % höhere Werte aufweisen (Sharma and Kailashiya, 2016). Dieser Zusammenhang zwischen höheren Metabolitenkonzentrationen und höheren Werten von $\dot{V}O_2\text{max}$ bei Männern bzw. niedrigeren Metaboliten- und $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werten bei Frauen hätte möglicherweise eine fehlerhafte positive Korrelation zwischen diesen beiden Größen suggerieren können. Um den geschlechtsspezifischen Einfluss bei der Frage nach möglichen Zusammenhängen zwischen Metabolitenkonzentrationen und körperlicher Leistungsfähigkeit zu minimieren, wurde in dieser Arbeit ausschließlich die Entwicklung der entsprechenden Parameter über die Zeit berücksichtigt. Genauer gesagt beschränkte sich die Betrachtung auf die t_0/t_1 -Differenzen, welche die zeitliche Veränderung der Metaboliten- bzw. $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werte widerspiegeln und unabhängig von dem ursprünglichen Betrag der Werte sind. Dadurch wurde mit hoher Wahrscheinlichkeit der Einfluss der Variable „Geschlecht“ auf die Δ -Werte reduziert. Es bleibt jedoch unklar, warum die bei Huffman *et al.*, 2014, bereits nachgewiesenen positiven Korrelationen im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht identifiziert werden konnten. Eine mögliche Erklärung besteht darin, dass in der Studie von Huffman *et al.*, 2014, eine sechsmonatige Trainingsintervention durchgeführt wurde, um metabolische Anpassungen zu erfassen, während die vorliegende Untersuchung lediglich eine sechswöchige Trainingsphase umfasst. Es ist daher plausibel, dass die in diesem kürzeren Zeitraum induzierten Veränderungen nicht ausreichen, um signifikante Korrelationen nachzuweisen.

Zudem ist zu berücksichtigen, dass die geringe Fallzahl der vorliegenden Studie mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit eines β -Fehlers einhergeht, wodurch bestehende Zusammenhänge möglicherweise statistisch nicht erfasst werden konnten. Für die erste Korrelationsanalyse, bei der zur Identifikation möglicher Prädiktorwerte etwaige Zusammenhänge zwischen den *baseline*-Metabolitenkonzentrationen und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ analysiert wurden, wurden lediglich 12 Datensätze verwendet (siehe Kapitel 4.3.1). Bei der zweiten Analyse (siehe Kapitel 4.3.2), bei welcher mögliche Relationen zwischen $\Delta[\text{MB}]$ und $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ zur Identifikation möglicher „*Monitoring*“-Werte im Fokus standen, konnte nur mit einer Fallzahl von $n=11$ gearbeitet werden, da bei Probandin IR0046 zum Zeitpunkt t_1 aus technischen Gründen keine Metabolitenbestimmung

durchgeführt werden konnte. Daher war es nicht möglich, für diese Probandin die Δ [MB]-Werte für die zweite Korrelationsanalyse zu berechnen, weswegen sie von dieser Untersuchung ausgeschlossen wurde. Zusammenfassend ist zu betonen, dass Fallzahlen von $n=11$ bzw. $n=12$ als eine sehr geringe Stichprobengröße gelten. Daher sollte die statistische Aussagekraft beider Analysen als gering eingestuft werden. Es wäre von Vorteil, solche Analysen an einer größeren Stichprobe durchzuführen, um weitere Erkenntnisse zu Metaboliten als mögliche „Prädiktor“- und „*Monitoring*“-Marker bei der Trainingsanpassung zu erlangen.

Es wäre zudem sicherlich auch lohnend, den Verlauf der Metaboliten und der $\dot{V}O_2\max$ über einen längeren Zeitraum zu betrachten: Die in dieser Arbeit durchgeführten Korrelationsanalysen mussten sich aufgrund der limitierten Verfügbarkeit von Proben auf die zeitliche Entwicklung der Parameter zwischen den Zeitpunkten t_0 und t_1 beschränken. Wie bereits in Kapitel 5.1.2 erwähnt wurde, sprechen verschiedene Ergebnisse dieser Arbeit dafür, dass einige Metaboliten erst nach einer längeren Trainingsintervention (in diesem Fall 12 Wochen) signifikant veränderte Konzentrationen aufweisen (siehe Abb. 20-22). Folglich könnten sich einige Metabolite erst bei einer Betrachtung über einen längeren Zeitraum als potenzielle „*Monitoring*“-Marker herauskristallisieren. Im Rahmen dieser Arbeit war es jedoch nicht möglich, die t_0/t_2 -Differenz als Grundlage der Δ -Werte zu bestimmen, da die Datenerhebung zum Zeitpunkt t_2 aufgrund der Covid-Pandemie bei der zweiten Kohorte ausfiel (siehe Abb. 8 und Kapitel 3.4.1). Somit lagen von den Testpersonen IR0044-IR0058 lediglich t_0 - und t_1 -Daten für die Korrelationsanalysen vor. Die Daten der ProbandInnengruppe mit den Nummern IR0035 – IR0042 konnte bei der Auswertung der Korrelationsanalysen zudem gar nicht berücksichtigt werden: Mit der Bestimmung der Metabolitenwerte wurde bei diesen erst nach Studienbeginn begonnen. Somit lagen für diese Gruppe lediglich die t_2 -Daten der Metabolitenkonzentrationen vor, was eine Bestimmung der Zu- oder Abnahme der Metabolitenkonzentration und damit die Verwendung dieser Daten bei den Korrelationsanalysen unmöglich machte.

Neben der Betrachtung des Verlaufs der Ruhe-Metabolitenkonzentrationen über den Zeitraum der Trainingsphase hinweg ist es auch denkbar, die Akutantworten der Metabolite auf eine Belastung zu untersuchen und diese auf ihr Potenzial als möglicher „Prädiktor“- oder „*Monitoring*“-Marker zu testen. Akutantworten

beschreiben die Unterschiede zwischen den Messwerten unmittelbar vor und nach einer akuten Belastung und zeigen die direkte Reaktion der Metaboliten an. Sie sind dynamischen Veränderungen des Metaboloms, die direkt durch eine einzelne Belastung ausgelöst werden und sich typischerweise innerhalb von Minuten bis Stunden manifestieren. Metaboliten können in Reaktion auf eine Belastung entweder mobilisiert werden und sich somit anreichern oder ihre Konzentration kann aufgrund ihrer Metabolisierung abnehmen (Pellegrino *et al.*, 2022). Zahlreiche Studien analysierten bereits die Metabolitenentwicklung nach einmaliger akuter Belastung und konnten zeigen, dass sich die akuten Metabolitenantworten durchaus von längerfristigen trainings-induzierten Anpassungsreaktionen unterscheiden (Barnett *et al.*, 1994; Peake *et al.*, 2014; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Contrepolis *et al.*, 2020; Bongiovanni *et al.*, 2022). Dementsprechend wäre es sicherlich auch interessant zu untersuchen, inwieweit sich die akute Mobilisierung bzw. Metabolisierung von Metaboliten in Reaktion auf eine längerfristige Trainingsphase verändert und diese mit möglichen leistungsbestimmenden Parametern (z.B. $\dot{V}O_2\text{max}$) zu korrelieren. So könnte möglicherweise auch im Rahmen der Akutreaktion eine besonders starke oder schwache Mobilisierung eines Metaboliten als prädiktiver Wert fungieren und eine mögliche Leistungsentwicklung vorhersagen. Ebenso könnte die trainingsinduzierte Veränderung der Akutantwort als „*Monitoring*“-Marker dienen. Da im Rahmen dieser Arbeit nur die Ruhe- bzw. *pre-exercise*-Werte, d.h. die Metabolitenkonzentrationen vor einer akuten Belastung, nicht aber die *post-exercise*-Werte gemessen wurden, konnte eine Auswertung der Akutantworten dahingehend nicht erfolgen. Dennoch stellt diese Fragestellung einen interessanten Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen dar und sollte in zukünftigen *Metabolomics*-Studien berücksichtigt werden.

Abschließend bleibt festzuhalten, dass trotz fehlender signifikanter Befunde die in dieser Arbeit erhobenen Daten zahlreiche Hinweise darauf liefern, dass Metaboliten vielversprechende „Prädiktor“- und „*Monitoring*“-Marker im Bereich der Trainingsanpassung sein könnten. Ein Vergleich mit Daten aus der Literatur zeigte eine sehr heterogene Datenlage, die durch weitere Studien mit größeren Fallzahlen und über längere Zeiträume hinweg erweitert werden sollte.

5.1.4 Bewertung der Vergleichsanalysen zwischen iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen

Ein letzter Aspekt der in dieser Arbeit durchgeführten *Metabolomics*-Analyse war der Vergleich der Daten der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studien. Die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen lagen vor allem im Bereich der Vorerkrankungen. Während die TeilnehmerInnen der iReAct-Studie gesund waren, wiesen die TeilnehmerInnen der MultiPill-Exercise-Studie zwei bis drei Diagnosen aus dem Formenkreis der chronischen Erkrankungen auf. Dazu zählten neben einer Knie- und/oder Hüftarthrose oder kardiovaskulären Risikofaktoren auch ein diagnostizierter T2DM bzw. ein GDRS von ≥ 57 Punkte oder eine Adipositas mit einem BMI ≥ 27 kg/m². Aufgrund der Einschlusskriterien der MultiPill-Exercise-Studie, die bereits vorhandene Diagnosen von chronischen Erkrankungen voraussetzen, unterschied sich auch das Alter der Teilnehmenden der iReAct-Studie (28 ± 6 Jahre) und MultiPill-Exercise-Studie (55 ± 10 Jahre) maßgeblich voneinander.

Die in dieser Arbeit untersuchte iReAct-Gruppe bestand zum Zeitpunkt t0 aus insgesamt 13 ProbandInnen, darunter 10 Frauen und 3 Männer. In der MultiPill-Exercise-Gruppe wurden zum Zeitpunkt t0 die Daten von insgesamt 26 ProbandInnen ausgewertet, davon 20 Frauen und 6 Männer. Zum Zeitpunkt t12 lagen in der iReAct-Gruppe 9 Datensätze von Frauen und der Datensatz eines Mannes (insgesamt 10) vor, in der MultiPill-Exercise-Gruppe 11 Datensätze von Frauen und 5 Datensätze von Männern (insgesamt 16). Ziel dieser Untersuchungen war es, herauszufinden, ob Multimorbidität einen Einfluss auf das Metabolom hat, sodass sich die Metabolitenkonzentrationen von gesunden und kranken Personen unterscheiden. Um dieser Frage nachzugehen, wurden die Metabolitenkonzentrationen der iReAct- und MultiPill-Exercise-ProbandInnen zum Zeitpunkt t0 und t12 verglichen. Bereits beim Vergleich der *baseline*-Daten zeigten sich dabei bei sieben Metaboliten, darunter Aminosäuren und Acylcarnitine, signifikant höhere Werte in der MultiPill-Exercise-Gruppe. Zum Zeitpunkt t12, also nach einer 12-wöchigen Trainingsphase, konnten insgesamt 21 Metabolite mit signifikant höheren Werten in der MultiPill-Exercise-Gruppe im Vergleich zur iReAct-Gruppe nachgewiesen werden.

Aus diesen Ergebnissen lässt sich ableiten, dass es deutliche Unterschiede im Metabolom von gesunden und chronisch kranken Menschen gibt. Ähnliche Ergebnisse sind bereits aus der Literatur bekannt. In mehr als 20 Studien konnte eine positive Assoziation von BCAAs mit T2DM nachgewiesen werden. Hohe BCAA-Konzentrationen sowie erhöhte Konzentrationen der Aminosäuren Tyrosin und Phenylalanin weisen auf ein erhöhtes Risiko hin, an einem T2DM zu erkranken (Guasch-Ferré *et al.*, 2016). Als Ursache wird zum einen vermutet, dass zirkulierende BCAAs die Insulinsekretion modulieren können und eine Hyperinsulinämie zu einer Erschöpfung der pankreatischen β -Zellen und einem erhöhten Diabetesrisiko führen kann (Wang *et al.*, 2011). Zum anderen könnte es aufgrund eines erhöhten Proteinkatabolismus bei Insulinresistenz auch zu einer verminderten Aufnahme und erhöhten Freisetzung von BCAAs aus der Skelettmuskulatur kommen (Stančáková *et al.*, 2012). Insgesamt deuten die bisherigen Erkenntnisse somit darauf hin, dass erhöhte BCAA-Werte im Blut ein frühes Signal für eine Verschlechterung der Blutzuckerkontrolle und Insulinsensitivität sein könnten (Guasch-Ferré *et al.*, 2016). Neben erhöhten Aminosäurekonzentrationen bei PatientInnen mit T2DM konnten auch erhöhte Blutkonzentrationen der BCAAs, Phenylalanin und Tyrosin bei übergewichtigen PatientInnen (BMI 25 bis $\leq 35,4 \text{ kg/m}^2$) festgestellt werden. Adipositas geht mit einer Herunterregulierung von Enzymen im Fettgewebe einher, die für den Katabolismus von BCAAs verantwortlich sind, was zu einer verminderten Verstoffwechslung und Akkumulation von BCAAs führt (Glynn *et al.*, 2015). Auch für die Gruppe der (Acyl-)Carnitine konnten in der Literatur bereits einige Hinweise darauf gefunden werden, dass diese Metaboliten bei Personen mit Stoffwechsel-erkrankungen in erhöhten Konzentrationen vorliegen. So wurde bei Mihalik *et al.*, 2010, das freie Carnitin in der Gruppe der ProbandInnen mit T2DM in einer signifikant höheren Konzentration gefunden als in der gesunden Vergleichsgruppe. Auch die Acylcarnitine C2 (Fiehn *et al.*, 2010), C3, C4, C5 (Mihalik *et al.*, 2010), C6, C8 (Adams *et al.*, 2009; Mihalik *et al.*, 2010), C10 (Adams *et al.*, 2009), C10:1, C16, C18 und C18:1 (Mihalik *et al.*, 2010) konnten bei Personen mit T2DM in höheren Konzentrationen nachgewiesen werden als bei gesunden Personen. Bei Personen mit (Prä-) Diabetes wurde eine erhöhte Expression der Carnitin-O-Acetyltransferase festgestellt, welche für die Bildung von Acylcarnitinen aus Carnitin und Acetyl-CoA verantwortlich ist. Dies könnte zu

einer Erhöhung der Konzentrationen bestimmter Acylcarnitine bei Personen mit T2DM führen (Guasch-Ferré *et al.*, 2016). Bei ProbandInnen mit diagnostizierter Adipositas konnten erhöhte Werte der Acylcarnitine C3 (Glynn *et al.*, 2015), C5 (Mihalik *et al.*, 2010; Glynn *et al.*, 2015), C10:1, C16, C18 und C18:1 (Mihalik *et al.*, 2010) festgestellt werden. Dambrova *et al.*, 2022, postulierten, dass viele Acylcarnitine eine wichtige Rolle bei Stoffwechselerkrankungen spielen und stellten eine positive Assoziation mit der Konzentration von mittel- und langkettigen Acylcarnitinen mit Erkrankungen des Fettsäurestoffwechsels und des Herz-Kreislauf-Systems fest. Darüber hinaus konnten die AutorInnen nachweisen, dass langkettige Acylcarnitine bei Personen mit Herzinsuffizienz akkumulieren. Es zeigte sich also sowohl in den Literaturdaten als auch in den Ergebnissen dieser Arbeit, dass chronische Erkrankungen und die Erhöhung einzelner Metabolitenkonzentrationen im Zusammenhang stehen.

Es wäre zudem von Interesse, die Adaptionsreaktionen der Metaboliten im Kontext einer längeren Trainingsphase bei Gesunden und chronisch Kranken zu identifizieren und zu vergleichen. Wie bereits in Kapitel 4.2.3 dargelegt, reagieren die gesunden ProbandInnen auf die durchgeführte Trainingsintervention mit einem signifikanten Abfall verschiedener Metabolitenkonzentrationen. Es wäre von großem Interesse zu untersuchen, inwiefern sich das Metabolitenprofil chronisch kranker ProbandInnen durch Trainingsinterventionen verändert und ob sich Unterschiede in den Anpassungsreaktionen zwischen gesunden und erkrankten Personen feststellen lassen. Dadurch könnte die Fragestellung beleuchtet werden, ob gesunde und chronisch kranke Personen unterschiedlich hinsichtlich ihres Metabolitenprofils auf Training reagieren. Um diesen Fragen nachzugehen wäre es erforderlich gewesen, die Metabolitenverläufe ($\Delta[\text{MB}]$) der MultiPill-Exercise- und der iReAct-Studie zu vergleichen. Aufgrund der Datenlage erschien ein solcher Vergleich in dieser Arbeit jedoch nicht sinnvoll, so dass auf eine diesbezügliche Auswertung verzichtet wurde. Grund dafür war, dass, wie bereits in Kapitel 3.4.1 erwähnt, die t12-Daten der iReAct-Studie von anderen ProbandInnen stammten als die t0-Daten. Bei der MultiPill-Exercise-Studie hingegen konnten sowohl die t0 als auch die t12 Daten von den gleichen ProbandInnen erhoben werden. Die Metabolitenverläufe der iReAct-Studie stellen somit eine nicht verbundene Stichprobe dar, während die Metabolitenverläufe der MultiPill-Exercise-Studie eine verbundene Stichprobe

repräsentieren. Ein Vergleich der trainingsinduzierten Metabolitenveränderungen zwischen der iReAct- und der MultiPill-Exercise-Studie wird zudem dadurch erschwert, dass in den Studien unterschiedliche Interventionen durchgeführt wurden. Während die Teilnehmenden der iReAct-Studie ein reines Sportprogramm über 12 Wochen durchführten, erhielten die Teilnehmenden der MultiPill-Exercise-Studie eine Lebensstilintervention basierend auf personenzentrierten, umfassenden Bewegungsprogrammen und Ernährungsberatungen. Darüber hinaus gab es auch Unterschiede in den Trainingsprogrammen, wie in Kapitel 3.2 beschrieben.

Weiterhin ist zu berücksichtigen, dass zum Zeitpunkt t12 in der MultiPill-Exercise-Gruppe ein höheres Verhältnis von Männern zu Frauen bestand als in der iReAct-Gruppe. Während zum Zeitpunkt t0 der Anteil der Männer in der iReAct-Gruppe (3/13) und in der MultiPill-Exercise-Gruppe (6/26) gleich hoch war, wies die MultiPill-Exercise-Kohorte (5/16) zum Zeitpunkt t12 einen deutlich höheren Anteil an Männern auf als die iReAct-Kohorte (1/10). Da Männer, wie bereits in Kapitel 5.1.1 beschrieben, tendenziell höhere Metabolitenkonzentrationen aufweisen als Frauen (Darst *et al.*, 2019; Abbildungen 10-13), könnte dies auch eine Erklärung für die erhöhte Anzahl an erhöhten t12-Konzentrationen einiger Metaboliten in der MultiPill-Exercise-Gruppe sein.

Neben der Fragestellung nach Unterschieden in den Adaptationsreaktionen der Metaboliten im Kontext einer längeren Trainingsphase stellt auch die Untersuchung der Unterschiede in der Akutantwort auf einen Trainingsreiz zwischen gesunden und chronisch kranken Personen eine interessante Forschungsrichtung dar. Zudem wäre es von Bedeutung, zu analysieren, ob langfristiges Training zu (unterschiedlichen) Veränderungen in der Akutantwort bei gesunden sowie erkrankten Individuen führt. Um diese Fragestellung adäquat zu untersuchen, hätten die Metabolitenwerte vor und nach einer akuten Belastung (*prä-* und *post-exercise*) zu den Zeitpunkten t0 und t12 bestimmt werden müssen, um anschließend die Ergebnisse der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppen miteinander zu vergleichen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnte dieser Ansatz jedoch nicht verfolgt werden, da kein vollständiger Datensatz vorlag, der diese Fragestellung abdeckte. Es wurden lediglich bei der MultiPill-Exercise-Kohorte zum Zeitpunkt t12 Metabolitenwerte vor und nach der im Rahmen der Leistungsdiagnostik stattgefundenen Akutbelastung gemessen,

sodass weder trainingsinduzierte Veränderungen der Akutantwort noch ein Vergleich mit der iReAct-Gruppe möglich waren. Zudem sind die zugrundeliegenden Daten dieser Arbeit ungeeignet, um (trainingsinduzierte) Unterschiede in der Akutantwort zwischen Gesunden und chronisch Kranken zu untersuchen, da die Blutproben für die Metabolom-Analysen der beiden Gruppen im Kontext unterschiedlicher Akutbelastungen gewonnen wurden: Während dies bei der iReAct-Gruppe im Rahmen eines submaximalen Tests erfolgte, fand die entsprechende Blutentnahme bei der MultiPill-Exercise-Studie im Kontext einer Ausbelastung statt.

Nichtsdestotrotz lassen sich bei den in dieser Arbeit durchgeführten Vergleichen der iReAct- und MultiPill-Exercise-Daten weitere Störfaktoren identifizieren. Ein solcher Faktor ist das deutlich unterschiedliche Durchschnittsalter der Teilnehmenden beider Gruppen (IR: 28 ± 6 Jahre; MP: 55 ± 10 Jahre). In der Forschung wird zunehmend darauf hingewiesen, dass neben dem Geschlecht auch das Alter einen maßgeblichen Einfluss auf das Metabolom des Menschen hat (Takiyama and Matsumoto, 1998; Rist *et al.*, 2017; Darst *et al.*, 2019). In ihrer Studie mit gesunden ProbandInnen belegen Rist *et al.*, 2017, dass es bei Männern zwischen dem 30. und 40. Lebensjahr und bei Frauen im Kontext der Menopause zu signifikanten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen im Plasma kommt. Darst *et al.*, 2019, untersuchten in ihren Langzeitstudien die Metabolitenkonzentrationen in Plasmaproben des Wisconsin Registers für Alzheimer Prävention (WRAP) hinsichtlich der Einflussnahme der Faktoren "Geschlecht" und "Alter". Die Ergebnisse zeigen, dass sich die Konzentration von 56,8 % der untersuchten Metabolite mit zunehmendem Alter verändern. Dabei wurde eine positive Korrelation zwischen der Konzentration des auch in dieser Arbeit bestimmten Acylcarnitins C14 und dem Alter festgestellt. Ebenso konnte eine positive Korrelation von 92 der 105 gemessenen Aminosäuren, darunter auch die in dieser Arbeit bestimmte Aminosäure Tyrosin, mit dem Lebensalter festgestellt werden. Bei der Betrachtung der freien Carnitinkonzentration im Plasma von gesunden Japanerinnen und Japanern konnten Takiyama und Matsumoto, 1998, eine negative Korrelation mit der Östrogenkonzentration im Blut von Frauen beobachten. In der Folge wurde die Hypothese aufgestellt, dass Frauen nach der Menopause, die mit einem Abfall der Blutkonzentration des Hormons Östrogen einhergeht (Talaulikar, 2022), höhere Konzentrationen an

freiem Carnitin aufweisen (Takiyama and Matsumoto, 1998). Die Ergebnisse der zuvor genannten AutorInnen betonen eine störende Einflussnahme des stark voneinander abweichenden Durchschnittsalters der iReAct- und MultiPill-Exercise-Gruppe. Die signifikanten Konzentrationsunterschiede einiger Metaboliten sollten demnach nur mit Vorsicht ausschließlich auf das Hauptunterscheidungsmerkmal "Vorerkrankungen" zurückgeführt werden und können demnach auch durch das höhere Durchschnittsalter der MultiPill-Exercise-Gruppe beeinflusst werden. Es sei jedoch angemerkt, dass die Untersuchungen zur Einflussnahme des Alters auf das menschliche Metabolom weiterhin eine heterogene Studienlage aufweisen und die Dynamiken der Metabolitenkonzentrationen im Alterungsprozess nicht einheitlich geklärt sind. Es ist daher von eminenter Wichtigkeit, weitere Studien in diesem Forschungsbereich durchzuführen, um eine fundierte Beurteilung der Einflussnahme der Störvariable "Alter" zu ermöglichen.

Ein weiterer Störfaktor, der den in Kapitel 4.4.3 vorgenommenen abschließenden Vergleich der iReAct- und MultiPill-Exercise-Daten zum Zeitpunkt t12 erschwert, ist die Tatsache, dass die Vergleichsgruppen jeweils unterschiedliche Trainingsprogramme und Lebensstilinterventionen durchliefen. Zwar absolvierten beide Gruppen eine insgesamt 12-wöchige Interventionsphase, diese beinhaltete jedoch unterschiedliche Interventionsprogramme. Die Teilnehmenden der iReAct-Studie absolvierten ein reines und standardisiertes Sportprogramm mit jeweils einer 6-wöchigen HIIT- und einer 6-wöchigen MICT-Einheit. Im Gegensatz dazu erhielten die Teilnehmenden der MultiPill-Exercise-Studie eine Lebensstilintervention, die auf personenzentrierten, umfassenden Bewegungsprogrammen und Ernährungsberatung basierte. Nähere Informationen zum Ablauf der Trainingsprogramme finden sich in den Kapiteln 3.2.1 bzw. 3.2.2. Die unterschiedlichen Interventionsprogramme erschweren den Vergleich der Metabolitenkonzentrationen zwischen der iReAct- und der MultiPill-Exercise-Gruppe erheblich, da die statistisch nachgewiesenen Unterschiede mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht nur auf den Einflussfaktor „gesund vs. chronisch krank“ zurückzuführen sind. Dementsprechend wäre es für die weitere Forschung in diesem Bereich sicherlich sinnvoll, einen solchen Störfaktor zu minimieren, indem auf gleiche bzw. vergleichbare Trainingsprogramme und Lebensstilinterventionen geachtet wird.

Schließlich ist bei der Interpretation der in dieser Studie erzielten Ergebnisse auch zu berücksichtigen, dass die Stichprobengrößen beider Studien und damit die Fallzahlen der statistischen Tests sehr klein waren. Daraus ergibt sich eine geringe Teststärke. Es wäre daher sicherlich lohnenswert, ähnliche Untersuchungen mit einer größeren Anzahl von ProbandInnen durchzuführen, um die statistische Aussagekraft zu erhöhen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass auch im Rahmen dieser Arbeit ein Einfluss chronischer Erkrankungen auf die Metabolitenkonzentrationen nachgewiesen werden konnte. Inwieweit sich die trainingsinduzierten Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen zwischen gesunden und kranken Personen unterscheiden, bleibt im Rahmen dieser Arbeit jedoch offen. Dies wäre sicherlich ein interessanter Ansatzpunkt für weitere Untersuchungen. Ein besseres Verständnis der Stoffwechselfvorgänge und der trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen bei Gesunden und Kranken wäre sicherlich hilfreich im Bereich der Prävention, Früherkennung und Therapie chronischer Erkrankungen. So könnten möglicherweise auf der Basis krankheitsspezifischer Prädiktorwerte betroffene Personen frühzeitig identifiziert und gegebenenfalls personalisierten Präventions- und/oder Therapieprogrammen zugeführt werden. Solche Trainingsprogramme könnten zudem auf der Grundlage eines besseren Verständnisses der trainingsinduzierten Veränderungen von Metabolitenkonzentrationen besser überwacht und individualisierter gesteuert werden. Es ist daher unstrittig, dass die Metabolomik-Forschung aufgrund ihrer vielfältigen Einsatzmöglichkeiten und ihres Potenzials zur Beantwortung bislang ungeklärter Fragestellungen in der Sportwissenschaft ein erhebliches Entwicklungspotenzial aufweist und zugleich eine hohe Relevanz im klinischen Kontext, insbesondere bei der Untersuchung krankheitsinduzierter Veränderungen und ihrer Zusammenhänge besitzt.

5.2 Diskussion methodischer Aspekte

Im folgenden Abschnitt werden die methodischen Aspekte der Durchführung und Auswertung der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie diskutiert. Dabei wird insbesondere auf die Grenzen und Möglichkeiten der Anwendung der hier durchgeführten und zukünftiger *Metabolomics*-Studien eingegangen.

5.2.1 Limitationen bei Durchführung und Auswertung der iReAct- und MultiPill-Exercise-Studie

Bei der Durchführung und Auswertung der Studien iReAct und MultiPill-Exercise können einige limitierende Faktoren identifiziert werden. Die hier vorgestellten Daten stammen aus der Substudie "*Metabolomics*" der iReAct-Studie. Auch die hier einfließenden Daten der MultiPill-Exercise-Studie beschränken sich auf die im Rahmen der Pilotstudie generierten Daten. Für die in dieser Arbeit durchgeführte Datenauswertung ergeben sich dadurch einige Einschränkungen, da nur geringe Fallzahlen berücksichtigt werden. Die geringe Anzahl an ProbandInnen gilt als stark limitierender Faktor der hier durchgeführten Analysen. Aufgrund der geringen Fallzahlen in beiden Studien können mit diesem explorativen Ansatz keine komplexeren statistischen Analysen durchgeführt werden, die über einfache Mittelwertvergleiche und Korrelationsanalysen hinausgehen. Darüber hinaus ist zu beachten, dass die geringen Fallzahlen auch zu einer geringen Teststärke der statistischen Tests führen. Um höhere Fallzahlen zu generieren, hätte es mehrere Ansatzpunkte gegeben. Da die *Metabolomics*-Studie im Rahmen dieser Arbeit nur eine Teilstudie der Verbundprojektes „iReAct“ bzw. „MultiPill-Exercise“ ist, war es primär nicht vorgesehen, mehr ProbandInnen in dieses Teilprojekt einzuschließen. Zudem hat sich die Anzahl der auswertbaren Datensätze insbesondere in der iReAct-Studie stark reduziert. Gründe dafür waren einerseits der späte Beginn der Datenerhebung für die *Metabolomics*-Substudie und andererseits diverse pandemiebedingte Ausfälle bei der FU. Dies führte zu stark reduzierten Fallzahlen für alle statistischen Auswertungen und zu häufig ungleichen Gruppenstärken der zu vergleichenden Gruppen (siehe Kapitel 4.1.2, 4.2.3,

4.2.4, 4.4.2 und 4.4.3). Darüber hinaus hatte der Ausfall einiger Datensätze der iReAct-Studie zur Folge, dass für die Mittelwertvergleiche zwischen den Messzeitpunkten t_0 und t_1 in Kapitel 4.2.2 und zwischen t_0 und t_2 in Kapitel 4.2.3 unterschiedliche statistische Tests angewendet werden mussten. Da der iReAct-Datensatz zunächst als verbundene Stichprobe (t_0/t_1) und anschließend als unverbundene Stichprobe (t_0/t_2) ausgewertet werden musste, ist die Beurteilung der Entwicklung der Metabolitenkonzentrationen über den zeitlichen Verlauf eingeschränkt. Es wäre sicherlich sinnvoll, in zukünftigen Studien neben einer höheren Fallzahl auch auf eine verbundene Stichprobe zu achten. Neben einer Erhöhung der Teststärke würde dies auch zu einer besseren Beurteilbarkeit der Metabolitenentwicklung und zu einer geringeren Einflussstärke von Störvariablen wie Geschlecht, Trainingsgruppenzuordnung oder unterschiedlicher Gruppenstärke führen.

Eine weitere Störvariable, die bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit berücksichtigt werden musste, war das Fehlen einer Normalverteilung bei einer Reihe von Variablen. Wie sich bei der statistischen Überprüfung herausstellte, waren einige Parameter in dem dieser Arbeit zugrundeliegenden Datensatz nicht normalverteilt, was möglicherweise in der geringen Fallzahl begründet sein könnte. Aufgrund der Verletzung der Normalverteilungsannahme musste daher, entsprechend den allgemeinen Empfehlungen für nicht-normalverteilte Daten, für die betroffenen Variablen auf ein nichtparametrisches Verfahren des Mittelwertvergleichs ausgewichen werden. Allerdings weisen auch der Shapiro-Wilk-Test und der Kolmogorov-Smirnov-Test als mögliche Fehlerquelle für falsch (nicht-)signifikante Ergebnisse eine geringe Fallzahl auf. Es ist daher denkbar, dass die hier dargestellten Ergebnisse hinsichtlich ihrer (Nicht-)Normalverteilung und der daraus resultierenden statistischen Auswertung nicht repräsentativ für die Verteilung der Blutwerte der Grundgesamtheit sind.

Des Weiteren ist im Rahmen der Auswertung und Betrachtung insbesondere der Korrelationsanalysen zu beachten, dass aufgrund der geringen Fallzahlen auf eine Korrektur von Ausreißern verzichtet wurde. Als Ausreißer werden Beobachtungswerte definiert, die mehr als das 1,5-Fache des Interquartilabstandes vom ersten oder dritten Quartil entfernt liegen. Es besteht die Möglichkeit, dass Werte bei der geringen Anzahl an ProbandInnen als potenzielle Ausreißer definiert werden, obwohl sie sich bei einem größeren

Kollektiv an Teilnehmenden innerhalb des Interquartilabstandes befinden würden. Durch den Verzicht auf die Korrektur von Ausreißern soll verhindert werden, dass solche Werte von der Analyse ausgeschlossen werden. Darüber hinaus wurde auch auf Korrekturfaktoren für multiples Testen, wie beispielsweise der Bonferroni-Korrektur, verzichtet. Aufgrund des explorativen Charakters dieser Arbeit und des primären Ziels, neue Ansätze und Hypothesen im Bereich der *Metabolomics*-Forschung zu generieren, werden etwaige Korrekturverfahren für multiples Testen für nicht sinnvoll erachtet.

Als weitere Störvariable zeigt sich die unterschiedliche Gruppengröße bei allen verglichenen Gruppen heraus. Bei allen statistischen Untersuchungen wurde eine stark voneinander abweichende Gruppenstärke bei den zu vergleichenden Gruppen festgestellt. Dies kann zu Verzerrungen führen und sollte bei der Durchführung weiterer Forschungen vermieden werden.

Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln ausführlich beschrieben, schränken weitere Störfaktoren die Auswertung der Metabolomikdaten hinsichtlich der in dieser Arbeit definierten Fragestellungen ein. Zu den einflussreichsten Variablen zählen unter anderem die ungleiche Geschlechterverteilung in allen zu vergleichenden Gruppen (vgl. Kapitel 5.1.1 sowie weitere Kapitel der Diskussion) sowie ein ungleiches Durchschnittsalter und unterschiedliche Trainings- und Lebensstilinterventionen zwischen der iReAct- und der MultiPill-Exercise-Gruppe (vgl. Kapitel 5.1.4). Um eine Auswertung mit möglichst wenigen Fehlerquellen zu ermöglichen, wäre es sicherlich sinnvoll gewesen, bei der Gruppenzuordnung und Datenerhebung auf eine ausgewogenere Geschlechterverteilung, eine einheitliche Altersverteilung und vergleichbare Interventionsbedingungen zu achten.

Abschließend ist anzumerken, dass auch die Datenerhebung und -auswertung hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der Methoden eine gewisse Variabilität aufweist, die die Ergebnisse der Metabolitenkonzentrationen beeinflussen kann. Die Ohrläppchenblutentnahme und die Bestückung der *Guthrie-Cards* wurden sowohl in der iReAct-Studie als auch in der MultiPill-Exercise-Studie von geschultem Fachpersonal durchgeführt. Dennoch sind bereits in dieser Phase interpersonelle Unterschiede bei der Probengewinnung denkbar, welche die Reproduzierbarkeit der Messungen einschränken könnten. Es existierten keine einheitlichen Vorgaben bezüglich des Vorgehens bei der Verwendung

verschiedener Kapillaren, Desinfektionsmittel oder beim Auftragen von Finalgon-Salbe auf das Ohrläppchen vor der Blutentnahme. Zudem variierte sicherlich die individuelle Schweißproduktion der Teilnehmenden, was ebenfalls zu Unterschieden in der Probenqualität geführt haben könnte. Bisher liegen keine validierten Studien vor, die die Auswirkungen dieser Variabilitäten auf die Reproduzierbarkeit bei der Bestückung der *Guthrie-Cards* systematisch untersucht haben. Darüber hinaus war ein klares Vorgehen hinsichtlich des Zeitpunkts der Blutabnahme ein entscheidendes Kriterium, um eine hohe Reproduzierbarkeit der Probengewinnung bei beiden Studien zu erreichen. In der iReAct-Studie wurde die Probenentnahme mindestens 48 Stunden nach der letzten Trainingseinheit durchgeführt, um die akuten Effekte des letzten Trainings auf die Metabolitenkonzentrationen zu minimieren, d.h. um eine *wash-out*-Phase zu generieren (Thiel *et al.*, 2019). Obwohl bei der MultiPill-Exercise-Studie die Blutabnahme ebenfalls in Ruhe erfolgte, fordert das Studienprotokoll keine explizite Ruhephase im Vorfeld (Schweda *et al.*, 2022). Um eine höhere Vergleichbarkeit und eine bessere Reproduzierbarkeit zu gewährleisten, wäre es ratsam, bei zukünftigen Studien auf ein gleiches Vorgehen hinsichtlich des genauen Zeitpunkts der Probengewinnung in Relation zu körperlichen Belastungen zu achten.

Des Weiteren ergeben sich auch beim Transport der Proben, den Reinigungsmethoden und den Auswertungsanalysen zahlreiche nicht beeinflussbare Variationsquellen. So kann bereits durch eine zu warme Lagerung der *Guthrie-Cards* eine enzymatische Aktivierung in den Proben verursacht werden, die falsch hohe oder niedrige Metabolitenwerte zur Folge haben kann (Screening-Labor Hannover, 2025).

Darüber hinaus weist das Labor auf seiner Website darauf hin, dass eine anabole Stoffwechsellage der ProbandInnen zum Zeitpunkt der Probenentnahme potenziell zu verfälschten Ergebnissen bei der Analyse der Metabolitenkonzentrationen führen kann (Screening-Labor Hannover, 2025). Weder in der iReAct- noch in der MultiPill-Exercise-Studie wurde im Vorfeld eine Nüchternheit der Teilnehmenden oder eine standardisierte Ernährung sichergestellt, was zu erhöhter Variabilität der Stoffwechselsituationen, eingeschränkter Vergleichbarkeit der Gruppen und reduzierter Reproduzierbarkeit der Datenerhebung führen kann. Ein standardisiertes Ernährungsprotokoll für den

Messtag erscheint daher als sinnvolle Maßnahme zur Minimierung dieses Störfaktors und zur Erhöhung der Validität der Ergebnisse.

Zudem wurde in weiteren Studien, die die Reproduzierbarkeit der Datenauswertung der Tandem-MS untersuchten, nachgewiesen, dass es zu messbaren Varianzen bei den Ergebnissen von wiederholten Tandem-Massenspektren kam. Diese Varianz kann zu falschen Ergebnissen bei der Identifikation von Metaboliten führen und letztlich die Anzahl der korrekt identifizierten Metabolite verringern (Venable and Yates, 2004). Analoge Resultate wurden zudem in den Studien von Berg *et al.*, 2006, zur Reproduzierbarkeit der LC-MS erzielt. Die Wissenschaftler stellten fest, dass geringe messbedingte Intensitätsänderungen zwischen den Wiederholungsanalysen derselben Probe zu Schwankungen bei der Erfassung von Tandem-Massenspektren und deren Qualität führen. In der Folge kommt es zu Schwankungen bei der Identifizierung der Stoffwechselprodukte, was die Gesamtergebnisse der Proteomik- und Metabolomikdaten beeinflusst. Dennoch betonten die AutorInnen, dass heutzutage eine sehr zuverlässige, konstante und reproduzierbare Interpretation von LC-MS-Daten möglich ist. Für die Gewährleistung der genannten Eigenschaften sind mehrere Faktoren von entscheidender Bedeutung. Um eine hohe Reproduzierbarkeit der Wiederholungsanalysen zu gewährleisten, ist es unerlässlich, auf die Qualität der Probe, die Reproduzierbarkeit der Probenvorbereitung, die Qualität des Chromatographiesystems und die Leistung des Massenspektrometers zu achten (Berg *et al.*, 2006).

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass im Hinblick auf die Reproduzierbarkeit der entsprechenden Methoden in zukünftigen Studien eine Optimierung der Vergleichbarkeit der Blutabnahmezeitpunkte wünschenswert wäre. Darüber hinaus sollte eine hohe Qualität bei der Probenabnahme, dem Transport und der Aufarbeitung gewährleistet sein. Um die oben beschriebenen Schwankungen bei der Auswertung der Metabolitendaten zu detektieren und gegebenenfalls zu minimieren, wäre es zudem sinnvoll gewesen, jeweils zwei Felder der *Guthrie-Cards* mit Blutstropfen der gleichen Probe zu bestücken und diese nach der massenspektrometrischen Analyse zu vergleichen. Diese Vorgehensweise hätte mögliche Fehlerquellen minimiert und eine genauere Analyse im Rahmen dieser Arbeit ermöglicht.

5.2.2 Bewertung der $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ als Marker der ausdauerbasierten Trainingsadaptation

Die Identifikation möglicher „Prädiktor“- oder „*Monitoring*“-Metabolitenwerte hinsichtlich der körperlichen Leistungsfähigkeit zeigen sowohl im medizinischen Bereich als auch im Bereich der Sportphysiologie größtes Potenzial. Demnach war es ein wichtiger Bestandteil dieser Arbeit, Korrelationen zwischen den Metabolitenkonzentrationen bzw. deren trainingsinduzierten Veränderungen und den trainingsinduzierten Anpassungsreaktionen des Körpers zu finden.

Zur Beschreibung der körperlichen Anpassungsreaktionen wurde dabei die maximale Sauerstoffaufnahme ($\dot{V}O_2\text{max}$) bzw. deren zeitliche Veränderung ($\Delta\dot{V}O_2\text{max}$) herangezogen. Letztere wird seit mehr als einem halben Jahrhundert verwendet, um die maximale kardiorespiratorische Fitness einer Person zu beschreiben. Sie ist maßgeblich vom Herzschlagvolumen und damit vom Herzzeitvolumen abhängig und lässt daher aussagekräftige Rückschlüsse auf die Ausdauerleistungsfähigkeit einer Person zu (Bassett, 2000). Obwohl einige Aspekte für die Verwendung von $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ als primärem physiologischen Marker der ausdauerbasierten Trainingsadaptation sprechen, gibt es einige Hindernisse bei der Messung und Interpretation von $\dot{V}O_2\text{max}$, die im Folgenden diskutiert werden sollen: Bereits bei der Messung der $\dot{V}O_2\text{max}$ zeigen sich einige Schwierigkeiten. Die Erhebung dieser Größe im Rahmen einer Leistungsdiagnostik ist neben den Fähigkeiten und dem Verhalten des Messpersonals auch von der Motivation der Testperson abhängig. Für eine validierte Bestimmung der $\dot{V}O_2\text{max}$ ist es notwendig, dass die Testperson bis an ihre Belastungsgrenze geht. Da jedoch insbesondere untrainierte und vorerkrankte Personen häufig aufgrund von motivationellen oder orthopädischen Problemen die Leistungsdiagnostik abbrechen, ist es möglich, dass die kardiorespiratorische Belastungsgrenze und damit die vollständige Ausschöpfung der maximalen Sauerstoffaufnahmekapazität nicht vollständig erreicht wird (Edvardsen, Hem and Anderssen, 2014). Um vergleichbare, reproduzierbare und zuverlässige Ergebnisse bei den Messungen zu generieren, ist es daher notwendig, einheitliche Kriterien für das Erreichen der $\dot{V}O_2\text{max}$ zu definieren. Als primäres Kriterium hat sich das Erreichen eines klassischen Plateaus der Sauerstoffaufnahme nach Taylor, Buskirk und Henschel, 1955,

etabliert. Allerdings ist ein solches Plateau nicht bei jedem Menschen eindeutig abgrenzbar, da die Sauerstoffaufnahmekurve nicht bei jeder Person in einem plateauartigen Verlauf endet, sondern teilweise nur eine „Spitze“ ($\dot{V}O_2\text{peak}$) aufweist. Dies erschwert die Anwendung dieses Kriteriums in der Praxis (Smirmaul, Bertucci and Teixeira, 2013). Als weiteres Kriterium hat sich daher in der klinischen Praxis unter anderem das Erreichen einer erhöhten respiratorischen Austauschrate (RER) von $\geq 1,0$ (Aspenes *et al.*, 2011), $\geq 1,10$ (Brown, Mahon and Plank, 2002) oder $\geq 1,15$ (Howley, Bassett and Welch, 1995) etabliert. Als RER wird dabei das Verhältnis von ausgeatmeter Kohlenstoffdioxidmenge zu aufgenommener Sauerstoffmenge bezeichnet und kann ebenfalls während einer Spirometrie gemessen werden. Als weitere Kriterien gelten das Erreichen einer maximalen Blutlaktatkonzentration von ≥ 8 mmol/l (Howley, Bassett and Welch, 1995) oder das Erreichen eines bestimmten Prozentsatzes der altersabhängigen HF_{max} -Schätzung (Jackson *et al.*, 2009). Für die Messungen der $\dot{V}O_2\text{max}$, die dieser Arbeit zugrunde liegen, wurde eine Kombination der oben beschriebenen Kriterien angewandt. Zunächst wurde die $\dot{V}O_2\text{max}$ mit Hilfe eines Spiroergometriesystems bestimmt und die daraus resultierenden $\dot{V}O_2$ -Daten anschließend bearbeitet. Alle Daten wurden sekundenweise interpoliert und in 30-Sekunden-Blöcke eingeteilt. Um daraus die maximale Sauerstoffaufnahme ableiten zu können, wurde der Block mit dem höchsten Durchschnittswert herangezogen (Maturana *et al.*, 2021). Die $\dot{V}O_2\text{max}$ galt als erreicht, wenn gemäß den Empfehlungen des *American College of Sports Medicine* (Thompson *et al.*, 2013) zwei der drei zusätzlichen Kriterien erfüllt waren:

- i) eine HF_{max} von maximal zehn Schlägen pro Minute (bpm) unter der anzunehmenden altersabhängigen maximalen Herzfrequenz ($220 - \text{Lebensalter}$);
- ii) ein RER von $>1,1$; und
- iii) eine maximale Blutlaktatkonzentration von >8 mmol/l (Maturana *et al.*, 2021).

Durch die Einbeziehung mehrerer Kriterien wurde somit versucht, eine möglichst genaue und reproduzierbare Messmethodik zur Bestimmung von $\dot{V}O_2\text{max}$ zu gewährleisten. Da derzeit jedoch kein einheitlicher Konsens darüber besteht, welche Kriterien bei der Messung der $\dot{V}O_2\text{max}$ anzuwenden sind, ist die

Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Studien und die Validität der erhobenen Daten eingeschränkt (Edvardsen, Hem and Anderssen, 2014).

Weiterhin konnte festgestellt werden, dass die $\dot{V}O_2\text{max}$ stark vom Körpergewicht einer Person abhängt. Daher wird zwischen der absoluten $\dot{V}O_2\text{max}$ [ml/min] und der relativen $\dot{V}O_2\text{max}$ [ml/(min*kg)] unterschieden. Die absolute $\dot{V}O_2\text{max}$ repräsentiert dabei die Menge an Sauerstoff in Millilitern, die der Körper pro Minute bei maximaler Anstrengung aufnehmen und verwerten kann. Es sollte angemerkt werden, dass diese Messung das Körpergewicht nicht berücksichtigt und somit Personen mit höherem Gewicht tendenziell höhere absolute $\dot{V}O_2\text{max}$ -Werte aufweisen. Die relative $\dot{V}O_2\text{max}$ hingegen bezieht das Körpergewicht mit ein, wodurch die Werte interindividuell vergleichbarer werden (Mondal and Mishra, 2017). In dieser Arbeit wurde ausschließlich die relative $\dot{V}O_2\text{max}$ verwendet.

Des Weiteren zeigte sich in verschiedenen Studien jedoch auch, dass neben dem Körpergewicht auch die Körperzusammensetzung einen Einfluss auf die $\dot{V}O_2\text{max}$ hat. So konnten bereits negative Korrelationen sowohl zwischen der $\dot{V}O_2\text{max}$ und dem BMI als auch zwischen der $\dot{V}O_2\text{max}$ und der Höhe des Körperfettanteils festgestellt werden (Mondal and Mishra, 2017). Ein Versuch, diesen Einflussfaktor zu minimieren und damit eine bessere Vergleichbarkeit zwischen Personen mit unterschiedlichem Körpergewicht und -zusammensetzung zu gewährleisten, besteht darin, die $\dot{V}O_2\text{max}$ nicht auf das gesamte Körpergewicht, sondern nur auf die fettfreie Körpermasse zu beziehen (Tompuri *et al.*, 2015). Da in der iReAct-Studie jedoch alle TeilnehmerInnen einen BMI im Normalbereich ($23,5 \pm 3,3 \text{ kg/m}^2$) aufwiesen, wurde auf eine solche Korrektur verzichtet. Ein weiterer Faktor, der die Höhe der $\dot{V}O_2\text{max}$ beeinflusst, ist das Geschlecht. Selbst wenn die Variabilität der Sauerstoffaufnahme- und -transportkapazität auf Körpergröße, Körperfettanteil und Hämoglobingehalt bezogen wird, haben Frauen eine um 10-20 % niedrigere $\dot{V}O_2\text{max}$ als Männer (Sharma and Kailashiya, 2016).). Dieser Einflussfaktor stellt insbesondere in Studien, die - wie im Fall der iReAct-Studie - einen unterschiedlich hohen Anteil an Männern und Frauen in ihrem ProbandInnenkollektiv aufweisen, eine erhebliche Störvariable dar. Somit sollten, aufgrund der beschriebenen Schwierigkeiten bei der Messung von $\dot{V}O_2\text{max}$, Vergleiche mit anderen wissenschaftlichen Arbeiten kritisch betrachtet werden.

Trotz dieser Einschränkungen wurde die Bestimmung der $\dot{V}O_2\text{max}$ jedoch auch in dieser Arbeit angewandt und als Parameter für die ausdauerbasierte Trainingsadaptation verwendet: Sie gilt nach wie vor als internationaler Standard zur Bestimmung der aeroben Kapazität und der kardiorespiratorischen Fitness einer Person. Darüber hinaus ist die Betrachtung von $\Delta\dot{V}O_2\text{max}$ eine der am häufigsten verwendeten Methoden in der Sportmedizin und Sportwissenschaft, um die trainingsinduzierte Verbesserung der aeroben Ausdauerleistungsfähigkeit zu beschreiben (Shete, Bute and Deshmukh, 2014).

5.2.3 Limitationen und Potenzial von *Metabolomics*-Studien

Trotz der zunehmenden Bedeutung von *Metabolomics*-Daten in der sportmedizinischen Forschung bestehen weiterhin zahlreiche methodische und konzeptionelle Limitationen, die die Durchführung, die Vergleichbarkeit und die Interpretation der Ergebnisse erheblich erschweren. Eine der zentralen Herausforderungen stellt die eingeschränkte Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Studien dar. *Metabolomics*-Studien unterliegen sehr vielen Einflussfaktoren, bei deren Vielzahl es fast unmöglich ist, alle Faktoren zu berücksichtigen (Bongiovanni *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022).

Ein wesentlicher Einflussfaktor ist der Zeitpunkt der Probenentnahme. Dabei ist es entscheidend, ob die Probenentnahme vor oder nach einer akuten oder chronischen Belastung oder in Ruhe erfolgt. Einige Metaboliten, wie beispielsweise Acylcarnitine, weisen in Reaktion auf körperliche Belastung eine hohe zeitliche Dynamik auf. Diese können bereits 15 Minuten nach Beginn einer akuten Belastung akkumulieren und innerhalb von 60 Minuten wieder auf das Ausgangsniveau absinken (Contrepolis *et al.*, 2020). Der Zeitpunkt der Probenentnahme sowie Dauer und Intensität der körperlichen Belastung müssen daher präzise quantifiziert werden. Zudem ist immer zu bedenken, dass einzelne Proben lediglich Momentaufnahmen darstellen, so dass stets nur ein begrenzter Ausschnitt des komplexen metabolischen Geschehens erfasst wird (Krumsiek *et al.*, 2015; Gehlert *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022).

Darüber hinaus ist zu berücksichtigen, dass *Metabolomics*-Daten einer Vielzahl weiterer interner und externer Einflussfaktoren unterliegt. So reagieren

Metabolitenprofile beispielsweise äußerst sensitiv auf genetische sowie umweltbedingte Einflüsse. Bei den internen Einflussfaktoren stellt die interindividuelle Variation einen bedeutenden limitierenden Faktor für die Vergleichbarkeit verschiedener *Metabolomics*-Studien dar. Neben den genetischen Unterschieden, die sich beispielsweise in Form von Geschlechtsunterschieden, epigenetischen Modifikationen oder Genpolymorphismen manifestieren können (Johnson and Gonzalez, 2012), zählen zu den Einflussfaktoren auch Alter, Ethnie sowie bei Frauen der Messzeitpunkt innerhalb des Menstruationszyklus bzw. die Unterscheidung zwischen prä- und postmenopausalen Probandinnen (Takiyama and Matsumoto, 1998; Krumsiek *et al.*, 2015). Zu den umweltbedingten Einflussgrößen zählen eine Reihe von Faktoren, darunter die Ernährungsweise, der Trainingsstatus (Takiyama and Matsumoto, 1998; Bongiovanni *et al.*, 2022; Cai *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022; Rodas *et al.*, 2022), das Stresslevel, der Konsum von Xenobiotika, der Lebensstil sowie bestehende Erkrankungen (Johnson and Gonzalez, 2012). Diese Faktoren beeinflussen die individuellen Metabolitenprofile und sorgen so für eine teilweise enorme interindividuelle Variabilität. Im Bereich von Trainingsstudien ist zudem festzustellen, dass die während der Studienphase durchgeführte Intervention in Bezug auf die Dauer, die Intensität und die Art des Trainings zwischen verschiedenen Studien häufig variiert.

Ein weiteres methodisches Problem liegt in der Heterogenität der analytischen Verfahren. Verschiedene Labore nutzen unterschiedliche Technologien wie MS oder NMR (Johnson and Gonzalez, 2012; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bongiovanni *et al.*, 2022). Selbst innerhalb dieser Verfahren können Unterschiede in der Probenaufbereitung und der Wahl der Kollisionsenergien auftreten. Die Verwendung unterschiedlicher biologischer Proben, wie beispielsweise Plasma, Urin oder Muskelbiopsien, erschwert weiterhin die Vergleichbarkeit der Ergebnisse erheblich (Johnson and Gonzalez, 2012). Darüber hinaus liefern viele *Metabolomics*-Verfahren lediglich semi-quantitative oder relative Daten zu den Konzentrationen der einzelnen Metaboliten. Diese fehlende Standardisierung der Quantifizierung behindert eine übergreifende Interpretation und den Vergleich zwischen Studien und Laboren erheblich (Khoramipour *et al.*, 2022). Zudem fehlen zentrale Datenbanken, die eine

einheitliche Speicherung und den Austausch von Metabolom-Daten ermöglichen; lediglich einige Initiativen sind in Arbeit, diese sind jedoch durch Kosten und andere Limitationen eingeschränkt (Johnson and Gonzalez, 2012). Es besteht ein dringender Bedarf an der Entwicklung und Implementierung strengerer, standardisierter Ansätze für die Identifizierung und Quantifizierung von Metaboliten, um die Aussagekraft und Vergleichbarkeit von *Metabolomics*-Studien nachhaltig zu erhöhen (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Khoramipour *et al.*, 2022).

Abgesehen von diesen methodischen Limitierungen existieren auch signifikante Herausforderungen in Bezug auf die biologische Interpretation von *Metabolomics*-Daten. In ihren Studien konnten Fazelzadeh *et al.*, 2016, lediglich eine moderate Korrelation zwischen Metaboliten im Plasma und den metabolischen Vorgängen im Muskelgewebe feststellen. Dies reduziert die Aussagekraft von Plasma-Metaboliten in Bezug auf die Muskelmetabolomik. Die Erfassung der spezifischen metabolischen Prozesse im Muskel erfordert die Durchführung von Muskelbiopsien, da die Konzentrationen der Metaboliten im Plasma und im Muskelgewebe zum Teil voneinander abweichen (Gehlert *et al.*, 2022). Darüber hinaus gestaltet sich die Messung von Metaboliten in einzelnen intrazellulären oder mitochondrialen Kompartimenten als äußerst anspruchsvoll, was das Verständnis intrazellulärer Stoffwechselprozesse erheblich erschwert (Hargreaves and Spriet, 2020). Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass statistisch signifikante Veränderungen nicht zwangsläufig eine biologische Relevanz aufweisen, was die Interpretation der Ergebnisse zusätzlich erschwert (Krumstiek *et al.*, 2015). Insgesamt zeigen diese biologischen Limitationen, dass die derzeitigen Ansätze noch nicht ausreichen, um alle relevanten metabolischen Vorgänge und Veränderungen im Körper präzise abzubilden und zu verstehen. Neben den biologischen und methodischen Herausforderungen stellen auch die finanziellen und personellen Ressourcen eine bedeutende Limitation dar. Die Durchführung von *Metabolomics*-Studien ist mit hohen Kosten verbunden, da der Einsatz hochentwickelter Analysetechnologien erforderlich ist, wobei die entsprechende Technik sowohl kostspielig in der Anschaffung als auch in der Wartung ist. Des Weiteren ist qualifiziertes Personal erforderlich, um die komplexen Messprotokolle korrekt durchzuführen und die Daten adäquat auszuwerten (Bongiovanni *et al.*, 2019; Thiel *et al.*, 2019; Schraner *et al.*, 2020).

Diese Anforderungen an Fachwissen und Infrastruktur limitieren die Anzahl der durchführbaren Studien erheblich. Insbesondere wäre eine kontinuierliche Überwachung sowie eine verbesserte zeitliche Auflösung der Metabolitenverläufe, wie sie im medizinischen, sportmedizinischen oder trainingsphysiologischen Bereich wünschenswert wäre, eine große Herausforderung. In diesem Kontext könnten tragbare Massenspektrometer (MS) eine vielversprechende Lösung darstellen, da sie den regelmäßigen Einsatz in der Praxis ermöglichen würden. Derartige Technologien könnten dazu beitragen, die Effizienz und Praktikabilität von *Metabolomics*-Studien signifikant zu erhöhen, befinden sich jedoch derzeit noch in der Entwicklungsphase und ihre Anwendung ist ebenfalls mit spezifischen Herausforderungen verbunden (Bongiovanni *et al.*, 2019; Schraner *et al.*, 2020).

Trotz der bestehenden Hindernisse und Limitationen ist das Forschungsfeld der Metabolomik in der Medizin und Sportphysiologie derzeit als hochinnovativ und vielversprechend einzustufen. *Metabolomics*-Studien ermöglichen einen tiefgreifenden Einblick in die stoffwechselphysiologischen Prozesse und tragen zur Entwicklung eines besseren Verständnisses der energetischen Prozesse während körperlicher Aktivität bei (Johnson and Gonzalez, 2012; Peake *et al.*, 2014; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Schraner *et al.*, 2020; Muniz-Santos *et al.*, 2023). Das Metabolom stellt dabei die Schnittstelle aller biologischen Endpunkte dar und spiegelt somit auch Prozesse in der Genomik, Transkription und Proteomik wider. Es reagiert auf Einflüsse der Umwelt und des Mikrobioms und hilft dabei, ein ganzheitliches Verständnis über die Vorgänge im menschlichen Körper zu entwickeln (Johnson and Gonzalez, 2012). Gerade im Bereich des Sports sind Metabolomanalysen vielversprechend, da sie eine frühzeitige, individuelle und ganzheitliche Betreuung von SportlerInnen ermöglichen. So können *Metabolomics*-Studien das Potenzial haben, zu einer frühzeitigen Identifikation von Talenten beizutragen. Untersuchungen in diesem Bereich weisen darauf hin, dass ElitesportlerInnen aus verschiedenen Sportarten auch unterschiedliche Konzentrationen an Metaboliten aufweisen. In Konsequenz dessen wäre es möglich, junge AthletInnen einer für ihr Metabolom geeigneten Sportart zuzuführen, um Talente frühzeitig und effizient fördern zu können (Al-Khelaifi *et al.*, 2018; Bongiovanni *et al.*, 2019; Bragazzi *et al.*, 2020).

Darüber hinaus können *Metabolomics*-Studien dazu beitragen, individualisierte Trainingspläne zu entwerfen (Peake *et al.*, 2014; Bongiovanni *et al.*, 2019; Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bragazzi *et al.*, 2020; Cai *et al.*, 2022; Gehlert *et al.*, 2022; Khoramipour *et al.*, 2022; Muniz-Santos *et al.*, 2023). *Metabolomics*-Analysen zeigen insbesondere dann viel Potenzial, wenn sie Analysemethoden aus Bioinformatik, künstlicher Intelligenz und integrativer computergestützter Analyse zusammenführen. So können biochemische Pfade besser verstanden und neue Biomarker als Zeichen für eine Muskeladaptation oder Leistungssteigerung identifiziert werden (Gehlert *et al.*, 2022; Muniz-Santos *et al.*, 2023). Neben der Identifikation von möglichen „*Monitoring*“- oder „*Prädiktor*“-Markern wäre es so auch denkbar, anhand von Metaboliten-Profilen Modelle zu entwickeln, die den aktuellen Trainingszustand und die weitere sportliche und gesundheitliche Entwicklung von Individuen vorhersagen können (Cai *et al.*, 2022). Auf dieser Basis können Trainingspläne besser auf den jeweiligen Trainingszustand abgestimmt und somit individuell gestaltet werden (Peake *et al.*, 2014; Khoramipour *et al.*, 2022).

Des Weiteren können die Erkenntnisse aus *Metabolomics*-Studien dazu beitragen, eine individuelle Leistungsoptimierung zu erreichen. Die sportliche Leistung wird insbesondere im Bereich des Leistungs- und Elitesports als eine komplexe Größe betrachtet, in der Faktoren wie Erfahrung, Training, Nahrungsaufnahme und Umweltbedingungen sowie die biologische und genetische Ausstattung eines/r SportlerIn eine entscheidende Rolle spielen. Ein umfassendes Verständnis der verschiedenen metabolischen Vorgänge kann hier TrainerInnen, ErnährungsberaterInnen und SportphysiologInnen dabei unterstützen, EliteathletInnen zu fördern und auf ein bestmögliches Leistungsniveau zu bringen. Mittels Metaboliten-*Monitoring* können auch Trainingsfortschritte präziser evaluiert werden und das Training effizienter auf den individuellen Leistungsstand jedes Athleten bzw. jeder Athletin abgestimmt werden. Darüber hinaus können auch Ernährungspläne spezifischer gestaltet und auf die sportlerspezifischen Metaboliten-Profile abgestimmt werden, um die körperliche Leistung zu optimieren und zu maximieren (Bongiovanni *et al.*, 2019; Bragazzi *et al.*, 2020; Hargreaves and Spriet, 2020).

Schließlich können *Metabolomics*-Studien dazu beitragen, Anzeichen von Ermüdung, Übertraining und Fatigue besser und schneller zu erkennen. Dadurch

ist es möglich, frühzeitig Präventionsstrategien zur Senkung des Risikos für sportbedingte Verletzungen einzuleiten (Heaney, Deighton and Suzuki, 2019; Bragazzi *et al.*, 2020).

Es sei jedoch angemerkt, dass nicht nur im Leistungssport, sondern auch im Breiten- und Gesundheitssport ein großes Potenzial von *Metabolomics*-Daten liegen kann. So können beispielsweise mittels Quantifizierung von Metaboliten, die mit Entzündungsprozessen oder dem Risiko für Verletzungen in Verbindung stehen, spezifische Empfehlungen für Training und Ernährung ausgesprochen werden (Peake *et al.*, 2014; Bragazzi *et al.*, 2020). Aber auch abseits des Sports ist im Bereich der personalisierten Medizin ein breiter Einsatzbereich von Metabolomanalysen vorstellbar. Insbesondere konnten in diesem Kontext Metaboliten-Biomarker und Metaboliten-Signaturen bereits als geeignetes Medium für die Diagnostik und Überwachung von medikamentösen und operativen Therapien identifiziert werden (Johnson and Gonzalez, 2012; Schraner *et al.*, 2020; Dambrova *et al.*, 2022).

Zusammenfassend bieten *Metabolomics*-Studien trotz methodischer und biologischer Limitationen, wie der eingeschränkten Vergleichbarkeit von Studien aufgrund zahlreicher Einflussfaktoren und fehlender Standardisierung von Studienprotokollen, großes Potenzial. Sie ermöglichen tiefgehende Einblicke in den Stoffwechsel, die Entwicklung personalisierter Trainings- und Ernährungspläne, die Leistungsoptimierung sowie die frühzeitige Erkennung von Talenten, Ermüdung und Verletzungen. Der Einsatz fortschrittlicher Technologien, wie beispielsweise tragbarer Massenspektrometer, könnte zu einer Erleichterung der Anwendung führen. Zudem kann die Ausarbeitung standardisierter Protokolle zur Messung und Auswertung von Metaboliten die Vergleichbarkeit verbessern. Diese Erkenntnisse können nicht nur im Leistungssport, sondern auch im Breiten- und Gesundheitssport von einer Vielzahl von SportlerInnen genutzt werden. Das Potenzial von *Metabolomics*-Daten manifestiert sich insbesondere in der sinnvollen Verknüpfung mit anderen Fachgebieten, wie beispielsweise der Genetik, der Proteomik und der Medizin. Diese interdisziplinäre Ausrichtung ermöglicht eine ganzheitliche Betrachtung und Optimierung der sportlichen Leistungsfähigkeit und der Gesundheit. *Metabolomics*-Daten präsentieren sich somit als ein vielversprechendes Werkzeug im präventiven, rehabilitativen und therapeutischen Kontext.

5 Zusammenfassung

Körperliche Betätigung führt zu tiefgreifenden metabolischen Veränderungen in zahlreichen Organen und Geweben. Das Verständnis der adaptiven metabolischen Reaktionsmechanismen im Kontext sportmedizinischer Forschung gewinnt derzeit erheblich an Bedeutung, stellt jedoch gleichzeitig eine bedeutende wissenschaftliche Herausforderung dar. Die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten der Metabolomik im Sport umfassen insbesondere die Identifikation neuer Biomarker, die Entwicklung individualisierter Trainings- und Ernährungsstrategien sowie die Optimierung der Leistungsfähigkeit. Zudem kann die Sportmetabolomik dazu beitragen, Verletzungen vorzubeugen und Erschöpfungszustände vorherzusagen. Ziel dieser Arbeit war es, trainingsinduzierte Veränderungen des Metaboloms zu erforschen. Hierfür wurde die Metabolomik im sportphysiologischen Kontext eingesetzt, um Veränderungen der Metaboliten bei gesunden sowie chronisch kranken ProbandInnen im Zusammenhang mit körperlichem Training zu untersuchen.

Zu Beginn wurden die Metabolitenkonzentrationen der gesunden ProbandInnen der iReAct-Studie zu den Zeitpunkten vor (*baseline*-Daten, t₀), nach sechs Wochen (t₁) und nach zwölf Wochen (t₂ bzw. t₁₂) Training bestimmt. Als Trainingsintervention wurden sechs Wochen hochintensives Intervall- (HIIT) oder moderat-intensives kontinuierliches Training (MICT) durchgeführt, sodass insgesamt zwölf Wochen Training absolviert wurden. Anschließend erfolgte ein Vergleich der Metaboliten-Profile der gesunden iReAct-TeilnehmerInnen mit denen der chronisch kranken ProbandInnen der MultiPill-Exercise-Studie, um den Einfluss von (Multi-)Morbidity auf das Metabolom zu untersuchen. Zudem wurden Korrelationsanalysen zwischen *baseline*-Daten, Veränderungen der Metabolitenkonzentrationen (Δ [MB]) und der trainingsinduzierten Leistungssteigerung ($\Delta\dot{V}O_{2\max}$) durchgeführt, um potenzielle „*Monitoring*“- und prädiktive Marker zu identifizieren, die eine Leistungssteigerung durch Training überwachen oder vorhersagen können.

Die *baseline*-Daten der iReAct-Kohorte wurden hinsichtlich geschlechterspezifischer Unterschiede untersucht. Dabei konnten, im Einklang mit Literaturdaten, zwölf Metaboliten, insbesondere (Acyl-)Carnitine, identifiziert werden, die bei Männern in signifikant höheren Konzentrationen vorlagen als bei

Frauen. Nach sechs Wochen Trainingsintervention zeigten die t1-Daten einen Anstieg von drei kurzkettigen Acylcarnitinen, nach zwölf Wochen (t2/t12) insgesamt zwölf Metaboliten, darunter Methionin, Succinylaceton sowie zehn kurz- und mittelkettige Acylcarnitine. Ein Vergleich der Trainingsgruppen ergab, dass zwei Acylcarnitine bei der Gruppe, die mit HIIT begann und mit MICT abschloss, in höheren Konzentrationen vorlagen. Bei der Suche nach „*Monitoring*“- und prädiktiven Markern für die Trainingsanpassung wurden jedoch keine signifikanten Zusammenhänge gefunden. Der Vergleich zwischen iReAct- und MultiPill-Kohorte zeigte, dass bei t0 fünf Aminosäuren und zwei Acylcarnitine sowie bei t12 insgesamt 21 Metaboliten – darunter sechs Aminosäuren, Succinylaceton, Carnitin sowie mehrere Acylcarnitine – bei den multimorbiden ProbandInnen in höheren Konzentrationen vorlagen.

Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass das menschliche Metabolom auf sportliche Reize reagiert und adaptive Veränderungen in Form von Konzentrationsänderungen bei bestimmten Metaboliten zeigt. Die Identifikation potenzieller „*Monitoring*“- und prädiktiver Marker bleibt ein vielversprechender Ansatz, um die Leistungsentwicklung im Training besser zu überwachen und vorherzusagen. Zudem lassen die Daten vermuten, dass Faktoren wie Geschlecht, Trainingsmodalität und Multimorbidität das metabolische Profil beeinflussen können. Allerdings sind bei der Interpretation der Ergebnisse auch zahlreiche Störvariablen zu berücksichtigen, insbesondere die begrenzte Probandenanzahl, die die statistische Aussagekraft einschränkt. Für zukünftige Studien ist daher eine Analyse in größeren und besser normierten Kohorten notwendig, um die beobachteten Unterschiede zu validieren und die zugrunde liegenden Mechanismen besser zu verstehen. Insgesamt unterstreichen die Ergebnisse dieser Arbeit die Relevanz der Metabolomik als innovatives Werkzeug in der Sportmedizin und -physiologie und betonen die Notwendigkeit weiterer Forschung, um standardisierte und umfassende Datensätze des metabolischen Profils unter sportlicher Belastung zu etablieren.

Physical activity leads to profound metabolic changes in numerous organs and tissues. Understanding the adaptive metabolic response mechanisms in the context of sports medicine research is currently gaining considerable importance, but at the same time poses a significant scientific challenge. The diverse applications of metabolomics in sport include, in particular, the identification of new biomarkers, the development of individualised training and nutrition strategies, and the optimisation of performance. In addition, sports metabolomics can help prevent injuries and predict states of exhaustion. The aim of this study was to investigate training-induced changes in the metabolome. To this end, metabolomics was used in a sports physiology context to examine changes in metabolites in healthy and chronically ill subjects in connection with physical training.

At the beginning, the metabolite concentrations of the healthy subjects in the iReAct study were determined at the following points in time: before (baseline data, t₀), after six weeks (t₁) and after twelve weeks (t₂ or t₁₂) of training. The training intervention consisted of six weeks of high-intensity interval training (HIIT) or moderate-intensity continuous training (MICT) was carried out as the training intervention, resulting in a total of twelve weeks of training. The metabolite profiles of the healthy iReAct participants were then compared with those of the chronically ill subjects in the MultiPill Exercise study in order to investigate the influence of (multi-)morbidity on the metabolome. In addition, correlation analyses were performed between baseline data, changes in metabolite concentrations ($\Delta[\text{MB}]$) and training-induced performance improvement ($\Delta\dot{V}\text{O}_2\text{max}$) in order to identify potential 'monitoring' and predictive markers that can monitor or predict performance improvement through training.

The baseline data of the iReAct cohort were examined for gender-specific differences. In line with literature data, twelve metabolites, in particular (acyl)carnitines, were identified that were present in significantly higher concentrations in men than in women. After six weeks of training, the t₁ data showed an increase in three short-chain acylcarnitines, and after twelve weeks (t₂/t₁₂) a total of twelve metabolites, including methionine, succinylacetone and ten short- and medium-chain acylcarnitines. A comparison of the training groups showed that two acylcarnitines were present in higher concentrations in the group that started with HIIT and finished with MICT. However, no significant correlations

were found in the search for 'monitoring' and predictive markers for training adaptation. The comparison between the iReAct and MultiPill cohorts showed that at t0, five amino acids and two acylcarnitines and at t12, a total of 21 metabolites – including six amino acids, succinylacetone, carnitine and several acylcarnitines – were present in higher concentrations in the multimorbid subjects.

These results suggest that the human metabolome responds to athletic stimuli and exhibits adaptive changes in the form of concentration changes in certain metabolites. The identification of potential 'monitoring' and predictive markers remains a promising approach to better monitor and predict performance development in training. In addition, the data suggest that factors such as gender, training modality and multimorbidity can influence the metabolic profile. However, when interpreting the results, numerous confounding variables must also be taken into account, in particular the limited number of subjects, which restricts the statistical significance. For future studies, an analysis in larger and better standardised cohorts is therefore to validate the observed differences and better understand the underlying mechanisms. Overall, the results of this study underscore the relevance of metabolomics as an innovative tool in sports medicine and physiology and emphasise the need for further research to establish standardised and comprehensive data sets of the metabolic profile during exercise.

9 Literaturverzeichnis

Adams, S.H. *et al.* (2009) 'Plasma acylcarnitine profiles suggest incomplete long-chain fatty acid beta-oxidation and altered tricarboxylic acid cycle activity in type 2 diabetic African-American women', *The Journal of Nutrition*, 139(6), pp. 1073–1081. Available at: <https://doi.org/10.3945/jn.108.103754>.

Ahmad, T. *et al.* (2016) 'Long-Chain Acylcarnitine Metabolites are Associated with Adverse Outcomes and Reversible with Mechanical Circulatory Support in Systolic Heart Failure', *Journal of the American College of Cardiology*, 67(3), pp. 291–299. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2015.10.079>.

Al-Khelaifi, F. *et al.* (2018) 'A pilot study comparing the metabolic profiles of elite-level athletes from different sporting disciplines', *Sports Medicine - Open*, 4, p. 2. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40798-017-0114-z>.

Aspenes, S.T. *et al.* (2011) 'Peak oxygen uptake and cardiovascular risk factors in 4631 healthy women and men', *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 43(8), pp. 1465–1473. Available at: <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31820ca81c>.

Audano, M. *et al.* (2018) 'Gender-related metabolomics and lipidomics: From experimental animal models to clinical evidence', *Journal of Proteomics*, 178, pp. 82–91. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2017.11.001>.

Barmer (2022) *BMI-Rechner: Body-Mass-Index einfach berechnen | BARMER*. Available at: <https://www.barmer.de/gesundheit-verstehen/leben/abnehmen-diaet/bmi-rechner-1004244> (Accessed: 3 July 2023).

Barnett, C. *et al.* (1994) 'Effect of L-Carnitine Supplementation on Muscle and Blood Carnitine Content and Lactate Accumulation during High-Intensity Sprint Cycling', *International Journal of Sport Nutrition*, 4(3), pp. 280–288. Available at: <https://doi.org/10.1123/ijns.4.3.280>.

Bassett, D.R.J.E.T.H. (2000) 'Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance', *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32(1), p. 70.

Berg, M. *et al.* (2006) 'Reproducibility of LC-MS-based protein identification', *Journal of Experimental Botany*, 57(7), pp. 1509–1514. Available at: <https://doi.org/10.1093/jxb/erj139>.

Binder, R.K. *et al.* (2008) 'Methodological approach to the first and second lactate threshold in incremental cardiopulmonary exercise testing', *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation: Official Journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, 15(6), pp. 726–734. Available at: <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e328304fed4>.

Bongiovanni, T. *et al.* (2019) 'Sportomics: metabolomics applied to sports. The new revolution?', *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 23(24), pp. 11011–11019. Available at: https://doi.org/10.26355/eurrev_201912_19807.

Bongiovanni, T. *et al.* (2022) 'Metabolomics in Team-Sport Athletes: Current Knowledge, Challenges, and Future Perspectives', *Proteomes*, 10(3), p. 27. Available at: <https://doi.org/10.3390/proteomes10030027>.

Bragazzi, N.L. *et al.* (2020) 'Toward Sportomics: Shifting From Sport Genomics to Sport Postgenomics and Metabolomics Specialties. Promises, Challenges, and Future Perspectives', *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 15(9), pp. 1201–1202. Available at: <https://doi.org/10.1123/ijsp.2020-0648>.

Brown, J.D., Mahon, A.D. and Plank, D.M. (2002) 'Attainment of maximal exercise criteria in boys and men', *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 42(2), pp. 135–140.

Cai, M. *et al.* (2022) 'Blood Metabolomics Analysis Identifies Differential Serum Metabolites in Elite and Sub-elite Swimmers', *Frontiers in Physiology*, 13, p. 858869. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.858869>.

Contrepolis, K. *et al.* (2020) 'Molecular Choreography of Acute Exercise', *Cell*, 181(5), pp. 1112–1130.e16. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.043>.

Dambrova, M. *et al.* (2022) 'Acylcarnitines: Nomenclature, Biomarkers, Therapeutic Potential, Drug Targets, and Clinical Trials', *Pharmacological Reviews*. Edited by J. Hakkola, 74(3), pp. 506–551. Available at: <https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000408>.

Darst, B.F. *et al.* (2019) 'Longitudinal plasma metabolomics of aging and sex', *Aging (Albany NY)*, 11(4), pp. 1262–1282. Available at: <https://doi.org/10.18632/aging.101837>.

Deda, O. *et al.* (2015) 'An overview of fecal sample preparation for global metabolic profiling', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 113, pp. 137–150. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.006>.

Dunn, W.B. *et al.* (2011) 'Systems level studies of mammalian metabolomes: the roles of mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectroscopy', *Chem. Soc. Rev.*, 40(1), pp. 387–426. Available at: <https://doi.org/10.1039/b906712b>.

Edvardsen, E., Hem, E. and Anderssen, S.A. (2014) 'End criteria for reaching maximal oxygen uptake must be strict and adjusted to sex and age: a cross-sectional study', *PloS One*, 9(1), p. e85276. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085276>.

Egan, B. and Zierath, J.R. (2013) 'Exercise Metabolism and the Molecular Regulation of Skeletal Muscle Adaptation', *Cell Metabolism*, 17(2), pp. 162–184. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>.

Fazelzadeh, P. *et al.* (2016) 'The Muscle Metabolome Differs between Healthy and Frail Older Adults', *Journal of Proteome Research*, 15(2), pp. 499–509. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.5b00840>.

Fiehn, O. *et al.* (2010) 'Plasma metabolomic profiles reflective of glucose homeostasis in non-diabetic and type 2 diabetic obese African-American women', *PloS One*, 5(12), p. e15234. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015234>.

Gehlert, S. *et al.* (2022) 'Effects of Acute and Chronic Resistance Exercise on the Skeletal Muscle Metabolome', *Metabolites*, 12(5), p. 445. Available at: <https://doi.org/10.3390/metabo12050445>.

Glynn, E.L. *et al.* (2015) 'Impact of combined resistance and aerobic exercise training on branched-chain amino acid turnover, glycine metabolism and insulin sensitivity in overweight humans', *Diabetologia*, 58(10), pp. 2324–2335. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3705-6>.

Guasch-Ferré, M. *et al.* (2016) 'Metabolomics in Prediabetes and Diabetes: A Systematic Review and Meta-analysis', *Diabetes Care*, 39(5), pp. 833–846. Available at: <https://doi.org/10.2337/dc15-2251>.

Hargreaves, M. and Spriet, L.L. (2020) 'Skeletal muscle energy metabolism during exercise', *Nature Metabolism*, 2(9), pp. 817–828. Available at: <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4>.

Heaney, L.M., Deighton, K. and Suzuki, T. (2019) 'Non-targeted metabolomics in sport and exercise science', *Journal of Sports Sciences*, 37(9), pp. 959–967. Available at: <https://doi.org/10.1080/02640414.2017.1305122>.

Howley, E.T., Bassett, D.R. and Welch, H.G. (1995) 'ALT!Criteria for maximal oxygen uptake: review and commentary', *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(9), pp. 1292–1301.

Huffman, K.M. *et al.* (2014) 'Metabolite signatures of exercise training in human skeletal muscle relate to mitochondrial remodelling and cardiometabolic fitness', *Diabetologia*, 57(11), pp. 2282–2295. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00125-014-3343-4>.

Jackson, A.S. *et al.* (2009) 'Role of lifestyle and aging on the longitudinal change in cardiorespiratory fitness', *Archives of Internal Medicine*, 169(19), pp. 1781–1787. Available at: <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2009.312>.

Joanisse, S. *et al.* (2022) 'Skeletal Muscle Protein Metabolism During Exercise', in G. McConell (ed.) *Exercise Metabolism*. Cham: Springer International Publishing, pp. 189–213. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-030-94305-9_9.

Johnson, C.H. and Gonzalez, F.J. (2012) 'Challenges and Opportunities of Metabolomics', *Journal of cellular physiology*, 227(8), pp. 2975–2981. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcp.24002>.

Kell, D.B. (2004) 'Metabolomics and systems biology: making sense of the soup', *Current Opinion in Microbiology*, 7(3), pp. 296–307. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.04.012>.

Khoramipour, K. *et al.* (2022) 'Metabolomics in Exercise and Sports: A Systematic Review', *Sports Medicine*, 52(3), pp. 547–583. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40279-021-01582-y>.

Koay, Y.C. *et al.* (2021) 'Effect of chronic exercise in healthy young male adults: a metabolomic analysis', *Cardiovascular Research*, 117(2), pp. 613–622. Available at: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa051>.

Krumsiek, J. *et al.* (2015) 'Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome', *Metabolomics*, 11(6), pp. 1815–1833. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11306-015-0829-0>.

Kuehnbaum, N.L. *et al.* (2015) 'Multiplexed separations for biomarker discovery in metabolomics: Elucidating adaptive responses to exercise training', *ELECTROPHORESIS*, 36(18), pp. 2226–2236. Available at: <https://doi.org/10.1002/elps.201400604>.

Kujala, U.M. *et al.* (2013) *Long-term Leisure-time Physical Activity and Serum Metabolome*. Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.105551>.

Liepinsh, E. *et al.* (2015) 'Inhibition of L-carnitine biosynthesis and transport by methyl-γ-butyrobetaine decreases fatty acid oxidation and protects against myocardial infarction', *British*

Journal of Pharmacology, 172(5), pp. 1319–1332. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.13004>.

MacInnis, M.J., Egan, B. and Gibala, M.J. (2022) 'The Effect of Training on Skeletal Muscle and Exercise Metabolism', in G. McConell (ed.) *Exercise Metabolism*. Cham: Springer International Publishing, pp. 215–242. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-030-94305-9_10.

Maturana, F.M. *et al.* (2021) 'Individual cardiovascular responsiveness to work-matched exercise within the moderate- and severe-intensity domains', *European Journal of Applied Physiology*, 121(7), pp. 2039–2059. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04676-7>.

Meeusen, R. *et al.* (2013) 'Prevention, Diagnosis, and Treatment of the Overtraining Syndrome: Joint Consensus Statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine', *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 45(1), p. 186. Available at: <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318279a10a>.

Mendler, U. (2021) 'Energiebereitstellung', *Crossfit Leipzig*, 17 September. Available at: <https://crossfit-leipzig.com/energiebereitstellung/> (Accessed: 26 June 2025).

Micheel, C.M. *et al.* (2012) 'Omics-Based Clinical Discovery: Science, Technology, and Applications', in *Evolution of Translational Omics: Lessons Learned and the Path Forward*. National Academies Press (US). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK202165/> (Accessed: 8 May 2025).

Mihalik, S.J. *et al.* (2010) 'Increased levels of plasma acylcarnitines in obesity and type 2 diabetes and identification of a marker of glucolipotoxicity', *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 18(9), pp. 1695–1700. Available at: <https://doi.org/10.1038/oby.2009.510>.

Minkin, M.J. (2019) 'Menopause: Hormones, Lifestyle, and Optimizing Aging', *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, 46(3), pp. 501–514. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ogc.2019.04.008>.

Mitchell Wells, J. and McLuckey, S.A. (2005) 'Collision-Induced Dissociation (CID) of Peptides and Proteins', in *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 148–185. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(05\)02005-7](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(05)02005-7).

Mohd Razali, N. and Yap, B. (2011) 'Power Comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling Tests', *J. Stat. Model. Analytics*, 2. Available at: https://www.researchgate.net/publication/267205556_Power_Comparisons_of_Shapiro-Wilk_Kolmogorov-Smirnov_Lilliefors_and_Anderson-Darling_Tests.

Mondal, H. and Mishra, S.P. (2017) 'Effect of BMI, Body Fat Percentage and Fat Free Mass on Maximal Oxygen Consumption in Healthy Young Adults', *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(6), pp. CC17–CC20. Available at: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/25465.10039>.

Muniz-Santos, R. *et al.* (2023) 'From Microcosm to Macrocosm: The -Omics, Multiomics, and Sportomics Approaches in Exercise and Sports', *OMICS: A Journal of Integrative Biology*, 27(11), pp. 499–518. Available at: <https://doi.org/10.1089/omi.2023.0169>.

Partington, M.W. and Sinnott, B. (1964) 'Case Finding in Phenylketonuria', *Canadian Medical Association Journal*, 91(3), pp. 105–114.

Peake, J. *et al.* (2014) *Metabolic and hormonal responses to isoenergetic high-intensity interval exercise and continuous moderate-intensity exercise*. Available at: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00276.2014>.

Pechlivanis, A. *et al.* (2013) '1H NMR Study on the Short- and Long-Term Impact of Two Training Programs of Sprint Running on the Metabolic Fingerprint of Human Serum', *Journal of Proteome Research*, 12(1), pp. 470–480. Available at: <https://doi.org/10.1021/pr300846x>.

Pellegrino, J.K. *et al.* (2022) 'The exercise metabolome: acute aerobic and anaerobic signatures', *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 19(1), pp. 603–622. Available at: <https://doi.org/10.1080/15502783.2022.2115858>.

Pfeifer, K. and Rütten, A. (2017) 'Nationale Empfehlungen für Bewegung und Bewegungsförderung', *Das Gesundheitswesen*, 79(S 1), pp. S2–S3. Available at: <https://doi.org/10.1055/s-0042-123346>.

PKU - the Guthrie Test (no date). Available at: https://www.mun.ca/biology/scarr/PKU_diagnosis_&_treatment.html (Accessed: 12 November 2025).

Rist, M.J. *et al.* (2017) 'Metabolite patterns predicting sex and age in participants of the Karlsruhe Metabolomics and Nutrition (KarMeN) study', *PLoS ONE*, 12(8), p. e0183228. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183228>.

Rodas, G. *et al.* (2022) 'A targeted metabolic analysis of football players and its association to player load: Comparison between women and men profiles', *Frontiers in Physiology*, 13, p. 923608. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.923608>.

Schranner, D. *et al.* (2020) 'Metabolite Concentration Changes in Humans After a Bout of Exercise: a Systematic Review of Exercise Metabolomics Studies', *Sports Medicine - Open*, 6, p. 11. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40798-020-0238-4>.

Schweda, S. *et al.* (2022) 'Implementation and evaluation of an individualized physical exercise promotion program in people with manifested risk factors for multimorbidity (MultiPill-Exercise): a study protocol for a pragmatic randomized controlled trial', *BMC public health*, 22(1), p. 1174. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12889-022-13400-9>.

Screening-Labor Hannover (2025) *Erweitertes Neugeborenen-Screening*. Available at: <https://www.metabscreen.de/NGS.html> (Accessed: 14 April 2025).

Sharma, H.B. and Kailashiya, J. (2016) 'Gender Difference in Aerobic Capacity and the Contribution by Body Composition and Haemoglobin Concentration: A Study in Young Indian National Hockey Players', *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 10(11), pp. CC09-CC13. Available at: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/20873.8831>.

Shete, A.N., Bute, S.S. and Deshmukh, P.R. (2014) 'A Study of VO2 Max and Body Fat Percentage in Female Athletes', *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 8(12), pp. BC01-03. Available at: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/10896.5329>.

Smirmaul, B.P.C., Bertucci, D.R. and Teixeira, I.P. (2013) 'Is the VO2max that we measure really maximal?', *Frontiers in Physiology*, 4, p. 203. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00203>.

Spriet, L.L. (2022) 'Anaerobic Metabolism During Exercise', in G. McConell (ed.) *Exercise Metabolism*. Cham: Springer International Publishing, pp. 51–70. Available at: https://doi.org/10.1007/978-3-030-94305-9_4.

Stančáková, A. *et al.* (2012) 'Hyperglycemia and a Common Variant of GCKR Are Associated With the Levels of Eight Amino Acids in 9,369 Finnish Men', *Diabetes*, 61(7), pp. 1895–1902. Available at: <https://doi.org/10.2337/db11-1378>.

Statistical Power (2025). Available at: https://tilburgsciencehub.com/topics/analyze/causal-inference/introduction/statistical-power/?utm_source=chatgpt.com (Accessed: 28 August 2025).

Takiyama, N. and Matsumoto, K. (1998) 'Age- and Sex-Related Differences of Serum Carnitine in a Japanese Population', *Journal of the American College of Nutrition*, 17(1), pp. 71–74. Available at: <https://doi.org/10.1080/07315724.1998.10720458>.

Talaulikar, V. (2022) 'Menopause transition: Physiology and symptoms', *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 81, pp. 3–7. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2022.03.003>.

Taylor, H.L., Buskirk, E. and Henschel, A. (1955) 'Maximal Oxygen Intake as an Objective Measure of Cardio-Respiratory Performance', *Journal of Applied Physiology*, 8(1), pp. 73–80. Available at: <https://doi.org/10.1152/jappl.1955.8.1.73>.

Thiel, A. *et al.* (2019) 'The iReAct study – A biopsychosocial analysis of the individual response to physical activity', *Contemporary Clinical Trials Communications*, 17, p. 100508. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2019.100508>.

Thompson, P.D. *et al.* (2013) 'ACSM's New Preparticipation Health Screening Recommendations from ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription, Ninth Edition', *Current Sports Medicine Reports*, 12(4), p. 215. Available at: <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31829a68cf>.

Tompuri, T. *et al.* (2015) 'Measures of cardiorespiratory fitness in relation to measures of body size and composition among children', *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 35(6), pp. 469–477. Available at: <https://doi.org/10.1111/cpf.12185>.

Venable, J.D. and Yates, J.R. (2004) 'Impact of Ion Trap Tandem Mass Spectra Variability on the Identification of Peptides', *Analytical Chemistry*, 76(10), pp. 2928–2937. Available at: <https://doi.org/10.1021/ac0348219>.

via medici (2025) *Glykolyse: Übersicht, Reaktionen und Energiebilanz, via medici: leichter lernen – mehr verstehen*. Available at: <https://viamedici.thieme.de/lernmodul/547091/538871/glykolyse+uebersicht+reaktionen+und+energiebilanz> (Accessed: 2 May 2025).

Wang, T.J. *et al.* (2011) 'Metabolite Profiles and the Risk of Developing Diabetes', *Nature medicine*, 17(4), pp. 448–453. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.2307>.

Westerblad, H., Bruton, J.D. and Katz, A. (2010) 'Skeletal muscle: Energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability', *Experimental Cell Research*, 316(18), pp. 3093–3099. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.05.019>.

Widmann, M. *et al.* (2022) 'miRNAs as markers for the development of individualized training regimens: A pilot study', *Physiological Reports*, 10(5), p. e15217. Available at: <https://doi.org/10.14814/phy2.15217>.

World Health Organization (2018) 'Global action plan on physical activity 2018–2030: more active people for a healthier world'. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272722/9789241514187-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Zhang, X. *et al.* (2020) 'Effects of exercise and dietary interventions on serum metabolites in men with insomnia symptoms: A 6-month randomized controlled trial', *Sports Medicine and Health Science*, 2(2), pp. 95–101. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.smhs.2020.05.002>.

10 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Medizinischen Klinik, Abteilung Sportmedizin (Innere V) des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von Professorin Dr. rer. nat. Barbara Munz durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. B. Munz, Leiterin des molekular- und zellbiologischen Forschungslabors der Sportmedizin Tübingen.

Die Datenerhebung der vorliegenden Arbeit sowie mehrerer in der Abteilung für Sportmedizin durchgeführter Studien erfolgte unter meiner Beteiligung. Ergänzend erfolgte die Datenerhebung durch eine Vielzahl weiterer in die Projekte eingebundene Personen.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch mich.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Im Rahmen der vorliegenden Dissertation wurde die KI-Anwendung ChatGPT (Version GPT-4, Stand Juli 2025) der Firma OpenAI unterstützend eingesetzt. Der Einsatz erfolgte ausschließlich zur sprachlichen Optimierung einzelner Textpassagen, insbesondere zur Korrektur von Grammatik, Satzbau sowie zur stilistischen Überarbeitung in Richtung eines wissenschaftlichen Schreibstils. Inhaltliche Recherchen, wissenschaftliche Analysen, Dateninterpretationen sowie die gesamte inhaltliche Konzeption und Ausarbeitung der Arbeit wurde eigenständig durch mich vorgenommen. Die KI wurde somit nicht zur Generierung fachlicher Inhalte oder zur Auswertung wissenschaftlicher Daten verwendet, sondern diente lediglich als Hilfsmittel zur sprachlichen Verfeinerung. Ich versichere zudem, dass ich den Output der KI-Tools ChatGPT sorgfältig geprüft und angepasst habe, bevor ich die Textpassagen in das Manuskript aufgenommen habe.

Tübingen, den

[Unterschrift]

11 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all jenen danken, die zum Gelingen dieser Dissertationsschrift beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt meiner Betreuerin, Frau Professorin Dr. rer. nat. Barbara Munz, die mir während des gesamten Promotionsvorhabens mit großem Engagement, fachlicher Expertise sowie konstruktiver und stets wohlwollender Unterstützung zur Seite stand.

Ein weiterer herzlicher Dank geht an das gesamte Team der Abteilung für Sportmedizin am Universitätsklinikum Tübingen. Ohne Ihre tatkräftige Unterstützung bei der Datenerhebung und Durchführung der Studie wäre dieses Projekt in dieser Form nicht realisierbar gewesen.

Ich danke auch meinen Freundinnen und Freunden, die mich in entscheidenden Momenten beraten und durch ihre kritischen Anmerkungen beim Korrekturlesen maßgeblich zur Qualität dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein tiefster und aufrichtigster Dank gilt meiner Mutter, die mich während meines gesamten Studienwegs uneingeschränkt unterstützt hat – sei es mit Rückhalt, Zuspruch oder in ganz praktischer Hinsicht. Ohne sie wäre mir ein Studium in dieser Form nicht möglich gewesen.