

Orthopädische Universitätsklinik aus dem Forschungsbereich Experimentelle Orthopädie
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

Syndecan 4 als Marker für sportliche Belastung und Regenerationsfähigkeit

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades Dr. med.
(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von: Tim Scheper

aus: Marl

Magdeburg: 2024

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung:

Scheper, Tim:

Syndecan 4 als Marker für Sport und Regenerationsfähigkeit. - 2024. - 98 Blätter, 11 Abbildungen, 9 Tabellen, 4 Formeln.

Die Darstellung von Ermüdung und Trainingssteuerung ist nach wie vor ein aufwändiges Prozedere, welches mittels motorischer Tests und/oder Laborwerten (Kreatinkinase, Laktat, Harnstoff, freies Testosteron und Cortisol) versucht wird abzubilden. Bei Athleten ließ sich ein 30 %iger Anstieg von Syndecan 4 (Sdc-4) zeigen (Bertrand, unpubliziert), was auf einen Nutzen für das Monitoring von Belastung schließen lässt. In dieser Studie wurde die Menge von gelöstem Sdc-4, einem transmembranen Heparansulfatproteoglykan, welches an Entzündungsprozessen, Wundheilung, Angiogenese und Zellproliferation beteiligt ist, im Serum auf unterschiedliche Belastungsformen untersucht, sowie nach möglichen Sheddasen des Proteoglykans gesucht, um deren Nutzen im Rahmen von Trainingssteuerung zu unterstreichen. Serum-ELISA Analysen von 43 Testpersonen zeigten im Vergleich mit der Kontrollgruppe einen signifikanten Anstieg von Sdc-4 nach Belastung. Die Art der Belastung scheint hier eine Rolle zu spielen, da sich die Entwicklung der Sdc-4-Konzentration im Serum zwischen einer Ausdauerbelastung und einem Maximalkrafttraining unterschieden. Durch einen anschließenden Sportverzicht (24h) war eine Reduktion der Sdc-4-Werte auf das Ausgangsniveau oder niedriger zu sehen. Diesen Ergebnissen zufolge kann Sdc-4 unter bestimmten Voraussetzungen als Marker zur Trainingssteuerung herangezogen werden. Somit stellt Sdc-4 möglicherweise eine Alternative zu den herkömmlichen Verfahren für das Monitoring von Belastung dar, auch wenn noch Grenzwerte festgelegt und der Nutzen bei moderater Belastung in größer angelegten Studien überprüft werden müsste, um aktuelle Trainingssteuerungsverfahren zu ersetzen.

Schlüsselwörter:

Syndecan-4, Heparansulfatproteoglykan, Belastung, Belastungsformen, Ausdauer, Maximalkraft, Trainingssteuerung, Sheddasen.

Inhaltsverzeichnis

1 Einführung.....	1
1.1 Sport.....	1
1.1.1 Unterschiedliche Trainingsformen.....	2
1.1.2 Die Muskulatur.....	3
1.1.3 Skelettmuskulatur.....	4
1.1.4 Trainingsinduzierte Muskelschädigung und Anpassungsprozesse.....	5
1.2 Sport & Regeneration.....	7
1.2.1 Belastungsmonitoring.....	7
1.2.2 Marker der Muskelfunktion im Sport.....	9
1.2.3 Marker zum Regenerations- und Übertrainingsmonitoring.....	10
1.3 Syndecane.....	11
1.3.1 Syndecan-4.....	12
1.3.2 Syndecan-4 und Sport.....	13
1.3.3 Syndecan-4 Shedding.....	14
1.3.4 Gesheddetes Syndecan-4 als Biomarker für Erkrankungen.....	15
1.4 Sheddasen.....	16
1.4.1 Matrix Metalloproteinasen 9 (MMP9).....	16
1.4.2 Plasmin.....	17
1.4.3 Thrombin.....	18
1.5 Zielsetzung.....	20
2 Material & Methoden.....	21
2.1 Materialien.....	21
2.1.1 Reagenzien.....	21

2.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	21
2.1.3 Geräte.....	22
2.2 Methoden.....	24
2.2.1 Kohortenzusammenstellung.....	24
2.2.2 Studiendesign.....	24
2.2.3 Maximalkraftstudie.....	25
2.2.4 Ausdauerstudie.....	25
2.2.5 Kontrollgruppe.....	26
2.2.6 Überbelastungsstudie.....	26
2.2.7 Probenentnahme.....	26
2.2.8 Enzyme-linked Immunosorbent Assay.....	27
2.2.9 Bestimmungsmethode der Enzymaktivität.....	28
2.2.10 Statistik.....	29
3 Ergebnisse.....	30
3.1 Teilnehmerauswertung.....	30
3.2 Gesheddetes Sdc-4.....	35
3.2.1 Lösliches Sdc-4 im Serum in Zusammenhang mit sportlicher Belastung.....	35
3.2.2 Unterschiedliche Belastungsarten beeinflussen die Sdc-4-Level im Blut.....	38
3.3 Regulation von Sdc-4-Sheddases während der sportlichen Belastung.....	40
3.3.1 Regulation von MMP9 im Serum bei sportlicher Belastung.....	40
3.3.2 Regulation der Plasminaktivität im Serum bei sportlicher Belastung.....	44
3.3.3 Regulation der Thrombinaktivität im Serum bei sportlicher Belastung.....	47
4 Diskussion.....	50
4.1 Belastungsabhängiger Anstieg von Syndecan-4.....	51
4.2 Belastungsabhängige Veränderung der MMP9-Serumkonzentration.....	54
4.3 Plasminaktivität steigt als Resultat sportlicher Belastung.....	57
4.4 Thrombinaktivität steigt als Resultat sportlicher Belastung.....	59
5 Zusammenfassung und Ausblick.....	61
6 Literaturverzeichnis.....	63

7 Danksagung.....	85
8 Ehrenerklärung.....	86
9 Darstellung des Bildungsweges.....	87

Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Schematische Darstellung der Muskelkontraktion.....</i>	<i>4</i>
<i>Abbildung 2: Die Syndecanfamilie und ihre Struktur.....</i>	<i>12</i>
<i>Abbildung 3: Dokumentierte Shedding-Stellen von Sdc-4.....</i>	<i>15</i>
<i>Abbildung 4: Gesheddeds Sdc-4 nach sportlicher Belastung.....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 5: Belastungsabhängiger Anstieg von gesheddetem Sdc-4.....</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 6: MMP9 reagiert bei extremen Belastungen.....</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 7: Korrelation zwischen gesheddetem Sdc-4 und MMP9.....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 8: Steigende Plasminaktivität bei Belastung.....</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 9: Keine Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Plasminaktivität.....</i>	<i>46</i>
<i>Abbildung 10: Steigende Thrombinaktivität bei Belastung.....</i>	<i>48</i>
<i>Abbildung 11: Keine Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Thrombinaktivität... </i>	<i>49</i>

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Geräte.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabelle 2: Fitnessgeräte.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 3: Blutentnahmeequipment.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabelle 4: ELISAs.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabelle 5: Aktivitäts-Assays.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabelle 6: Teilnehmende der Maximalkraftstudie.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabelle 7: Teilnehmende der Ausdauerstudie.....</i>	<i>32</i>
<i>Tabelle 8: Teilnehmende der Kontrollstudie.....</i>	<i>33</i>
<i>Tabelle 9: Teilnehmerin Übertraining.....</i>	<i>34</i>

Formelverzeichnis

<i>Formel 1: Epley Formel</i>	25
<i>Formel 2: Trainingsherzfrequenz nach Lagerström</i>	26
<i>Formel 3: Plasminaktivitätsformel</i>	28
<i>Formel 4: Thrombinaktivitätsformel</i>	29

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
°C	Grad Celsius
1RM	One-Repetition Maximum
bpm	Schläge pro Minute
AMC	7-Amino-4-methylcumarin
CK	Kreatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
CS	Chondroitinsulfat
EZM	Extrazelluläre Matrix
EGF	Epidermaler Wachstumsfaktor
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
g	g-Kräfte
GAG	Glykosaminglykan
GH	Wachstumshormon
h	Stunde
HS	Heparansulfat
HSPGs	Heparansulfat-Proteoglykane
J	Jahre
L	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
m	Milli
min	Minuten
MMP	Matrix Metalloprotease
MyoD	Myogener Faktor 3
n	Nano
P	Probe

Abkürzung	Bedeutung
Plg	Plasmino-Gen
rpm	Umdrehung pro Minute
r	Wiederholungen
r^2	Spearman-Korrelationskoeffizienten
s	Sekunde
SEM	Standard Fehler des Mittelwerts
Sdc	Syndecan
TIMPs	Tissue inhibitors of metalloproteinases
tPA	Gewebespezifischer Plasminogenaktivator
Tr.-Hf	Trainingsherzfrequenz
VEGF	Endothelwachstumsfaktor
VO ₂ max	maximale Sauerstoffaufnahme
w	Bewegtes Gewicht (kg)
μ	Mikro
ΔRFU	relative Fluoreszenzeinheiten

1

Einführung

1.1 Sport

Sport spielt in unserer Gesellschaft eine tragende Rolle. Laut einer 2021 durchgeführten Bestandserhebung des Deutschen Olympischen Sportbundes waren rund 27 Millionen Deutsche Mitglied in einem Sportverein, was den Sport zur größten Bürgerbewegung Deutschlands macht ¹.

Der Stellenwert von Sport in der deutschen Gesellschaft lässt sich mittels der Einschaltquoten bei großen Sportevents sehr gut herausarbeiten. Bei der Fußball-Europameisterschaft der Männer 2021 schauten laut Quotenmeter.de 27,5 Millionen Zuschauer das Achtelfinale der deutschen Nationalelf ². Trotz der beginnenden Coronapandemie verzeichneten die Bundesligaklubs einen Gesamtumsatz von 3,8 Milliarden Euro in der Saison 2019/20 ³. Diese Daten unterstreichen das große Interesse unserer Gesellschaft an Sport. Dies soll hier am Beispiel des Fußballs nur exemplarisch dargestellt werden und spiegelt dessen Relevanz in der Gesellschaft wider.

Im Wesentlichen lassen sich Breitensport, Leistungssport sowie Profi-Sport und Amateur-Sport abgrenzen. Bedeutende Unterscheidungsmerkmale sind dabei abweichende Leistungsbereitschaft, Trainingsintensität, Trainingsaufwand, persönlicher Einsatz und Motivation.

1.1.1 Unterschiedliche Trainingsformen

Bewegung wird in aerobe/ausdauernde, koordinative und Kraft-Aktivitäten unterteilt. Im Folgenden sollen Kraft- und Ausdauersport unterschieden und genauer beleuchtet werden, da sie die Grundlage der in dieser Arbeit erhobenen Daten bilden. Charakteristisch für ein klassisches Ausdauertraining ist eine relativ geringe Belastung über einen längeren Zeitraum hinweg, während ein Krafttraining mit relativ hohen Belastungen über einen kurzen Zeitraum durchgeführt wird.

Ausdauer und Ausdauertraining sind sowohl für den Energiestoffwechsel als auch für das kardipulmonale System im Rahmen von Leistungs- und Gesundheitssport von großer Bedeutung. Die Ziele eines Ausdauertrainings können vielfältig sein und reichen von der Schaffung einer Ermüdungsresistenz, für Koordination- und Krafttraining, der Ökonomisierung des Herz-Kreislauf-Systems bis zur Verbesserung von Regenerations- und Adaptationsprozessen. Darüber hinaus beeinflusst die Ausdauer die mögliche Belastungsfrequenz sowie Gesamtbelastung eines Individuums⁴. Die Angabe von unterschiedlichen Intensitätsbereichen sowie der Übergang einer aeroben in eine anaerobe Belastung lässt sich am effektivsten anhand der Laktat-Leistungskurve widerspiegeln^{5,6}. Wenn diese nicht zur Verfügung steht, kann auch auf die Trainingsherzfrequenz (ca. 60- 85% der max. Herzfrequenz) als objektive Methode und orientierendes Instrument zurückgegriffen werden. Das Monitoring der Herzfrequenz während eines Trainings beruht auf der linearen Beziehung zwischen der Herzfrequenz und der Rate des Sauerstoffverbrauchs (VO₂) bei gleichmäßiger Trainingsbelastung⁷. Verschiedene Formeln stehen zur Verfügung, um die Trainingsherzfrequenz in den unterschiedlichen Bereichen zu ermitteln. Die Nutzung von mathematischen Formeln zur Berechnung der Herzfrequenzbereiche ist laut Härtel eine einfache, effektive, nicht invasive und kostengünstige Variante zur Umgehung von Leistungsuntersuchungen wie Laktatmessungen. Verschiedene Formeln zur Berechnung der optimalen Trainingsherzfrequenz im Ausdauersport, stellt Härtel gesammelt in „Entwicklung und Analyse walkingbasierter Ausdauertestverfahren im Rahmen der medizinischen Rehabilitation“ vor⁸.

Der Kraftsport hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Vor allem in den Bereichen, Fitness- und Gesundheitstraining sowie im Rehabilitationssport werden die Methoden des Krafttrainings zur Verbesserung der Kraftfähigkeiten eingesetzt. Beim

Kraftsport steht die quantitative und qualitative Entwicklung der Muskeln und die Vergrößerung der Muskelkraft im Vordergrund ^{9,10}.

Die Widerstandsbelastung bezieht sich entweder auf die Masse eines Objekts (z.B. eines bewegten Gewichts) in SI-Einheiten (kg) oder auf den Prozentsatz der Maximalkraft [% 1-Wiederholungs-Maximum (1-RM)] ¹¹. Das One-Repetition Maximum (1RM) ist das Gewicht, welches eine Person einmal bewegen kann, bzw. die Kraft, die mit einer Muskelkontraktion maximal abgerufen werden kann ¹². Dies kann mithilfe verschiedener Formeln errechnet und sich zunutze gemacht werden, um die gewünschte Prozentzahl des 1RM für das Training zu ermitteln und somit die individuelle Belastung für die Muskulatur zu steuern.

Auch im Kraftsport besteht die Möglichkeit der Belastungssteuerung mittels Herzfrequenz. Die gewünschten Anpassungserscheinungen eines Trainings werden bei einer durchschnittlichen Herzfrequenz von 150 bis 180 Schlägen pro Minute minus Lebensalter erreicht ¹³. Hurley et al. konnten bei einem Training bis zur völligen Erschöpfung mit acht bis zwölf Wiederholungen eine mittlere Herzfrequenz von 155 Schlägen pro Minute erfassen ¹⁴.

Innerhalb der einzelnen Wiederholungsserien kommt es jedoch zu einem Anstieg der Herzfrequenz ^{15,16} und die Herzfrequenz steigt nach Beendigung der Belastung weiter an ¹⁶, weshalb die Herzfrequenz eine untergeordnete Rolle bei der Belastungssteuerung im Krafttraining spielt.

1.1.2 Die Muskulatur

Muskelgewebe gehört neben Epithel-, Nerven- und Bindegewebe zu den vier wesentlichen Gewebetypen des menschlichen Körpers. Muskelzellen sind mit der Fähigkeit der Kontraktion ausgestattet. Basierend auf der Theorie des schwingenden Hebelarms im Skelettmuskel kommt es zu einer Muskelkontraktion zwischen den Aktin- und Myosinfilamenten ¹⁷. Durch das Entlanggleiten der durch Myosinmoleküle gebildeten Filamente an den Aktinfilamenten verkürzt sich das Sarkomer (Abbildung 1). Es lassen sich die willkürlich innervierte quergestreifte Muskulatur (Skelettmuskulatur), Herzmuskulatur wie auch glatte Muskulatur voneinander unterscheiden. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Skelettmuskulatur.

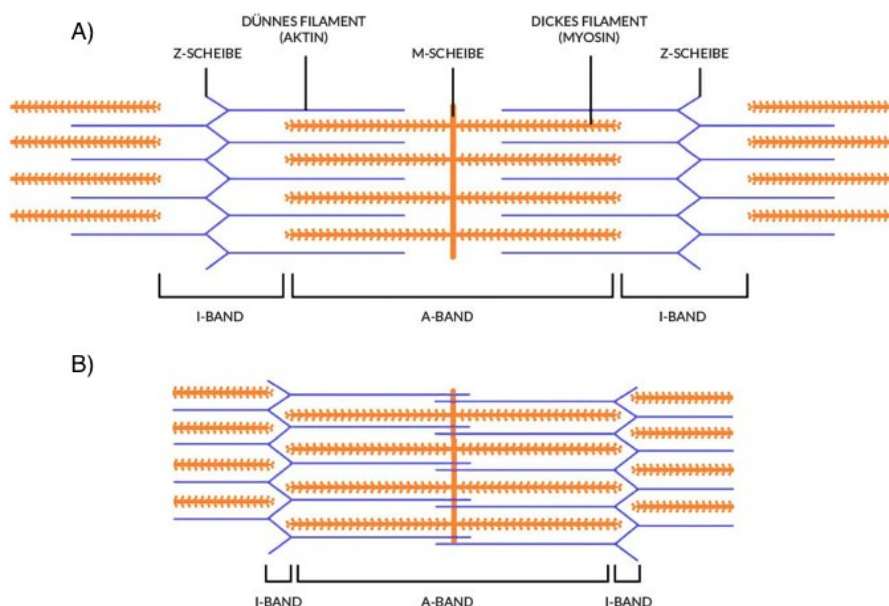


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Muskelkontraktion

Schematische Darstellung der Muskelkontraktion im entspannten- **(A)** und angespannten Zustand **(B)**. In Orange dargestellt die an der M-Scheibe verankerten Myosinfilamente. Die Aktinfilamente sind in Blau dargestellt und bilden die Z-Scheiben. Modifiziert und angepasst von ¹⁸.

1.1.3 Skelettmuskulatur

Die Skelettmuskulatur dient dem Menschen zur Nahrungssuche, Verteidigung, Kommunikation und Mobilität und trug so maßgeblich zur Entwicklung der menschlichen Spezies bei. Sie stellt den Großteil der somatischen Muskulatur im Körper dar und ist unter willentlicher Kontrolle ¹⁹.

Skelettmuskulatur besteht aus einzelnen Muskelfasern, die in Muskelfaserbündeln zusammengefasst werden. Eine Vielzahl an Zellkernen befindet sich membranständig in der Peripherie der Muskelfasern. Das Innere einer Muskelzelle wird durch Myofibrillen mit einer regelmäßigen Anordnung kontraktile Myofilamente sowie dem Sarkoplasma gebildet. Die kontraktile Proteine Aktin und Myosin machen den Hauptbestandteil der Skelettmuskulatur aus und sind essenziell für die Physiologie der Muskelkontraktion. Ein Muskel lässt sich in mehrere Funktionseinheiten untergliedern, wobei das Sarkomer die kleinste funktionelle Einheit bildet und sich von Z- zu Z-Scheibe erstreckt ²⁰ (siehe Abbildung 1).

Die Aktin- und Myosinfilamente können sich während der Muskelkontraktion aufeinander zu (konzentrisch), oder voneinander weg (exzentrisch) oder sich alternativ überhaupt nicht

bewegen (isometrisch). Diese drei Begriffe (konzentrisch, exzentrisch und isometrisch) dienen der Beschreibung der verschiedenen Kontraktionsformen ²¹, welche ihre Anwendung im Muskeltraining finden.

1.1.4 Trainingsinduzierte Muskelschädigung und Anpassungsprozesse

Trainingsinduzierte Schädigung der Muskulatur, ausgelöst durch körperliche Betätigung, ist in der Literatur gut dokumentiert ²²⁻²⁴. Dieses Phänomen ist auch als trainingsinduzierte Muskelschädigung bekannt und in der Ausprägung abhängig von der Art, Intensität und Dauer der Belastung ^{25,26}. Die Muskelschädigung kann mit Schmerzen einhergehen. Sie treten 6 Stunden bis maximal 2 Tage nach der Belastung auf und können 2-3 Tage anhalten ²⁷⁻³¹. Das Ausmaß der Schädigung scheint durch exzentrische Belastung am größten auszufallen, jedoch führt auch konzentrische Belastung zu trainingsinduzierten Muskelschädigungen ³²⁻³⁴. Insbesondere die Region der Z-Scheiben scheint von Schädigungen betroffen ³⁵. Z-Scheiben begrenzen die Sarkomere und bilden die Haltestruktur der dünnen Aktinfilamente und des Zytoskeletts, welches ebenfalls durch eine Trainingsbelastung zerstört werden kann ^{36,37}. Brigitte et al. konnten in Tierexperimenten zeigen, dass neutrophile Granulozyten in verletztes Muskelgewebe einwandern und die vorherrschenden Entzündungszellen 12 Stunden nach einer Muskelverletzung sind. Dieser Prozess wird durch das Freisetzen von neutrophilen Chemoattraktoren der ortsständigen Makrophagen ausgelöst ³⁸. McClung et al. konnten bei Ratten nachweisen, dass neutrophile Granulozyten die ersten Entzündungszellen sind, die in den Skelettmuskel einwandern und deren Konzentration 1-6 Stunden nach einer Muskelverletzung deutlich ansteigt ³⁹. Auch bei männlichen Sportlern nach einem Radfahrtest mit steigenden Belastungen konnte eine steigende Anzahl von neutrophilen Granulozyten in der Skelettmuskulatur nach sechs Stunden nachgewiesen werden ⁴⁰. Die in das geschädigte Muskelgewebe eingewanderten Entzündungszellen erleichtern die Reparatur und Regeneration durch das Entfernen von Gewebetrümmern mittels Phagozytose ^{41,42}. Sie können den Muskel jedoch auch durch Sauerstoffradikale schädigen ⁴³. Dass die Entzündungsreaktion eine entscheidende Rolle bei der Regeneration zu spielen scheint, wird dadurch unterstrichen, dass die Myogenese in Anwesenheit von vermehrten Entzündungszellen intensiviert wird und ihr Fehlen zu einer beeinträchtigten Myogenese führt ⁴⁴. Begleitet ist die Entzündungsreaktion durch eine Ansammlung von Plasmaproteinen und Flüssigkeit im Gewebe, die zu einer Schwellung und Schädigung der

Kapillaren führt^{24,45}. Schwellungen sind selbst bei trainierten Probanden auch 48 Stunden nach dem Training noch zu beobachten⁴⁶. Dieser Zeitraum deckt sich mit der maximalen Anzahl an Makrophagen im Skelettmuskel, welche für die Phagozytose von Zelltrümmern verantwortlich sind und somit bei der Muskelregeneration eine wesentliche Rolle spielen^{47,48}.

Ausdauertraining hingegen geht mit einer verbesserten Kapazität des aeroben Energiestoffwechsels und der Ermüdungsresistenz einher, während Krafttraining mit Muskelhypertrophie und erhöhter Kraftentwicklung verbunden ist^{49–51}.

Ein wichtiger Anpassungsprozess im Rahmen eines Ausdauertrainings ist die Biogenese zusätzlicher Mitochondrien^{52–54}, was die enge Übereinstimmung des Gehaltes an Skelettmuskelmitochondrien und ihrer Funktion mit der maximalen Sauerstoffaufnahme ($VO_{2\max}$) und der Leistung zeigt^{55–57}. $VO_{2\max}$ ist definiert als die maximale Rate, mit der der Körper bei extremen Belastungen Sauerstoff aufnehmen und verwerten kann. Sie zählt zu den wichtigsten Variablen zur Angabe der kardiorespiratorischen Leistungsfähigkeit und geht auf die Studien von Hill et al. zurück^{58,59}. Eine weitere wichtige Einflussgröße ist der Herzmuskel. Das Herzminutenvolumen (Schlagvolumen x Herzfrequenz) ist der wichtigste Faktor der $VO_{2\max}$. Ausdauertraining erhöht das Schlagvolumen durch ein größeres enddiastolisches Volumen^{60–63} sowie der Hypertrophie des Herzmuskels^{64–68}.

Mechanischer Stress, der auf Skelettmuskelfasern ausgeübt wird, ist ein primärer Mechanismus, der für den Zuwachs der Muskelmasse als Reaktion auf Widerstandsübungen verantwortlich gemacht wird⁶⁹. Eindeutige Hinweise auf die Überlegenheit konzentrischer gegenüber exzentrischer Belastungen oder umgekehrt auf die Muskelhypertrophie bestehen aktuell nicht^{70–76}. Die hypertrophe Reaktion auf Kraftübungen scheint durch mechanische Spannung angetrieben zu werden^{77,78}. Durch mechanischen Stress kommt es zur Schädigung der Muskulatur^{22–24}. Sowohl beim Muskelwachstum⁷⁹ als auch bei Reparaturprozessen scheint die extrazelluläre Matrix eine entscheidende Rolle zu spielen, da sie die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung der Satellitenzellen beeinflusst^{80,81}. Jedoch ist noch unklar, welche Rolle die Anpassung der extrazellulären Matrix bei der Muskelregeneration und dem Muskelumbau nach einem Trainingsreiz spielt.

In Folge einer Muskelschädigung nehmen Entzündungszellen wie Makrophagen eine Schlüsselrolle durch die Sekretion von anabolen Botenstoffen ein, welche zur Hypertrophie beitragen ⁸²⁻⁸⁵.

Die proinflammatorische Phase auf eine Schädigung der Skelettmuskulatur verstärkt sich innerhalb von 24 Stunden und dauert bis zu 48 Stunden nach der Schädigung an ^{41,86}. Nachfolgend wird die proinflammatorische Reaktion zunehmend abgeschwächt und Makrophagen differenzieren sich von den in der Entzündungsphase vorherrschenden M1- zu M2-Makrophagen ⁸⁷. M2-Makrophagen wird eine wichtige Rolle bei der Beendigung des proinflammatorischen Zustands und der sich anschließenden Gewebereparatur zugesprochen. Vier Tage nach der Schädigung sind die höchsten Werte zu verzeichnen. Erhöhte Werte lassen sich aber bis zu 14 Tage nach einer Verletzung nachweisen ⁸⁶. Die Anfänge der beginnenden Reparatur und Regeneration sind stark von Interferon-gamma (IFN γ) beeinflusst. IFN γ moduliert das Genexpressionsprogramm myogener Zellen ⁸⁸ und ist für Reparatur- und Regenerationsvorgänge von entscheidender Bedeutung. Erhöhte Werte treten innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Schädigung auf und gehen mit einer erhöhten Anzahl von Makrophagen und Neutrophilen in der Skelettmuskulatur einher ⁸⁹.

Muskelregeneration beruht hauptsächlich auf der Beseitigung von beschädigtem Gewebe sowie der koordinierten Synthese neuer Proteine. Dadurch wird die Muskelfunktion wieder hergestellt. Durch Training ausgelöste Muskelschäden können auf ultrastruktureller Ebene innerhalb weniger Tage kompensiert werden ⁹⁰. In diesem Fall sind lokale Autophagie und Proteinsynthese ausreichend zur Regeneration ⁹¹. Eine strukturelle Schädigung des Muskels erfordert zur vollständigen Regeneration die Proliferation und Differenzierung von Satellitenzellen sowie Prozesse der Angiogenese und die Synthese von extrazellulärer Matrix ⁸⁶. In der Skelettmuskulatur spielen Matrix Metalloproteasen (MMPs) eine wichtige Rolle bei der Aktivierung, Migration und Differenzierung von Satellitenzellen während der Muskelregeneration ⁹².

1.2 Sport & Regeneration

1.2.1 Belastungsmonitoring

Die exakte Quantifizierung der durch einen Trainingsreiz ausgelösten physiologischen Auswirkungen auf den menschlichen Körper ist von entscheidender Bedeutung für die

Trainingsplanung, um die Trainingsbelastung und damit die Leistung von Athleten und Athletinnen zu optimieren und das Potenzial für Übertraining zu begrenzen.

Neben Ausdauertests, motorischen Tests und psychometrischen Verfahren spielen laborchemische Messungen von Blutwerten zum Nachweis und Quantifizierung beim Belastungsmonitoring eine wichtige Rolle, da sie ohne erneuten Belastungsreiz auskommen und so die Erholungszeit nicht verlängern. Ein typischer Laborwert, welcher unter anderem als Ermüdungsindikator verwendet wird, ist das Muskelenzym Kreatinkinase (CK), für Muskelschäden und Trainingsbelastung^{93,94}. Als Indikator für Proteinkatabolismus und die metabolische Belastung werden unter anderem Harnstoff und Laktat genutzt^{95–97}. Zur Bestimmung der anabol-katabolen Balance wird der Quotient aus freiem Testosteron und Cortisol als Marker herangezogen^{98,99}. Der Nutzen der Ermüdungsmarker CK, Harnstoff, freies Testosteron, Cortisol und Laktat wurde durch Studien im Zusammenhang mit trainingsbedingter Ermüdung und Erholung vielfach bestätigt^{97,99–102}. Seit vielen Jahren wird Laktat zur Trainingssteuerung und Leistungsdiagnostik im Breiten- sowie Spitzensport herangezogen. Bei hoher körperlicher Belastung wird bei der anaeroben Glykolyse Pyruvat durch die Laktatdehydrogenase (LDH) in Laktat umgewandelt. Die Laktatkonzentration im Blut spiegelt die kurzzeitige (innerhalb von Minuten) metabolische Belastung wider⁹⁷. Die Laktatschwelle stellt den Übergang von der aeroben zur anaeroben Energiebereitstellung dar^{5,103}. Durch standardisierte Belastungsprotokolle lässt sich anhand der Laktatwerte eine Laktatleistungskurve erstellen, welche seit vielen Jahren in der Trainingssteuerung genutzt wird. Jedoch hat auch Laktat als diagnostisches Instrument einige Schwächen, wie die Abhängigkeit von Ernährung und/oder der Vorbelastung⁶, die kurze Halbwertszeit nach Beendigung der Belastung¹⁰⁴ und die Tatsache, dass sich bei aeroben Ausdauerbelastungen schnell ein „steady state“ einstellt, bei dem die Laktatbildungsrate und Laktatabbau gleich sind^{6,105}.

Unterschiedlichsten Markern wird eine mögliche Bedeutung beim Belastungs- und Ermüdungsmonitoring zugeschrieben und werden in den folgenden Kapiteln erläutert. Deren Bestimmung zur Ermittlung des Ermüdungszustands im Rahmen von standardisierten Belastungstests ist sehr präzise möglich^{100,106}.

1.2.2 Marker der Muskelfunktion im Sport

Ungewohnte sowie intensive Muskelbeanspruchung hat einen vorübergehenden Verlust an Schnell- und Maximalkraft zur Folge. Dies kann auf Veränderungen der Arbeitsmuskulatur wie auch auf eine Störung der neuromuskulären Ansteuerung oder eine Kombination beider Aspekte zurückgeführt werden ^{107,108}.

Das Verständnis dafür, wie mithilfe von Markern im Blut der Regenerationszustand der Muskulatur abgebildet werden kann, ist derzeit begrenzt; jedoch könnten sie ein genauer Indikator sein, um Muskelschäden und Entzündungsvorgänge sowie den Erholungszustand widerzuspiegeln. Es besteht bisher kein Konsens über die zeitliche Entwicklung und das Ausmaß ihrer Ausscheidung und Beseitigung aus dem Blut als Reaktion auf verschiedene Formen und Intensitäten sportlicher Belastung ^{109–111}.

Aktuell finden Marker vermehrt über das Betrachten von Muskelschädigungen und Entzündungsprozessen ¹⁰⁹ Anwendung im Belastungsmonitoring. Das Auftreten von Muskelproteinen, der muskelspezifischen Enzyme LDH und CK im Blut, ist bereits in vielen Studien auf einen Trainingsreiz hin untersucht worden ^{99,100,112}. All diese Proteine sind erhöht als Reaktion auf einen schädlichen Reiz, jedoch hat sich CK als am häufigsten verwendeter Marker herausgebildet. Erschwert wird der Nutzen von CK und anderen Markern jedoch durch die große interindividuelle Varianz, die sie aufweisen ¹¹³. Die CK-Aktivität erreicht ihren Peak 24 Stunden nach Beendigung des Trainings und sollte sich innerhalb von 48-72 Stunden wieder normalisieren ¹¹⁴. Der Grad oder zeitliche Verlauf der Muskelschädigung lässt sich durch den CK-Wert nicht ausreichend abbilden ²⁴. Es zeigt sich nach körperlicher Belastung im Vergleich mit CK eine langsamer steigende LDH-Aktivität, welche für 14 Tage nach ausdauernder körperlicher Aktivität erhöht sein kann ¹¹⁵. Besonders zwischen dem dritten bis fünften Tag nach dem Reiz ist der Anstieg nachweisbar ¹¹².

Der Quotient aus freiem Testosteron und Cortisol gilt als empfindlicher Marker gegenüber Trainingsbelastungen. Ein längerer Abfall des Quotienten wird in Verbindung gebracht mit erhöhter Proteolyse (Muskelproteinabbau) und verminderter Proteinsynthese ^{98,99}.

Eine Kombination aus verschiedenen Markern zur Bestimmung des Muskelstatus eines Athleten während eines Trainings und der Erholungsphase ist von großem Nutzen und trägt zur Vermeidung von Regenerationsdefiziten und Übertraining bei.

1.2.3 Marker zum Regenerations- und Übertrainingsmonitoring

Wirksame Trainingsprogramme haben eine funktionelle Überforderung als Absicht. Dennoch sollte eine übermäßige Belastung mit unzureichenden Erholungsphasen vermieden werden und ein Gleichgewicht zwischen Trainingsbelastung und Erholung angestrebt werden. Ein diesbezügliches Ungleichgewicht über einen längeren Zeitraum führt zu Leistungseinbußen und kann einen Zustand des Übertrainings zur Folge haben¹⁰⁰. Das Übertrainingssyndrom ist eine gefürchtete Komplikation unter Leistungssportlern und Leistungssportlerinnen und somit von großem Interesse für den Bereich der Sportmedizin. Kennzeichnend für das Übertrainingssyndrom ist neben einer veränderten Stimmungslage ein Einbruch der sportartspezifischen Leistung, die trotz eigentlich ausreichender Erholung bestehen bleibt^{116–118}. Die meisten Tests zur standardisierten Leistungserfassung führen jedoch zusätzlich zur Ermüdung^{119,120}. Deshalb wird in Wissenschaft und Praxis häufig eine Vielzahl von Markern verwendet, um den Erholungsprozess zu verfolgen¹¹⁹.

Das Zytokin Interleukin-6 (IL-6) könnte als Marker für das Erkennen eines Übertrainings potenziell von Nutzen sein, allerdings nicht isoliert, sondern vielmehr in der Zusammenschau mit anderen Zytokinen, um die Beurteilung chronischer Entzündungen bei Sportlern festzustellen^{121,122}.

Lee E. C. et al. schlägt vor, Marker wie Testosteron und Cortisol sowie CK zu integrieren, um genauere Information über den Gesundheitszustand und den Übertrainingsstatus eines Athleten zu erhalten. Ein einzelner Marker scheint nicht ausreichend zu sein, um das Übertraining verlässlich abbilden zu können⁹⁴. Andere Studien kommen zu dem Ergebnis, dass CK und LDH aufgrund ihrer schnellen Elimination aus dem Blut eher ungeeignet sind, um Belastungsdauer >1 Tag abzubilden, und somit für die Überwachung von Überforderung¹²³ und Übertraining¹²⁴ nicht geeignet sind.

Endokrine Marker wie das Testosteron-Cortisol-Verhältnis werden als Marker mit Schwellenwert für Übertraining empfohlen¹²⁵. Eine Reduktion um 30 % wurde als Indikator für eine unzureichende Erholung vorgeschlagen^{125,126}. Eine Abnahme der Leistungsergebnisse und suboptimale Trainingsanpassung konnte bei Fußballern¹²⁷ und Spezialeinheiten des Militärs¹²⁸ mit niedrigem Testosteron-Cortisol-Quotienten festgestellt werden.

Es besteht nach wie vor ein großer Bedarf an relevanten Instrumenten für die Frühdiagnose des Übertrainingssyndroms. Aus diesem Grund scheint die Suche nach neuen Markern zur Erweiterung der aktuellen Möglichkeiten sinnvoll.

1.3 Syndecane

Syndecane (Sdc) gehören zu den Heparansulfat-Proteoglykanen der Typ 1 Transmembran-Proteine (HSPGs). Es werden vier verschiedene Typen in Säugern unterschieden (Sdc-1, Sdc-2, Sdc-3 und Sdc-4) (siehe Abbildung 2). Proteoglykane bestehen aus einem Kernprotein, an das Glykosaminoglykane (GAG) in Form von sich wiederholenden Disaccharidketten kovalent gebunden sind. Sie können nach den gebundenen GAG-Ketten z.B. in Keratansulfat, Dermatansulfat oder, wie im Fall der Syndecane, in Heparansulfat (HS) und Chondroitinsulfat (CS) unterteilt werden ¹²⁹. Die vier Syndecane weisen abgesehen von der extrazellulären Ektodomäne eine hohe Homologie der Aminosäuresequenz auf (60-70 %) ¹³⁰. Weitere Anteile sind die hoch konservierte transmembrane Domäne sowie die zytoplasmatische Domäne, welche aus zwei konservierten Regionen besteht (C1 und C2) und die variable Region (V) umgeben ^{130,131}. Die verschiedenen Syndecane sind gewebespezifisch unterschiedlich und weisen verschiedene Expressionsmuster auf. In den meisten Zellen wird mehr als ein Syndecantyp exprimiert. Mit Ausnahme der Erythrozyten exprimieren alle Zellen mindestens einen Typen der Syndecanfamilie ^{132,133}. Bis zu einem gewissen Grad können sich die verschiedenen Syndecane sogar gegenseitig ersetzen, ein Prozess, der jedoch noch nicht in Gänze verstanden ist ^{134,135}.

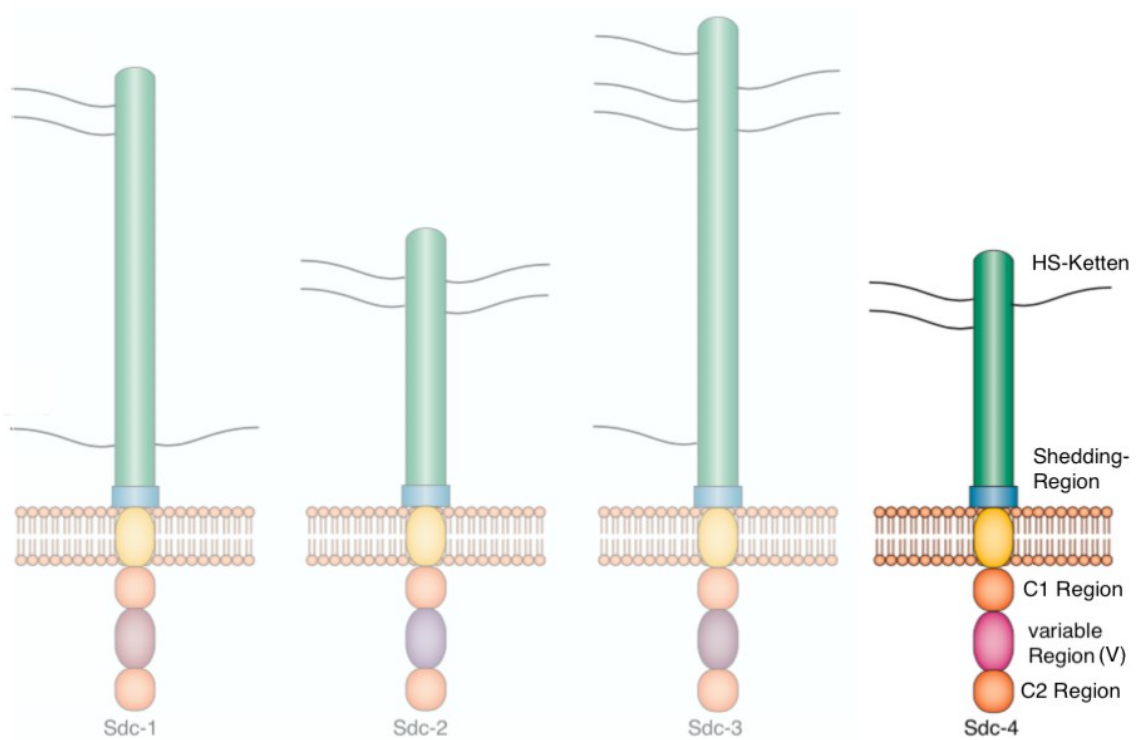


Abbildung 2: Die Syndecanfamilie und ihre Struktur

Illustration der vier Mitglieder der Syndecanfamilie (Sdc-1, Sdc-2, Sdc-3 und Sdc-4). Grün: extrazelluläre Domäne mit anhängenden HS- und CS-Ketten. Blau: Sheddingregion, gefolgt von der transmembranären

Domäne (gelb), welche sich in der Zellmembran befindet. Orange: intrazelluläre Domäne mit ihren zwei konservierten Regionen (C1 und C2), welche die variable Region (V) umfassen. Modifiziert nach ¹³⁶.

1.3.1 Syndecan-4

Das HSPG Sdc-4 ist in nahezu allen kernhaltigen Zelltypen in geringem Ausmaß vorhanden ¹³⁷, vermehrt jedoch in mesenchymalen, epithelialen und endothelialen Zellen sowie in Immunzellen ^{132,133}. Auch im Skelettmuskel der Maus konnte Sdc-4 nachgewiesen werden ¹³⁸. Experimente mit Kulturen von Kardiomyozyten der Ratte zeigen, dass sich Sdc-4 auch in Costameren befindet, welche für die Kraftübertragung von Sarkomeren auf die extrazelluläre Matrix (EZM) zuständig sind ¹³⁹. Auch in multiplen für den Entzündungsablauf relevanten und notwendigen Zellenarten, wie z.B. Neutrophilen und Makrophagen, ist Sdc-4 zu finden ^{140–143}.

Eine Hochregulierung der Sdc-4-mRNA bei Entzündungsprozessen, ausgelöst durch Tumornekrosefaktor-alpha (TNF α) in Chondrozyten von Mäusen ¹³⁵, wie auch durch mechanischen Stress auf die Gefäßwand von Ratten ¹⁴⁴, ist durch Studien belegt worden. Auch im Myokard von Ratten zeigt sich im Western Blot vermehrt Sdc-4 nach einer sportlichen Belastung ¹⁴⁵. Sowohl die Serumkonzentration von gescheddetem Sdc-4 wie auch die Sdc-4-mRNA im Skelettmuskel steigt nach sportlicher Belastung beim Menschen an ¹⁴⁶. Nachgewiesen ist auch die Beteiligung von Sdc-4 an physiologischen Prozessen wie der Blutdruckregulation ¹⁴⁷, Angiogenese ¹⁴⁸ und Wundheilung ¹⁴⁹. Auch bei der Bildung, Differenzierung und Regeneration von Skelettmuskelfasern nimmt Sdc-4 eine entscheidende Rolle ein ^{150–153} und vermittelt diese Prozesse mittels verschiedener Interaktionen. Die Hemmung der Sulfatierung von Sdc-4 führt zu einer verzögerten Proliferation und verändert die Expression des myogenen Faktor 3 (MyoD) ¹⁵⁰, ein Protein, das eine entscheidende Rolle bei der Muskeldifferenzierung einnimmt. Auch Satellitenzellen exprimieren Sdc-4 ¹⁵⁴. In Sdc-4 -/- Zellen zeigt sich ein Mangel an MyoD-Expression, Myotuben-Fusion und Differenzierung. Darüber hinaus haften Satellitenzellen nicht und tragen nicht mehr zum Wiederaufbau des Muskels bei ¹⁵⁵.

Eine wichtige Funktion von Sdc-4 ist außerdem die Vermittlung des Recyclings von Rezeptoren ^{156,157}. Das Recycling des IL-1 Rezeptor Type I (IL-1R1) hängt von Sdc-4 ab ¹⁵⁸ und IL-1 β ist ein Schlüsselzytokin des Entzündungsprozesses, der auch durch einen starken Trainingsreiz ausgelöst werden kann ^{22–24}. Vor diesem Hintergrund ist die Bedeutung von Sdc-4 und körperlicher Trainingsbelastung hochinteressant.

1.3.2 Syndecan-4 und Sport

Die Bedeutung von Sdc-4 als möglicher Marker im Sport ist in der Literatur nur in geringem Umfang beschrieben. Die Expression von Sdc-4 auf muskulärer Ebene konnte bereits gezeigt ¹³⁸ und mit einem Belastungsreiz in Verbindung gebracht werden, da die Sdc-4-mRNA als Reaktion darauf im Skelettmuskel hochreguliert wird ¹⁴⁶. Steigende Serumkonzentrationen von Sdc-4 konnten als Reaktion auf eine akute Belastung, in Form einer 45 minütigen Ausdauerbelastung mit 70 % des individuellen VO₂max, beobachtet werden. Ein kombiniertes Kraft- und Ausdauertraining über 12 Wochen zeigte keine Veränderung der Sdc-4-Konzentration zum erhobenen Ausgangswert ¹⁴⁶. Die Beteiligung von Sdc-4 an belastungsinduzierten Anpassungsprozessen der Muskulatur konnte am Beispiel des Herzmuskels von Ratten und Mäusen gezeigt werden. Da die Hypertrophie des Herzmuskels nach einem Schwimmtraining mit einem Anstieg der Sdc-4-Expression einherging und dieser bei Sdc-4 -/- Mäusen deutlich geringer ausfiel als bei Wildtyp-Mäusen, führte auch die experimentelle Aktivierung von Sdc-4 und nachgeschalteter Signalwege zur Hypertrophie von Kardiomyozyten ¹⁴⁵.

Da die Konzentration von gesheddetem Sdc-4 im Serum sowie die mRNA Expression in der Skelettmuskulatur belastungsbedingt zunimmt, ist es von großem Interesse, herauszufinden, wie es zu diesem Anstieg kommt, ob dieser belastungsabhängig unterschiedlich ausfällt und welche Faktoren für die Ablösung der Ektodomäne verantwortlich sind.

1.3.3 Syndecan-4 Shedding

Das Shedding von Sdc-4 im Rahmen des HSPG-Umsatzes läuft an der Zelloberfläche konstitutiv in geringem Umfang ab ^{132,159–162}. Pathologische Zustände, wie Entzündungen ^{163,164} oder mechanische Belastungen ¹⁶⁵ sowie der Einfluss von Insulin ¹⁶⁶ und sportliche Belastung ¹⁴⁶ führen zur Zunahme der Ablösung von Sdc-4. Die proteasenabhängige Spaltung von Sdc-4 wird durch Sheddasen vermittelt. Verschiedene sheddasespezifische Shedding-Stellen sind bereits beschrieben (Abbildung 3) ¹⁶⁷. Die frei werdende extrazelluläre Domäne sowie die anhängenden GAG-Ketten werden dann als lösliches oder gesheddetes Sdc bezeichnet. Die lösliche Ektodomäne von Sdc-4 wirkt als parakriner oder autokriner Effektor ¹⁶⁴, der als solcher auch Wachstumsfaktoren, Chemokine und

Zytokine binden ^{168,169} sowie die Zelladhäsion verringern und die Zellmigration fördern kann ¹⁷⁰.

Im Besonderen sind Proteasen der Matrix-Metalloproteasen-Familie als Reaktion auf Wundheilungs- ¹⁷¹ und Entzündungsprozesse ¹⁶⁸ am Shedding von Sdc-4 beteiligt ^{169,172}. Schmidt et al. fanden heraus, dass auch die Serinproteasen Plasmin und Thrombin zu den Sheddasen von Sdc-4 gehören ¹⁷³.

Sowohl akute als auch langfristige körperliche Aktivität beeinflusst die EZM des menschlichen Skelettmuskels ¹⁷⁴. Die Auswirkung körperlicher Aktivität auf das Sdc-4-Shedding hat eine gestiegene Sdc-4-Serumkonzentration zur Folge. Ebenfalls steigt das mRNA-Level der Sheddase Plasmin als Resultat sportlicher Aktivität an ¹⁴⁶. Es wurde jedoch nicht untersucht, ob verschiedene Belastungsformen auch eine unterschiedliche Reaktion der Sdc-4-Serumkonzentration hervorrufen.

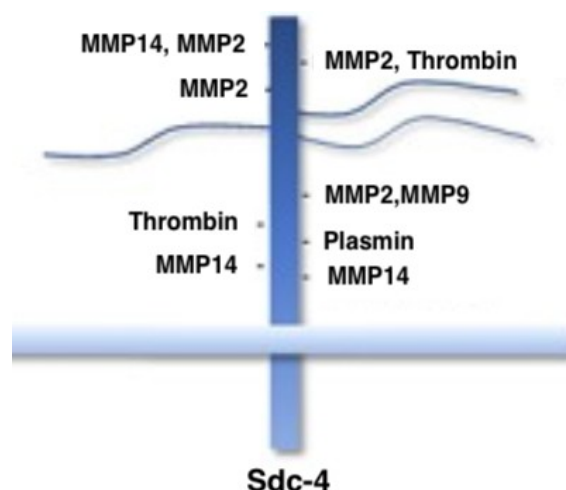


Abbildung 3: Dokumentierte Shedding-Stellen von Sdc-4

Die verschiedenen Shedding-Stellen der extrazellulären Domäne von Sdc-4 für die Sheddasen Matrix Metalloprotease 2 (MMP2), MMP9, MMP14, Plasmin und Thrombin wurden nachgewiesen ¹⁶⁷. Angepasst und modifiziert nach ¹³⁰.

1.3.4 Gesheddetes Syndecan-4 als Biomarker für Erkrankungen

Die proteolytische Spaltung der Ektodomäne nahe der Plasmamembran wird als Shedding bezeichnet ¹⁷⁵. Unter bestimmten pathologischen Bedingungen, wie auch nach sportlicher

Belastung, bei Entzündungsgeschehen oder der Gewebereparatur, kommt es nachweislich zur Zunahme des Sheddings von Sdc-4.

Als Serum-Biomarker wird gesheddetes Sdc-4 hauptsächlich mit Herzinsuffizienz und Lungenentzündungen in Verbindung gebracht. Lösliches Sdc-4 wird mit einem ungünstigen linksventrikulären Umbau ^{176,177} ebenso wie mit Herzversagen assoziiert ¹⁷⁸. Im Verlauf der akuten bakteriellen Pneumonie zeigen sich mit Fortschreiten der Erkrankung erhöhte Konzentrationen von gesheddetem Sdc-4 ¹⁷⁹ und erhöhte Serumspiegel korrelieren mit einer höheren Sterblichkeit ¹⁸⁰. Bei der idiopathischen interstitiellen Pneumonie zeigt sich, dass hohe Ausgangswerte von Sdc-4 eine schlechtere Prognose zur Folge haben ¹⁸¹. Erhöhte Sdc-4-Serumkonzentrationen wurden, neben dem beschriebenen Nutzen bei kardiovaskulären Erkrankungen und Lungenentzündungen, auch bei der atopischen Dermatitis festgestellt: Sdc-4-Konzentrationen korrelieren mit dem Schweregrad der Erkrankung, Ausbreitung der Ekzemfläche und der visuellen Analogskala für Juckreiz ¹⁸². In der Synovialflüssigkeit von Arthrose-Patienten zeigen sich mit Voranschreiten der Erkrankung erhöhte Konzentrationen von gesheddetem Sdc-4, weshalb Sdc-4 ein geeigneter Prädiktor für den Schweregrad einer Arthrose ist ¹⁸³. Im Zusammenhang mit Sport wurde gezeigt, dass Skelettmuskelzellen nach sportlicher Belastung eine erhöhte Sdc-4-Expression auf mRNA-Ebene aufweisen und sich auch erhöhte Sdc-4-Serumspiegel nachweisen ließen ¹⁴⁶. Daher könnte gesheddetes Sdc-4 im Serum ein möglicher Marker zum Belastungsmonitoring sein.

1.4 Sheddasen

1.4.1 Matrix Metalloproteinasen 9 (MMP9)

MMP9 gehört zu einer Gruppe von zinkabhängigen Endoproteasen. Eine Vielzahl von Zellen wie z.B. Epithelzellen, Fibroblasten, Keratinozyten, Osteoblasten, dendritischen Zellen, Makrophagen, Granulozyten und T-Zellen produziert MMP9 ^{184,185}. Dieses Enzym fördert die Zellmigration und Differenzierung und reguliert viele Entwicklungsprozesse wie beispielsweise die Gewebereparatur und den Abbau der extrazellulären Matrix (EZM) ^{184,186,187}. Während pathologischer Zustände, wie der rheumatoiden Arthritis ¹⁸⁸ und Atherosklerose ^{189,190} sowie bei in vivo Tierversuchen an Mäusen mit defektem Dystrophin-Gen (mdx Mäusen) ¹⁹¹ trägt MMP9 zum Abbau der EZM und Geweberesorption bei.

MMP9 wird als Präproenzym synthetisiert. Während der Translation wird das Signalpeptid entfernt, sodass inaktives MMP9, proMMP9 entsteht. Durch Gewebe- und Plasmaproteinasen sowie andere Vertreter der MMP-Familie und Plasmin wird proMMP9 mittels der Abspaltung des Propetids aktiviert^{184,187,192}. Während des Entzündungsprozesses steigt die Expression und Aktivität, da MMP9 von proinflammatorischen Zellen sezerniert und dieser Prozess durch proinflammatorische Zytokine gefördert wird¹⁸⁴. Gehemmt wird die MMP9-Aktivität unter anderem durch die Familie der Gewebsinhibitoren, den „Tissue Inhibitoren of Matrixmetalloproteinases“ (TIMPs)¹⁸⁷.

MMP9 kann selektiv einzelne Komponenten der EZM^{184,193,194} sowohl im normalen physiologischen als auch im pathologischen Zustand verdauen^{195–197} und trägt so zum Abbau interzellulärer Verbindungen bei, wodurch Einschränkungen der Zellbewegung überwunden werden¹⁹⁸. Die plastische Modulation der Zell-EZM-Kontakte scheint für die Gewebereparatur von entscheidender Bedeutung zu sein¹⁹⁹.

Heilungsprozesse der Skelettmuskulatur nach einer Verletzung und die Bildung des Skelettmuskels im Laufe der Entwicklung sind sich ähnelnde Prozesse. Beide beinhalten die Proliferation, Migration und Differenzierung von Muskelvorläuferzellen (siehe 1.1.4). Die Fusion von Satellitenzellen zur Bildung von differenzierten, kontraktile Myofibrillen ist ein Schlüsselschritt, an dem die MMP9 beteiligt ist^{197,200–202}. Die MMP-9-Konzentration im Serum von Patienten und Patientinnen mit Duchenne-Muskeldystrophie zeigt sich erhöht und korreliert zudem mit der Schwere des Krankheitsverlaufes²⁰³. In vivo Tierversuche an mdx-Mäusen konnten nachweisen, dass die Hemmung von MMP9 die Skelettmuskelstruktur und -funktion deutlich verbessert^{204,205}. Andere Studien an MMP9-null und mdx-Mäusen belegen, dass ein MMP9-Mangel Muskelschwund und Veränderungen der Zusammensetzung von Muskelfasern verursacht^{206,207}. Ogasawara et al. haben zeigen können, dass erhöhte Konzentrationen von aktiviertem MMP9 zu einer Hochregulierung des Signalwegs der Muskelhypertrophie führt²⁰⁸.

Sowohl die MMP9-mRNA-Konzentration und Aktivität im menschlichen Skelettmuskel^{209,210}, als auch die MMP9-Konzentration^{211–222} und Aktivität im Serum²¹⁸ steigt im Rahmen einer akuten sportlichen Belastung an. Da bekannt ist, dass MMP9 Sdc-4 sheddet^{167,169}, ist von Interesse, ob sich auch unterschiedliche Belastungsarten auf die MMP9-Konzentration im Serum auswirken.

1.4.2 Plasmin

Plasmin ist der Gruppe der Serinproteasen zuzuordnen und verfügt über ein breites Wirkungsspektrum. Verschiedenste Faktoren wie Wachstumsfaktoren und Zytokine regulieren die Synthese der Komponenten des Plasmin-Systems^{223,224}. Das ubiquitäre Zymogen Plasmino-Gen (Plg) wird mittels proteolytischer Umwandlung zur aktiven Protease Plasmin. Die Umwandlung wird durch Plg-aktivierende Faktoren wie Proteasen und Proteaseinhibitoren reguliert^{224–226}. Plasmin ist eine Breitspektrum-Protease, welche in der Lage ist, verschiedene Komponenten der EZM wie Fibrin, Fibronectin und Proteoglykane abzubauen²²⁷. Es hat sich gezeigt, dass Plasmin bei einer Vielzahl von pathophysiologischen Prozessen eine Rolle spielt, die mit extrazellulärem Matrixabbau, Zellmigration und Gewebeumbau einhergehen, wie es z.B. bei Entzündungsprozessen, Wundheilung und Angiogenese der Fall ist^{225,226}. Darüber hinaus aktiviert Plasmin proMMP9^{228,229}. Plasmin ist als Sheddase von Sdc-4 in Endothelzellen bekannt^{171,173} und die Plasmin-mRNA-Konzentration steigt nach einem Trainingsreiz in der Skelettmuskulatur an¹⁴⁶. Suelves et al. haben in ihrer Studie an Plg-Knockout-Mäusen im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen schwere Regenerationsdefizite der Skelettmuskulatur feststellen können, die auf eine verminderte Migration von Entzündungszellen in den verletzten Muskeln und eine anhaltende Degeneration der Myotuben hinwies²³⁰.

Das durch sportliche Betätigung Faktoren wie gewebespezifische Plasminogenaktivatoren (tPA), welche für die Aktivierung von Plasmin notwendig sind, im Plasma ansteigen²³¹, ist ein interessantes Phänomen. Die Auswirkung verschiedener Belastungsformen auf die Plasminaktivität und ob Plasmin als mögliche Sheddase von Sdc-4 im Belastungsfall in Frage kommt, bleibt zu klären.

1.4.3 Thrombin

Thrombin ist eine Serinprotease, die sowohl vaskuläre als auch extravaskuläre zelluläre Abläufe reguliert. Extravaskulär ist Thrombin mitogen für Fibroblasten, glatte Muskelzellen und Astrogliazellen^{232–234}. Im Rahmen der Gerinnung nimmt Thrombin multiple Funktionen wahr, wie das Aktivieren von Thrombozyten, Endothelzellen und Leukozyten¹⁹. Thrombin ist im Verlauf des Entzündungsprozesses an einer Vielzahl von Prozessen beteiligt, u.a. der Aktivierung einiger Entzündungszellen sowie bei der Migration von Entzündungszellen in das Gewebe^{235,236}. Dieses belegen Studien, in denen gezeigt werden konnte, dass die

Hemmung von Thrombin eine Reduktion des Entzündungsgeschehens zu Folge hatte^{237,238}. Physiologische Konzentrationen von Thrombin bewirken eine deutliche Verzögerung der myogenen Differenzierung, was zur Verzögerung der Myotubenbildung führt²³⁹.

Thrombin scheint für das konstitutive Shedding von Sdc-4 verantwortlich zu sein¹⁷³. Ebenfalls ist das Shedding von Sdc-4 durch Thrombin in Endothelzellen bekannt^{171,173}. Subramanian et al. konnten mit steigender Thrombinkonzentration eine Reduktion der Sdc-4-Ektodomäne im Kulturmedium feststellen, was auf den proteolytischen Abbau der Syndecan-4-Ektodomäne hindeutet¹⁷¹. Ferner hat Thrombin Einfluss auf andere Sheddasen von Sdc-4. So erhöht Thrombin die MMP9-mRNA und Proteinkonzentration in Entzündungszellen²⁴⁰.

Durch hochintensive sportliche Belastung kommt es zu einem Anstieg von Thrombin²⁴¹, weswegen in dieser Arbeit der Hypothese nachgegangen werden soll, dass sich damit einhergehend auch die Aktivität von Thrombin erhöht und Thrombin so zum belastungsabhängigen Shedding beitragen könnte.

1.5 Zielsetzung

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob gesheddetes Sdc-4 ein Marker zur Abbildung von sportlicher Belastung und Regenerationsprozessen sein kann und somit Rückschlüsse auf den Leistungszustand der Sporttreibenden möglich sind. Darüber hinaus soll der Frage nach möglichen Sheddasen von Sdc-4 im Belastungsfall nachgegangen werden. Aus diesem Grund werden zwei unterschiedliche Belastungsformen in Form von Kraft- und Ausdauersport einander gegenübergestellt und die Menge an gesheddetem Sdc-4 und MMP9 im Serum gemessen sowie Veränderungen der Plasmin- und Thrombinaktivität im Serum untersucht.

Unter der leitenden Hypothese werden folgende Fragen im Rahmen der vorliegenden Arbeit beantwortet:

- Zeigen sich Unterschiede in der Serumkonzentration von gesheddetem Sdc-4, ausgelöst durch eine Ausdauer- und Maximalkraftbelastung?
- Könnte Sdc-4 als Marker der Belastungskontrolle von Nutzen sein und/oder eignet sich gesheddetes Sdc-4 als Marker zur Vorhersage eines Übertrainings?
- Ist eine der Sheddasen MMP9, Plasmin oder Thrombin für das Shedding von Sdc-4 im Belastungsfall verantwortlich?

2

Material & Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Reagenzien

Die Chemikalien wurden von den folgenden Unternehmen bezogen: AppliChem (Darmstadt), Merk (Darmstadt), Sigma Aldrich (München), Roch (Mannheim) und Roth (Karlsruhe). Falls Reagenzien anderer Hersteller benutzt wurden, werden sie im Verlauf aufgeführt.

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Folgende Betriebsstoffe des Labors wurden für proteinbiochemische Methoden verwendet: Reaktionsgefäße mit einem Volumen von 1,5, 2 und 5 mL, wie auch Teströhrchen mit einem Volumen von 1,5, 2,5 mL wurden von Eppendorf (Hamburg) bezogen. Pipettenaufsätze in verschiedenen Größen, 1, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 5000 µL von Sarstedt (Göttingen), Ausblaspipette 10 mL von Dagra (Ilmenau), Automatikpipettenaufsätze 2,5, 5 mL von Eppendorf (Hamburg) und 12,5 mL von Brand (Wertheim) kamen zur Nutzung.

Außerdem in Benutzung, Laborkolben von Dagra (Ilmenau), 96 Multiwellplatten von Nunc (Roskilde) und Corning (Corning), sowie destilliertes Wasser.

2.1.3 Geräte

Benutzte Gerätschaften zur Durchführung der Experimente sind im Folgenden aufgelistet (siehe. Tabelle 1).

Tabelle 1: Geräte

Geräte	Hersteller
Zentrifuge Mikro 200R	Hettich, Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge HERAEUS, Fresco 17	Thermo Scientific, Waltham, USA
Zentrifuge HERAEUS, Megafuge 16R	Thermo Scientific, Waltham, USA
Mikroplattenleser Infinite F200 Pro	TECAN, Männedorf, Schweiz
Vortex Genie 2 Mixer	Bohemia, USA
Mini-Protean Tetra System	Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA
Kipprölmischer RS-TR-5	Phoenix, Garbsen, Deutschland
Schüttler MTS 2	IKA, Staufen, Deutschland
CO ₂ - Inkubator CB 150	Binder, Tuttlingen, Deutschland
Laborwaage AC210S-OD1	Sartorius, Göttingen, Deutschland
ROTA-Filler 3000	Heathrow Scientific, Vernon Hills, USA
HandyStep touch	Brand, Wertheim, Deutschland
Ultratiefkühlschrank HERAfreeze HFU T	Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA

Genutzte Fitnessgerätschaften für die Belastungstests sind nachfolgend aufgelistet (Tabelle 2).

Tabelle 2: Fitnessgeräte

Gerätschaft	Hersteller
Upright Bike / Sitz Ergometer	Life Fitness, Schiller Park, USA
Evo Leg Press S9LP	Nautilus Inc, Vancouver, Kanada
Beinbeuger Classic	Gym80 International GmbH, Gelsenkirchen, Deutschland
Beinstecker Classic	Gym80 International GmbH, Gelsenkirchen, Deutschland
Pulsuhr FS3C	Polar Electro Europe AG, Steinhausen, Schweiz

Gerätschaften der Blutentnahme sind im Folgenden aufgelistet (Tabelle 3).

Tabelle 3: Blutentnahmeequipment

Gerätschaft	Hersteller
Vacutainer SST Serumröhrchen gold	Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Blutentnahmenadeln	Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Octenisept mit Sprühpumpe	Schülke & Meyr, Hamburg, Deutschland
Tupfer	BSN medical, Hamburg, Deutschland
Pflaster	BSN medical, Hamburg, Deutschland
Leukosilk	BSN medical, Hamburg, Deutschland

2.2 Methoden

2.2.1 Kohortenzusammenstellung

An der Studie nahmen 43 Personen, verteilt auf vier verschiedene Kohorten teil. Die Verteilung der vier Kohorten war wie folgt: Maximalkraftstudie (n=18), Ausdauerstudie (n=13), Übertraining (n=1), Kontrollgruppe (n=11). Insgesamt sind sieben Teilnehmende in zwei oder mehr Kohorten aufgeführt: sechs Teilnehmende in der Maximalkraft- sowie Ausdauerkohorte, eine Teilnehmerin in der Maximalkraft- und Übertrainingsstudie.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität genehmigt (163/16). Alle Probandinnen und Probanden haben nach Aufklärung und vor Studienbeginn ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie gegeben.

In den drei Belastungsstudien (Maximalkraft-, Ausdauer- und Übertrainingsstudie) wurden Sportler und Sportlerinnen gewählt, welche mindestens 2-3 mal in der Woche Sport trieben. Die Kontrollgruppe bestand ausschließlich aus Personen, welche einmal pro Woche oder weniger sportlich aktiv waren.

Ausschlusskriterien der Studie waren die Einnahme von antiinflammatorisch wirkenden Präparaten eine Woche vor Beginn der Testung, da sie in den Regenerationsprozess der Muskulatur eingreifen^{242–244}. Ebenfalls von der Teilnahme ausgeschlossen waren Probanden mit chronisch entzündlichen Erkrankungen, Muskelerkrankungen, akuten Verletzungen, Muskelkater oder sportlicher Aktivität die weniger als 48 Stunden zurücklag. Diese Kriterien wurden vor Beginn aller Untersuchungen abgefragt.

2.2.2 Studiendesign

In dieser Studie wurde ein gerätegestütztes Maximalkrafttraining einem Ausdauertraining in Form eines Dauerlaufs gegenübergestellt. Des Weiteren wurde eine Überbelastung in Form einer über den Zeitraum von fünf Tagen andauernden „subjektiven“ Ausbelastung durchgeführt. Die drei verschiedenen Belastungsformen wurden mit einer Kontrollgruppe verglichen. Die Probanden und Probandinnen der unterschiedlichen Versuche hatten zwei Tage vor Beginn der Studie keinen Sport mehr gemacht, um ein einheitlich vergleichbares Basallevel an freiem Sdc-4 im Serum zu erreichen. Unmittelbar vor Beginn der

Maximalkraft-, Ausdauer- und Kontrollstudie fand die erste Blutabnahme statt (P0). Die zweite Blutentnahme fand unmittelbar nach der sportlichen Belastung, bzw. im Falle der Kontrollgruppe, zwei Stunden nach der ersten Blutentnahme statt (Ppost bzw P2). Die letzte Blutentnahme (P>24) fand zwischen 24 und 28 Stunden später statt. Bis zu diesem Zeitpunkt durfte es keine erneute sportliche Betätigung gegeben haben. Im Verlauf der Überbelastungsstudie wurden an den Tagen (T1,T3,T5) vor Beginn der Belastung (P0), nach der Belastung (Ppost) und 24 Stunden nach der Belastung Blutentnommen (P>24). An den dazwischen liegenden Tagen hat sich die Teilnehmerin weiterhin subjektiv ausbelastet.

2.2.3 Maximalkraftstudie

Um das individuelle Trainingsgewicht festzulegen, wurde eine 1RM-Testung durchgeführt. Jeder 1RM-Testung ging ein dynamisches Aufwärmen von zehn Minuten mit 100 Watt auf dem Fahrradergometer voraus, welches dem Bereich der Langzeitausdauer I entspricht und ideal zur Erwärmung der Muskulatur ist ⁴. Danach begann die 1RM-Testung an allen drei Geräten mit der Abfolge Beinpresse, Beinbeuger, Beinstrecker.

Das Startgewicht wurde so gewählt, dass eine Wiederholungsanzahl von 20 nicht überschritten wurde. Falls doch geschehen, wurde eine Pause von drei Minuten bis zum Folgeversuch gewährt. Nachfolgend wurde mittels der Epley-Formel (Formel 1) ²⁴⁵ das individuelle 1RM errechnet und anschließend mit 80 % des 1RM drei Sätze mit 6-8 Wiederholungen an Beinpresse, Beinbeuger und Beinstrecker mit jeweils zwei Minuten Pause zwischen den Sätzen durchgeführt.

$$1RM = w \times (1 + r/30)$$

*Formel 1: Epley-
Formel*

2.2.4 Ausdauerstudie

Vor Beginn der Ausdauerstudie wurden die Ruhepulse der teilnehmenden Personen ermittelt. Die Probanden und Probandinnen ermittelten selbstständig an drei Tagen direkt nach dem Aufwachen ihren Puls. Aus den drei Werten wurde anschließend der Mittelwert

erhoben und mittels Formel 2 die Trainingsherzfrequenz (Tr.-Hf) nach Lagerström ermittelt^{4,246}.

Der Ausdauer-test bestand aus einem Dauerlauf für 45 Minuten bei der individuell berechneten Tr.-Hf.

$$Tr.-Hf = Hf_{Ruhe} + [(220 - \text{Lebensalter}) - Hf_{Ruhe}] \times 0,66$$

Formel 2: Trainingsherzfrequenz nach Lagerström

2.2.5 Kontrollgruppe

Die Probanden und Probandinnen der Kontrollgruppe sind, ebenso wie die der Belastungsgruppen, keiner sportlichen Aktivität vor der ersten Blutentnahme nachgegangen. Die zweite Blutentnahme erfolgte nach zwei Stunden. In dieser Zeit gab es keine sportliche Aktivität im Gegensatz zu den Belastungsgruppen. Die letzte Blutentnahme erfolgte parallel zu den Belastungsgruppen nach 24 h.

2.2.6 Überbelastungsstudie

Zur Darstellung einer Überbelastung hat sich die Teilnehmerin über den Zeitraum von fünf Tagen jeden Tag mittels eines Rennrad-, Lauf- oder Schwimmtrainings bis zur subjektiven Belastungsgrenze ausbelastet und zu den Zeitpunkten T1, T3 und T5 im bereits angegebenen Schema zur Analyse Blut entnommen.

2.2.7 Probenentnahme

Die Blutentnahme an allen Probanden erfolgte nach der Standard-Arbeitsanleitung zur peripher venösen Blutentnahme der DGKL²⁴⁷. In Ausnahmefällen wurde auf die Punktion von Gefäßen des Rete venosum dorsale manus ausgewichen. Die Entnahme der Proben Pprä bzw. P0, Ppost bzw. P2 wurde nach Möglichkeit nicht am selben Arm entnommen, die P24 Probe nach Probandenwunsch am jeweiligen Arm. Anschließend wurden die Proben zentrifugiert (2500 g, 10 min, 8°C), das Serum in Teströhrchen abpipettiert und bei -80 C° eingefroren.

2.2.8 Enzyme-linked Immunosorbent Assay

Die Serumkonzentration verschiedener Proteine wurde mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) gemessen. Die Proben wurden in unterschiedlicher Verdünnung verwendet, wie Tabelle 4 zeigt.

Tabelle 4: ELISAs

Protein	Probe	Verdünnung	Hersteller
Sdc-4	Serum	1:100	Immuno-Biological Laboratories Co.
MMP9	Serum	1:100	R&D systems®
		1:500	R&D systems®

ELISA Sdc-4

Zur quantitativen Bestimmung von humanem Sdc-4 wurde das „Human Syndacan-4 Assay Kit-IBL“ international (Immuno-Biological Laboratories Co., Ltd,) benutzt. Der ELISA wurde nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Als Proben wurde Probandenserum benutzt, welches bei -80 °C gelagert wurde. Die Verdünnung war in allen Durchläufen 1:100 mit „4, EIA buffer“ (Tabelle 4). Ausgelesen wurde mit dem Mikroplattenleser Infinite F200 Pro (Tecan) bei einer Wellenlänge von 430 nm.

ELISA MMP9

Für die quantitative Bestimmung von menschlichem Totalem-MMP 9 wurde das „Quantikine® ELISA Human MMP-9 Immunoassay“ Set (R&D systems® a biotechne® brand) benutzt. Der ELISA wurde nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Die Probenverdünnung mit „Calibrator Diluent RD5-10“ war 1:100 (Maximalkraftkohorte), 1:500 (Ausdauer- und Kontrollkohorte) (Tabelle 4). Ausgelesen wurde mit dem Mikroplattenleser Infinite F200 Pro (Tecan) bei einer Wellenlänge von 430 nm.

2.2.9 Bestimmungsmethode der Enzymaktivität

Die Enzymaktivität wurde mittels fluorometrischer Bestimmung im Serum nachgewiesen. Die Proben wurden unverdünnt und verdünnt aufgetragen, wie in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Aktivitäts-Assays

Protein	Probe	Verdünnung	Hersteller
Plasmin	Serum	unverdünnt	Sigma-Aldrich
Thrombin	Serum	1:50	Sigma-Aldrich

Plasminaktivitäts-Assay

Zur Aktivitätsbestimmung von humanem Plasmin wurde das „Plasmin Activity Assay Kit (Fluorometric)“ (Sigma-Aldrich) genutzt. Der Assay nutzt die Fähigkeit von Thrombin, ein synthetisches Substrat proteolytisch zu spalten und Fluorophor, 7-Amino-4-methylcumarin (AMC), freizusetzen, das mit einem Fluoreszenzlesegerät leicht quantifiziert werden kann. Die Analyse wurde nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Abweichend wurde das Serum nur in Einfachbestimmung aufgetragen sowie alle Proben pur bestimmt (50µl). Das Assay-Kit wurde 15 Minuten lang im Mikroplattenleser Infinite F200 Pro (Tecan) ausgelesen. Anschließend wurde die relative Fluoreszenzeinheit (ΔRFU) zu den Zeitpunkten 419,9 Sekunden und 599,9 Sekunden ermittelt. Die Plasminaktivität in ng wurde durch den Vergleich mit der Plasmin-Standardkurve errechnet. Anschließend wurde die Enzymaktivität anhand der Anleitung beiliegenden Formel (Formel 3) errechnet.

$$\text{Plasminaktivität (ng/mL)} = \frac{\text{Plasminmenge der Standardkurve (ng)}}{\text{aufgetragenes Serumvolumen pro Well (mL)} \times \text{Verdünnungsfaktor}}$$

Formel 3: Plasminaktivitätsformel

Thrombinaktivitätsassay

Für die Aktivitätsbestimmung von menschlichem Thrombin wurde das „Thrombin Activity Assay Kit (Fluorometric)“ (Sigma-Aldrich) benutzt. Die Analyse wurde nach Anleitung des Herstellers durchgeführt. Abweichend wurde eine schwarze Mikroplatte mit durchsichtigem Boden genutzt, das Serum nur in Einfachbestimmung aufgetragen sowie alle Proben im Verhältnis 1:50 bestimmt. Der Assay macht sich die Fähigkeit von Thrombin zunutze, ein synthetisches Substrat proteolytisch zu spalten und das Fluorophor AMC freizusetzen, welches mit einem Fluoreszenzlesegerät leicht quantifiziert werden kann. Der Assay wurde für 45 Minuten im Mikroplattenleser Infinite F200 Pro (Tecan) ausgelesen. Danach wurde die ΔRFU, zu den Zeitpunkten 600 Sekunden und 900 Sekunden ermittelt und die Thrombinaktivität in ng durch den Vergleich mit der Thrombin-Standardkurve errechnet.

Die Enzymaktivität wurde nachfolgend mittels der vom Hersteller beigefügten Formel (Formel 4) berechnet.

$$\text{Thrombinaktivität (ng/mL)} = \frac{\text{Thrombinmenge der Standardkurve (ng)}}{\text{aufgetragenes Serumvolumen pro Well (mL)} \times \text{Verdünnungsfaktor}}$$

Formel 4: Thrombinaktivitätsformel

2.2.10 Statistik

Alle statistischen Analysen wurden mit GraphPad Prism (Version 7.01) durchgeführt.

Die generierten Einzelwerte wurden kohorten- und wertspezifisch zu den Zeitpunkten P0, Ppost bzw. P2 und P>24 sowie Muskelkater (Ja/Nein), das bewegte Gewicht in kg und der B M I mittels Anderson-Darling-Test auf ihre statistische Verteilung getestet. Als parametrischer Test wurde ein Repeated Measures (RM) one-way ANOVA mit anschließender Tukey-Mehrfach-Parameter-Vergleichstestung benutzt. Im Falle einer nicht parametrischen Verteilung wurde ein Friedman bzw. Kruskal-Wallis-Test mit sich anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest oder ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt. Zur Korrelationsprüfung wurde eine Rangkorrelationsanalyse nach Spearman berechnet. Die Ergebnisse wurden in Balkendiagrammen dargestellt, welche bei parametrischer Verteilung den Mittelwert $\pm$ SEM präsentieren. Bei einer nicht parametrischen Verteilung hingegen repräsentieren sie den Median mit 95 % Konfidenzintervall. Die Streudiagramme zeigen die gegeneinander aufgetragenen Einzelwerte. Die gewählte Darstellungsart, so wie der verwendete statistische Test, ist in den Abbildungslegenden der jeweiligen Darstellung angegeben.

3

Ergebnisse

Zur Überprüfung, ob Sdc-4 eine Rolle in der Belastungssteuerung spielen kann, wird mittels einer prospektiven Kohortenstudie, Belastung und Regeneration der Sporttreibenden abgebildet. Zwei verschiedene Belastungsreize werden einer Kontrollgruppe gegenübergestellt, um den Einfluss auf Serumparameter verschiedener Belastungsreize besser erfassen zu können.

In der Maximalkraftstudie wird die Trainingsbelastung mittels des 1RM festgelegt, wohingegen in der Ausdauerstudie die Formel nach Lagerström zum Einsatz kommt, um den individuellen Trainingspuls zu ermitteln. Verglichen werden diese mit einer Kontrollgruppe, die keinen Belastungsreizen ausgesetzt ist.

Vor, unmittelbar nach und einen Tag nach der Belastung wird Blut entnommen.

3.1 Teilnehmerauswertung

Insgesamt nahmen 43 Testpersonen an der Studie teil, verteilt auf vier Gruppen. Die mit insgesamt 18 Testpersonen größte Kohorte stellt die Gruppe des Maximalkrafttrainings dar, deren Merkmalsausprägung in Tabelle 6 zusammengefasst wird. Die Geschlechterverteilung ist mit 61,11 % Frauen zu 38,88 % Männern ungleich verteilt. Im Bezug auf Alter (♂:27,71; ♀:27,54) und BMI (♂:23,13; ♀:22,3) zeigen sich im Durchschnitt nur minimale Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Bei den bewegten Gewichten hingegen manifestiert sich ein deutlicher Kraftunterschied zugunsten des männlichen Geschlechts (Beinpresse: ♂:282,28kg, ♀:179,18kg, $p=0,0002$; Beinbeuger: ♂:75,71kg, ♀:58kg, $p=0,0073$; Beinstrecker: ♂:66,85kg, ♀:49,7kg, $p=0,0293$). Auffallend ist ebenfalls,

dass in der Gruppe der Männer nach >24 Stunden verstärkt Muskelkater zu beobachten ist (♂:85,71 %; ♀:72,72 %) jedoch ohne statistische Signifikanz. Ein Mann-Whitney-U-Test wurde in beiden Fällen durchgeführt.

Tabelle 6: Teilnehmende der Maximalkraftstudie

Deskriptive Statistik der Verteilung von Geschlecht, Alter, BMI, bewegten Gewichte und Reaktion der Probanden auf die Belastung in Form von Muskelkater.

N=18	Durchschnitt		Median		Min	Max
Geschlecht	11 (61,11 %) ♀	7 (38,88 %) ♂				
Alter	27,61		28		19	42
	27,54	27,71	28	28	19	42
					22	32
BMI	22,26		23,20		18,1	26,3
	22,3	23,13	23	23,4	18,1	26,3
					21	25,2
1RM	219,27		211,5		140	354
Beinpresse (kg)	179,18	282,28	176	278	140	235
					222	354
1RM	64,88		66,5		35	88
Beinbeuger (kg)	58	75,71	57	73	35	88
					59	85
1RM	56,76		56		40	84
Beinstrecker (kg)	49,7	66,85	51,5	69	40	66,6
					50	84
Muskelkater	14 (77,77 %)					
	8 (72,72 %)	6 (85,71 %)				

Legende:

alle	weibliche	männliche
Testpersonen	Testpersonen	Testpersonen

Die Merkmalsausprägung der Ausdauerstudie mit insgesamt 13 Versuchspersonen ist in Tabelle 7 dargestellt. Das weibliche Geschlecht ist mit (61,53 %) im Vergleich zum männlichen (38,46 %) überrepräsentiert. Überdies zeigen sich bis auf die Tatsache, dass der männliche Teil der Kohorte zu weniger Muskelkater neigt (♂:20 %; ♀:25 %), kaum Unterschiede.

Tabelle 7: Teilnehmende der Ausdauerstudie

Deskriptive Statistik der Verteilung von Geschlecht, Alter, BMI, Ruhepuls, Trainingspuls und Muskelkater.

N=13	Durchschnitt		Median		Min	Max
Geschlecht	8 (61,53 %) ♀	5 (38,46 %) ♂				
Alter	25,23		27		19	29
	24,5	26,4	25,5	27	19	29
					22	29
BMI	21,93		22,3		16,1	25,9
	21,2	23,08	20,85	22,8	16,1	25,9
					21	25,4
Ruhepuls (bpm)	55,61		56		51	64
	55,12	56,4	56	56	51	64
					52	61
Trainingspuls (Bpm)	147,23		147		145	153
	147,5	146,8	146,5	147	145	153
					145	149
Muskelkater	3 (23,08 %)					
	2 (25 %)	1 (20 %)				

Legende:

alle	weibliche	männliche
Testpersonen	Testpersonen	Testpersonen

Die Kontrollkohorte besteht aus 11 Testpersonen, deren Charakteristika in Tabelle 8 aufgelistet sind. Es zeigen sich im Durchschnitt nur minimale Unterschiede zwischen den Geschlechtern hinsichtlich des Alters (♂:31; ♀:28,5) und BMI (♂:25,54; ♀:25,65).

Tabelle 8: Teilnehmende der Kontrollstudie

Deskriptive Statistik der Verteilung von Geschlecht, Alter und BMI.

N=13	Durchschnitt		Median		Min	Max
Geschlecht	6 (54,54 %) ♀	5 (45,45 %) ♂				
Alter	29,63		28		21	43
	28,5	31	26,5	29	21	39
					22	43
BMI	25,6		24,8		19,8	40,1
	25,65	25,54	23,2	25,2	19,8	40,1
					22,3	28,4

Legende:

alle	weibliche	männliche
Testpersonen	Testpersonen	Testpersonen

Die Merkmale der einzigen Teilnehmerin des Übertrainings sind in Tabelle 9 angegeben. Die Teilnehmerin liegt mit einem BMI von 23,6 deutlich unter dem bundesdeutschen Durchschnitt ihrer Altersklasse von 26²⁴⁸.

Tabelle 9: Teilnehmerin Übertraining

Deskriptive Statistik der Verteilung von Geschlecht, Alter und BMI.

N=1	Einzelwert
Geschlecht	♀
Alter	42
BMI	23.6

3.2 Gesheddetes Sdc-4

3.2.1 Lösliches Sdc-4 im Serum in Zusammenhang mit sportlicher Belastung

Mit dem Ziel, Veränderungen von löslichem Sdc-4 im Serum bei sportlicher Belastung zu dokumentieren, wurden die Serum-Sdc-4-Werte eines gerätegestützten Maximalkrafttrainings, einer Ausdauerbelastung, einer Kontrollgruppe sowie einer Überbelastung bestimmt.

Belastungsbedingte Änderungen des Sdc-4-Levels im Serum wurden schon früher beschrieben (Bertrand unpubliziert), daher soll untersucht werden, ob Sdc-4 als Belastungsmarker für Sportintensitäten etabliert werden kann. Dafür wurden Probanden unterschiedlichen sportlichen Belastungen ausgesetzt und die Sdc-4-Level im Serum vor der Belastung (P0), direkt nach der Belastung (Ppost), und 24 Stunden nach der Belastung (P>24) mittels spezifischen Sdc-4-ELISA analysiert.

Abbildung 4 zeigt die belastungsabhängige Änderung des Sdc-4-Serumlevels in den verschiedenen Kohorten. Es zeigt sich ein durch Maximalkraftbelastung (Abbildung 4A) ausgelöster Anstieg des gesheddeten Sdc-4 im Serum der Probanden und Probandinnen von P0 zu Ppost um 22,56 % ($p=0,0134$) gefolgt von einer Abnahme von Ppost zu P>24 um 36,10 % ($p=0,0006$). Zwischen der gemessenen Menge von gesheddetem Sdc-4 vor und >24 Stunden nach dem Training zeigt sich kein signifikanter Unterschied. Das Ausdauertraining (Abbildung 4B) zeigt einen deutlichen Abfall von Ppost zu P>24h um 25,76 % ($p=0,0006$), wohingegen im Vergleich der anderen Messpunkte kein signifikanter Unterschied bestand. In der Kontrollgruppe (Abbildung 4C) hat sich die Menge des löslichen Sdc-4 im Serum nicht verändert. Während des Übertrainings (Abbildung 4D) zeigt sich ab Tag drei (T3) ein vergleichbares Muster zu dem des Maximalkrafttrainings. Zu sehen ist ein Anstieg von T3P0 zu T3Ppost um 35,19 %, gefolgt von einem Abfall von T3Ppost zu T3P>24 um 56,67 %. Ähnlich verhält es sich auch an Tag fünf (T5), an dem sich ein Anstieg von T5P0 zu T5Ppost um 43,56 %, gefolgt von einem Abfall von T5Ppost zu T5>24 um 53,06 % zeigt. Die Sdc-4-Konzentration verhält sich unter verschiedenen Belastungsreizen also unterschiedlich.

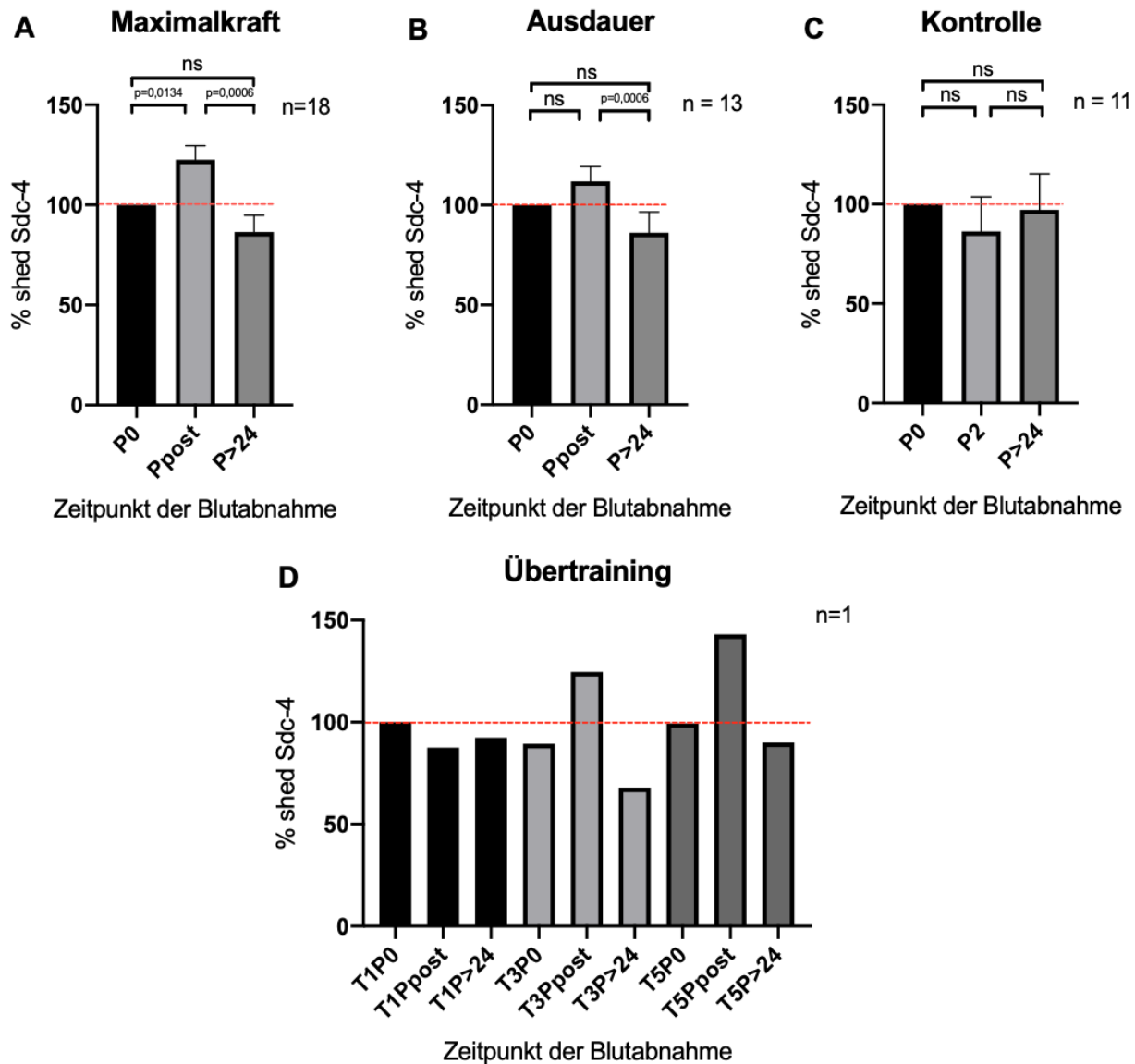


Abbildung 4: Gesheddetes Sdc-4 nach sportlicher Belastung

Konzentrationen von gesheddetem Sdc-4 in humanem Serum wurden mittels ELISA analysiert, welcher den extrazellulären Anteil von Sdc-4 bindet. Die Proteinlevel von Sdc-4 sind in Prozent angegeben und auf den P0 bzw. T1P0 Wert normiert. Zeitpunkte der Blutentnahme: P0= vor Beginn der Studie bzw. vor dem nächsten Belastungsreiz, Ppost bzw. P2= nach Belastung bzw. zwei Stunden nach Entnahme der ersten Probe, P>24= >24 nach Ende der Belastung. **(A)** In der Maximalkraftstudie sind die Level an gesheddetem Sdc-4 bei Ppost im Vergleich zu P0 erhöht und bei P>24 im Vergleich zu Ppost verringert (P0=100 %, Ppost=122,56 ± 7,02 % ($p_{(P0 \text{ vs. } Ppost)}=0,0134$), P>24=86,44 ± 8,35 % ($p_{(Ppost \text{ vs. } P>24)}=0,0006$); n=18). Die Werte sind als Mittelwerte ± SEM dargestellt. Zur statistischen Analyse wurde eine einfache ANOVA mit wiederholten Messungen und anschließender Tukey-Mehrfach-Parameter-Vergleichstestung durchgeführt. **(B)** Die Level an gesheddetem Sdc-4 sind in der Ausdauerstudie bei P>24 im Vergleich zu Ppost verringert. (P0=100 %, Ppost=111,9 % (KI(95%)=99,45-119,3 ($p_{(P0 \text{ vs. } Ppost)}=0,3500$), P>24=86,18 % (KI(95 %) =81,98-96,60 ($p_{(Ppost \text{ vs. } P>24)}=0,0006$); n=13). Die Werte werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein

Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest wurde vollzogen. **(C)** Die Kontrollgruppe zeigt keine Änderung der gesheddeten Sdc-4-Level. ($P_0=100\%$, $P_2=86,25\%$ (KI(95%)=21,86-103,6, $P_{>24}=97,23\%$ (KI(95%)=17,15-115,3; $n=11$). Die Werte werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest wurde durchgeführt. **(D)** Konzentration von gesheddetem Sdc-4 während eines Übertrainings ($T_1P_0=100\%$, $T_1P_{\text{post}}=87,61\%$, $T_1P_{>24}=92,37\%$, $T_3P_0=89,48\%$, $T_3P_{\text{post}}=124,68\%$, $T_3P_{>24}=67,99\%$, $T_5P_0=99,49\%$, $T_5P_{\text{post}}=143,05\%$, $T_5P_{>24}=90\%$; $n=1$). Es handelt sich um Einzelwerte.

3.2.2 Unterschiedliche Belastungsarten beeinflussen die Sdc-4-Level im Blut

Um zu vergleichen, ob die unterschiedlichen Belastungsarten die Sdc-4-Level im Blut unterschiedlich beeinflussen, sind im Folgenden (Abbildung 5) die Sdc-4-Level nach Belastung sowie 24 Stunden nach Beendigung der Belastung untereinander verglichen worden.

Es zeigt sich unmittelbar nach der Belastung bei beiden Belastungsformen (Maximalkraft und Ausdauer) ein signifikanter Anstieg von gesheddetem Sdc-4 im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p_{(M_{post} \text{ vs } K_2)}=0,0022$; $p_{(A_{post} \text{ vs } K_2)}=0,0158$). Während dieser bei der Maximalkraftbelastung 30,98 % beträgt, ergibt sich bei der Ausdauerbelastung ein Anstieg von 25,67 % (Abbildung 5A). Zum Zeitpunkt $P>24$ finden sich keine signifikanten Unterschiede (Abbildung 5B). Unterschiedliche Belastungsreize spielen also womöglich eine Rolle für Veränderungen der Sdc-4-Konzentrationen.

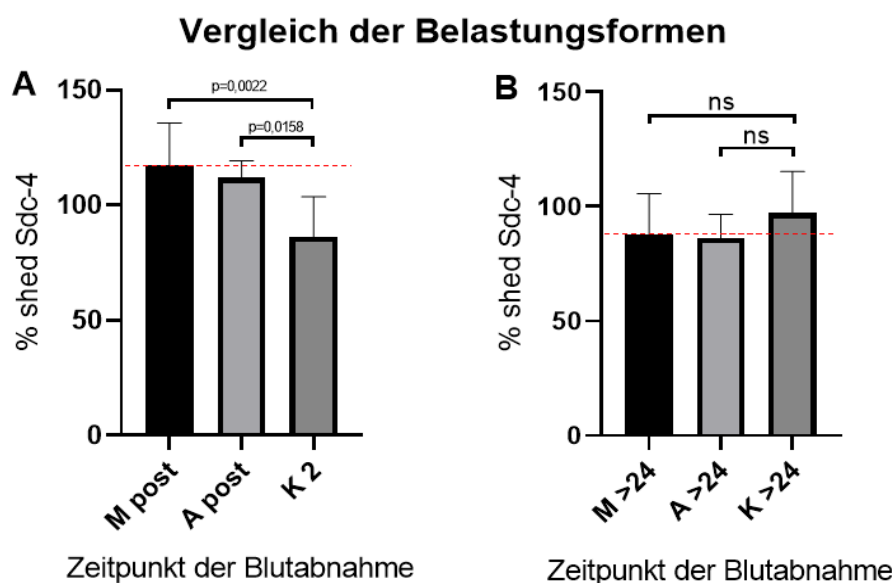


Abbildung 5: Belastungsabhängiger Anstieg von gesheddetem Sdc-

4

Die Konzentrationen von gesheddetem Sdc-4 in humanem Serum wurden mittels ELISA analysiert, welcher den extrazellulären Part von Sdc-4 bindet. Veränderungen der Proteinlevel sind in Prozent angegeben und auf den P0 Wert der jeweiligen Kohorte normiert. **(A)** Es zeigt sich im Vergleich mit der Kontrollgruppe ein stärkerer Anstieg von Sdc-4 nach einem Maximalkrafttraining als bei einem Ausdauertraining ($K_2=86,2516$ % ($KI(95 \text{ \%})=21,86-103,6$, $n=11$; $A_{post}=111,94$ % ($KI(95 \text{ \%})=99,45-119,3$ ($p_{(A_{post} \text{ vs } K_2)}=0,0158$), $n=13$; $M_{post}=117,244$ % ($KI(95 \text{ \%})=98,03-135,6$ ($p_{(M_{post} \text{ vs } K_2)}=0,0022$), $n=18$). **(B)** Im Vergleich der >24 -Stunden-Werte mit der Kontrollgruppe ergeben sich keine signifikanten Unterschiede ($K>24=97,22$ % ($KI(95$

%)=17,15-115,3, n=11; A>24=86,18 % (KI(95 %)=81,98-96,60, n=13; M>24=87,56 % (KI(95 %)=71,75-105,7, n=18).

Die Werte **(A)** und **(B)** werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Als statistischer Test wurde ein Kruskal-Wallis Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest durchgeführt.

3.3 Regulation von Sdc-4-Sheddase während der sportlichen Belastung

3.3.1 Regulation von MMP9 im Serum bei sportlicher Belastung

Das Shedding von Sdc-4 durch MMP9 ist schon in anderem Gewebe beschrieben^{172,183}. Aus diesem Grund soll untersucht werden, ob MMP9 auch bei muskulärer Beanspruchung als Sheddase von Sdc-4 in Frage kommt. Dafür wurden die Probanden und Probandinnen unterschiedlichen Belastungen ausgesetzt und die MMP9-Level im Serum vor der Belastung (P0), direkt nach der Belastung (Ppost), und 24 Stunden nach der Belastung (P>24) mittels spezifischen MMP9-ELISA analysiert.

Abbildung 6 veranschaulicht die belastungsabhängige Änderung der MMP9-Level in den verschiedenen Kohorten. Unmittelbar nach der Maximalkraftbelastung zeigt sich keine signifikante Veränderung der MMP9-Konzentration (Abbildung 6A). Jedoch kommt es nach Beendigung der Belastung von Ppost zu P>24 im Verlauf zu einem Abfall der MMP9-Konzentration um 37,49 % ($p=0,0031$). Sowohl in der Ausdauerkohorte, als auch in der Kontrollgruppe kommt es zu keiner signifikanten Veränderung des Enzymlevels von MMP9 (Abbildung 6B+C). In Abbildung 6D zeigt sich zu Beginn des Übertrainings am ersten Tag (T1) ein Abfall des Enzymlevels nach der Belastung von T1P0 zu T1Ppost um 34,2 %, der auch innerhalb der nächsten 24 Stunden auf niedrigem Niveau bleibt. An T3 ist ein Anstieg des P0-Wertes um 59,22 % gegenüber dem P0-Wert von T1 zu sehen. Anschließend ist auch hier ein Abfall der Enzymkonzentration von T3P0 zu T3Ppost um 44,2 % zu beobachten, der im weiteren Verlauf zwischen T3Ppost und T3P>24 um weitere 35,03 % abfällt. Ab T5 befinden sich alle Werte über dem Ausgangsniveau von T1P0. Überdies zeigt sich ein Anstieg von T5Ppost zu T5P>24 um 24 %. Die Stärke eines Belastungsreizes scheint eine Rolle für die MMP9-Konzentration zu spielen.

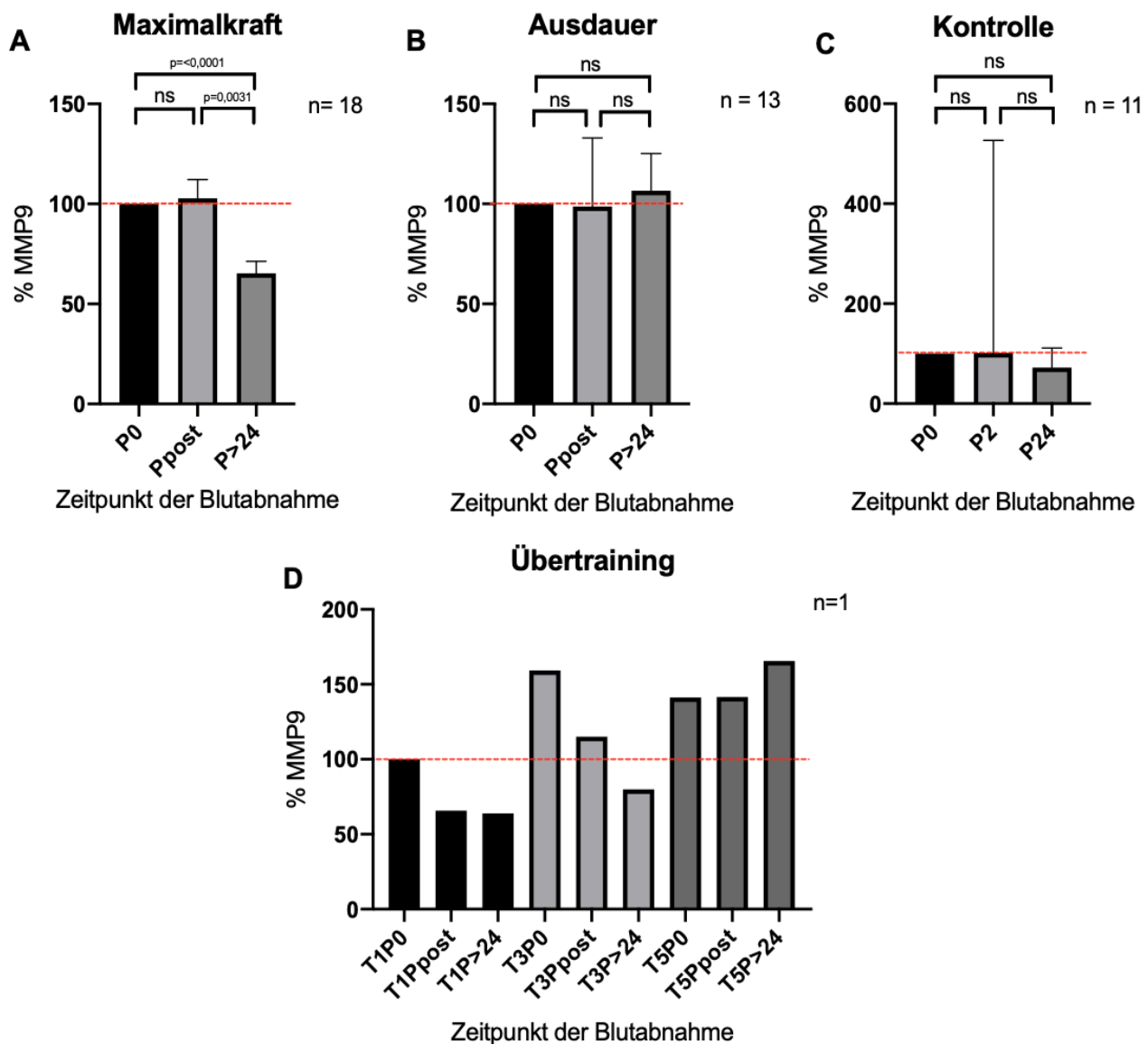


Abbildung 6: MMP9 reagiert bei extremen Belastungen

Konzentrationen von MMP9 in humanem Serum wurden mittels ELISA analysiert. Die Enzymkonzentration ist in Prozent angegeben und auf den P0 bzw. T1P0 Wert normiert. Zeitpunkte der Blutentnahme: P0= vor Beginn der Studie bzw. vor dem nächsten Belastungsreiz, Ppost bzw. P2= nach Belastung bzw. zwei Stunden nach Entnahme P0, P>24= >24 nach Ende der Belastung. **(A)** Bei der Maximalkraftstudie ist das Konzentrationslevel von MMP9 zum Zeitpunkt P>24 verringert im Vergleich zu P0 und Ppost (P0=100 %, Ppost=102,81 ± 9,34 % ($p_{(P_{\text{post}} \text{ vs } P_{>24})}=0,0031$), P>24=65,33 ± 6,02 % ($p_{(P_0 \text{ vs } P_{>24})}<0,0001$); n=18). Die Werte sind als Mittelwerte ± SEM dargestellt. Zur statistischen Analyse wurde eine einfache ANOVA mit wiederholten Messungen und anschließender Tukey-Mehrfach-Parameter-Vergleichstestung durchgeführt. **(B)** Während der Ausdauerstudie zeigte sich keine Änderung der MMP9-Konzentration (P0=100 %, Ppost=98,68 % (KI(95 %)=90,90-133, P>24=106,51 % (KI(95 %)=85,95-125,2; n=13). Die Werte werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-

Parameter-Vergleichstest wurde vollzogen. **(C)** Auch die Werte der Kontrollgruppe verändern sich im Verlauf nicht ($P_0=100\%$, $P_2=101,47\%$ ($KI(95\%)=62,35-526,9$, $P>24=72,49\%$ ($KI(95\%)=0-111,3$; $n=11$). Die Werte werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest wurde durchgeführt. **(D)** Durch Übertraining ausgelöster Abfall des MMP9-Levels am ersten Tag ($T1P_0=100\%$, $T1P_{post}=65,69-34,2\%$, $T1P>24=63,97-36,02\%$; $n=1$). An T3 zeigt sich, abgesehen von $T3P>24$ ein Anstieg im Vergleich zum $T1P_0$ Wert ($T3P_0=159,22+59,22\%$, $T3P_{post}=115,02+15,02\%$, $T3P>24=79,98-20,01\%$; $n=1$). An T5 sind alle Werte im Vergleich zu $T1P_0$ erhöht ($T5P_0=141,27+41,3\%$, $T5P_{post}=141,5+41,5\%$, $T5P>24=165,57+65,57\%$; $n=1$). Es handelt sich um Einzelwerte.

Um einen möglichen Zusammenhang zwischen löslichem Sdc-4 im Serum und der Sheddase MMP9 in einer der Kohorten festzustellen, werden nachfolgend (Abbildung 7) alle Einzelwerte der Probanden und Probandinnen in den jeweiligen Kohorten gegeneinander aufgetragen, um mittels Spearman-Analyse eine Korrelation festzustellen.

Zwischen dem Sdc-4- und MMP9-Level der Proben bei einer Maximalkraftbelastung zeigt sich eine positive Korrelation ($r_s=0,2695$) (Abbildung 7A). Die dargestellte Ausdauerbelastung und Kontrollgruppe weist hingegen keine Signifikanz hinsichtlich einer Korrelation zwischen Sdc-4 und MMP9 auf (Abbildung 7B+C). Die Ergebnisse legen nahe, dass Sdc-4 durch MMP9 in die lösliche Form gesheddet wird.

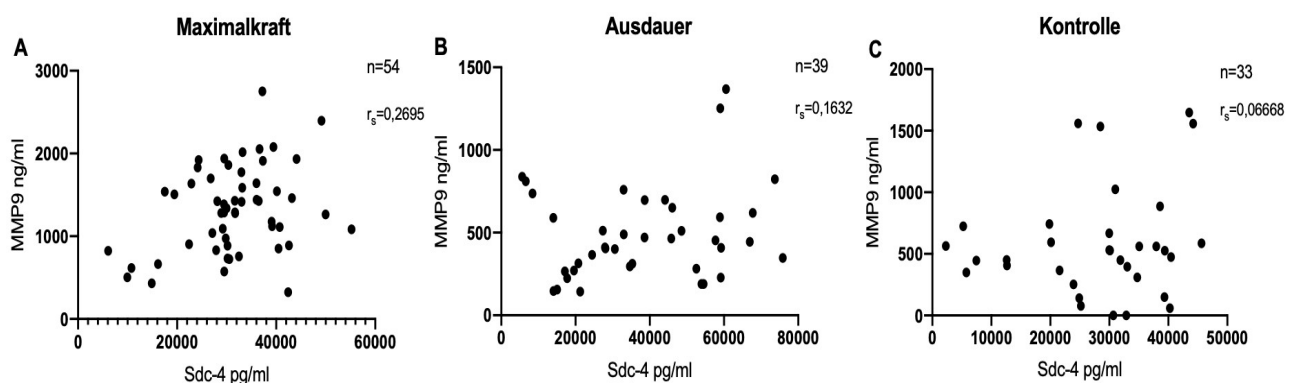


Abbildung 7: Korrelation zwischen gesheddetem Sdc-4 und MMP9

(A) Um den Zusammenhang zwischen Sdc-4 und MMP9 der Maximalkraftkohorte zu testen, wurden die jeweiligen Werte gegeneinander aufgetragen. Beide Gruppen korrelieren positiv miteinander ($r_s=0,2695$ (KI(95 %)= $-0,006-0,51$; $p=0,0487$; $n=54$)). **(B)** Das gleiche wurde mit den Werten der Ausdauerkohorte durchgeführt, zeigt aber keine Korrelation ($r_s=0,1632$ (KI(95 %)= $-0,17-0,45$; $p=0,3210$; $n=39$)). **(C)** So auch in der Kontrollkohorte ($r_s=0,06668$ (KI(95 %)= $-0,28-0,41$; $p=0,7123$; $n=33$)). **(A-C)** Zur statistischen Analyse wurde eine Korrelation nach Spearman durchgeführt.

3.3.2 Regulation der Plasminaktivität im Serum bei sportlicher Belastung

Plasmin ist bereits als Sheddase für Sdc-4 beschrieben und ist beteiligt an der basalen Shedding-Rate von Sdc-4¹⁷³. Aus diesem Grund soll untersucht werden, ob sich belastungsbedingte Veränderungen der Plasminaktivität zeigen. Zu diesem Zweck, wurden die teilnehmenden Probanden und Probandinnen den bereits im vorhergehenden Kapitel dargestellten sportlichen Belastungen ausgesetzt und die Plasminaktivität im Serum vor der Belastung (P0), direkt nach der Belastung (Ppost), und 24 Stunden nach der Belastung (P>24) mittels fluorometrischer Enzym-Analyse analysiert.

Abbildung 8 zeigt die belastungsabhängige Änderung der Plasminaktivität in den verschiedenen Kohorten. Abbildung 8A dokumentiert den nach Maximalkrafttraining beobachtbaren Anstieg der Plasminaktivität von P0 zu P>24 um 22 % ($p=0,0014$), sowie einen Anstieg von Ppost zu P>24 von 43,43 % ($p=0,0373$). In der Ausdauerkohorte ist eine Zunahme der Plasminaktivität von P0 zu Post um 22,96 % ($p=0,0223$) zu sehen, wohingegen zwischen den anderen Messpunkten keine Signifikanz nachgewiesen werden kann (Abbildung 8B). Die Kontrollgruppe belegt einen Unterschied der Plasminaktivität zwischen den Zeitpunkten P0 und P>24 um 24 % ($p=0,0273$). Darüber hinaus sind keine signifikanten Unterschiede zu belegen (Abbildung 8C). Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die Stärke eines Belastungsreizes eine Rolle für Veränderungen der Plasminaktivität zu spielen scheint.

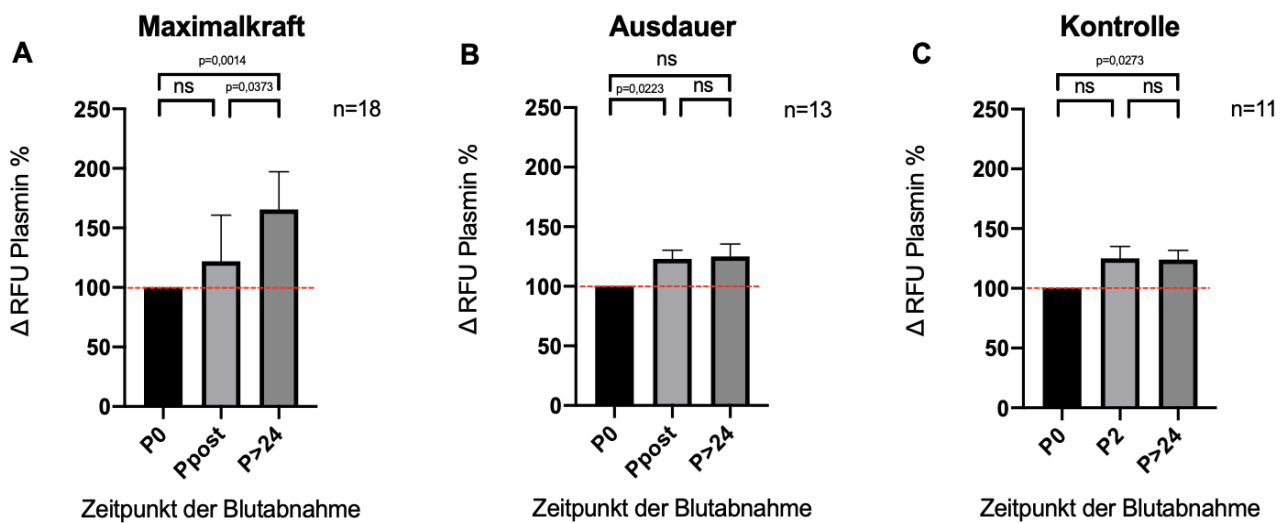


Abbildung 8: Steigende Plasminaktivität bei Belastung

Die Plasminaktivität in humanem Serum wird mittels fluorometrischer Bestimmung analysiert. Die Plasminaktivität ist in Prozent angegeben und auf den P0 Wert normiert. Zeitpunkte der Blutentnahme: P0= vor Beginn der Studie, Ppost bzw. P2= nach Belastung bzw. zwei Stunden nach Entnahme P0, P>24= >24 nach Ende der Belastung. **(A)** In der Maximalkraftstudie ist die Plasminaktivität bei P>24 in Vergleich zu P0 sowie Ppost erhöht (P0=100 %, Ppost=122,01 % (KI(95 %)=94,91-160,7 ($p_{(P_{\text{post}} \text{ vs } P_{>24})}=0,0373$), P>24=165,45 % (KI(95 %)=111,4-197,3 ($p_{(P_0 \text{ vs } P_{>24})}=0,0014$); n=18). Die Werte werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest wurde vollzogen. **(B)** Die Plasminaktivität ist in der Ausdauerstudie bei Ppost im Vergleich zu P0 erhöht (P0=100 %, Ppost=122,93 ± 7,35 % ($p_{(P_0 \text{ vs } P_{\text{post}})}=0,0223$), P>24=125,11 ± 10,45 %; n=13). Die Werte sind als Mittelwerte ± SEM dargestellt. Zur statistischen Analyse wurde eine einfache ANOVA mit wiederholten Messungen und anschließender Tukey-Mehrfach-Parameter-Vergleichstestung durchgeführt. **(C)** Die Kontrollgruppe zeigt einen Unterschied der Plasminaktivität zwischen P0 und P>24 (P0=100 %, P2=125,04 ± 10,14 % ($p_{(P_0 \text{ vs } P_2)}=0,0779$), P>24=124,02 ± 7,75 % ($p_{(P_0 \text{ vs } P_{>24})}=0,0273$); n=11). Die Werte sind als Mittelwerte ± SEM dargestellt. Zur statistischen Analyse wurde eine einfache ANOVA mit wiederholten Messungen und anschließender Tukey-Mehrfach-Parameter-Vergleichstestung vollzogen.

Um einen Zusammenhang zwischen gescheddetem Sdc-4 im Serum der Probanden und Probandinnen und der Plasminaktivität in den unterschiedlichen Kohorten festzustellen, werden nachfolgend alle Einzelwerte der Probanden und Probandinnen gegeneinander aufgetragen (Abbildung 9) und mittels Spearman-Korrelation analysiert. Während einer Maximalkraft- und Ausdauerbelastung zeigt sich keine Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Plasminaktivität der Proben (Abbildung 9A+B). Anders in der Kontrollgruppe, bei der sich eine negative Korrelation zwischen Sdc-4 und Plasmin zeigt ($r_s=-0,4024$) (Abbildung 9C). Diese Ergebnisse legen nahe, dass Plasmin nicht belastungsbedingt mit Sdc-4 interagiert.

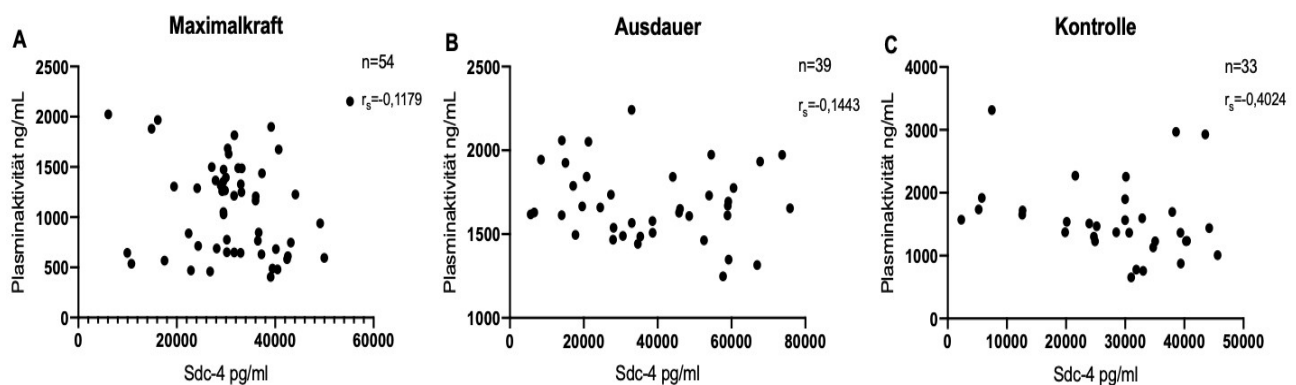


Abbildung 9: Keine Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Plasminaktivität

(A) Um einen Zusammenhang zwischen Sdc-4 und der Plasminaktivität der Maximalkraftkohorte zu testen, wurden die jeweiligen Werte gegeneinander aufgetragen. Hier ist keine Korrelation feststellbar ($r_s=-0,1179$ (KI(95 %) $=-0,3808-0,1627$; $p=0,3959$; $n=54$). **(B)** Gleiches wurde mit den Werten der Ausdauerkohorte durchgeführt, hier zeigt sich ebenfalls keine Korrelation ($r_s=-0,1443$ (KI(95 %) $=-0,4476-0,1887$; $p=0,3807$; $n=39$). **(C)** Anders die Kontrollkohorte, die eine negative Korrelation aufweist ($r_s=-0,4024$ (KI(95%) $=-0,6612-0,05803$; $p=0,0203$; $n=33$). **(A-C)** Zur statistischen Analyse wurde eine Korrelation nach Spearman durchgeführt.

3.3.3 Regulation der Thrombinaktivität im Serum bei sportlicher Belastung

Da Thrombin bereits als Sheddase für Sdc-4 beschrieben und an der basalen Shedding-Rate von Sdc-4 beteiligt ist ¹⁷³, soll untersucht werden, ob sich belastungsbedingte Veränderungen der Thrombinaktivität zeigen. Zu diesem Zweck wurden die Probanden und Probandinnen unterschiedlichen sportlichen Belastungen ausgesetzt und die Thrombinaktivität im Serum vor der Belastung (P0), direkt nach der Belastung (Ppost) und 24 Stunden nach der Belastung (P>24) mittels fluorometrischer Enzymanalyse analysiert (Abbildung 10).

Zu sehen ist ein Anstieg der Thrombinaktivität nach einem Maximalkrafttraining von P0 zu P>24 um 130,26 % ($p=0,0373$) (Abbildung 10A). Durch eine Ausdauerbelastung ausgelöst, zeigt sich ein Anstieg der Thrombinaktivität von P0 zu Ppost um 47,57 % ($p=0,0051$), sowie ein Anstieg von P0 zu P>24 von 55,84 % ($p=0,0181$) (Abbildung 10B). In der Kontrollgruppe hat sich die Thrombinaktivität nicht verändert (Abbildung 10C). Es lässt sich belegen, dass die Stärke eines Belastungsreizes eine Rolle für die Thrombinaktivität spielt.

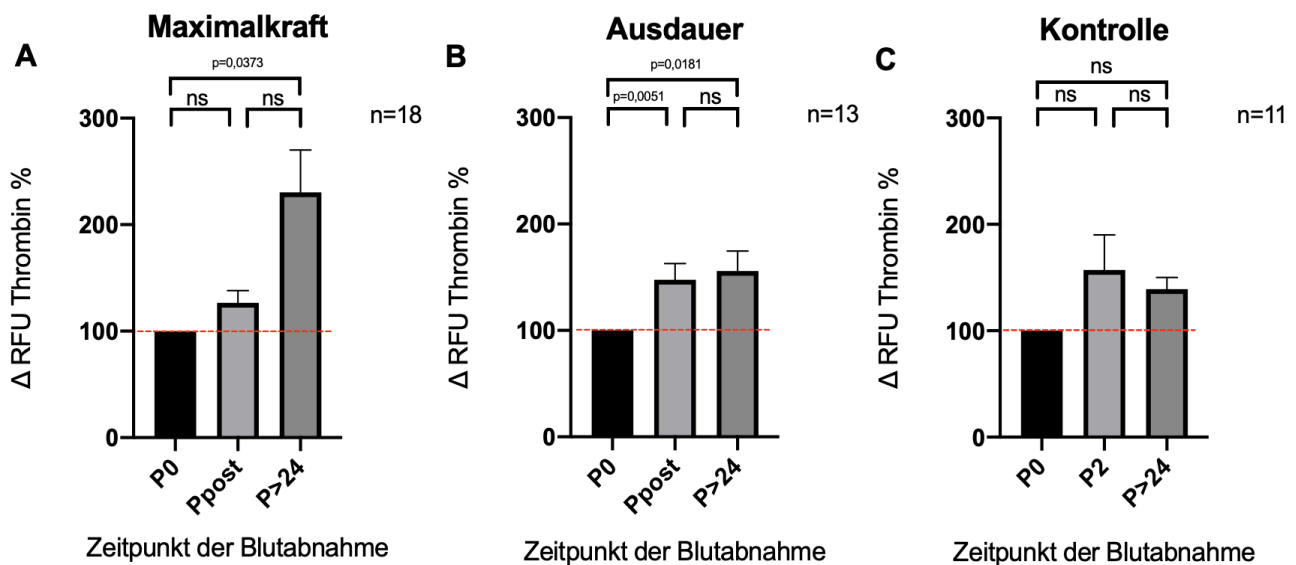


Abbildung 10: Steigende Thrombinaktivität bei Belastung

Die Thrombinaktivität in humanem Serum wird mittels fluorometrischer Bestimmung analysiert. Die Thrombinaktivität ist in Prozent angegeben und auf den P0 Wert normiert. Zeitpunkte der Blutentnahme: P0= vor Beginn der Studie, Ppost bzw. P2= nach Belastung bzw. zwei Stunden nach Entnahme P0, P>24= >24 nach Ende der Belastung. **(A)** In der Maximalkraftstudie ist die Thrombinaktivität bei P>24 im Vergleich zu P0 erhöht (P0=100 %, Ppost=126,75 % (KI(95 %)=90,72-154,1 ($p_{(P0 \text{ vs } P_{\text{post}})}=0,9519$), P>24=230,26 % (KI(95 %)=98,92-248,6 ($p_{(P0 \text{ vs } P_{>24})}=0,0373$); n=18). **(B)** Die Thrombinaktivität ist in der Ausdauerstudie bei Ppost und P>24 im Vergleich zu P0 erhöht (P0=100 %, Ppost=147,57 % (KI(95 %)=114,5-169,2 ($p_{(P0 \text{ vs } P_{\text{post}})}=0,0051$), P>24=155,854 % (KI(95 %)=99,19-220 ($p_{(P0 \text{ vs } P_{>24})}=0,0181$); n=13). **(C)** Die Kontrollgruppe zeigt keine Unterschiede der Thrombinaktivität (P0=100 %, P2=157,09 % (KI(95 %)=92,47-185,4, P>24=139,13 % (KI(95 %)=100,7-186,5; n=11).

Die Werte in Abbildung **(A-C)** werden als Median mit 95 % Konfidenzintervall dargestellt. Ein Friedman-Test mit anschließendem Dunn-Mehrfach-Parameter-Vergleichstest wurde vollzogen.

Es soll geprüft werden, ob es einen Zusammenhang zwischen gescheddetem Sdc-4 und der Thrombinaktivität im Serum gibt. Zu diesem Zweck werden alle Serumproben mittels ELISA (Sdc-4) und fluorometrischer Enzymanalyse (Thrombin) analysiert und nachfolgend die Einzelwerte der Probanden und Probandinnen der jeweiligen Kohorten gegeneinander aufgetragen, um eine mögliche Korrelation mittels Spearman-Analyse festzustellen (Abbildung 11).

Es zeigt sich keine Signifikanz hinsichtlich einer Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Thrombinaktivität der Proben bei einer Maximalkraftbelastung ($r_s = -0,2619$) (Abbildung 11A). Gleiches geht aus den Ergebnissen der Ausdauerkohorte hervor ($r_s = 0,1609$) (Abbildung 11B). In der Kontrollgruppe hingegen lässt sich eine negative Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Thrombinaktivität nachvollziehen ($r_s = -0,4086$) (Abbildung 11C).

Die Ergebnisse legen nahe, dass Thrombin nicht belastungsabhängig Sdc-4 sheddet.

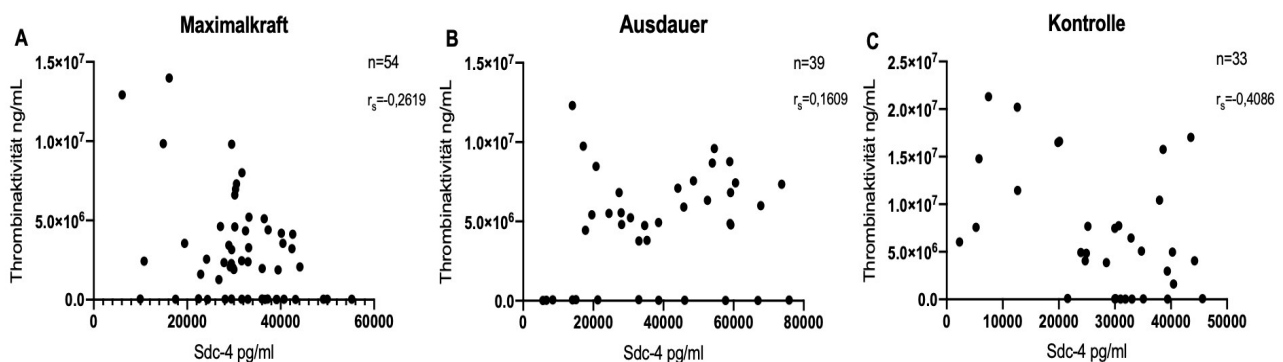


Abbildung 11: Keine Korrelation zwischen dem Sdc-4-Level und der Thrombinaktivität

(A) Um einen Zusammenhang zwischen Sdc-4 und der Thrombinaktivität zu testen, wurden die jeweiligen Werte gegeneinander aufgetragen. Es ist bei den Proben des Maximalkrafttrainings keine Korrelation feststellbar ($r_s = -0,2619$ (KI(95 %) = $-0,5011$ – $0,01440$; $p = 0,0557$; $n = 54$)). **(B)** Gleiches wurde mit den Werten der Ausdauerkohorte durchgeführt und weist ebenfalls keine Korrelation auf ($r_s = 0,1609$ (KI(95 %) = $-0,1722$ – $0,4611$; $p = 0,3277$; $n = 39$)). **(C)** In der Kontrollkohorte jedoch, zeigt sich eine negative Korrelation ($r_s = -0,4086$ (KI(95 %) = $-0,6654$ – $-0,06545$; $p = 0,0182$; $n = 33$)).

(A-C) Zur statistischen Analyse wurde eine Korrelation nach Spearman durchgeführt.

4

Diskussion

Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob gesheddetes Sdc-4 ein geeigneter Marker ist, um körperliche Belastung, Überbelastung und die Regenerationsfähigkeit des menschlichen Organismus abzubilden. Als solcher Marker könnte Sdc-4 zur Maximierung von Trainingseffekten, dem Ausnutzen von Belastungsreserven sowie der Vermeidung von langfristigen Regenerationsdefiziten und der Verletzungsprävention beitragen. Da die bekannten Ermüdungsmarker und Biomarker des Muskelstatus wie Kreatinkinase (CK), C-reaktives Protein (CRP) und Urea eine große Variabilität aufweisen^{94,102,249} wird hier einem neuen Ansatz nachgegangen.

In früheren Studien wurde gezeigt, dass gesheddetes Sdc-4 bei Sportlern und Sportlerinnen (Bertrand unveröffentlicht) sowie bei Personen, die wenig Sport treiben, durch einen Belastungsreiz steigt¹⁴⁶. Der Fokus dieser Arbeit besteht darin, einen Unterschied infolge der verschiedenen Belastungsformen, Maximalkraft und Ausdauer zu untersuchen. Außerdem wird der Frage nachgegangen, ob sich auch Regenerationsprozesse mittels Sdc-4 abbilden lassen, um zu ergründen, ob Sdc-4 als Belastungsmarker von Nutzen für die Sportmedizin und Leistungsdiagnostik sein kann. Zudem stand die Suche nach einer möglichen Sheddase im Vordergrund, welche für die proteolytische Spaltung der Ektodomäne von Sdc-4 im Serum der Probanden und Probandinnen verantwortlich ist. Hier stehen die MMP9 sowie die Serinproteasen Plasmin und Thrombin im Fokus der Untersuchung.

4.1 Belastungsabhängiger Anstieg von Syndecan-4.

Um die Hypothese zu untersuchen, ob die Menge an gesheddetem Sdc-4 belastungsabhängig ansteigt, wird ein spezifischer Sdc-4-ELISA mit humanem Serum durchgeführt, welches vor und nach der Belastung entnommen wurde.

Dieser Assay zeigt, dass der Anstieg von gesheddetem Sdc-4 belastungsabhängig ist, da sich ein signifikanter Anstieg sowohl nach einem Maximalkrafttraining wie einer Ausdauerbelastung verglichen mit der Kontrollgruppe zeigt (Abbildung 5A). Weiterhin stellt sich mit Dauer der Belastung ein Trend des kontinuierlichen Anstiegs von gesheddetem Sdc-4 unmittelbar nach der Belastung dar (Abbildung 4D). Das Level an gesheddetem Sdc-4 im Serum unterliegt im Tagesverlauf kleineren Schwankungen, die jedoch nicht signifikant sind (Abbildung 4C). Beim Betrachten der einzelnen Belastungsformen wird deutlich, dass es im Vergleich zu den gesheddeten Sdc-4-Ausgangswerten (P0) der jeweiligen Kohorte nur nach einer Maximalkraftbelastung zu einem signifikanten Anstieg von gesheddetem Sdc-4 kommt (Abbildung 4A). Das Ausdauertraining hingegen zeigt zum Zeitpunkt > 24 Stunden nach der Belastung einen Abfall der Konzentration von gesheddetem Sdc-4 (Abbildung 4B).

Die Ergebnisse der Ausdauerstudie (Abbildung 4B) unterscheiden sich von den Erkenntnissen von Lee S. et al., die einen Anstieg von gesheddetem Sdc-4 im Serum nach einer Ausdauerbelastung feststellten¹⁴⁶. Sie konnten einen Anstieg von gesheddetem Sdc-4 im Serum mittels ELISA nach einer 45 minütigen Ausdauerbelastung mit 70 % des individuellen VO₂max bei einer Gruppe untrainierter (<1 pro Woche Sport) Männer im Alter zwischen 40-65 nachweisen. Die Hypothese bezüglich des Anstiegs von gesheddetem Sdc-4 im Serum ist nach Lee S. et al. ein vermehrtes Shedding aufgrund des erhöhten Blutflusses während der Belastung. Die hier vorgestellten Ergebnisse stehen dem entgegen, da sich in der Ausdauerkohorte kein nachweisbar signifikanter Anstieg nach der Belastung fand (s. Abbildung 4B). Eine Erklärung für diesen Widerspruch könnte das jüngere Alter (19-29 J) der Teilnehmenden in dieser Ausdauerstudie sein. Eine Reduktion der aeroben Energiegewinnung mit zunehmendem Alter kann für das abweichende Bild verantwortlich sein²⁵⁰⁻²⁵², ebenso wie die altersbezogene Abnahme der Ausdauerleistung^{253,254}. Zudem unterscheidet sich das Fitnesslevel der Probanden und Probandinnen, da an dieser Studie deutlich sportlichere Personen teilnahmen (>2 Sport

pro Woche). Da Ausdauertraining den maximalen Sauerstoffverbrauch, die Kapillardichte und die oxidative Kapazität der Skelettmuskulatur verbessert ^{255–257}, kann das Fitnesslevel direkten Einfluss auf das Sdc-4-Level haben. Die Muskulatur ermüdet bei gleicher Belastung schneller und eine geringere Belastung wirkt sich stärker auf den Muskel aus. Dies wird unterstützt, da ein Anstieg von sheddetem Sdc-4 in einer Gruppe von Sporttreibenden deutlich stärker ausfällt als in einer Gruppe von unsportlichen Probanden und Probandinnen. Die Basallevel von Sdc-4 unterscheiden sich ebenfalls zwischen diesen beiden Kohorten, sodass Sporttreibende im Vergleich höhere Sdc-4-Konzentrationen sowie eine größere individuelle Variabilität aufweisen. Auch ein paralleler Anstieg von sheddetem Sdc-4 mit steigenden Wattzahlen unter Belastung konnte gezeigt werden (Bertrand unpubliziert). Möglich erscheint ebenfalls, dass sich aufgrund einer geringeren Teilnehmer- und Teilnehmerinnen-Anzahl der Ausdauerkohorte kein Anstieg zeigt (vgl. Abbildung 4A & B). Zusammenfassend scheint es möglich, dass das Ausbleiben des Sdc-4 Anstiegs nach einer Ausdauerbelastung auf ein geringeres Alter, ein besseres Fitnesslevel und somit einer geringeren sportlichen Belastung zurückzuführen sein könnte.

Durch sportliche Belastung steigen die Serumspiegel von proinflammatorischen Zytokinen wie beispielsweise $\text{TNF}\alpha$, IL6, IL2 und $\text{IFN}\gamma$ ²⁵⁸. Die Expression von Sdc-4 ist entzündungs- und belastungsabhängig reguliert ^{135,145,146} und proinflammatorische Zytokine erhöhen das Shedding von Sdc-4 ^{169,259}. So könnte eine verstärkte lokale Gewebeschädigung der Z-Scheiben (Abbildung 1), ausgelöst durch das Maximalkrafttraining, eine Entzündungsreaktion hervorrufen, so den Prozess des Sheddings induzieren und den Anstieg von löslichem Sdc-4 nach der Belastung im Serum erklären. Diese Hypothese wird unterstützt durch die Tatsache, dass die Teilnehmenden der Maximalkraftstudie mit 77,77 % häufiger angaben, als Reaktion auf die Belastung Muskelkater zu haben, als die Teilnehmenden der Ausdauerstudie mit 23,08 % (vgl. Tabelle 6 & Tabelle 7). Sdc-4 nimmt eine entscheidende Rolle während der Entzündung ein und ist an verschiedenen Aspekten der Entzündung beteiligt ^{143,260–266}. Durch das Ausbleiben von Regenerationsphasen und die Zunahme der Gewebedefekte während eines Übertrainings könnte sich die Entzündung verstärken und so die steigende Konzentration von Sdc-4 nach dem Belastungsreiz erklären (s. Abbildung 4D).

Da sich durch die vorliegenden Ergebnisse Unterschiede zwischen den Belastungsformen darstellen und sich auch mangelnde Regeneration abbilden lässt, scheint Sdc-4 als Marker eine Rolle in der Belastungssteuerung zu spielen und zusammen mit den bereits etablierten Markern das Überwachen von Belastung verbessern zu können. Um Sdc-4 als Marker in der Belastungssteuerung gezielt einsetzen zu können ist es ferner für die Leistungsdiagnostik von großem Interesse, ein genaueres Verständnis dafür zu entwickeln, warum und wie es zum Anstieg von Sdc-4 nach Belastung kommt. Die Wechselwirkung zwischen körperlicher Betätigung und dem Shedding von Sdc-4 scheint komplex zu sein und könnte mit mehreren Faktoren zusammenhängen. Abschließend bleibt festzustellen, dass Sdc-4 von verschiedenen Zelltypen exprimiert wird¹³² und dass erhöhte Serumkonzentrationen aus diesem Grund multiple Ursachen haben können. Dennoch deuten die erhobenen Ergebnisse darauf hin, dass es sich möglicherweise um Prozesse im Muskelgewebe handeln könnte, die zu dem gezeigten Sdc-4-Anstieg führen. Als ein Marker für Entzündungs- und Reparaturprozesse im Muskelgewebe hätte Sdc-4 sicher einen Platz in der Leistungsdiagnostik sowie im Regenerationsmanagement.

4.2 Belastungsabhängige Veränderung der MMP9-Serumkonzentration

Nachdem bereits ein belastungsabhängiger Anstieg von gescheddetem Sdc-4 festgestellt werden konnte, war ein weiteres Ziel dieser Untersuchung, zu analysieren, durch welche Sheddase das belastungsabhängige Shedding reguliert wird. Die Rolle von MMP9 als eine Hauptsheddase für Sdc-4 wurde schon vermehrt beschrieben^{167,169}. Daher wurde mit Hilfe eines ELISAs die Konzentration an MMP9 in den Serumproben bestimmt, welche auch schon für die Analyse von gescheddetem Sdc-4 verwendet wurden. Diese Ergebnisse sollen zeigen, ob ein Zusammenhang zwischen gescheddetem Sdc-4 und MMP9 besteht.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sich unmittelbar nach einer Ausdauer- und Maximalkraftbelastung, zum Zeitpunkt Ppost, keine Veränderung der Serumkonzentration von MMP9 auftreten (s. Abbildung 6 A & B). Nach einem einmaligen Maximalkrafttraining kommt es zu einem signifikanten Abfall der MMP9-Konzentration gegenüber dem Zeitpunkt P>24 im Vergleich zu den beiden anderen Messpunkten P0 und Ppost (Abbildung 6A). Während einer subjektiven Ausbelastung über fünf Tage zeigt sich ein Anstieg der MMP9-Konzentration zum Zeitpunkt P0 des ersten Tages. Während nach dem ersten und dritten Tag die MMP9-Konzentration, ausgelöst durch einen Belastungsreiz fällt, bleibt sie am fünften Tag nach der Belastung konstant und steigt nach einem weiteren Tag sogar weiter an (s. Abbildung 6D). Die MMP9- und Sdc-4-Werte des Maximalkrafttrainings korrelieren positiv miteinander (Abbildung 7A). Parallel zum Anstieg der MMP9-Konzentration steigt auch die Sdc-4-Konzentration (vgl. Abbildung 4D & Abbildung 6D). Dies sind Indizien dafür, dass MMP9 zum belastungsbedingten Shedding beiträgt. Sie werden unterstützt dadurch, dass vermehrt MMP9-mRNA auf einen Belastungsreiz in der Muskulatur exprimiert wird^{146,209,210,267} und Sdc-4 nach einer Belastung im Serum ansteigt (Abbildung 4). In der Ausdauer- sowie Kontrollkohorte blieb eine Korrelation aus (Abbildung 7B).

Die erhaltenen Ergebnisse, dass die Serumkonzentration von MMP9 durch eine Ausdauer- und Maximalbelastung unmittelbar nach der Belastung unverändert bleibt (s. Abbildung 6 A & B), stehen in Kontrast zu Beobachtungen einer Meta-Analyse von Lo Presti et al. Sie konnten nachweisen, dass es in 13 von 18 Studien nach einer Belastung zum Anstieg der MMP9-Konzentration kommt²⁶⁸. Der dort gezeigte Anstieg ist jedoch durch eine höhere Belastung, durch z.B einen Marathon-²¹² oder Halbmarathonlauf²¹⁷, zu

erklären. Die meisten dieser Studien fokussierten sich dabei auf Konzentrationsveränderungen von MMP9 unmittelbar nach dem Training, ohne späteren Zeitpunkten Aufmerksamkeit zu schenken. Bei Veränderungen >24 Stunden zeigt sich ein uneinheitliches Bild. Entweder sind die Ergebnisse ohne statistische Signifikanz²⁶⁹, zeigen ein reduziertes²⁷⁰ oder erhöhtes MMP9-Level, welches sich allerdings erst vier²²⁰ bzw. acht Tage²⁷¹ nach der Belastung zeigte und es sich dabei zudem um exzentrische Belastungsformen handelte. Im Fall der reduzierten MMP9-Konzentration nach einer Belastung von Nascimento et al. scheint die Kohorte nicht zum Vergleich geeignet zu sein, da dort ältere übergewichtige Frauen die Kohorte stellten²⁷⁰ und es sich ebenfalls um eine exzentrische Belastung handelte.

Die Korrelation zwischen der sinkenden Konzentration von Sdc-4 und MMP9 stützt die Annahme, dass MMP9 als eine Sheddase von Sdc-4 in Betracht kommt (Abbildung 7A), worauf andere Studien bereits hinweisen. Bollmann et al. konnten zeigen, dass die Menge von MMP9 in der Synovialflüssigkeit von Arthrose-Patienten und Patientinnen mit der von gesheddetem Sdc-4 korreliert und die Hemmung von MMP9 in vitro zu einer Reduktion von gesheddetem Sdc-4 führt¹⁸³. Des Weiteren konnte bereits gezeigt werden, dass das mRNA-Level von MMP9 durch eine Ausdauerbelastung, exzentrisches Training sowie Krafttraining in der Skelettmuskulatur hochreguliert wird^{146,209,210,267} und auch die Aktivität von MMP9 steigt^{209,210}. Auch während der Muskelregeneration scheint MMP9 eine Rolle zu spielen, da sowohl die mRNA-Menge als auch die Aktivität steigt^{197,272}. Da sich durch eine Ausdauerbelastung die Menge an TNF im Skelettmuskel erhöht¹⁴⁶ und MMP9 als Reaktion auf TNF α Sdc-4 von der Zelloberfläche schneidet¹⁷², lässt dies den Einfluss von entzündungsabhängigem Shedding durch MMP9 auch im Skelettmuskel möglich erscheinen. Das Ausbleiben einer Korrelation in der Ausdauerstudie (Abbildung 7B) scheint durch die geringere Intensität der Belastung und einer damit einhergehenden geringen Schädigung der Skelettmuskulatur erklärbar zu sein. Anschließend könnte deshalb auch die Entzündungsreaktion geringer ausfallen. Es wurde in vitro am Lungengewebe der Maus gezeigt, dass MMP9 für die Migration von Entzündungszellen in das Lungengewebe von entscheidender Bedeutung ist²⁷³. Daher könnte auch die Beteiligung von MMP9 an der Migration von Entzündungszellen im Skelettmuskel möglich sein. Die Infiltration der Muskulatur durch Entzündungszellen verringert die Serumwerte dieser nachweislich^{274,275}. Da Entzündungszellen eine potente Quelle von MMP9

darstellen^{273,276,277}, könnte dies die sinkenden MMP9-Werte erklären, welche sich als Ergebnis eines einmaligen Maximalkrafttrainings zum Zeitpunkt P>24 im Vergleich zu den beiden anderen Messpunkten P0 und Ppost (Abbildung 6A) zeigen. Andererseits könnte die verringerte Konzentration von MMP9 die Infiltration der geschädigten Muskulatur durch Leukozyten und anderen entzündungsfördernden Faktoren reduzieren, da anhaltend hohe MMP9-Werte schädlich sind und den Reparaturprozess stören können²⁰⁵. Zudem ist bekannt, dass das Hemmen von MMP9 die Skelettmuskelstruktur und -funktion in mdx-Mäusen deutlich verbessert^{204–206}; denn um anhaltende Entzündungsprozesse, ausgeprägte Gewebeschädigung und Fibrosierung zu vermeiden, ist eine kontrollierte Wechselwirkung zwischen Skelettmuskulatur und Entzündungszellen unabdingbar²⁷⁸. Hier könnte MMP9 eine wichtige Rolle einnehmen. So könnte die sinkende MMP9-Konzentration zu einem Phasenwechsel der Entzündung im Skelettmuskel führen und einen Umschwung von der proinflammatorischen Phase hin zum Beginn der Reparatur des Muskels bedeuten. Um genauer herauszufinden, welche dieser Annahmen über die Funktion von MMP9 im Skelettmuskel stimmen könnte, sind weitere Untersuchungen notwendig.

Da in dieser Arbeit nicht zwischen inaktivem pro-MMP9 und aktivem MMP9 unterschieden wird, könnte es zum Zeitpunkt Ppost zur Aktivierung von MMP9 kommen. Dies konnte im Zusammenhang mit einer sportlichen Belastung sowohl auf muskulärer Ebene^{209,210} sowie im Serum gezeigt werden^{218,279}. So könnte MMP9 als Sheddase verantwortlich für die steigende Sdc-4-Konzentration nach der Maximalkraftbelastung sein (Abbildung 4A).

Die Ergebnisse der subjektiven Ausbelastung (Abbildung 6D) liefern Hinweise darauf, dass die angestrebte Überbelastung erfolgreich war. Durch die Summation von Gewebeverletzungen steigt die MMP9-Konzentration, da sie für den Beginn der Entzündungsphase und Regeneration des Skelettmuskels notwendig zu sein scheint²⁷³.

4.3 Plasminaktivität steigt als Resultat sportlicher Belastung

Als weitere mögliche Sheddase von Sdc-4, die dessen Anstieg nach sportlicher Belastung erklären könnte, kommt die Serinprotease Plasmin in Betracht. Ein möglicher Zusammenhang zwischen der Aktivität der Protease und der gesheddeten Sdc-4-Konzentration in humanem Serum wurde untersucht.

Bei der Betrachtung der einzelnen Studien (Abbildung 8) zeigt sich, dass durch eine Maximalkraftbelastung die Aktivität von Plasmin zum Entnahmezeitpunkt P>24 nach der Belastung ansteigt (Abbildung 8A), während sich eine Aktivitätssteigerung auf einen Ausdauerreiz hin unmittelbar nach der Belastung (Ppost) darstellt (Abbildung 8B). In der Kontrollgruppe zeigt sich, dass die Plasminaktivität im Tagesverlauf Schwankungen unterliegt (Abbildung 8C). Die hier erhobenen Daten zeigen keine Korrelation zwischen der Sdc-4-Konzentration und der Plasminaktivität in den Belastungsstudien (Abbildung 9A & B), was Plasmin als Sheddase im Belastungsfall unwahrscheinlicher erscheinen lässt. Die Kontrollgruppe zeigt eine negative Korrelation, sodass niedrige Sdc-4-Werte auf eine gesteigerte Plasminaktivität zurückzuführen sein könnten (Abbildung 9C). Daraus lässt sich die Annahme ableiten, dass Plasmin am konstitutiven Shedding beteiligt sein kann.

Plasmin ist als Sheddase von Sdc-4 in Endothelzellen bereits bekannt^{171,173}. Die Plasmin-mRNA-Konzentration steigt nach einer 45-minütigen Ausdauerbelastung mit 70 % des individuellen VO₂max bei einer Gruppe untrainierter (<1 pro Woche Sport) Männer im Alter zwischen 40-65 in der Skelettmuskulatur an¹⁴⁶.

Die belastungsbedingt ansteigende Aktivität zum Zeitpunkt P>24 in der Maximalkraftstudie lässt sich durch die Literatur auf verschiedene Weise erklären. Durch sportliche Betätigung steigen Faktoren wie gewebespezifische Plasminogenaktivatoren, die für die Aktivierung von Plasmin notwendig sind, im Plasma an, wohingegen die inaktivierenden Faktoren sinken²³¹. Die Rolle von Plasmin bei der Migration von Entzündungszellen sowie im weiteren Verlauf einer Entzündung^{226,280} und der Regeneration von Skelettmuskulatur²³⁰ stellt ebenfalls eine Möglichkeit für die gestiegene Plasminaktivität dar. Der Anstieg zum Zeitpunkt P>24 des Maximalkrafttrainings könnte zudem auch durch einen zeitversetzten Anstieg erklärbar sein. Plasmin, welches Proteoglykane abbaut^{227,281}, wird durch steigende Faktoren wie gewebespezifische Plasminogenaktivatoren (tPA) aktiver. Gewebespezifische Plasminogenaktivatoren steigen in Folge eines Belastungsreizes an

²³¹ und könnten so die steigende Plasminaktivität sowie die sinkende Konzentration von Sdc-4 erklären (Abbildung 4A & B). Darüber hinaus ist Plasmin in der Lage, pro-MMP9 in aktives MMP9 umzuwandeln ^{195,282}. Daher könnte Plasmin ein wichtiger vorgeschalteter Regulator der extrazellulären Proteolyse sein ^{283,284} und so bei sinkender MMP9-Konzentration zum Zeitpunkt P>24 Stunden eines Maximalkrafttrainings (Abbildung 6A) für eine erhöhte MMP9-Aktivität sorgen.

4.4 Thrombinaktivität steigt als Resultat sportlicher Belastung

Die Serinprotease Thrombin kommt als eine weitere mögliche Sheddase von Sdc-4 in Betracht, um den Anstieg von letzterem in Folge eines Belastungsreizes zu erklären. Mögliche Zusammenhänge zwischen der Aktivität der Protease und der Konzentration von gescheddeten Sdc-4 wurde in humanem Serum untersucht.

In dieser Arbeit zeigt sich, dass die Thrombinaktivität unabhängig vom Belastungsreiz am Folgetag der Belastung zum Zeitpunkt P>24 ansteigt (Abbildung 10A & B). Nur nach der Ausdauerbelastung (Ppost) lässt sich ein unmittelbarer Anstieg im Anschluss dokumentieren (Abbildung 10B). Da sich durch die Korrelationsanalysen zwischen Sdc-4 und Thrombin keine Korrelation in den Belastungsstudien ergeben hat (Abbildung 11A & B), scheint Thrombin als Sheddase im Belastungsfall eine untergeordnete Rolle zu spielen. In der Kontrollgruppe jedoch zeigt sich, wie auch bei der Serinprotease Plasmin, eine negative Korrelation zwischen der Thrombinaktivität und der Sdc-4-Konzentration. Daraus abgeleitet könnten geringere Sdc-4-Werte auf eine gestiegene Thrombinaktivität zurückgeführt werden, was Thrombin als Sheddase des konstitutiven Sheddings wahrscheinlicher erscheinen lässt.

Da sich in der Literatur ein Anstieg von Thrombin durch hochintensive sportliche Belastung gezeigt hat ²⁴¹, könnte dies die Annahme stützen, dass Thrombin im Falle hochintensiver Belastung vermehrt am Sdc-4-Shedding beteiligt sein kann, da auch die Sdc-4-Konzentration – wie in dieser Arbeit gezeigt werden konnte – ansteigt (Abbildung 5A). Diese Annahme wird dadurch unterstützt, dass sich bei einer vergleichsweise geringen Belastung mit einer Herzfrequenz von 140 Schlägen pro Minute dieser Thrombinanstieg bei gesunden Probanden nicht zeigt ²⁸⁵. Die steigende Thrombinkonzentration als Reaktion auf einen starken Belastungsreiz geht nach einer Maximalkraftbelastung jedoch nicht mit einer Zunahme der Aktivität einher (Abbildung 10A), was Thrombin als Sheddase von Sdc-4 im Falle einer Maximalkraftbelastung unwahrscheinlich erscheinen lässt. Auf einen schwachen Ausdauerreiz hin bleibt der Thrombinanstieg, wie oben erläutert, aus: Dies kann den Anstieg der Thrombinaktivität zum Zeitpunkt Ppost erklären (Abbildung 10B), da sich im Anschluss die Konzentration nicht erhöht und deshalb die Aktivierung von Thrombin zunehmen könnte.

Das Shedding von Sdc-4 durch Thrombin in Endothelzellen^{171,173} sowie die mögliche proteolytische Degradation der Ektodomäne von Sdc-4¹⁷¹ ist bereits bekannt. Der von der Belastungsart unabhängige Anstieg der Thrombinaktivität einen Tag nach dem Reiz (P>24) könnte jedoch ein Hinweis für den Einfluss von Thrombin auf den, durch die Belastung ausgelösten, Entzündungsreiz der Skelettmuskulatur darstellen^{286–288}. Dem Entzündungsreiz folgend hat Thrombin multiple Funktionen: von der Aktivierung einiger Entzündungszellen bis zur Migration ins Gewebe^{235,236,289}. Darüber hinaus zeigten verschiedene Studien, dass die Hemmung von Thrombin zur Reduktion des Entzündungsgeschehens führt^{237,238}, weshalb die hier gesteigerte Aktivität als Zeichen eines Entzündungsgeschehens zu werten sein könnte. Thrombin reguliert die MMP9-mRNA und Proteinkonzentration in Entzündungszellen hoch²⁴⁰ und könnte somit zu Veränderungen des Entzündungsprozesses beitragen sowie eine wichtige Rolle in der Steuerung des Entzündungsprozesses und Regeneration der Skelettmuskulatur einnehmen.

5

Zusammenfassung und Ausblick

In dieser Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass sich die Syndecan-4-Konzentration (Sdc-4) im Serum abhängig von der Intensität einer muskulären Belastung unterschiedlich entwickelt. Daraus kann der Schluss gezogen werden, dass Sdc-4 ein geeigneter Marker zum Belastungsmonitoring sein kann. Jedoch gilt es, dieses Ergebnis aufgrund der geringen Teilnehmer- und Teilnehmerinnen-Anzahl – gerade der Überbelastungsstudie –, in einer größer angelegten Studie zu reproduzieren und mittels psychologischer Fragebögen den Grad der Überlastung zu validieren sowie eine mögliche Korrelation mit dem Sdc-4-Spiegel herauszuarbeiten. Weiterhin ist es zur Ermittlung von möglichen Normal- und Grenzwerten und deren Aussagekraft erforderlich, die Dynamik des Serum Sdc-4-Spiegels genauer zu untersuchen.

Darüber hinaus erscheint es notwendig zu bestimmen, ob Sdc-4 mit anderen Markern des Belastungsmonitorings korreliert und durch die Kombination der verschiedenen Marker die Belastungsintensität besser abgebildet werden kann. Des Weiteren wird in dieser Studie MMP9 als eine Sheddase des belastungsinduzierten Sheddings vorgestellt, was jedoch noch durch Aktivitätsstudien in Skelettmuskulatur und Serum zwecks besserer Beurteilung untersucht werden sollte. Darüber hinaus wurde in dieser Studie erstmalig die Veränderungen der Plasmin- und Thrombinaktivität in dieser Form auf unterschiedliche Sportreize hin untersucht. Die Ergebnisse unterstreichen die Rolle von Plasmin und Thrombin als Sheddasen des konstitutiven Sheddings.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass in dieser Studie zum ersten Mal die Möglichkeit, unterschiedliche Belastungsformen und Intensitäten mittels Sdc-4 abzubilden,

gezeigt werden konnte und so Sdc-4 das Belastungsmonitoring im Zusammenspiel mit anderen Markern verbessern könnte.

6

Literaturverzeichnis

1. Deutscher Olympischer Sportbund e. V. Bestandserhebung 2021. Published 1. digitale Auflage. Accessed February 4, 2022. https://cdn.dosb.de/user_upload/www.dosb.de/uber_uns/Bestandserhebung/BE-Heft_2021.pdf
2. Diese Sport-Events waren die Quotenrenner 2021. Published January 4, 2022. Accessed February 4, 2022. [qmde.de/131653](https://www.qmde.de/131653)
3. DFL Deutsche Fußball Liga. WIRTSCHAFTSREPORT 2021. Published online March 8, 2021. https://media.dfl.de/sites/2/2021/03/D_DFL_Wirtschaftsreport_2021_M.pdf
4. Hütter-Becker A., Dölken M. *Biomechanik, Bewegungslehre, Leistungsphysiologie, Trainingslehre*. 2. überarbeitete Auflage. pp 318-323; Thieme; 2011.
5. Mader A., Liesen H., Heck H., et al. Zur Beurteilung der sportartspezifischen Ausdauerleistungsfähigkeit im Labor. *Sportarzt und Sportmedizin*. 1976;27(4):80-88, 109-110, 112.
6. Heck H., Beneke R. 30 Jahre Laktatschwellen—was bleibt zu tun? *Dtsch Z Sportmed*. 2008;59(12):297-302.
7. Hopkins W.G. Quantification of training in competitive sports. Methods and applications. *Sports Med*. 1991;12(3):161-183.
8. Härtel S. *Entwicklung Und Analyse Walkingbasierter Ausdauer- Verfahren Im Rahmen Der Medizinischen Rehabilitation*. Vol 4 Karlsruher sportwissenschaftliche Beiträge. S.29; Universitätsverlag Karlsruhe; 2007.
9. Jones D.A., Rutherford O.M., Parker D.F. Physiological changes in skeletal muscle as a result of strength training. *Q J Exp Physiol*. 1989;74(3):233-256.

10. MacDougall J.D., Sale D.G., Moroz J.R., Elder G.C., Sutton J.R., Howald H. Mitochondrial volume density in human skeletal muscle following heavy resistance training. *Med Sci Sports*. 1979;11(2):164-166.
11. Fleck S.J., Kraemer W.J. *Designing Resistance Training Programs*. Vol 4th Edn. 507; Human Kinetics; 2014.
12. Marchese R., Hill A. *The Essential Guide to Fitness : For the Fitness Instructor*. 2nd ed. p.135; Pearson Australia; 2011.
13. Hartmann J., Tünnemann H. *Modernes Krafttraining*. Ullstein,; 1993.
14. Hurley B.F., Seals D.R., Ehsani A.A., et al. Effects of high-intensity strength training on cardiovascular function. *Med Sci Sports Exerc*. 1984;16(5):483-488.
15. Fleck S.J. Cardiovascular response to strength training. In: *KOMI, P V: Strength and Power in Sport Blackwell Scientific Publications*. 1992;2:305-315.
16. Bartholdi E., Schranz B., Radlinger L. Akute kardiovaskuläre und metabolische Beanspruchung im Muskelaufbautraining : (Teil 2) : eine empirische Untersuchung bei maximaler, submaximaler und mittlerer Ausbelastung am Beispiel der Leg-Press. *Physiotherapie = Fisioterapia*. 2001;37(9).
17. Holmes K.C. The swinging lever-arm hypothesis of muscle contraction. *Current Biology*. Issue 2(Vol 7):R112-R118.
18. Werner J. Muskelkater: Wichtig für den Muskelaufbau? Published September 4, 2017. Accessed October 22, 2020. <https://www.fitnessletter.de/muskelkater-muskelaufbau/>
19. Barrett K.E., Barman S.M., Boitano S., Brooks H.L. *Ganong's Review of Medical Physiology*. 25th ed. p.99; Mc Graw Hill Education. Lange; 2016.
20. Mescher A.L. *Junqueira's Basic Histology*. 13th ed. p.191; Mc Graw Hill Education. Lange; 2013.
21. Wall D. Physiology of Muscular Activity. *AIBS Bulletin*. 1960;10(2):45.
22. Kuipers H. Exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med*. 1994;15:132-135.
23. Ebbeling C.B., Clarkson P.M. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med*. 1989;7:207-234.
24. Clarkson P.M., Hubal M. J. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil*. 2002;81:52-69.
25. Malm C. Exercise-induced muscle damage and inflammation: Fact or fiction? *Acta Physiol Scand*. 2001;171:233-239.

26. Nosaka K., Lavender A., Newton M., Sacco P. Muscle damage in resistance training: Is muscle damage necessary for strength gain and muscle hypertrophy? *IJSHS*. 2003;1:1-8.
27. Armstrong R.B. Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Med Sci Sports Exerc*. 1984;16 (6):529-538.
28. Byrnes W.C., Clarkson P.M. Delayed onset muscle soreness and training. *Clin Sports Med*. 1986;5 (3):605-614.
29. Jones D.A., Newham D.J., Round J.M., Tolfree S.E. Experimental human muscle damage: morphological changes in relation to other indices of damage. *J Physiol*. 1986;375:435-448.
30. Cleak M.J., Eston R.G. Delayed onset muscle soreness: mechanisms and management. *J Sports Sci*. 1992;10 (4):325-341.
31. Newham D.J. The consequences of eccentric contractions and their relationship to delayed onset muscle pain. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1988;57(3):353-359.
32. Newham D.J., McPhail G., Mills K.R., Edwards R.H. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J Neurol Sci*. 1983;61:109-122.
33. Clarkson P.M., Byrnes W.C., McCormick K.M., Turcotte L.P., White J.S. Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *Int J Sports Med*. 1986;7:152-155.
34. Gibala M.J., MacDougall J.D., Tarnopolsky M.A., Stauber W.T., Elorriaga A. Changes in human skeletal muscle ultrastructure and force production after acute resistance exercise. *J Appl Physiol*. 1995;78:702-708.
35. Fridén J., Sjöström M., Ekblom B. Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int J Sports Med*. 1983;4:170-176.
36. Fridén J., Lieber R.L. Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med Sci Sports Exerc*. 1992;24:521-530.
37. Komulainen J., Kalliokoski R., Koskinen S.O.A., Drost M.R., Kuipers H., Hesselink M.K.C. Controlled lengthening or shortening contraction-induced damage is followed by fiber hypertrophy in rat skeletal muscle. *Int J Sports Med*. 2000;21:107-112.
38. Brigitte M., Schilte C., Plonquet A., et al. Muscle resident macrophages control the immune cell reaction in a mouse model of notexin-induced myoinjury. *Arthritis Rheum*. 2010;62:268-279.
39. McClung J.M., Davis J.M., Carson J.A. Ovarian hormone status and skeletal muscle inflammation during recovery from disuse in rats. *Exp Physiol*. 2007;92(1):219-232.

40. Malm C., Nyberg P., Engstrom M., et al. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *The Journal of physiology*, 529 Pt 1(Pt 1), 243–262. *The Journal of physiology*. 2000;529 Pt 1(Pt 1):243-262.
41. Tidball J.G. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005;288:345-353.
42. Lowe D.A., Warren G.L., Ingalls C.P., Boorstein D.B., Armstrong R.B. Muscle function and protein metabolism after initiation of eccentric contraction-induced injury. *J Appl Physiol*. 1995;79:1260-1270.
43. Tiidus P.M. Radical species in inflammation and overtraining. *Can J Physiol Pharmacol*. 1998;76:533-538.
44. Bondesen B.A., Mills S.T., Kegley K.M., Pavlath G.K. The COX-2 pathway is essential during early stages of skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2004;287:475-483.
45. Proske U., Morgan D.L. Muscle damage from eccentric exercise: Mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol*. 2001;537:333-345.
46. Howatson G., Milak A. Exercise-induced muscle damage following a bout of sport specific repeated sprints. *J Strength Cond Res*. 2009;23:2419-2424.
47. St Pierre B.A., Tidball J.G. Differential response of macrophage subpopulations to soleus muscle reloading after rat hindlimb suspension. *J Appl Physiol*. 1994;77:290-297.
48. Yang W., Hu P. Skeletal muscle regeneration is modulated by inflammation. *J Orthop Transl*. 2018;13:25-32.
49. Baar K. Training for endurance and strength: lessons from cell signaling. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(11):1939-1944.
50. Egan B., Zierath J.R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab*. 2013;17(2):162-184.
51. Hawley J.A., Hargreaves M., Joyner M.J., Zierath J.R. Integrative biology of exercise. *Cell*. 2014;159(4):738-749.
52. Coffey V.G., Hawley J.A. The molecular bases of training adaptation. *Sports Med*. 2007;37(9):737-763.
53. Little J.P., Safdar A., Bishop D., Tarnopolsky M.A., Gibala M.J. An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2011;300(6):R1303-R1310.

54. Metcalfe R.S., Koumanov F., Ruffino J.S., et al. Physiological and molecular responses to an acute bout of reduced-exertion high-intensity interval training (REHIT). *Eur J Appl Physiol.* 2015;115(11):2321-2334.
55. Booth F.W., Narahara K.A. Vastus lateralis cytochrome oxidase activity and its relationship to maximal oxygen consumption in man. *Pflugers Arch.* 1974;349(4):319-324.
56. Hoppeler H., Howald H., Conley K., et al. Endurance training in humans: aerobic capacity and structure of skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 1985;59(2):320-327.
57. Jacobs R.A., Lundby C. Mitochondria express enhanced quality as well as quantity in association with aerobic fitness across recreationally active individuals up to elite athletes. *J Appl Physiol.* 2013;114(3):344-350.
58. Hill A.V., Lupton H. Muscular exercise, lactic acid, and the supply and utilization of oxygen. *Q J Med.* 1923;16(62):135-171.
59. Hill A.V., Long C.N.H., Lupton H. Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilisation of oxygen. - Parts VII-VIII. *Proc R Soc Lond.* 1924;97(682):155-176.
60. Green H.J., Jones L.L., Painter D.C. Effects of short-term training on cardiac function during prolonged exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 1990;22(4):488-493.
61. Goodman J.M., Liu P.P., Green H.J. Left ventricular adaptations following short-term endurance training. *J Appl Physiol.* 2005;98(2):454-460.
62. Warburton D.E., Haykowsky M.J., Quinney H.A., et al. Blood volume expansion and cardiorespiratory function: effects of training modality. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36(6):991-1000.
63. Esfandiari S., Sasson Z., Goodman J.M. Short-term high-intensity interval and continuous moderate-intensity training improve maximal aerobic power and diastolic filling during exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2014;114(2):331-343.
64. Morganroth J., Maron B.J., Henry W.L., Epstein S.E. Comparative left ventricular dimensions in trained athletes. *Ann Intern Med.* 1975;82(4):521-524.
65. Gilbert C.A., Nutter D.O., Felner J.M., Perkins J.V., Heymsfield S.B., Schlant R.C. Echocardiographic study of cardiac dimensions and function in the endurance-trained athlete. *Am J Cardiol.* 1977;40(4):528-533.
66. Parker B.M., Londeree B.R., Cupp G.V., Dubiel J.P. The noninvasive cardiac evaluation of long-distance runners. *Chest.* 1978;73(3):376-381.
67. Ikäheimo M.J., Palatsi I.J., Takkunen J.T. Noninvasive evaluation of the athletic heart: sprinters versus endurance runners. *Am J Cardiol.* 1979;44(1):24-30.

68. Nishimura T., Yamada Y., Kawai C. Echocardiographic evaluation of long-term effects of exercise on left ventricular hypertrophy and function in professional bicyclists. *Circulation*. 1980;61(4):832-840.
69. Schoenfeld B.J. The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *J Strength Cond Res*. 2010;24(10):2857-2872.
70. Mayhew T.P., Rothstein J.M., Finucane S.D., Lamb R.L. Muscular adaptation to concentric and eccentric exercise at equal power levels. *Med Sci Sports Exerc*. 1995;27(6):868-873.
71. Higbie E.J., Cureton K.J., Warren G.L., Prior B.M. Effects of concentric and eccentric training on muscle strength, cross-sectional area, and neural activation. *J Appl Physiol*. 1996;81(5):2173-2181.
72. Hortobágyi T., Hill J.P., Houmard J.A., Fraser D.D., Lambert N.J., Israel R.G. Adaptive responses to muscle lengthening and shortening in humans. *J Appl Physiol*. 1996;80(3):765-772.
73. Hortobágyi T., Dempsey L., Fraser D., et al. Changes in muscle strength, muscle fibre size and myofibrillar gene expression after immobilization and retraining in humans. *J Physiol*. 2000;524:293-304.
74. Seger J.Y., Arvidsson B., Thorstensson A. Specific effects of eccentric and concentric training on muscle strength and morphology in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998;79(1):49-57.
75. Vikne H., Refsnes P.E., Ekmark M., Medbø J.I., Gundersen V., Gundersen K. Muscular performance after concentric and eccentric exercise in trained men. *Med Sci Sports Exerc*. 2006;38(10):1770-1781.
76. Farup J., Rahbek S.K., Vendelbo M.H., et al. Whey protein hydrolysate augments tendon and muscle hypertrophy independent of resistance exercise contraction mode. *Scand J Med Sci Sports*. 2014;24(5):788-798.
77. Goldberg A.L., Etlinger J.D., Goldspink D.F., Jablecki C. Mechanism of work-induced hypertrophy of skeletal muscle. *Med Sci Sports*. 1975;7(3):185-198.
78. Fry A.C. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sports Med*. 2004;34(10):663-679.
79. Fry C.S., Kirby T.J., Kosmac K., McCarthy J.J., Peterson C.A. Myogenic Progenitor Cells Control Extracellular Matrix Production by Fibroblasts during Skeletal Muscle Hypertrophy. *Cell Stem Cell*. 2017;(20):56-69.
80. Csapo R., Gumpenberger M., Wessner B. Skeletal Muscle Extracellular Matrix - What Do We Know About Its Composition, Regulation, and Physiological Roles? A Narrative Review. *Front Physiol*. 2020;(19;11):253.

81. Almada A.E., Wagers A.J. Molecular circuitry of stem cell fate in skeletal muscle regeneration, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2016;(17(5)):267-279.
82. Nielsen A.R., Pedersen B.K. The biological roles of exercise-induced cytokines: IL-6, IL-8, and IL-15. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2007;32(5):833-839.
83. Quinn L.S. Interleukin-15: A muscle-derived cytokine regulating fat-to-lean body composition. *J Anim Sci.* 2008;86(14):E75-E83.
84. Serrano A.L., Baeza-Raja B., Perdiguero E., Jardí M., Muñoz-Cánoves P. Interleukin-6 is an essential regulator of satellite cell-mediated skeletal muscle hypertrophy. *Cell Metab.* 2008;7(1):33-44.
85. Koh T.J., Pizza F.X. Do inflammatory cells influence skeletal muscle hypertrophy? *Front Biosci (Elite Ed).* 2009;1:60-71.
86. Tidball J.G. Regulation of muscle growth and regeneration by the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017;17:165-178.
87. Deng B., Wehling-Henricks M., Villalta S.A., Wang Y., Tidball J.G. IL-10 triggers changes in macrophage phenotype that promote muscle growth and regeneration. *J Immunol.* 2012;189:3669-3680.
88. Londhe P., Davie J.K. Gamma interferon modulates myogenesis through the major histocompatibility complex class II transactivator, CIITA. *Mol Cell Biol.* 2011;31:2854-2866.
89. Cheng M., Nguyen M.H., Fantuzzi G., Koh T.J. Endogenous interferon- gamma is required for efficient skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;294:C1183-C1191.
90. Ulbricht A., Gehlert S., Leciejewski B., Schiffer T., Bloch W., Höhefeld J. Induction and adaptation of chaperone-assisted selective autophagy CASA in response to resistance exercise in human skeletal muscle. *Autophagy.* 2015;11:538-546.
91. Kathage B., Gehlert S., Ulbricht A., et al. The cochaperone BAG3 coordinates protein synthesis and autophagy under mechanical strain through spatial regulation of mTORC1. *Biochim Biophys Acta.* 2017;1864:62-75.
92. Carmeli E., Moas M., Reznick A.Z., Coleman R. Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: a brief review. *Muscle Nerve.* 2004;29(2):191-197.
93. Ueno Y., Umeda T., Takahashi I., et al. Changes in immune functions during a peaking period in male university soccer players. *Luminescence.* 2013;28(4):574-581.
94. Lee E.C., Fragala M.S., Kavouras S.A., Queen R.M., Pryor J.L., Casa D.J. Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. *J Strength Cond Res.* 2017;31(10):2920-2937.

95. Bacharach D.W., Petit M., Rundell K.W. Relationship of blood urea nitrogen to training intensity of elite female biathlon skiers. *J Strength Cond Res.* 1996;10(2):105-108.
96. Hong C.Z., Lien I.N. Metabolic effects of exhaustive training of athletes. *Arch Phys Med Rehabil.* 1984;65(7):362-365.
97. Billat L.V. Use of blood lactate measurements for prediction of exercise performance and for control of training. Recommendations for long-distance running. *Sports Med.* 1996;22(3):157-175.
98. Urhausen A., Kullmer T., Kindermann W. A 7-week follow-up study of the behaviour of testosterone and cortisol during the competition period in rowers. *Eur J Appl Physiol.* 1987;56:528-533.
99. Urhausen A., Gabriel H., Kindermann W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sports Medicine.* 1995;20:251-276.
100. Meeusen R., Duclos M., Foster C., et al. 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. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(1):186-205.
101. Wiewelhove T., Fernandez-Fernandez J., Raeder C., et al. Acute responses and muscle damage in different high-intensity interval running protocols. *J Sports Med Phys Fitness.* 2016;56(5):606-615.
102. Wiewelhove T., Raeder C., Meyer T., Kellmann M., Pfeiffer M., Ferrauti A. Markers for Routine Assessment of Fatigue and Recovery in Male and Female Team Sport Athletes during High- Intensity Interval Training. *PLoS One.* 2015;10(10):e0139801.
103. Stegmann H., Kindermann W., Schnabel A. Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *Int J Sports Med.* 1981;2(3):160-165.
104. Denadai B. S., Guglielmo LGA., Denadai MLDR. Effect of exercise mode on the blood lactate removal during recovery of high-intensity exercise. *Biol Sport.* 2000;17:37-45.
105. Urhausen A., Coen B., Weiler B., Kindermann W. Individual anaerobic threshold and maximum lactate steady state. *Int J Sports Med.* 1993;14:134-139.
106. Urhausen A., Gabriel H.H., Kindermann W. Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30(3):407-414.
107. Ament W., Verkerke G. Exercise and fatigue. *Sports Medicine.* 2009;39 (5):389-422.
108. Meeusen R., Watson P., Hasegawa H., Roelands B., Piacentini M.F. Central fatigue: The serotonin hypothesis and beyond. *Sports Medicine.* 2006;36 (10):881-909.

109. Bessa A., Nissembaum M., Monteiro A.N., et al. High intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. *Br J Sports Med.* 2008;42(11):889-893.
110. Brancaccio P., Maffulli N., Limongelli F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull.* 2007;81-82:209-230.
111. Chen T.C., Hsieh, S.S. Effects of a 7-day eccentric training period on muscle damage and inflammation. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:1732-1738.
112. Brancaccio P., Lippi G., Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(6):757-767.
113. Mougios, V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med.* 2007;41:674-678.
114. Brancaccio P., Limongelli F.M., Maffulli N. Monitoring of serum enzymes in sport. *Br J Sports Med.* 2006;40(2):96-97.
115. Brancaccio P., Maffulli N., Buonauro R., Limongelli F.M. Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med.* 2008;27(1):1-18.
116. Lehmann M., Foster C., Dickhuth H.H., Gastmann U. Autonomic imbalance hypothesis and overtraining syndrome. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30(7):1140-1145.
117. Fry R.W., Morton A.R., Keast D. Overtraining in athletes. *Sports Med.* 1991;12:32-65.
118. Kuipers H., Keizer H.A. Overtraining in elite athletes: review and directions for the future. *Sports Med.* 1988;6:79-92.
119. Nedelec M., McCall A., Carling C., Legall F., Berthoin S., Dupont G. Recovery in soccer: part I—post- match fatigue and time course of recovery. *Sports Med.* 2012;42(12):997-1015.
120. Bangsbo J., Lindquist F. Comparison of various exercise tests with endurance performance during soccer in professional players. *Int J Sports Med.* 1992;13(2):125-132.
121. MacKinnon L.T. Special feature for the Olympics: Effects of exercise on the immune system: Overtraining effects on immunity and performance in athletes. *Immunol Cell Biol.* 2000;78(5):502-509.
122. Smith L.L. Cytokine hypothesis of overtraining: A physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(2):317-331.
123. Halson S.L., Jeukendrup A.E. Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Med.* 2004;34(14):967-981.

124. Pearce P.Z. A practical approach to the overtraining syndrome. *Curr Sports Med Rep.* 2002;1(3):179-183.
125. Vervoorn C., Quist A.M., Vermulst L.J., Erich W.B., de Vries W.R., Thijssen J.H. The behaviour of the plasma free testosterone/ cortisol ratio during a season of elite rowing training. *Int J Sports Med.* 1991;12:257-263.
126. Banfi G., Marinelli M., Roi G.S., Agape V. Usefulness of free testosterone/cortisol ratio during a season of elite speed skating athletes. *Int J Sports Med.* 1993;14:373-379.
127. Kraemer W.J., French D.N., Paxton N.J., et al. Changes in exercise performance and hormonal concentrations over a big ten soccer season in starters and nonstarters. *J Strength Cond Res.* 2004;18(1):121-128.
128. Chicharro J.L., López-Mojares L.M., Lucía A., et al. Overtraining parameters in special military units. *Aviat Space Environ Med.* 1998;69(6):562-568.
129. Deepa S.S., Yamada S., Zako M., Goldberger O., Sugahara K. Chondroitin sulfate chains on syndecan-1 and syndecan-4 from normal murine mammary gland epithelial cells are structurally and functionally distinct and cooperate with heparan sulfate chains to bind growth factors. A novel function to control binding of midkine, pleiotrophin, and basic fibroblast growth factor. *J Biol Chem.* 2004;279(36):37368-37376.
130. Bertrand J., Bollmann M. Soluble syndecans: biomarkers for diseases and therapeutic options. *Br J Pharmacol.* 2019;176(1):67-81.
131. Carey D.J. Syndecans: Multifunctional cell-surface co-receptors. *Biochem J.* 1997;327(1):1-16.
132. Kim C.W., Goldberger O.A., Gallo R.L., Bernfield M. Members of the syndecan family of heparan sulfate proteoglycans are expressed in distinct cell-, tissue-, and development-specific patterns. *Mol Biol Cell.* 1994;5:797-805.
133. Couchman J.R. Syndecans: proteoglycan regulators of cell-surface microdomains? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:926-937.
134. Cevikbas F., Schaefer L., Uhlig P., et al. Unilateral nephrectomy leads to up-regulation of syndecan-2- and TGF-beta-mediated glomerulosclerosis in syndecan-4 deficient male mice. *Matrix Biology.* 2008;27(1):42-52.
135. Bertrand J., Stange R., Hidding H., et al. Syndecan 4 supports bone fracture repair, but not fetal skeletal development, in mice. *Arthritis Rheum.* 2013;65(3):743-752.
136. Pap T., Bertrand J. Syndecans in cartilage breakdown and synovial inflammation. *Nat Rev Rheumatol.* 2013;9(1):43-55.
137. Couchman J.R. Transmembrane signalling proteoglycans. *Ann Rev Cell Dev Biol.* 2010;26:89-114.

138. Tanaka K.K., Hall J.K., Troy A.A., Cornelison D.D., Majka S.M., Olwin B.B. Syndecan-4-expressing muscle progenitor cells in the SP engraft as satellite cells during muscle regeneration. *Cell Stem Cell*. 2009;4(3):217-225.
139. VanWinkle W.B., Snuggs M.B., De Hostos E.L., Buja L.M., Woods A., Couchman J.R. Localization of the transmembrane proteoglycan syndecan-4 and its regulatory kinases in costameres of rat cardiomyocytes: a deconvolution microscopic study. *Anat Rec*. 2002;268:38-46.
140. Yamashita Y., Oritani K., Miyoshi E. K., Wall R., Bernfield M., Kincade P. W. Syndecan-4 is expressed by B-lineage lymphocytes and can transmit a signal for formation of dendritic processes. *J Immunol*. 1999;162:5940-5948.
141. Yeaman C., Rapraeger A. C. Membrane-anchored proteoglycans of mouse macrophages: P388D1 cells express a syndecan-4-like heparan sulfate proteoglycan and a distinct chondroitin sulfate form. *J Cell Physiol*. 1993;157:413-425.
142. Kaneider N. C., Egger P., Dunzendorfer S., Wiedermann C. J. Syndecan-4 as antithrombin receptor of human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;287:42-46.
143. Kaneider N.C., Reinisch C.M., Dunzendorfer S., Römisch J., Wiedermann C.J. Syndecan-4 mediates antithrombin-induced chemotaxis of human peripheral blood lymphocytes and monocytes. *J Cell Sci*. 2002;115:227-236.
144. Li L., Couse T.L., DeLeon H., Xu C.P., Wilcox J.N., Chaikof E.L. Regulation of syndecan-4 expression with mechanical stress during the development of angioplasty-induced intimal thickening. *J Vasc Surg*. 2002;36:361-370.
145. Xie J., He G., Chen Q., et al. Syndecan-4 Signaling is Required for exercise-induced Cardiac Hypertrophy. *Mol Med*. 2016;22:192-201.
146. Lee S., Kolset S.O., Birkeland K.I., Drevon C.A., Reine T.M. Acute exercise increases syndecan-1 and -4 serum concentrations. *Glycoconj J*. 2019;36:113-125.
147. Partovian C., Ju R., Zhuang Z.W., Martin K.A., Simons M. Syndecan-4 regulates subcellular localization of mTOR Complex2 and Akt activation in a PKCalpha-dependent manner in endothelial cells. *Mol Cell*. 2008;32(1):140-149.
148. Chittenden T.W., Claes F., Lanahan A.A., et al. Selective regulation of arterial branching morphogenesis by synectin. *Dev Cell*. 2006;10(6):783-795.
149. Echtermeyer F., Streit M., Wilcox-Adelman S., et al. Delayed wound repair and impaired angiogenesis in mice lacking syndecan-4. *J Clin Invest*. 2001;107(2):R9-R14.
150. Cornelison D.D., Filla M.S., Stanley H.M., Rapraeger A.C., Olwin B.B. Syndecan-3 and syndecan-4 specifically mark skeletal muscle satellite cells and are implicated in satellite cell maintenance and muscle regeneration. *Dev Biol*. 2001;239(1):79-94.

151. Ronning S.B., Carlson C.R., Stang E., Kolset S.O., Hollung K., Pedersen M.E. Syndecan-4 regulates muscle differentiation and is internalized from the plasma membrane during Myogenesis. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129288.
152. Chung H., Multhaupt H.A., Oh E.S., Couchman J.R. Syndecans and their crucial roles during tissue regeneration. *FEBS Lett*. 2016;590(15):2408-2417.
153. Keller-Pinter A., Szabo K., Kocsis T., et al. Syndecan-4 influences mammalian myoblast proliferation by modulating myostatin signalling and G1/S transition. *FEBS Lett*. 2018;592:3139-3151.
154. Almeida C.F., Fernandes S.A., Ribeiro Junior A.F., Keith Okamoto O., Vainzof M. Muscle satellite cells: exploring the basic biology to rule them. *Stem Cells Int*. 2016;Vol. 2016:1078686.
155. Cornelison D.D., Wilcox-Adelman S.A., Goetinck P.F., Rauvala H., Rapraeger A.C., Olwin B.B. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes Dev*. 2004;18(18):2231-2236.
156. Bass M.D., Williamson R.C., Nunan R.D., et al. A Syndecan-4 Hair Trigger Initiates Wound Healing through Caveolin- and RhoG-Regulated Integrin Endocytosis. *Dev Cell*. 2011;21(4):681-693.
157. Morgan M.R., Hamidi H., Bass M.D., Warwood S., Ballestrem C., Humphries M.J. Syndecan-4 Phosphorylation Is a Control Point for Integrin Recycling. *Developmental Cell*. 2013;24(5):472-485.
158. Godmann L., Bollmann M., Korb-Pap A., et al. Antibody-mediated inhibition of syndecan- 4 dimerisation reduces interleukin (IL)-1 receptor trafficking and signalling. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2020;79(4):481-489.
159. Jalkanen M., Rapraeger A., Saunders S., Bernfield M.J. Cell surface proteoglycan of mouse mammary epithelial cells is shed by cleavage of its matrix-binding ectodomain from its membrane-associated domain. *Cell Biol*. 1987;105:3087-3096.
160. Fitzgerald M.L., Wang Z., Park P.W., Murphy G., Bernfield M. Shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains is regulated by multiple signaling pathways and mediated by a TIMP-3-sensitive metalloproteinase. *J Cell Biol*. 2000;148:811-824.
161. Yanagishita M. Cellular catabolism of heparan sulfate proteoglycans. *TIG (Trends Genet)*. 1998;10:57-63.
162. Yanagishita M., Hascall V.C. Cell surface heparan sulfate proteoglycans. *J Biol Chem*. 1992;267:9451-9454.
163. Tan X., Khalil N., Tesarik C., et al. Th1 cytokine- induced syndecan-4 shedding by airway smooth muscle cells is dependent on mitogen- activated protein kinases. *Am J Physiol - Lung Cell Mol Physiol*. 2012;302(7):L700-L710.

164. Manon-Jensen T., Itoh Y., Couchman J. R. Proteoglycans in health and disease: the multiple roles of syndecan shedding. *FEBS J.* 2010;277:3876-3889.
165. Julien M.A., Wang P., Haller C.A., Wen J., Chaikof E.L. Mechanical strain regulates syndecan-4 expression and shedding in smooth muscle cells through differential activation of MAP kinase signaling pathways. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292(1):C517-C525.
166. Reizes O., Goldberger O., Smith A.C., Xu Z., Bernfield M., Bicke P.E. Insulin promotes shedding of syndecan ectodomains from 3T3-L1 adipocytes: A proposed mechanism for stabilization of extracellular lipoprotein lipase. *Biochemistry.* 2006;45(18):5703-5711.
167. Manon-Jensen T., Multhaupt H.A.B., Couchman J. R. Mapping of matrix metalloproteinase cleavage sites on syndecan-1 and syndecan-4 ectodomains. *FEBS J.* 2013;280:2320-2331.
168. Pruessmeyer J., Martin C., Hess F.M., et al. A disintegrin and metalloproteinase 17 (ADAM17) mediates inflammation-induced shedding of syndecan-1 and -4 by lung epithelial cells. *J Biol Chem.* 2010;285(1):555-564.
169. Brule S., Charnaux N., Sutton A., et al. The shedding of syndecan-4 and syndecan-1 from HeLa cells and human primary macrophages is accelerated by SDF-1/CXCL12 and mediated by matrix metalloproteinase-9. *Glycobiology.* 2006;16:488-501.
170. Rodríguez-Manzanegue J.C., Carpizo D., Plaza-Calonge Mdel C., et al. Cleavage of syndecan-4 by ADAMTS1 provokes defects in adhesion. *Int J Biochem Cell Biol.* 2009;41(4):800-810.
171. Subramanian S.V., Fitzgerald M.L., Bernfield M. Regulated shedding of syndecan-1 and -4 ectodomains by thrombin and growth factor receptor activation. *J Biol Chem.* 1997;272:14713-14720.
172. Ramnath R., Foster R.R., Qiu Y., et al. Matrix metalloproteinase 9-mediated shedding of syndecan 4 in response to tumor necrosis factor α : a contributor to endothelial cell glycocalyx dysfunction. *FASEB J.* 2014;28:4686-4699.
173. Schmidt A., Echtermeyer F., Alozie A., Brands K., Buddecke E. Plasmin- and Thrombin-accelerated Shedding of Syndecan-4 Ectodomain Generates Cleavage Sites at Lys114–Arg115 and Lys129–Val130 Bonds*. *J Biol Chem.* 2005;280 (41):24441-34446.
174. Hjorth M., Norheim F., Meen A.J., et al. The effect of acute and long-term physical activity on extracellular matrix and serglycin in human skeletal muscle. *Physiological Reports.* 2015;3(8):e12473.
175. Bernfield M., Götte M., Park P.W., et al. Functions of cell surface heparan sulfate proteoglycans. *Annu Rev Biochem.* 1999;68:729-777.

176. Bielecka-Dabrowa A., von Haehling S., Aronow W.S., Ahmed M.I., Rysz J., Banach M. Heart failure biomarkers in patients with dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2013;168(3):2404-2410.
177. Takahashi R., Negishi K., Watanabe A., et al. Serum syndecan-4 is a novel biomarker for patients with chronic heart failure. *Journal of Cardiology.* 2011;57(3):325-332.
178. Bielecka-Dabrowa A., Gluba-Brzózka A., Michalska-Kasiczak M., Misztal M., Rysz J., Banach M. The multi-biomarker approach for heart failure in patients with hypertension. *Int J Mol Sci.* 2015;16(5):10715-10733.
179. Nikaido T., Tanino Y., Wang X., et al. Serum Syndecan-4 as a Possible Biomarker in Patients With Acute Pneumonia. *Journal of Infectious Diseases.* 2015;219(9):1500-1508.
180. Luo Q., Ning P., Zheng Y., Shang Y., Zhou B., Gao Z. Serum suPAR and syndecan-4 levels predict severity of community-acquired pneumonia: a prospective, multi-centre study. *Crit Care.* 2018;22(1):15.
181. Sato Y., Tanino Y., Wang X., et al. Baseline serum syndecan- 4 predicts prognosis after the onset of acute exacerbation of idiopathic interstitial pneumonia. *PloS one.* 2017;12(5):e0176789.
182. Nakao M., Sugaya M., Takahashi N., et al. Increased syndecan-4 expression in sera and skin of patients with atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res.* 2016;308(9):655-660.
183. Bollmann M., Pinno K., Ehnold L.I., et al. MMP-9 mediated Syndecan-4 shedding correlates with osteoarthritis severity. *Osteoarthr Cartil.* 2020;29 (2):280-289.
184. Cui N., Hu M., Khalil R.A. Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases. *Prog Mol Transl Sci.* 2017;147:1-73.
185. Tomlinson M.L., Garcia-Morales C., Abu-Elmagd M., Wheeler G.N. Three matrix metalloproteinases are required in vivo for macrophage migration during embryonic development. *Mech Dev.* 2008;125(11-12):1059-1070.
186. Behrendtsen O., Werb Z. Metalloproteinases regulate parietal endoderm differentiating and migrating in cultured mouse embryos. 1997;208:255-265.
187. Vu T.H., Werb Z. Matrix metalloproteinases: effectors of development and normal physiology. *Genes & Dev.* 2000;14:2123-2133.
188. Harris E.D. Jr. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N Engl J Med [Review].* 1990;322(18):1277-89.
189. Jones C.B., Sane D.C., Herrington D.M. Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome. *Cardiovascular Research.* 2003;59(4):812-823.

190. Kim K.S., Lee Y.A., Choi H.M., Yoo M.C., Yang H.I. Implication of MMP-9 and urokinase plasminogen activator (uPA) in the activation of pro-matrix metalloproteinase (MMP)-13. *Rheumatology International*. 2012;32(10):3069-3075.
191. Bani C., Lagrota-Candido J., Pinheiro D.F., et al. Pattern of metalloprotease activity and myofiber regeneration in skeletal muscles of mdx mice. *Muscle Nerve*. 2008;37(5):583-592.
192. Nagase H., Enghild J. J., Suzuki K., Salvesen G. Stepwise activation mechanisms of the precursor of the matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) by proteinases and (4-aminophenyl)mercuric acetate. *Biochemistry*. 1990;29(24):5783-5789.
193. Brinckerhoff C. E., Matrisian L. M. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:207-214.
194. Visse R., Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry. *Circ Res*. 2003;92:827-839.
195. Cornelison D. D. W. Context matters: in vivo and in vitro influences on muscle satellite cell activity. *J Cell Biochem*. 2008;105:663-669.
196. Gargioli C., Coletta M., Grandis F. D., Cannata S. M., Cossu G. PIGF-MMP-9-expressing cells restore microcirculation and efficacy of cell therapy in aged dystrophic muscle. *Nat Med*. 2008;14:973-978.
197. Zimowska M., Brzoska E., Swierczynska M., Streminska W., Moraczewski J. Distinct patterns of MMP-9 and MMP-2 activity in slow and fast twitch skeletal muscle regeneration in vivo. *Int J Dev Biol*. 2008;52:307-314.
198. Mauris J., Woodward A.M., Cao Z., Panjwani N., Argueso P. Molecular basis for MMP9 induction and disruption of epithelial cell-cell contacts by galectin-3. *J Cell Sci*. 2014;127(14):3141-3148.
199. Velleman S.G. Role of the extracellular matrix in muscle growth and development. *Journal of Animal Science*. 2002;80(2):E8-E13.
200. Parker M. H., Seale P., Rudnicki M. A. Looking back to the embryo: defining transcriptional networks in adult myogenesis. *Nat Rev Genet*. 2003;4:497-507.
201. Brand-Saberi B. Genetic and epigenetic control of skeletal muscle development. *Ann Anat*. 2005;187:199-207.
202. Lewis M.P., Tippet H.L., Sinanan A.C., Morgan M.J., Hunt N.P. Gelatinase-B (matrix metalloproteinase-9; MMP-9) secretion is involved in the migratory phase of human and murine muscle cell cultures. *J Muscle Res Cell Motil*. 2000;21:223-233.
203. Nadarajah V.D., van Putten M., Chaouch A., et al. Serum matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a biomarker for monitoring disease progression in Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Neuromuscul Disord*. 2011;21(8):569-578.

204. Kumar A., Bhatnagar S., Kumar A. Matrix metalloproteinase inhibitor batimastat alleviates pathology and improves skeletal muscle function in dystrophin-deficient mdx mice. *Am J Pathol.* 2010;177(1):248-260.
205. Li H., Mittal A., Makonchuk D.Y., Bhatnagar S., Kumar A. Matrix metalloproteinase-9 inhibition ameliorates pathogenesis and improves skeletal muscle regeneration in muscular dystrophy. *Hum Mol Genet.* 2009;18(14):2584-2598.
206. Dahiya S., Bhatnagar S., Hindi S.M., et al. Elevated levels of active matrix metalloproteinase-9 cause hypertrophy in skeletal muscle of normal and dystrophin-deficient mdx mice. *Hum Mol Genet.* 2011;20(22):4345-4359.
207. Mehan R.S., Greybeck B.J., Emmons K., Byrnes W.C., Allen D.L. Matrix metalloproteinase-9 deficiency results in decreased fiber cross-sectional area and alters fiber type distribution in mouse hindlimb skeletal muscle. *Cells Tissues Organs.* 2011;194(6):510-520.
208. Ogasawara R., Nakazato K., Sato K., Boppart M. D., Fujita S. Resistance exercise increases active MMP and b1-integrin protein expression in skeletal muscle. *Physiol Rep.* 2014;2 (11):e12212.
209. Rullman E., Rundqvist H., Wågsäter D., et al. A single bout of exercise activates matrix metalloproteinase in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2007;102(6):2346-2351.
210. Rullman E., Norrbom J., Strömberg A., et al. Endurance exercise activates matrix metalloproteinases in human skeletal muscle. *J Appl Physiol.* 2009;106(3):804-812.
211. Koskinen S.O., Höyhty M., Turpeenniemi-Hujanen T., et al. Serum concentrations of collagen degrading enzymes and their inhibitors after downhill running. *Scand J Med Sci Sports.* 2001;11(1):9-15.
212. Saenz, A.J., Lee-Lewandrowski E., Wood M.J., et al. Measurement of a plasma stroke biomarker panel and cardiac troponin T in marathon runners before and after the 2005 Boston marathon. *Am J Clin Pathol.* 2006;126:185-192.
213. Suhr F., Brixius K., de Marées M., et al. Effects of short-term vibration and hypoxia during high-intensity cycling exercise on circulating levels of angiogenic regulators in humans. *J Appl Physiol (1985).* 2007;103(2):474-483.
214. Urso M.L., Pierce J.R., Alemany J.A., Harman E.A., Nindl B.C. Effects of exercise training on the matrix metalloprotease response to acute exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2009;106(5):655-663.
215. Suhr F., Rosenwick C., Vassiliadis A., Bloch W., Brixius K. Regulation of extracellular matrix compounds involved in angiogenic processes in short- and long-track elite runners. *Scand J Med Sci Sports.* 2010;20(3):441-448.

216. Reihmane D., Jurka A., Tretjakovs P. The relationship between maximal exercise-induced increases in serum IL-6, MPO and MMP-9 concentrations. *Scand J Immunol.* 2012;76:188-192.
217. Reihmane D., Jurka A., Tretjakovs P., Dela F. Increase in IL-6, TNF- α , and MMP-9, but not sICAM-1, concentrations depends on exercise duration. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(4):851-858.
218. Rullman E., Olsson K., Wågsäter D., Gustafsson T. Circulating MMP-9 during exercise in humans. *Eur J Appl Physiol.* 2013;113(5):1249-1255.
219. Ross M.D., Wekesa A.L., Phelan J.P., Harrison M. Resistance exercise increases endothelial progenitor cells and angiogenic factors. *Med Sci Sports Exerc.* 2014;46(1):16-23.
220. Welsh M.C., Allen D.L., Byrnes W.C. Plasma matrix metalloproteinase-9 response to downhill running in humans. *Int J Sports Med.* 2014;35(5):363-370.
221. van de Vyver M., Engelbrecht L., Smith C., Myburgh K.H. Neutrophil and monocyte responses to downhill running: Intracellular contents of MPO, IL-6, IL-10, pstat3, and SOCS3. *Scand J Med Sci Sports.* 2016;26(6):638-647.
222. Schild M., Eichner G., Beiter T., et al. Effects of Acute Endurance Exercise on Plasma Protein Profiles of Endurance-Trained and Untrained Individuals over Time. *Mediators Inflamm.* 2016;(2016):4851935.
223. Saksela O., Rifkin D.B. Cell-associated plasminogen activation: regulation and physiological functions. *Annu Rev Cell Biol.* 1988;4:93-126.
224. Andreasen P.A., Kjoller L., Christensen L., Duffy M.J. The urokinase-type plasminogen activator system in cancer metastasis: a review. *Int J Cancer.* 1997;72(1):1-22.
225. Collen D., Lijnen H.R. Basic and clinical aspects of fibrinolysis and thrombolysis. *Blood.* 1991;78(12):3114-3124.
226. Irigoyen J.P., Muñoz-Cánoves P., Montero L., Koziczak M., Nagamine Y. The plasminogen activator system: biology and regulation. *Cell Mol Life Sci.* 1999;56(1-2):104-132.
227. Alexander C.M., Werb Z. *Extracellular Matrix Degradation*. Second Edition:pp 255-302. Hay ED, eds. Cell Biology of Extracellular Matrix, Springer, Boston, MA; 1991.
228. Mazzieri R., Masiero L., Zanetta L., et al. Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase-plasmin system: a regulatory mechanism with cell-bound reactants. *EMBO J.* 1997;16(9):2319-2332.
229. Nagase H., Visse R., Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res.* 2006;69(3):562-573.

230. Suelves M., López-Alemaný R., Lluís F., et al. Plasmin activity is required for myogenesis in vitro and skeletal muscle regeneration in vivo. *Blood*. 2002;99(8):2835-2844.
231. Röcker L., Taenzer M., Drygas W.K., Lill H., Heyduck B., Altenkirch H.U. Effect of prolonged physical exercise on the fibrinolytic system. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1990;60(6):478-481.
232. Carney D.H., Glenn K.C., Cunningham D.D. Conditions which affect initiation of animal cell division by trypsin and thrombin. *J Cell Physiol*. 1978;95(1):13-22.
233. McNamara C.A., Sarembock I.J., Gimple L.W., Fenton J.W. Jr., Coughlin S.R., Owens G.K. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated receptor. *J Clin Invest*. 1993;91:94-98.
234. Perraud F., Besnard F., Sensenbrenner M., Labourdette G. Thrombin is a potent mitogen for rat astroblasts but not for oligodendroblasts and neuroblasts in primary culture. *Int J Dev Neurosci*. 1987;5(3):181-188.
235. Zimmerman G.A., McIntyre T.M., Prescott S.M. Thrombin stimulates the adherence of neutrophils to human endothelial cells in vitro. *J Clin Invest*. 1985;76(6):2235-2246.
236. Lo S.K., Lai L., Cooper J.A., Malik A.B. Thrombin-induced generation of neutrophil activating factors in blood. *Am J Pathol*. 1988;130(1):22-32.
237. Stein E.S., Shimon M.B., Furman A.A., Golderman V., Chapman J., Maggio N. Thrombin Inhibition Reduces the Expression of Brain Inflammation Markers upon Systemic LPS Treatment. *Neural Plast*. 2018;2018:7692182.
238. Varisco PA, Péclat V, van Ness K, Bischof-Delaloye A, So A, Busso N. Effect of thrombin inhibition on synovial inflammation in antigen induced arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2000;59(10):781. doi:10.1136/ard.59.10.781
239. Guttridge D.C., Lau A., Tran L., Cunningham D.D. Thrombin Causes a Marked Delay in Skeletal Myogenesis That Correlates with the Delayed Expression of Myogenin and p21CIP1/WAF1*. *J Biol Chem*. 1997;272(39):24117-24120.
240. Chang C.J., Hsu L.A., Ko Y.H., et al. Thrombin regulates matrix metalloproteinase-9 expression in human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;385(2):241-246.
241. Sedgwick M.J., Thompson M., Garnham J., et al. Acute high-intensity interval rowing increases thrombin generation in healthy men. *Eur J Appl Physiol*. 2016;116(6):1139-1148.
242. Almekinders L.C., Gilbert J.A. Healing of experimental muscle strains and the effects of nonsteroidal anti-inflammatory medication. *Am J Sports Med*. 1986;14:303-308.

243. Mishra D.K., Friden J., Schmitz M., Lieber R.L. Anti-inflammatory medication after muscle injury. *J Bone Joint Surg.* 1995;77:1410-1519.
244. Obremsky W.T., Seaber A.V., Ribbeck B.M., Garrett W.E. Jr. Biomechanical and histologic assessment of a controlled muscle strain injury treated with piroxicam. *Am J Sports Med.* 1994;22:558-561.
245. Epley, B. *Poundage Chart*. In: Boyd Epley Workout. Lincoln, NE: Body Enterprises, 1985. p. 86
246. Lagerström D. *Das Geh- Und Lauftraining in Der Kardialen Prävention Und Rehabilitation*. In: Binkowski H. Huber G. (Hrsg.) *Stehen - Gehen - Laufen*. Waldenburg: Sport Consult; 1992.
247. Meyer A., Cadamuro J., Streichert T., et al. Standard-Arbeitsanleitung zur peripher venösen Blutentnahme für die labormedizinische Diagnostik. *J Lab Med.* 2017;41 (69):333-340.
248. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Body-Mass-Index (im Durchschnitt und Verteilung der Bevölkerung auf Body-Mass-Index-Gruppen (in Prozent)). Gliederungsmerkmale: Jahre, Deutschland, Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index. Published 2017. Accessed November 10, 2021. https://www.gbe-bund.de/gbe/pkg_isgbe5.prc_menu_olap?p_uid=gast&p_aid=90609506&p_sprache=D&p_help=0&p_indnr=434&p_indsp=&p_ityp=H&p_fid=
249. Raeder C., Wiewelhove T., Westphal-Martinez M. P., et al. Neuromuscular Fatigue and Physiological Responses After Five Dynamic Squat Exercise Protocols. *Journal of Strength and Conditioning Research.* 2016;30:953-965.
250. Coggan A.R., Spina R.J., King D.S., et al. Histochemical and enzymatic comparison of the gastrocnemius muscle of young and elderly men and women. *J Gerontol.* 1992;47(3):71-76.
251. Rogers M.A., Evens W.J. Changes in skeletal muscle with aging: Effects of exercise training. *Exerc Sport Sci Rev.* 1993;21:65-102.
252. Essen-Gustavsson B., Borges O. Histochemical and metabolic characteristics of human skeletal muscle in relation to age. *Acta Physiol Scand.* 1986;126:107-114.
253. Heath G.W., Hagberg J.M., Ehsani A.A., Holloszy J.O. A physiological comparison of young and older endurance athletes. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1981;51(3):634-640.
254. Rogers M.A., Hagberg J.M., Martin W.H. 3rd, Ehsani A.A., Holloszy J.O. Decline in VO₂max with aging in master athletes and sedentary men. *J Appl Physiol.* 1990;68:2195-2199.
255. Kirkendall D.T., Garrett W.E. The effect of aging and training on skeletal muscle. *Am J Sports Med.* 1998;26:598-602.

256. Coggan A.R., Spina R.J., King D.S., et al. Skeletal muscle adaptations to endurance training in 60- to 70-yr-old men and women. *J Appl Physiol.* 1992;72:1780-1786.
257. Seals D.R., Hagberg J.M., Hurley B.F., Ehsani A.A., Holloszy J.O. Endurance training in older men and women. I. Cardiovascular responses to exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1984;57 (4):1024-1029.
258. Pilat C. et al. Exploring effects of a natural combination medicine on exercise-induced inflammatory immune response: A double-blind RCT. *Scand J Med Sci Sports.* 2015;25(4):534-542.
259. Charnaux N., Brule S., Chaigneau T., et al. RANTES (CCL5) induces a CCR5-dependent accelerated shedding of syndecan-1 (CD138) and syndecan-4 from HeLa cells and forms complexes with the shed ectodomains of these proteoglycans as well as with those of CD44. *Glycobiology.* 2005;15:119-130.
260. Götte M. Syndecans in inflammation. *FASEB J.* 2003;17(6):575-591.
261. Ishiguro K., Kadomatsu K., Kojima T., et al. Syndecan-4 deficiency leads to high mortality of lipopolysaccharide-injected mice. *J Biol Chem.* 2001;276(50):47483-47488.
262. Alexopoulou A.N., Multhaupt H.A., Couchman J.R. Syndecans in wound healing, inflammation and vascular biology. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(3):505-528.
263. Polte T., Petzold S., Bertrand J., et al. Critical role for syndecan-4 in dendritic cell migration during development of allergic airway inflammation. *Nat Commun.* 2015;13;6:7554.
264. Tanino Y., Chang M.Y., Wang X., et al. Syndecan-4 regulates early neutrophil migration and pulmonary inflammation in response to lipopolysaccharide. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2012;47(2):196-202.
265. Gopal S., Søgaaard P., Multhaupt H.A., et al. Transmembrane proteoglycans control stretch-activated channels to set cytosolic calcium levels. *J Cell Biol.* 2015;210(7):1199-1211.
266. Gopal S. Syndecans in Inflammation at a Glance. *Front Immunol.* 2020;11:227.
267. Hoier B., Nordsborg N., Andersen S., et al. Pro- and anti-angiogenic factors in human skeletal muscle in response to acute exercise and training. *J Physiol.* 2012;590(3):595-606.
268. Lo Presti R. MD, Hopps E. MD, Caimi G. MD. Gelatinases and physical exercise. *Medicine.* 2017;96(37):e8072.
269. Madden M.C., Byrnes W.C., Lebin J.A., Batliner M.E., Allen D.L. Plasma matrix metalloproteinase-9 response to eccentric exercise of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol.* 2011;111(8):1795-1805.

270. Nascimento Dda C., Navalta J.W., Durigan J.L., et al. Acute eccentric resistance exercise decreases matrix metalloproteinase activity in obese elderly women. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2016;36(2):139-145.
271. Mackey A.L., Donnelly A.E., Turpeenniemi-Hujanen T., Roper H.P. Skeletal muscle collagen content in humans after high-force eccentric contractions. *J Appl Physiol*. 2004;97(1):197-203.
272. Yeghiazaryan M., Żybura-Broda K., Cabaj A., et al. Fine-structural distribution of MMP-2 and MMP-9 activities in the rat skeletal muscle upon training: a study by high-resolution in situ zymography. *Histochem Cell Biol*. 2012;138:74-87.
273. Bradley L.M., Douglass M.F., Chatterjee D., Akira S., Baaten B.J.G. Matrix Metalloprotease 9 Mediates Neutrophil Migration into the Airways in Response to Influenza Virus-Induced Toll-Like Receptor Signaling. *PLoS Pathog*. 2012;8(4):e1002641.
274. Orysiak J., Tripathi J. K., Brodaczewska K., et al. The impact of physical training on neutrophil extracellular traps in young male athletes - a pilot study. *Biol Sport*. 2021;38(3):459-464.
275. Gleeson M., Almey J., Brooks S., Cave R., Lewis A., Griffiths H. Haematological and acute-phase responses associated with delayed-onset muscle soreness in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1995;71(2-3):137-142.
276. Fang L., Du X.J., Gao X.M., Dart A.M. Activation of peripheral blood mononuclear cells and extracellular matrix and inflammatory gene profile in acute myocardial infarction. *Clin Sci (Lond)*. 2010;119(4):175-183.
277. Jönsson S., Lundberg A., Kälvegren H., Bergström I., Szymanowski A., Jonasson L. Increased levels of leukocyte-derived MMP-9 in patients with stable angina pectoris. *PLoS One*. 2011;6(4):e19340.
278. Peake J.M., Neubauer O., Della Gatta P.A., Nosaka K. Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. *J Appl Physiol*. 2017;122(3):559-570.
279. Rocha N.G., Sales A.R., Penedo L.A., et al. Impaired Circulating Angiogenic Cells Mobilization and Metalloproteinase-9 Activity after Dynamic Exercise in Early Metabolic Syndrome. *Biomed Res Int*. 2015;(2015):920356.
280. Syrovets T., Lunov O., Simmet T. Plasmin as a proinflammatory cell activator. *J Leukoc Biol Suppl*. 2012;92(3):509-519.
281. Mochan E., Keler T. Plasmin degradation of cartilage proteoglycan. *Biochim Biophys Acta*. 1984;800(3):312-315.
282. Lijnen H.R., Van Hoef B., Lupu F., Moons L., Carmeliet P., Collen D. Function of the plasminogen/plasmin and matrix metalloproteinase systems after vascular injury in mice with targeted inactivation of fibrinolytic system genes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(7):1035-1045.

283. Werb Z., Mainardi C.L., Vater C.A., Harris E.D. Jr. Endogenous activation of latent collagenase by rheumatoid synovial cells. Evidence for a role of plasminogen activator. *N Engl J Med.* 1977;296:1017-1023.
284. He C.S., Wilhelm S.M., Pentland A.P., et al. Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86:2632-2636.
285. Mustonen P., Lepäntalo M., Lassila R. Physical exertion induces thrombin formation and fibrin degradation in patients with peripheral atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18(2):244-249.
286. Belcastro A.N., Arthur G.D., Albisser T.A., Raj D.A. Heart, liver, and skeletal muscle myeloperoxidase activity during exercise. *J Appl Physiol.* 1996;80:1331-1335.
287. Lu H., Huang D., Ransohoff R.M., Zhou L. Acute skeletal muscle injury: CCL2 expression by both monocytes and injured muscle is required for repair. *FASEB J.* 2011;25:3344-3355.
288. Fielding R.A., Manfredi T.J., Ding W., Fiatarone M.A., Evans W.J., Cannon J.G. Acute phase response in exercise. III. Neutrophil and IL-1 β accumulation in skeletal muscle. 265: R166 –R172, 1993. *Am J Physiol.* 1993;265:166-172.
289. Fujita T., Yamabe H., Shimada M., et al. Thrombin enhances the production of monocyte chemoattractant protein-1 and macrophage inflammatory protein-2 in cultured rat glomerular epithelial cells. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2008;23(11):3412-3417.

7

Danksagung

Aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

8

Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

Syndecan 4 als Marker für sportliche Belastung und Regenerationsfähigkeit

im Institut für Experimentellen Orthopädie, mit Unterstützung durch Prof. Dr. Jessica Bertrand und Dr. Miriam Bollmann ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht.

Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Berlin, den

Unterschrift

9

Darstellung des Bildungsweges

Aus Datenschutzgründen nicht enthalten.

