

Evaluation ausgewählter (psycho-)physiologischer Parameter nach akuten sowie chronischen Belastungen für ein optimiertes Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport

DISSERTATION

Zur Erlangung des Doktorgrades

der Naturwissenschaften

Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

im Fachbereich Psychologie und Sportwissenschaft (FB06)

an der Justus-Liebig-Universität Gießen



vorgelegt von

M. Sc. Thomas Reichel

Präsident der Justus-Liebig-Universität: Prof. Dr. Joybrato Mukherjee

Dekan des Fachbereiches Psychologie und Sportwissenschaft: Prof. Dr. Christiane Hermann

Gießen 2023

GUTACHTER

Erstgutachter:

Prof. Dr. Karsten Krüger

FB06 – Psychologie und Sportwissenschaft

Institut für Sportwissenschaft

Arbeitsbereich Leistungsphysiologie und Sporttherapie

Kugelberg 62

35394 Gießen

Email: Karsten.Krueger@sport.uni-giessen.de

Zweitgutachter:

Prof. Dr. Dr. Philipp Zimmer

Fakultät 16 – Kunst- und Sportwissenschaften

Institut für Sport und Sportwissenschaft

Arbeitsbereich 1 Leistung und Gesundheit (Sportmedizin)

Otto-Hahn-Straße 3

44227 Dortmund

Email: Philipp.Zimmer@tu-dortmund.de

Vorwort

Die vorliegende kumulative Dissertation bietet eine neuartige und empirisch fundierte Perspektive auf das Konzept der Evaluation von (psycho-)physiologischen Parametern für ein optimiertes Belastungs- und Erholungsmanagements im Sport. Die Evaluation von (psycho-)physiologischen Parametern ist der Bereich in der Wissenschaft, der anhand standardisierter Laborbedingungen und wiederholter Messungen von ausgewählten Diagnostikmarkern, die bereits in Vorstudien im Kontext der sportwissenschaftlichen Forschung Anwendung gefunden haben, diese auf ihre Gütekriterien im Zusammenhang der Nutzbarkeit im Belastungs- und Erholungsmanagement prüft. Belastungs- und Erholungsmanagement im sportpraktischen Kontext beschäftigt sich mit der Überwachung und Anpassung von Belastungs- und Erholungsprozessen anhand geeigneter diagnostischer Parameter.

Die kumulative Dissertation umfasst drei von Fachexperten begutachtete Veröffentlichungen. Zwei Studien befassen sich primär mit der Evaluation von etablierten diagnostischen Markern nach akuten ausdauernden Belastungen, mit dem Ziel, valide und reliable Marker für die Überwachung des Trainings bei Sportlern/-innen nutzbar zu machen. Diese Studien wurden unter Laborbedingungen durchgeführt, um fehlerbasierte Einflussfaktoren auf ein Minimum zu reduzieren. Eine weitere Studie wurde unter praxisnahen Bedingungen in zwei ausgewählten Sportarten durchgeführt, mit dem Ziel, bereits etablierte, sowie auch weitere innovative Biomarker unter feldbasierten Bedingungen auf ihre Belastungssensitivität nach einer Abfolge von mehreren Trainingseinheiten zu prüfen.

Die Publikationen der Dissertation sind die ersten Studien, die i.), eine Vielzahl von (psycho-)physiologischen Parametern, die im sportwissenschaftlichen Kontext bereits Anwendung gefunden haben, auf ihre Gütekriterien im Verlauf von Belastungs- und Erholungszuständen evaluieren und ii.), die daraus validesten, sowie reliabelsten Marker und weitere innovative, teils aus der Grundlagenforschung gewählte Biomarker, im Feld unter praxisnahen Bedingungen auf ihre Sensitivität nach chronischen Belastungszyklen testen.

Nach einer kurzen Einführung in die Thematik und der Veranschaulichung des konzeptionellen Rahmens der Dissertation, werden die wissenschaftlichen Hintergründe dargelegt. Im Anschluss werden detailliert Ziele sowie Hypothesen der einzelnen Studien gelistet. Nach zusammenfassender Beschreibung der Methodik der ersten beiden Studien, die im Studiendesign konsistent sind, werden die Methoden der dritten Studie aufgegriffen. Daraufhin folgen die Publikationen, wie sie in den jeweiligen Journalen veröffentlicht wurden. Die Publikationen werden entsprechend ihrer inhaltlichen Abfolge in der Dissertationsschrift beigefügt, und enthalten eine detaillierte Darstellung der verwendeten Methoden und Materialien, die experimentellen Daten sowie eine ausführliche Diskussion der jeweiligen Ergebnisse und Studienprotokolle. Nach einer umfassenden Diskussion aller

Ergebnisse werden theoretische Implikationen abgeleitet, zusammengefasst und in einem Ausblick für zukünftige Forschungsfragen eingegliedert.

Verzeichnis der Publikationen

Die kumulative Dissertation basiert auf Grundlage folgender Publikationen:

| Studie | Jahr | Titel | Status | Autorenschaft |
|--------|------|---|--|----------------------------|
| 1 | 2020 | Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers | Publiziert im <i>Scientific Reports</i> | Erstautor |
| 2 | 2022 | Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports. | Publiziert im <i>Journal of Sports Science and Medicine</i> | Erstautor |
| 3 | 2021 | Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. | Publiziert im <i>International Journal of Environmental Research and Public Health</i> | Geteilte Erstautorenschaft |

1. **Reichel T**, Boßlau TK, Palmowski J, Eder K, Ringseis R, Mooren FC, Walscheid R, Bothur E, Samel S, Frech T, Philippe M, Krüger K (2020). Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Scientific Reports*, 10 (1), 11924.

DOI: 10.1038/s41598-020-69280-9

2. **Reichel T**, Hacker S, Palmowski J, Boßlau TK, Frech T, Tirekoglou P, Weyh C, Bothur E, Samel S, Walscheid R, Krüger K (2022). Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports. *Journal of Sports Science and Medicine*, 21 (3), 446-457.

DOI: 10.52082/jssm.2022.446

3. Hacker S*, **Reichel T***, Hecksteden A, Weyh C, Gebhardt K, Pfeiffer M, Ferrauti A, Kellmann M, Meyer T, Krüger K (2021). Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (11), 5776.

DOI: 10.3390/ijerph18115776

*Geteilte Erstautorenschaft

Kongressbeiträge zum Dissertationsthema:

| Jahr | Titel | Kongress | Art der Präsentation |
|-------------|--|---|-----------------------------|
| 2019 | Suitability and reliability of stress and recovery markers in endurance sports | German Exercise Science & Training Conference – GEST:19, Würzburg | Vortrag |
| 2019 | Suitability and reliability of neurophysiological/ neuropsychological parameters as biomarkers for exercise and recovery | German Exercise Science & Training Conference – GEST:19, Würzburg | Poster |
| 2021 | Sportartspezifisches Monitoring von Belastung und Erholung anhand inflammatorischer Biomarker | Sports, Medicine and Health Summit 2021, Hamburg | Vortrag |
| 2021 | Reliabilität von ausgewählten Biomarkern zur Einschätzung ihrer Eignung zur Belastungs- und Erholungssteuerung bei Ausdauersportlern | Sports, Medicine and Health Summit 2021, Hamburg | Vortrag |
| 2021 | Untersuchung der Reliabilität hämatologischer Marker nach Ausdauerbelastungen | Sports, Medicine and Health Summit 2021, Hamburg | Vortrag |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|------|
| Vorwort | II |
| Verzeichnis der Publikationen | IV |
| I. Abbildungsverzeichnis | VII |
| II. Tabellenverzeichnis | VIII |
| III. Abkürzungsverzeichnis | IX |
| 1 Zusammenfassung..... | 1 |
| 2 Abstract | 3 |
| 3 Einleitung..... | 5 |
| 4 Konzeptioneller Rahmen der Dissertation | 8 |
| 5 Wissenschaftlicher Hintergrund | 10 |
| 5.1 (Psycho-)physiologische Parameter im Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport . | 10 |
| 5.2 Das Potenzial von Biomarkern im Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport | 11 |
| 5.3 Evidenz von bisher verwendeten Biomarkern in der Sportwissenschaft..... | 12 |
| 6 Zielsetzung und Hypothesen | 15 |
| 7 Methoden..... | 17 |
| 7.1 Studiendesign Reichel et al. (2020) und Reichel et al. (2022)..... | 17 |
| 7.2 Studiendesign Hacker et al. (2021)..... | 19 |
| 8 Publikationen..... | 21 |
| 8.1 Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers | 21 |
| 8.2 Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports..... | 33 |
| 8.3 Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers | 46 |
| 9 Gesamtdiskussion..... | 59 |
| 9.1 Evaluation (psycho-)physiologischer Parameter nach akuten Trainingsbelastungen..... | 59 |
| 9.2 Methodendiskussion von Reichel et al. (2020) und Reichel et al. (2022) – Potenziale und Limitationen..... | 64 |
| 9.3 Evaluation von Biomarkern nach chronischen Trainingsbelastungen | 66 |
| 9.4 Methodendiskussion von Hacker et al. (2021) – Potenziale und Limitationen..... | 69 |
| 10 Fazit | 71 |
| 11 Forschungsperspektive..... | 73 |
| 12 Literaturverzeichnis | 75 |
| Eidesstattliche Erklärung | 90 |
| Danksagung | 91 |

I. **Abbildungsverzeichnis**

| | |
|--|----|
| Abbildung 1. Übersichtliche Darstellung des Studiendesigns von Reichel et al. (2020) sowie Reichel et al. (2022)..... | 19 |
| Abbildung 2. Übersichtliche Darstellung des Studiendesigns von Hacker et al. (2021) | 20 |

II. Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der reliabelsten und belastungssensitivsten (psycho-)physiologischen Parameter sowie deren Zusammenhänge aus Reichel et al. (2020) sowie Reichel et al. (2022)..... | 64 |
| Tabelle 2. Veranlasste standardisierte Bedingungen zur Evaluation der Test-Retest-Reliabilität (psycho-)physiologischer Parameter..... | 65 |

III. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------|---|
| A.M. | Ante meridiem – Vormittag |
| ARR | Durchschnittliche RR-Differenzen |
| ß | Beta |
| BDNF | Brain-derived neurotrophic factor |
| Bspw. | beispielsweise |
| Bzw. | beziehungsweise |
| CCL | CC-Chemokinligand |
| CD163 | Cluster of Differentiation 163 |
| CK | Creatinkinase |
| CRP | C-reaktives Protein |
| ELISA | Enzyme-linked Immunosorbent Assay |
| et al. | Et alii |
| GDNF | Glial cell line-derived neurotrophic factor |
| GH | Somatotropin / Growth Hormone |
| HCT | Hämatokrit |
| HF | High Frequency |
| HGB | Hämoglobin |
| HRV | Herzratenvariabilität |
| IAS | Individuelle anaerobe Schwelle |
| ICC | Intraclass Correlation |
| IL- | Interleukin- |
| IL-1RA | Interleukin-1 Rezeptor Antagonist |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| LF | Low Frequency |
| max. | Maximal |
| MCHC | Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration |
| MCV | Mittlere korpuskuläre Volumen |
| MDBF | Mehrdimensionaler Befindlichkeitsfragebogen |
| MDMQ | Multidimensional mood state questionnaire |
| Min | Minuten |

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

| | |
|---------------------|---|
| MMP | Matrix Metalloproteinasen |
| MVC | Maximum voluntary contraction |
| N | Anzahl |
| PNN50 | Anteil der aufeinanderfolgenden Herzschlag-Intervalle, die um mehr als 50 Millisekunden voneinander abweichen |
| PLT | Blutplättchen |
| RBC | Erythrozyten |
| S100A8 | S100-Kalzium-bindendes Protein A8 |
| S100A9 | S100-Kalzium-bindendes Protein A9 |
| S100A12 | S100-Kalzium-bindendes Protein A12 |
| S100B | S100-Kalzium-bindendes Protein B |
| SD | Standardabweichung |
| SF-MPG | Short-Form McGill Pain Questionnaire |
| SHGB | Sexualhormonbindendes Globulin |
| TBARS | Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen |
| Th17-Zellen | T-Helferzellen |
| T-Zelle | T-Lymphozyt |
| VLF | Very Low Frequency |
| VO ₂ max | Maximale Sauerstoffaufnahme |
| z.B. | zum Beispiel |

1 Zusammenfassung

Derzeit gibt es keine Erkenntnisse über die reliable Quantifizierung der Trainingsbelastung und von Erholungszuständen nach anstrengenden ausdauernden Belastungen anhand (psycho-)physiologischer Parameter. Zudem ist die Studienlage der Belastungssensitivität innovativ zu betrachtender Biomarker in habituellen Trainings- und Erholungszyklen belastungsdifferenter Sportarten sehr gering. Daher wurden in dieser kumulativen Dissertation subjektive, neurophysiologische und funktionelle Parameter, als auch bereits etablierte und innovative Biomarker auf ihre Reliabilität sowie Belastungssensitivität untersucht, um ihre Eignung als Marker für akute Belastungen, Trainingszyklen und Erholungsprozesse zu bewerten. In einer ersten Studie absolvierten 62 Probanden zwei identische, herzfrequenz-gesteuerte, ausdauernde Ausbelastungstests von 60 Minuten im Feld, die durch eine vierwöchige Regenerationspause voneinander getrennt lagen. Vor, unmittelbar nach, drei und 24 Stunden nach jedem Ausbelastungstest wurden (psycho-)physiologische Parameter anhand spezifischer Diagnostikinstrumente erhoben und ausgewertet. An einer weiteren Studie nahmen 35 männliche Leistungssportler (13 Badminton- und 22 Fußballspieler) teil. Ihnen wurden im erholten Zustand nach zweitätiger Trainingspause sowie im chronisch belasteten Zustand nach einem gewohnten Trainingsmikrozyklus jeweils zwei venöse Blutproben entnommen. Insgesamt 23 Biomarker aus unterschiedlichen physiologischen Kategorien, die Entzündung, Muskelschädigung, Gewebsreparatur und -wachstum sowie Umbau der extrazellulären Matrix widerspiegeln, wurden mit einem Luminex Assay unter Verwendung des Luminex Magpix-Systems analysiert. Die Ergebnisse der ersten Studie zeigen für die Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS), die Laktatdehydrogenase (LDH), das Interleukin- (IL-)1RA, die sechs gemessenen hämatologischen Marker, die Parameter der isometrischen Maximalkraft (MVC), den Mehrdimensionalen Befindlichkeitsfragebogen (MDBF/ MDMQ), und auch für ausgewählte Parameter der Herzratenvariabilität (HRV), eine moderate bis exzellente Reliabilität mit belastungssensitiven Veränderungen im Belastungs- und Erholungszyklus nach Ausdauerbelastungen. Des Weiteren konnten Zusammenhänge zwischen den Biomarkern, TBARS, IL-1RA, IL-6, IL-8, der Creatinkinase (CK) und der isometrischen Maximalkraft bzw. den HRV-Parametern detektiert werden. Speziell bei den neurophysiologischen Markern, Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) und den Parametern der frequenzbasierten HRV zeigten sich zudem geschlechtsspezifische Regulationen sowie eine Beziehung zum Trainingszustand der Probanden/-innen. Solche Korrelationen zum Trainingszustand wurden ebenfalls bei der CK sowie dem C-reaktivem Protein (CRP) gefunden. Zusammenfassend weisen einige (psycho-)physiologische Parameter ihre Eignung als reliable und belastungssensitive Marker zur Überwachung des Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport auf. Die Ergebnisse der zweiten Studie belegen einen sportartunabhängigen Konzentrationsanstieg von CK, IL-6 und IL-17A nach einem

gewohnten Trainingsmikrozyklus. Bei Badmintonspielern wurden höhere CK- und IL-17A-Werte zum Zeitpunkt nach einem Trainingszyklus beobachtet. Im Gegensatz dazu konnte bei Badmintonspielern ein höherer Wert für das S100-Kalzium-bindende Protein A8 (S100A8) im erholten Zustand festgestellt werden. Ähnliche Erkenntnisse konnten für das BDNF bei Fußballern festgestellt werden. Außerdem wiesen CK und IL-6 nach den gewohnten Trainingseinheiten bei Fußballern erhöhte Werte im Gegensatz zum Basalwert auf. Schlussfolgernd kann festgestellt werden, dass IL-17A und IL-6 sportartspezifische Expressionsmuster aufweisen, die auf eine unterschiedliche inflammatorische und metabolische Beanspruchung schließen lassen. CK zeigt wiederum sportartspezifische als auch sportartunabhängige, belastungssensitive Anpassungen. Demnach eignen sich diese Marker als belastungssensitive Biomarker von spezifischen Belastungs-Erholungszyklen im Trainingsmikrozyklus zweier belastungsdifferenten Spielsportarten. Zusammengefasst kann den Studienergebnissen entnommen werden, dass es bestimmte (psycho-)physiologische Parameter gibt, die belastungssensitiv auf akute Belastungen reagieren, aber nur wenige Biomarker, die auf chronische sportartspezifische Trainingszyklen eine Belastungsreaktion aufweisen.

2 Abstract

Currently, there are no findings on the reliable quantification of training load and recovery management after strenuous endurance exercise using (psycho-)physiological parameters. In addition, the number of studies on the load sensitivity of innovative biomarkers to be considered in habitual training and recovery cycles of load-differentiated sports is very low. Therefore, in this cumulative dissertation, subjective, neurophysiological and functional parameters as well as already established and innovative biomarkers were examined for their reliability and load sensitivity in order to evaluate their suitability as markers for acute exercise, training cycles and recovery processes. In a first study, 62 subjects completed two identical heart rate-controlled endurance exercise tests of 60 minutes in the field, separated by a four-week recovery period. Before, immediately after, three and 24 hours after each exercise test, (psycho-)physiological parameters were measured and evaluated using specific diagnostic instruments. In another study, 35 male competitive athletes (13 badminton and 22 soccer players) participated. Two venous blood samples were taken from each of them in the recovered state after at least a two-day training rest as well as in the chronically stress state after a habitual training microcycle. A total of 23 biomarkers from different physiological categories representing inflammation, muscle damage, tissue repair and growth, and extracellular matrix remodelling were analysed with a Luminex assay using the Luminex Magpix system. The results of the first study show excellent to moderate reliability for thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), lactate dehydrogenase, interleukin (IL-)1RA, six measured haematological markers, the parameters of isometric maximum force (MVC), the multidimensional mood state questionnaire (MDMQ) as well as selected heart rate variability (HRV) parameters with load-sensitive changes in the exercise and recovery cycle after endurance exercise. Furthermore, associations between the biomarkers, TBARS, IL-1RA, IL-6, IL-8, creatine kinase (CK) and isometric maximum strength or HRV parameters could be detected. In particular, the neurophysiological markers, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and the frequency-based parameters of HRV also showed gender-specific regulations and a relationship to the training status of the participants. Such relationships to training status were also found for CK and C-reactive protein (CRP). In summary, some (psycho-)physiological parameters imply their suitability as reliable and load-sensitive markers for monitoring exercise and recovery management in sport. The results of the second study demonstrate a sport-independent increase in blood concentrations of CK, IL-6 and IL-17A after a habitual training microcycle. In badminton players, higher CK and IL-17A levels were observed at the stress state. In contrast, higher levels of S100 calcium-binding protein A8 (S100A8) were found in badminton players in the recovered state. Similar findings were shown for BDNF in soccer players. Furthermore, CK and IL-6 showed increased levels after the habitual training session in soccer players in contrast to before. In conclusion, IL-17A and IL-6 show sport-specific

ABSTRACT

expression patterns that indicate different inflammatory and metabolic stress. CK, on the other hand, shows sport-specific as well as sport-independent, load-sensitive adaptations. Accordingly, these markers are suitable as load-sensitive biomarkers of specific stress-recovery processes in the training microcycle of two load-differentiated sports. In summary, it can be concluded from the study results that there are certain (psycho-)physiological parameters that react load-sensitively to acute exercise, but only a few biomarkers show an exercise response to chronic sport-specific training microcycles.

3 Einleitung

Die Quantifizierung von akuter, sowie chronisch belastungsinduzierter Ermüdung und Regenerationsprozessen ist für die Planung und Steuerung von Trainingsprozessen von großer Bedeutung. Werden Trainingsreize aufgrund einer mangelnden Systematik und eingeschränktem Monitoring falsch zyklisiert, kommt es zu einer inadäquaten Balance zwischen Belastungs- und Erholungsprozessen. Dies führt neben einem erhöhten Verletzungsrisiko, zu einer Hemmung fundamentaler Anpassungsprozesse und kann dadurch den Trainingserfolg nachhaltig negativ beeinflussen (Halson, 2014; Thorpe et al., 2017; Kellmann et al., 2018). Um dies zu vermeiden, werden in der Sportpraxis aufgrund stetig steigender Wettkampf- und Trainingsdichte, zunehmend zahlreiche subjektive und objektive Marker der Trainingssteuerung zur diagnostischen Analyse erhoben (Barnes et al., 2014). Dazu gehören Fragebögen zum subjektiven Empfinden, einfache funktionelle bzw. motorische Testverfahren, psychometrische Anwendungen, Parameter der Herz-Kreislauf-Funktion sowie blutbasierte Marker (Meyer et al., 2013; Wiewelhove et al., 2015; Lee et al., 2017; Kellmann et al., 2018). Solche Belastungs- und Regenerationsmarker können in der Trainingspraxis sowohl für akute als auch chronische Belastungsermüdung herangezogen werden (Halson, 2014; Finsterer and Drory, 2016). Durch eine kombinierte Nutzung der oben erwähnten subjektiven und objektiven Marker, lässt sich ein ganzheitliches Bild einer (psycho-)physiologischen Reaktion auf eine Belastung darstellen. Zumal bisher auch noch kein idealer und zuverlässiger Belastungs- und Trainingssteuerungsparameter evaluiert werden konnte, der anthropometrischen Daten, Umweltbedingungen, Ernährungsstatus, Gesundheits- und Fitnessstand sowie die Elemente der Trainingssteuerung berücksichtigt. Somit ist eine größere Auswahl von Markern zum Monitoring von Training, Belastung und Regeneration notwendig (Skurvydas et al., 2006; Palacios et al., 2015; Lee et al., 2017). Auch differenzierte Populationen oder unterschiedliche Sportarten sind Gründe für eine breitere Auswahl von diagnostischen Testverfahren. So nutzen Praktiker neben einfach zu erhebenden subjektiven Parametern aus Fragebögen, oder einfachen motorischen sowie psychometrischen Tests, auch die Parameter der HRV und blutbasierte Marker (Coutts et al., 2007; Gifford et al., 2018; Schneider et al., 2018). Oft ist jedoch zu beobachten, dass diagnostische Marker in Studien zum Einsatz kommen, ohne zuvor auf Gütekriterien geprüft worden zu sein. Deswegen lassen sich gegenwärtig anhand dieser Marker größtenteils nur studienbasierte Interventionseffekte darstellen, ohne jedoch die Gewährleistung zu haben, dass die Gütekriterien für eine nachhaltige Forschung erfüllt sind. Die Anforderungen, zuverlässige, reliable und belastungssensitive Marker nutzen zu können, die sowohl subjektiv als auch objektiv Belastungs- und Regenerationsprozesse widerspiegeln, sind demnach sehr gering erforscht (Halson, 2014; Lee et al., 2017). Besonders Biomarker zur indirekten Bestimmung von Belastungs- und Erholungszuständen, stehen seit geraumer Zeit im Fokus der Forschung des

Spitzensportes. Hierbei lässt sich der Faktor der subjektiven Beeinflussung sowohl für Trainer und Athlet bei der Bewertung vermeiden (Brink et al., 2014). Um diese Unzulänglichkeiten zu überwinden, werden bereits etablierte Biomarker, wie das Blutlaktat als Stoffwechselendprodukt oder die CK als Muskelintegritätsmarker, als objektives Bewertungskriterium in vielen Bereichen des Spitzensports routinemäßig verwendet (McGuigan et al., 2020). Darüber hinaus gelang es in den letzten Jahren, diverse akute belastungssensitive pro- und antiinflammatorischer Marker der muskulären Ermüdung und Schädigung zu identifizieren (Finsterer and Drory, 2016; Niemelä et al., 2016; Schild et al., 2016; Nieman et al., 2018). Die Messungen einiger dieser Biomarker zeigen jedoch große intra- und interindividuelle Variabilitäten, und es besteht ein eingeschränkter zeitlicher Zusammenhang mit der Muskelregeneration (Twist and Highton, 2013; Saw et al., 2016). Diese Schwankungen können von Faktoren wie Geschlecht (Nédélec et al., 2012) oder dem Trainingsstatus (Palacios et al., 2015) abhängig sein. Daher scheint es fragwürdig und demnach forschungsbedürftig, inwieweit es valide und reliable Biomarker gibt, die Belastungs- und Regenerationszyklen unter Berücksichtigung der oben genannten Faktoren widerspiegeln können (Lee et al., 2017). Demzufolge ist es notwendig, spezifische innovative und konsistentere biochemische Marker für verschiedene Aspekte der Gesundheit und der Trainingssteuerung von Athleten/-innen zu identifizieren und auf ihre Gütekriterien zu evaluieren. Dabei scheinen Test-Retest-Verfahren mit einer definierten Kohorte und standardisierten Expositionskriterien am sinnvollsten zu sein, um die Reliabilität eines Biomarkers und seine Reaktion auf eine akute Belastung zu bewerten (Matheson, 2019). Ein angemessener Beobachtungszeitraum nach einer akuten Belastung liefert Informationen über die Rückführung, sprich dem Regenerationsverlauf, zum Basalwert. Neben der Quantifizierung von akuten Belastungsreaktionen, ermöglicht die Erfassung von Biomarkern in praxisnahen Trainings-Mikrozyklen mit mehreren, sportartspezifischen Trainingseinheiten innerhalb eines gewählten Zeitraums, die quantitative Bestimmung der chronischen Belastungsreaktionen (Box et al., 2015). Nach solch mehrfachen Blutentnahmen in Trainingszyklen, kann die Eignung eines Biomarkers (-Panels) im Hinblick auf bestimmte Einflussfaktoren, oder auch Subgruppen verschiedener Sportarten, besser anhand ihrer Belastungsreaktion voneinander differenziert werden (Box et al., 2015).

Deshalb wurden im Rahmen dieser Dissertation, in einem ersten Studienabschnitt, sportmotorische Parameter, objektive etablierte Biomarker und subjektive Fragebögen zum Wohlbefinden auf ihre Belastungssensitivität und Reliabilität, nach akuten maximalen Ausdauerbelastungen im Belastungs- und Regenerationsverlauf in einem Test-Retest-Studiendesign mit standardisierten Laborbedingungen evaluiert (Reichel et al., 2020). In einem zweiten Studienabschnitt wurden ausgewählte neurophysiologische und vegetative Parameter des Nervensystems als Marker für akute Belastungs- und Regenerationsverläufe im Ausdauersport geprüft (Reichel et al., 2022). In beiden Studien wurden die gemessenen Parameter ebenfalls vor dem Hintergrund der Genderspezifität und unter

Berücksichtigung des Trainingsstatus getestet. Aufgrund der vielversprechenden Erkenntnisse aus den vorherigen beiden Studien, war es das innovative Ziel einer weiteren Studie, die Regulierung ausgewählter Biomarker in praxisnahen Belastungs-Erholungs-Trainingszyklen innerhalb der Badminton- und Fußballspielergruppen auf ihre chronische Belastungsreaktion zu analysieren (Hacker et al., 2021).

4 Konzeptioneller Rahmen der Dissertation

In diesem Kapitel werden die entsprechenden Publikationen kurz in den Kontext des aktuellen Forschungsstandes gestellt. (Psycho-)physiologische Parameter hängen in Bezug auf belastungsbedingte Reaktionen eng miteinander zusammen und können sich gegenseitig bedingen (Walsh et al., 2011). Gemeinsam haben diese ein breites Anwendungsspektrum, z.B. die Überwachung des allgemeinen Gesundheitszustandes, die Darstellung der akuten und chronischen Trainingsbelastung, oder die kontinuierliche Verfolgung der Erholungsprozesse nach körperlichen Belastungen (Heisterberg et al., 2013; Impellizzeri et al., 2019). Demnach ist es von großer Relevanz, solche Parameter zu identifizieren, diese dann zu evaluieren und anschließend in das bereits genannte Anwendungsspektrum zu bringen (Nakayasu et al., 2021). Für blutbasierte Marker, den Biomarkern, wurden in diesem Kontext drei Phasen etabliert. In der Entdeckungsphase geht es in erster Linie darum, eine Reihe potenzieller Biomarkerkandidaten zu identifizieren, z.B. anhand von Omics-Ansätzen. Hierbei konnten bereits in Vorstudien einige Biomarkerkandidaten, die belastungssensitive Reaktionen aufweisen, identifiziert werden (Schild et al., 2016; Merritt et al., 2019; Knab et al., 2020). In der anschließenden Phase kommt es zur Evaluation dieser Marker. Diese wird auch als klinische Validierung bezeichnet. Hierbei gilt es, die Biomarker auf ihre Gütekriterien im sportwissenschaftlichen Kontext zu prüfen. Dabei konnte zum Zeitpunkt der Publikation der Studien (Reichel et al., 2020; Reichel et al., 2022), noch keine weitere Studie solche Ergebnisdaten für das Belastungs- und Erholungsmanagement nach akuten Trainingseinheiten in der sportwissenschaftlichen Forschung liefern. Wie in den beschriebenen Studien von Reichel et al. (2020 & 2022), sind methodische Ansätze mit einem Test-Retest-Design unter standardisierten Laborbedingungen bisher die gängigste Wahl. So wurde solch ein Design mit wiederholten Messungen bereits in der pathologischen Forschung bei der Validierung von Biomarkern zur Vorhersage des Ansprechens auf eine Immuntherapie bei Krebspatienten angewandt (Masucci et al., 2016). Zusätzlich kann die Eignung des Biomarker-Panels im Hinblick auf Geschlechterunterschiede derselben oder Effekte des Trainingszustandes geprüft werden (Hunter et al., 2014). Dies war ebenfalls Gegenstand der Publikationen der Dissertation (Reichel et al., 2020; Reichel et al., 2022). Da einige Biomarker in Ruhe keine ausgeprägten Veränderungen zeigen oder eine hohe Variabilität aufweisen, so dass auch bei Untrainierten Veränderungen zu erwarten sind, empfiehlt es, sich eine akute Belastungssituation mit ermüdendem Charakter herzustellen (Hopkins, 2015). Eine solche Belastungssituation wurde im methodischen Ablauf von Studie (Reichel et al., 2020) und (Reichel et al., 2022) mit Hilfe einer individuellen Belastungssteuerung gewählt. In einer letzten Phase soll das bis dahin validierte Biomarker-Panel Anwendung in Sportarten unter realen Bedingungen finden. Dabei soll geprüft werden, ob die Eignung des Biomarker(-Panels) im Hinblick auf bestimmte Einflussfaktoren adäquat beurteilt werden kann. So

ist es bspw. interessant herauszufinden, inwieweit Unterschiede in der Biomarkerausprägung bei unterschiedlichen Sportarten im Trainingszyklus vorliegen. Eine solche Studie wird in einem letzten Schritt der Dissertation anhand der Studie von (Hacker et al., 2021) dargestellt. Auch hier soll eine weitere klinische Validierung mit wiederholten Messungen nach chronischen Trainingsbelastungen durchgeführt werden. Solche Studiendesigns, mit dem Ziel chronische Belastungen darzustellen, erwiesen sich bereits als wirksam (Meeusen et al., 2013; Box et al., 2015). Aufgrund der mangelnden Verfügbarkeit von Spitzensportlern, können als Studienpopulation Amateursportler oder auch Reserve- bzw. Jugendkaderathleten von Spitzenmannschaften herangezogen werden, um Ergebnisdaten anschließend in den Spitzensport zu transferieren (Akenhead and Nassis, 2016).

5 Wissenschaftlicher Hintergrund

5.1 (Psycho-)physiologische Parameter im Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport

In den letzten Jahren kam es im Sport in Folge eines Professionalisierungs- und Kommerzialisierungsschubs zu stetig steigenden leistungsorientierten Herausforderungen. Infolgedessen wächst auch der Leistungsdruck bei Sportler/-innen sowie Trainer/-innen, um Trainingsreize für eine positive Anpassung und bessere Leistungen noch wirksamer zu gestalten. Demnach ist ein ausgewogenes Belastungs- und Erholungsmanagement die Voraussetzung, um negative Nebenwirkungen für Sporttreibende, wie eine dysfunktionale Überbelastung, Krankheit oder ein erhöhtes Verletzungsrisiko, zu vermeiden (Drew and Finch, 2016; Soligard et al., 2016; Gabbett, 2018). Um Trainern/-innen bei der Beurteilung des internalen Zustandes bzw. der internalen Reaktion von Sportler/-innen anhand von externen Belastungen sowie bei der Entscheidungsfindung für angehende Belastungen, bspw. im Training, zu unterstützen, ist eine Trainingsüberwachung anhand valider und reliabler (psycho-)physiologischer Diagnostikparameter unabdingbar (Giles, 2011; Lu et al., 2016; Frank et al., 2019). Bereits etablierte und wertvolle Überwachungsdiagnostiken, die die (psycho-)physiologische Reaktion auf Belastung widerspiegeln, sind Fragebögen, die Rate der wahrgenommenen Anstrengung, die Herzfrequenzvariabilität oder auch neuromuskuläre und motorische Leistungstests (Coutts et al., 2007; Schneider et al., 2018; Mann et al., 2019). Nachweislich lassen sich im Ausdauerbereich sowohl „Time-trials“ als auch neuromuskuläre Leistungstests, wie dem 5-Sprungtest, verwenden, um Belastungs- und Erholungszustände zu ermitteln (Coutts et al., 2007). Aber auch andere motorische Testungen wurden insbesondere für Teamsportarten wie Fußball oder Football auf ihre Gütekriterien überprüft (Wragg et al., 2000; Buchheit et al., 2013). Da jedoch solche sportartspezifischen Testungen oft hohe Zusatzbelastungen bedeuten und der subjektive Einfluss bei Fragebögen durch bspw. der sozialen Erwünschtheit (insbesondere bei Mannschaftssportarten), oder der Über- oder Unterschätzung der Trainingsbelastung (Brink et al., 2014) nicht eliminiert werden kann, sind solche Testungen alleinstehend praktikabel nicht nutzbar, um Belastung und Erholung zu quantifizieren (Wiewelhove et al., 2015). Um diese Unzulänglichkeiten zu überwinden, werden objektive Messgrößen, bzw. Biomarker, in vielen Bereichen des Sportes bereits routinemäßig verwendet (Halson, 2014; Quarrie et al., 2017). Biomarker werden definiert als „...Merkmale, die als Indikatoren für normale biologische Prozesse, pathogene Prozesse oder Reaktionen auf eine Exposition oder Intervention gemessen...“ werden (Califf, 2018). Damit kann die akute interne Belastungsreaktion durch Bewertung gewebs- oder organspezifischer Ermüdung/ Belastung/ Schäden oder Erholungsprozesse anhand biochemischer oder hämatologischer Daten objektiv dargestellt werden (Lee et al., 2017). Mit Hilfe eines solchen multifaktoriellen Panels an diagnostischen Markern

subjektiver und objektiver Art kann ein ganzheitliches Bild der Trainingsreaktion oder des Zustandes eines Sportlers erstellt und die Belastung individuell angepasst werden (Brink et al., 2014; Halson, 2014). Es konnten bereits Korrelationen zwischen Veränderungen von Biomarkern und spezifischen Leistungsmerkmalen, wie der Sprintdistanz, bei akuten Trainingseinheiten dargestellt werden (Romagnoli et al., 2014; Thorpe et al., 2017). Beachtet werden sollte allerdings, dass eine Korrelation mit einer Leistungsvariablen, wie der Sprintdistanz, während des Trainings nicht zwangsläufig ein Spiegelbild der wahrgenommenen Ermüdung oder eines erhöhten Verletzungsrisikos ist. So haben Saw und Kollegen gezeigt, dass das subjektive Wohlbefinden und Biomarkerkonzentrationen im Allgemeinen nicht gut miteinander korrelieren (Saw et al., 2016). Wie in der "BEST-Ressource" zu Biomarkern dargelegt, qualifiziert eine Korrelation mit einer objektiven Leistungsvariable einen Biomarker nicht automatisch als validiertes Surrogat-Endprodukt (im Sportkontext z.B. für interne Belastung, muskuläre Ermüdung oder Verletzungsrisiko) (Califf, 2018). Dies wird häufig für etablierte Biomarker angenommen, aber es mangelt an einer strengen analytischen und klinischen Validierung dieser Biomarker in ihrem jeweiligen Sportkontext (Nakayasu et al., 2021). Diese Überlegungen machen bereits einige der Herausforderungen deutlich, die mit der Verwendung von Biomarkern für das Belastungs- und Erholungsmanagement bei Sportlern/-innen verbunden sind.

5.2 Das Potenzial von Biomarkern im Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport

In der forschungsbasierten angewandten Wissenschaft werden Biomarker als biologische Indikatoren genutzt, die Veränderungen bei bestimmten physiologischen Funktionen anzeigen und zur Überwachung des Belastungs- und Erholungszustandes sowie der sportlichen Leistungsfähigkeit eingesetzt werden können. In den letzten Jahrzehnten ist das Interesse an Biomarkern, die gesundheitsbezogene Aspekte nach körperlicher Aktivität im Blutbild bewerten, stark gestiegen (Palacios et al., 2015). Auch im sportlichen Sektor sind Biomarker zum Einsatz in der Trainingssteuerung ein stetiges Diskussionsthema. Hierbei spielen diese eine wichtige Rolle, da sie Athleten/-innen und Trainer/-innen Informationen über die körperliche Belastbarkeit, Regenerationszeit, mögliche Verletzungsrisiken und den aktuellen Trainingszustand liefern können (Amur et al., 2015; Lee et al., 2017). Darüber hinaus können diese zur Anpassung der Trainingssteuerung genutzt werden und reflektieren anhand physiologischer Adaptionen Trainingsfortschritte. Somit haben Biomarker ein großes Potenzial physiologische Veränderungen wie Muskelschäden oder Entzündungsreaktionen, die typischerweise nach anstrengenden sportlichen Belastungen auftreten, widerzuspiegeln (Califf, 2018). Wenn solche linear statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen dem Messwert und den entsprechenden physiologischen Veränderungen erfüllt sind (Califf, 2018), werden diese Marker auch als Surrogatmarker bezeichnet (Bourdon et al., 2017). Die Idee, Biomarker zu nutzen, um solche Veränderungen abzubilden und auf dieser Grundlage individuelle Trainingsempfehlungen zur Leistungsoptimierung und Verletzungsprävention zu geben, ist verlockend. Vorallem sind solche

Messmethoden nicht ermüdend und beeinflussen die Trainingsroutine nicht. Jedoch können Biomarker von unterschiedlichen Faktoren, wie dem Alter, Geschlecht, Tageszeit, Ernährung, Trainingsart, -häufigkeit und -intensität beeinflusst werden (Finsterer and Drory, 2016). Trotz all der Einflussfaktoren sollten Biomarker, die zukünftig in der Praxis Anwendung finden, größtenteils robust gegenüber solchen Störquellen sein. Dennoch muss berücksichtigt werden, dass der physiologische Hintergrund sowie die Sensitivität auf Belastung einzelner Biomarker, heutzutage noch nicht ausreichend definiert ist. Auch Referenzwerte sind noch begrenzt evaluiert (Palacios et al., 2015). Hilfreich dafür ist es, sich nicht nur auf einzelne Biomarker und ihre Reaktionen auf Belastung zu verlassen. Demnach sollte ein Biomarker-Panel von belastungssensitiven und reliablen Markern in Betracht gezogen werden (Lee et al., 2017). Außerdem wurde bei einigen Markern bereits festgestellt, dass diese eine inter- und intraindividuelle Varianz bei absoluten sowie relativen Veränderungen aufweisen. So wurden bei CK zwar belastungssensitive Anpassungen gezeigt, jedoch auch individuelle Variabilitäten (Meyer et al., 2013; Hunkin et al., 2014). Hierbei konnten High- und Low-Responder unterschieden werden (Brancaccio et al., 2007). Ursachen dieser Variabilitäten des Enzyms können im Polymorphismus liegen (Heled et al., 2007).

5.3 Evidenz von bisher verwendeten Biomarkern in der Sportwissenschaft

In den letzten Jahren wurde der Entwicklung neuartiger Biomarker im Zusammenhang mit der Belastungsüberwachung viel Aufmerksamkeit gewidmet, mit bisher begrenztem Erfolg. Für viele von ihnen gibt es kaum Untersuchungen auf ihre Gütekriterien oder den physiologischen Hintergrund, und einige erfordern anspruchsvolle Messmethoden, was ihre Verwendung für Überwachungszwecke erschwert. Bevor Biomarker nun zur Erleichterung der Entscheidungsfindung in der Sportpraxis eingesetzt werden können, sollten Anforderungen, wie die standardisierte Erhebung sowie die Auswahl von evaluierten Markern mit wiederholten Bestimmungen vor und nach Belastungen, erfüllt werden (Pedlar et al., 2019). Wiederholte Blutentnahmen zu standardisierten Zeitpunkten in Ruhe und nach Belastung – in Kombination mit etablierten Überwachungsinstrumenten – können helfen, Belastungen und die entsprechenden Biomarker-Reaktionen zu erfassen und gleichzeitig Referenzwerte festzulegen (Sperlich et al., 2016). Nach Entnahme einer ausreichenden Anzahl von Blutproben kann die Eignung des Biomarkers (Panels) im Hinblick auf bestimmte Einflussfaktoren adäquat beurteilt werden. Je valider ein Biomarker beurteilt werden soll, desto wichtiger ist es, gehäufte Messungen über mehrere Belastungs-Erholungs-Zyklen durchzuführen (Hunter et al., 2014). Zusammenfassend müssen diese Biomarker vor ihrer Routineanwendung zunächst unter wissenschaftlichen Labor- als auch Feldbedingungen geprüft werden.

Einige Biomarker die auf akute (Lee et al., 2017) und chronische Belastung, nach gehäuften Trainingseinheiten innerhalb eines kurzen Zeitraums (Box et al., 2015), sensitiv reagieren, wurden

bereits identifiziert und dienen somit als Basis für weitere Forschung. So zeigten sich bei Zytokinen, die als universelle intrazelluläre Botenstoffe dienen und Vermittler der inflammatorischen Reaktion auf trainingsinduzierte Muskelschäden sind, erhöhte Werte nach körperlicher Aktivität (Peake et al., 2015). Dabei kann die Reaktion von Zytokinen aufgrund ihrer anti- bzw. proinflammatorischen Wirkung unterschiedliche Ausprägungen aufweisen. So steigt IL-1RA als Zytokin-inhibitor (Pedersen, 2011) erst verzögert an (Sugama et al., 2012), wohingegen bei IL-8 und IL-6, als entzündungsfördernde Vertreter, ein akuter Anstieg nach körperlich anstrengenden Belastungen, aber auch Belastungsperioden in verschiedenen Sportarten, erkennbar ist (Peake et al., 2015; Souglis et al., 2015; Lee et al., 2017). Aber auch andere Zytokine, wie das IL-10, als anti-inflammatorischer Vertreter, welches von der IL-6-Produktion stimuliert wird, oder IL-15, welches aufgrund mechanischer Belastung und Muskelschädigung die Aktivierung und Vermehrung von T-Zellen sowie natürlichen Killerzellen reguliert, steigen nach langanhaltenden Ausdauerbelastungen signifikant in der Blutkonzentration an (Tamura et al., 2011; Gill et al., 2015). Neben den Zytokinen konnten auch für die Enzyme, LDH sowie CK, höhere Konzentrationen im Blut, bedingt durch einen Muskelschaden, nach Ausdauerbelastungen gezeigt werden (Finsterer and Drory, 2016). Bei BDNF, welches als Wachstumsfaktor für den Schutz, die Aufrechterhaltung und die Entwicklung von Neuronen sowie Synapsen des zentralen und peripheren Nervensystems zuständig ist, zeigten sich in Studien nach akuten aeroben Belastungen ebenfalls belastungssensitive Konzentrationsanstiege im Blut (Dinoff et al., 2016). Ähnliche Ergebnisse konnten bei einem weiteren Wachstumsfaktor, Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF), zunächst nur in Mausstudien bestätigt werden, welche ihn dennoch zu einem interessanten innovativen Blutmarker machen (Gyorkos et al., 2014). Weitere inflammatorische Signalmarker, wie das Hormon Cortisol und die oxidativen Stressmarker CRP und TBARS zeigten nach einem Fußballspiel sowie noch Tage danach signifikant erhöhte inflammatorische Werte (Ispirlidis et al., 2008). Eine Studie von Krüger et al. (2016) bestätigt diese höheren Blutkonzentrationen des Endproduktes der Lipidperoxidation, TBARS, auch nach einem hochintensiven Intervalltraining (Krüger et al., 2016). Drei Stunden nach einem Marathon konnte auch für das inflammatorische Membranprotein, Cluster of Differentiation 163 (CD163), welches von Makrophagen und Monozyten exprimiert wird, ein signifikanter Konzentrationsanstieg im Blut gezeigt werden. Noch relativ unentdeckt, jedoch bereits in ersten Belastungsstudien getestet, sind die Calcium-bindenden Proteine S100A8, S100A9, S100A12 sowie S100B. So konnten erste Studien bereits belastungs-induzierte inflammatorische Reaktionen anhand dieser Proteine in ausdauerorientierten Belastungen finden (Mooren et al., 2006; Stocchero et al., 2014; Nieman et al., 2018). Des Weiteren können für Chemokine, wie das CC-Chemokinligand 2 (CCL2) und CCL4 (Catoire and Kersten, 2015), Hormone, wie das Somatotropin (GH) oder das Sexualhormon-bindende Globulin (SHBG) (Taipale and Häkkinen, 2013; Lee et al., 2017), sowie die Matrix Metalloproteinasen (MMP2, -3, -9) (Nascimento Dda et al., 2015; Schild et al., 2016)

belastungsinduzierte Anstiege in der Blutkonzentration gezeigt werden. Somit stellen diese Marker eine gute Basis, um als potenzielle Marker für physiologische Belastungsprozesse weiterhin in der sportwissenschaftlichen Forschung evaluiert zu werden. Neben den Plasmaproteinen gibt es auch einige hämatologische Marker, die während Trainings- und Wettkampfperioden mit einem Konzentrationsanstieg reagieren. Die Studienlage ist jedoch noch sehr heterogen, da Faktoren, wie die Art der sportlichen Belastung sowie das Geschlecht berücksichtigt werden müssen (Banfi et al., 2011).

6 Zielsetzung und Hypothesen

Im Rahmen dieser kumulativen Dissertation sollen bereits etablierte und innovative blutbasierte Marker, Fragebögen zum subjektiven Empfinden, einfache funktionelle bzw. motorische Testverfahren, psychometrische Anwendungen sowie Parameter der Herz-Kreislauf-Funktion auf ihre Reliabilität und Belastungssensitivität nach akuten und chronischen Belastungen evaluiert werden. Hierzu wurden speziell Veränderungen bei Markern von neurophysiologischen, vegetativen und exekutiven Funktionen auf Geschlechterunterschiede sowie den Einfluss des Trainingszustandes untersucht. Zusammenfassend sollten zunächst etablierte subjektive und objektive Messgrößen auf das Gütekriterium der Reliabilität anhand einer Akutbelastung unter standardisierten Laborbedingungen geprüft und anschließend etablierte sowie weitere innovative blutbasierte Marker nach einem Trainingszyklus bei Fußballern sowie Badmintonspielern auf die Belastungssensitivität analysiert werden. Ziel der Dissertation ist es Empfehlungen, für ein Multi-Marker Panel darzulegen, welches zur spezifischen Beurteilung von (psycho-)physiologischer Ermüdung, sowie Regeneration in der Sportpraxis als Trainingssteuerungselement genutzt werden kann. Präzisierend können für die individuellen Publikationen folgende Ziele und Hypothesen formuliert werden:

Ziel der Studie Reichel et al., 2020

Ziel der vorliegenden Studie war es, die unterschiedlichen Belastungsreaktionen, die Regulation während der Erholungsphase und die Test-Retest-Reliabilität verschiedener subjektiver Parameter, Muskelkraftwerte und blutbasierten Markern nach akuten maximalen Ausdauerleistungen zu analysieren, und so ihre Eignung für die Überwachung sowie Quantifizierung von Belastung und Erholung zu bewerten.

Hypothese

Einige der analysierten Parameter sind als Marker für physiologische Belastungsreaktionen und Erholungsprozesse nach anstrengenden Ausdauerbelastungen belastungssensitiv und reliabel und können für die Sportpraxis genutzt werden. Des Weiteren korrelieren sportmotorische Parameter mit einer Auswahl von analysierten Plasmaproteinen.

Ziel der Studie Reichel et al., 2022

Ziel dieser Studie war es, selektive Marker neurophysiologischer, vegetativer oder exekutiver Funktionen nach Ausdauerbelastungen, unter Berücksichtigung der Genderspezifität sowie dem Einfluss des Trainingszustandes, auf ihre Belastungssensitivität und Reliabilität zu untersuchen.

Hypothese

Einige Marker neurophysiologischer, vegetativer und exekutiver Funktionen sind als Marker im Ausdauersport hinsichtlich ihrer Reliabilität und Belastungssensitivität geeignet. Unter Berücksichtigung der Geschlechtsunterschiede sowie dem Einfluss des Trainingsstatus können differenzierte Belastungsregulationen gezeigt werden.

Ziel der Studie Hacker* & Reichel* et al., 2021

Ziel dieser Studie war es, die Regulierung verschiedener Chemokine, Zytokine, Enzyme, Hormone, Proteinase und Wachstumsfaktoren in den Belastungs-Erholungs-Trainingszyklen von Sportlern zu analysieren und ihre Regulierung innerhalb der jeweiligen Sportarten Badminton und Fußball zu bewerten.

Hypothese

Die physiologische Regulation von Belastungs-Erholungs-Trainingszyklen bei Fußballern und Badmintonspielern kann durch ausgewählte Blutmarker der Kategorien Chemokine, Zytokine, Enzyme, Hormone, Proteinase und Wachstumsfaktoren widerspiegelt werden.

7 Methoden

Zur Verdeutlichung methodischer Zusammenhänge zwischen der Veröffentlichung von (Reichel et al., 2020) sowie (Reichel et al., 2022), erfolgt im ersten Abschnitt eine zusammenfassende Beschreibung des Studiendesigns sowie eine grafische Darstellung einzelner methodischer Arbeitsschritte. Im zweiten Abschnitt wird das Studiendesign der Veröffentlichung von (Hacker et al., 2021) vorgestellt. Hintergründe der gewählten Studiendesigns, detaillierte Beschreibungen der Durchführungen spezifischer Methoden bzw. Testungen unter Angabe verwendeter Materialien und Hersteller, können den entsprechenden Originalarbeiten entnommen werden. Die Abläufe der Studienprotokolle können in Abbildung 1 & 2 in anschaulicher Form gesichtet werden.

7.1 Studiendesign Reichel et al. (2020) und Reichel et al. (2022)

Die Durchführung sowie die ethische Freigabe der folgenden Studien wurde durch die lokale Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen, gemäß der Deklaration von Helsinki, erteilt. Vor Beginn der Studienteilnahme wurden alle Probanden über die Art, den Zweck und die potenziellen Risiken der Studie informiert und sie unterschrieben eine Einverständniserklärung. In einer obligatorischen sportmedizinischen Eingangsuntersuchung wurden alle Partizipierenden auf ihre uneingeschränkte Sporttauglichkeit geprüft und ihre anthropometrischen Daten erhoben. Eine vollständige Übersicht aller angewandten Ein- und Ausschlusskriterien ist den Originalarbeiten zu entnehmen (Reichel et al., 2020; Reichel et al., 2022). Nach einem kontinuierlichen, progressiv belastenden Ausdauerstest mit Laktatdiagnostik und Herzfrequenzmessung (Krüger et al., 2014), wurden die Studienteilnehmenden gemäß den Richtlinien des American College of Sports Medicine for Exercise Testing and Prescription (Riebe et al., 2018) anhand ihrer Ausdauerleistungsfähigkeit in Untergruppen von trainierten und mäßig trainierten Personen unterteilt. Nach einer mindestens siebentägigen Erholungsphase zum Laktatfeldstufentest, folgten nach einem Test-Retest-Design zwei völlig identische, intensive Laufbelastungen, in einem Abstand von exakt vier Wochen. Hintergrund dieser Zeitabstände ist die Berücksichtigung der Menstruationszyklen von weiblichen Probandinnen. Die Auswertung der Herzfrequenz an der individuellen anaeroben Schwelle der Laktatdiagnostik, diente zur Bestimmung des individuellen Lauf tempos bei den jeweiligen Ausdauerbelastungen an den Testtagen. Dabei wurde das Lauf tempo so gewählt, dass eine individuelle physiologische, vegetative und exekutive Ermüdung erreicht wird. An den jeweiligen Testtagen wurden unter standardisierten Bedingungen die ausgewählten Marker jeweils vor, direkt nach, drei und 24 Stunden nach der anstrengenden Ausdauerbelastung erhoben. Die standardisierten Bedingungen können der Tabelle 2 entnommen werden. Die Messzeitpunkte wurden so gewählt, damit die Daten mit früheren Studien vergleichbar sind (Krüger et al., 2016; Schild et al., 2016). Außer dem blutbasierten Marker TBARS, wurden die Konzentrationen der Plasmaproteine mittels hochsensitiver Immunoassays und ELISA-

Systeme bestimmt. TBARS-Konzentrationen wurden spektrofluorimetrisch ausgewertet. Hämatologische Marker wurden mittels eines automatisierten Hämatologie Analysators gemessen. Sportmotorische Muskelkraftparameter wurden durch die Bestimmung der Sprungdistanz bei einem 5-Sprungtest (Coutts et al., 2007) sowie durch die Messung der isometrischen, maximalen Kontraktionskraft der Kniebeuger und –strecker, anhand einer Softwareanalyse, erhoben. Die vegetative Funktion wurde anhand der HRV-Parameter (da Silva et al., 2014; Bellenger et al., 2016) und die exekutive Funktion anhand eines neuropsychometrischen Stroop-Effekt-Tests gemessen (Stroop, 1935; Chu et al., 2015; Scarpina and Tagini, 2017). Das subjektive Wohlbefinden (Steyer et al., 1997) sowie die Wahrnehmung des Schmerzempfindens (Melzack, 1975) wurden anhand spezifischer Fragebögen erhoben. Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte mit SPSS Version 25 (IBM SPSS Statistics 25, IBM GmbH, München, Deutschland) sowie JASP (Version 0.14.1, JASP Team, Amsterdam, Niederlande). Mittelwertunterschiede zwischen den Messzeitpunkten in Abhängigkeit der beiden Testtage wurden anhand der multifaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung (ANOVA) und einer Post-hoc Analyse (Bonferroni-Test) ausgewertet. Für die Analyse der Geschlechterunterschiede sowie dem Einfluss des Trainingsstatus wurden diese Faktoren als Zwischensubjektfaktoren in die ANOVA mit aufgenommen. Die Test-Retest-Reliabilität im Belastungs- und Erholungsverlauf der jeweiligen Marker zu beiden Testtagen wurde anhand der Intraklassen-Korrelation (ICC) ausgewertet. Weitere Korrelationsanalysen nach Pearson und/oder Spearman wurden zur Berechnung auf signifikante Zusammenhänge zwischen den Markern verwendet. In allen Fällen wurde ein p-Wert von $\leq 0,05$ als statistisch signifikant akzeptiert. Alle Abbildungen wurde mit GraphPad Prism 5.01 (GraphPad Software, LA Jolla, USA) erstellt.

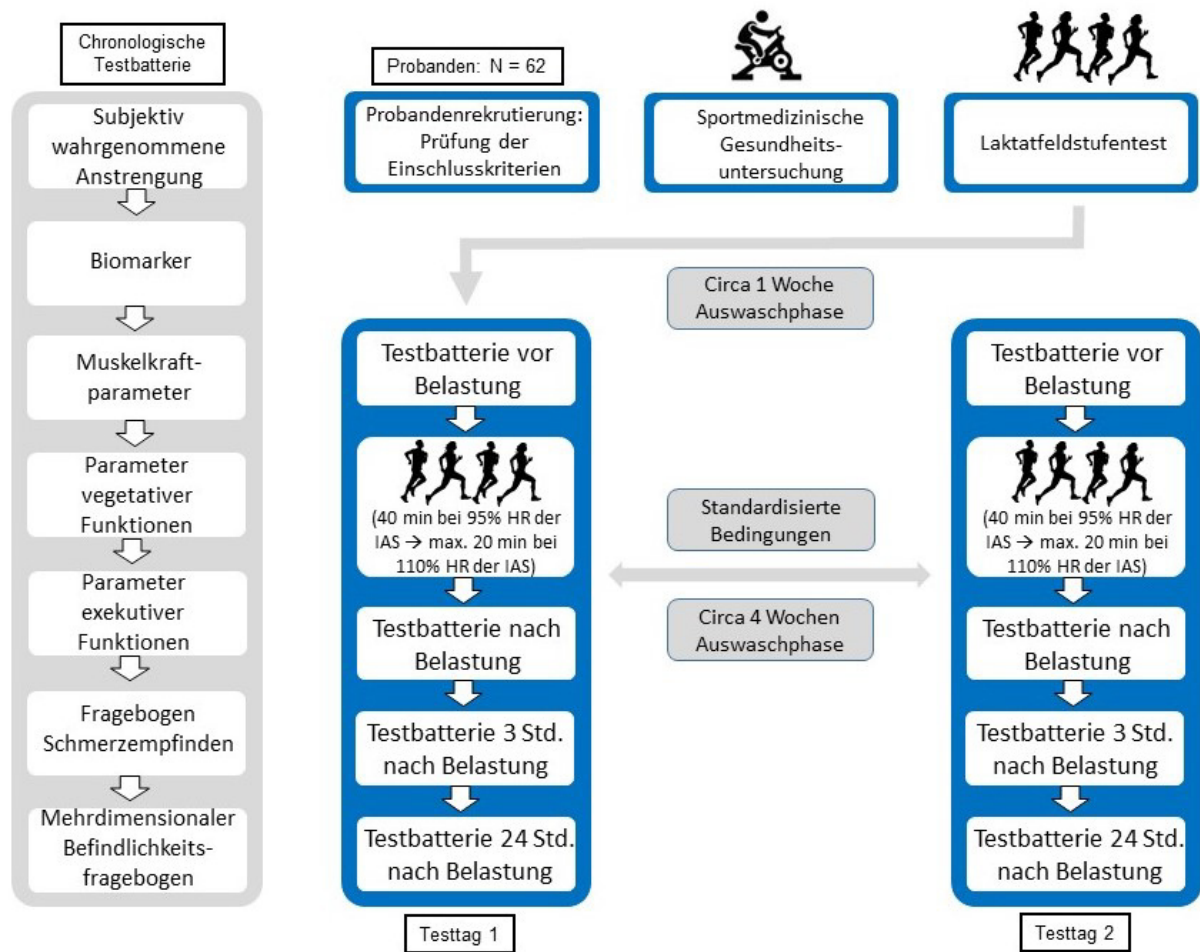


Abbildung 1. Übersichtliche Darstellung des Studiendesigns von Reichel et al. (2020) sowie Reichel et al. (2022)

7.2 Studiendesign Hacker et al. (2021)

Die Durchführung dieser Studie wurde von der lokalen Ethikkommission für Humanforschung der Ärztekammer des Saarlandes, gemäß den Richtlinien der Deklaration von Helsinki, genehmigt. Alle Sportler/-innen gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie. Von internationalen Badmintonspielern sowie semiprofessionellen Fußballern wurden im Trainingsmikrozyklus Ruheblutproben entnommen. Dabei wurden zwei Blutproben innerhalb eines sportartspezifischen Belastungs-/ Erholungszyklus entnommen, eine im regenerierten Zustand der Sportler nach mindestens eintägiger Trainingspause, und eine im belasteten Zustand am Ende eines Trainingszyklus, spätestens 16 Stunden nach der letzten Trainingseinheit. Die Trainingszyklen der beiden Sportarten wurden jeweils sportartspezifisch vom Trainerteam bestimmt. Exemplarische Trainingspläne finden sich bereits in einer veröffentlichten Publikation (Schneider et al., 2020). Als Parameter wurden zur Auswertung teils bereits etablierte belastungssensitive Blutmarker aus der Studie (Reichel et al., 2020) sowie auch innovative Blutmarker verwendet. Eine Zusammenfassung aller Blutmarker und der dazugehörigen physiologischen Kategorien sind in der Originalarbeit zu finden

(Hacker et al., 2021). Außer bei der CK, wurden alle anderen Blutmarker-Konzentrationen gemäß den Anweisungen des Herstellers, mit einem handelsüblichen Luminex Assay unter Verwendung des Luminex Magpix-Systems analysiert. Im Einzelnen wurde die CK mittels automatisierter Routineverfahren anhand eines Immunoassays ausgewertet. Die statistische Analyse erfolgte mittels JASP (Version 0.14.1, JASP Team, Amsterdam, Niederlande). Für die explorative Analyse der Markerregulation zu beiden Zeitpunkten des Zustandes sowie innerhalb der Sportarten, wurde bei normalverteilten Daten der Student's T-Test für gepaarte Stichproben und bei nicht-normalverteilten Daten der Wilcoxon Signed-Rank-Test verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p \leq 0,05$ festgelegt. Alle Abbildungen wurde mit GraphPad Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) erstellt.

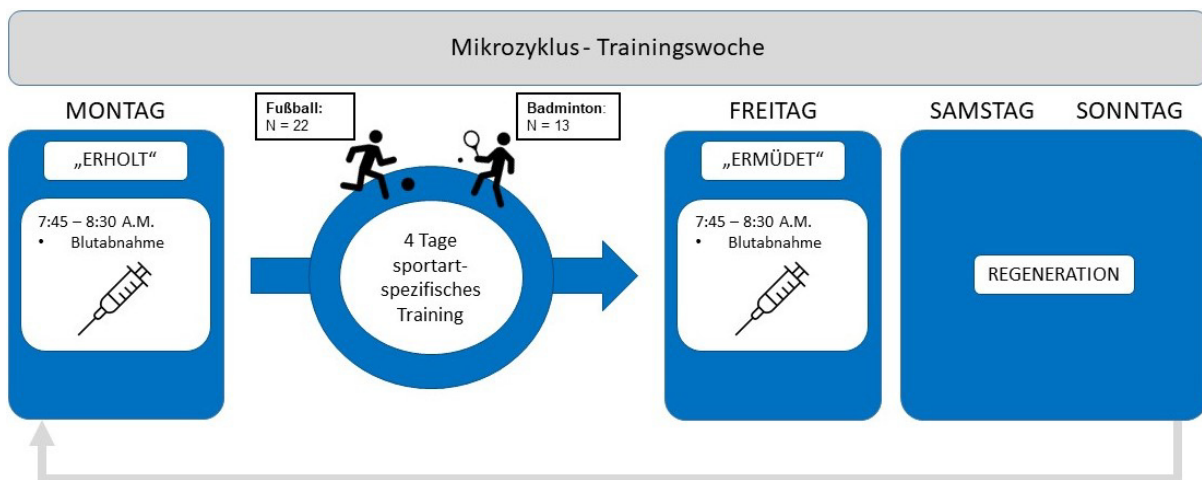


Abbildung 2. Übersichtliche Darstellung des Studiendesigns von Hacker et al. (2021)

8 Publikationen

Die Ergebnisse dieser Dissertation wurden in drei Originalarbeiten veröffentlicht, die in den nachfolgenden Unterkapiteln 8.1., 8.2. und 8.3. abgebildet werden.

8.1 Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers

Reichel T, Boßlau TK, Palmowski J, Eder K, Ringseis R, Mooren FC, Walscheid R, Bothur E, Samel S, Frech T, Philippe M, Krüger K (2020). Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Scientific Reports*, 10 (1), 11924.

DOI: [10.1038/s41598-020-69280-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-69280-9)

URL: <https://www.nature.com/articles/s41598-020-69280-9>



OPEN

Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers

Thomas Reichel^{1,2}, Tim K. Boßlau¹, Jana Palmowski², Klaus Eder³, Robert Ringseis³, Frank C. Mooren⁴, Rüdiger Walscheid⁵, Evita Bothur⁵, Stefan Samel⁵, Torsten Frech², Marc Philippe² & Karsten Krüger²✉

There is currently insufficient evidence about the reliable quantification of exercise load and athlete's recovery management for monitoring training processes. Therefore, this test–retest study investigated the reliability of various subjective, muscle force, and blood-based parameters in order to evaluate their suitability for monitoring exercise and recovery cycles. 62 subjects completed two identical 60-min continuous endurance exercise bouts intermitted by a four-week recovery period. Before, immediately after, three, and 24 h after each exercise bout, analysis of parameters were performed. Significant changes over time were found for rating of perceived exertion (RPE), multidimensional mood state questionnaire (MDMQ), maximum voluntary contraction parameters (MVCs), and blood-based biomarkers ($p < 0.05$). Excellent reliability was calculated for MVCs, mean corpuscular volume and 5-bound distance ($ICC > 0.90$). A good reliability was found for thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ($ICC = 0.79$) and haematological markers ($ICC = 0.75–0.86$). For RPE, MDMQ, interleukin (IL-) 1RA, IL-6, IL-8, IL-15, cortisol, lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK) only moderate reliability was found ($ICC < 0.75$). Significant associations for IL1-RA and CK to MVC were found. The excellent to moderate reliability of TBARS, LDH, IL-1RA, six measured haematological markers, MVCs and MDMQ implicate their suitability as physiological exercise response and recovery markers for monitoring athletes' load management.

The reliable quantification of individuals' physiological response to acute exercise bouts are of major importance for monitoring training. Both, subjective as well as objective markers are used to control athletes' training in accordance with individual abilities. When training stimuli are wrongly applied due to a lack in load management, it results in an imbalance in the exercise load-recovery cycle with the well-known consequence of overtraining, increased risk of injury, and the inhibition of fundamental adaptation processes^{1–3}. Therefore, it seems desirable to further explore the reliability of subjective and objective markers in order to understand how individual athletes deal with physical strains, and thus optimize exercise load-recovery balance. The need of accurate and reproducibly biomarkers in clinical practice, which reflect objective, quantifiable medical signs or effects of treatments and interventions in physiology of biochemical processes, has become a commonplace character⁴.

In order to evaluate and establish suitable markers for monitoring training, and recovery, it is important to investigate subjective and objective process-based changes with high levels of accuracy and precision⁵. However, these requirements are questionable for various parameters, since many biomarkers have crucial limitations and an immense fluctuation width^{1–3}. Previous studies concluded that it is important to assess the reliability and specificity of markers in controlled interventional trials⁶. Particularly in the context of sport, there are only limited data in consideration of reliable markers which reflect the physiological exercise response and recovery processes⁷.

Actually, there is still insufficient knowledge available as to which specific parameters are most suitable to monitor exercise load-recovery status¹. Some metabolic, immunological and haematological markers are

¹Institute of Sports Science, Department of Exercise and Health, Leibniz University Hanover, 30167 Hannover, Germany. ²Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Kugelberg 62, 35394 Giessen, Germany. ³Institute of Animal Nutrition and Nutrition Physiology, Justus-Liebig-University Giessen, 35394 Giessen, Germany. ⁴Department of Rehabilitation, Faculty of Health, Witten/Herdecke University, 58455 Witten, Germany. ⁵Medical Center for Laboratory Medicine and Microbiology, Koblenz-Mittelrhein, 56068 Koblenz, Germany. ✉email: Karsten.Krueger@sport.uni-giessen.de

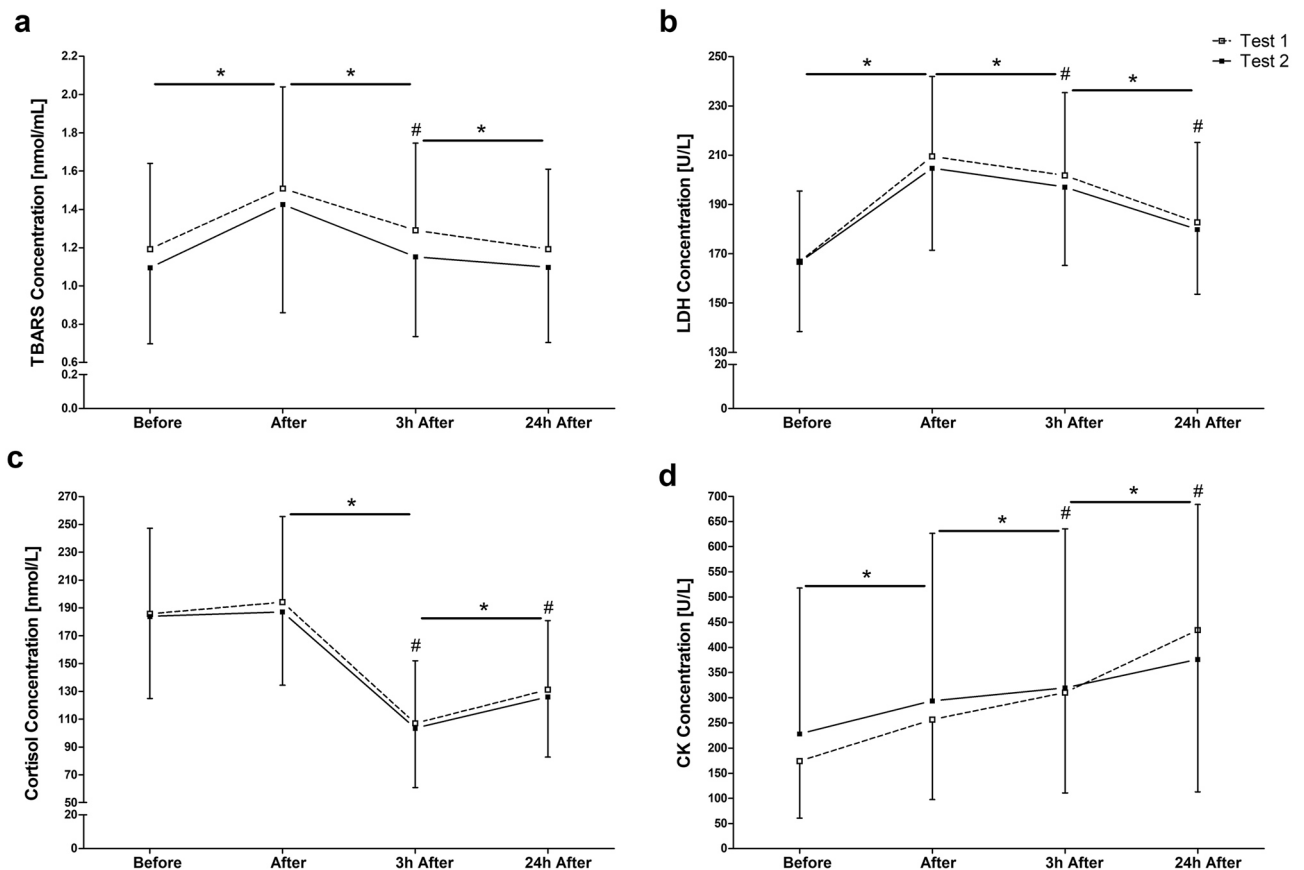


Figure 1. Changes of metabolites (a), enzymes (b, d), and hormones (c) after, 3 h after and 24 h after two identical endurance running field tests (Test 1 and Test 2). Data are presented as mean \pm standard deviation. *Significantly different from previous measuring time point of both tests. #Difference against pre-exercise (before) in both tests ($p < 0.05$).

commonly used as objective physiological exercise response indicators⁸. However, markers such as creatine kinase (CK), which is released in response to muscle fiber damage, are known to have a large intraindividual and interindividual variability^{9,10}. Though, the detailed evaluation of selected haematological parameters, inflammatory markers, enzymes, and metabolic markers such as haemoglobin (HGB)⁸, interleukin (IL)-1 receptor antagonist (IL-1RA)¹¹, lactate dehydrogenase (LDH)¹² or thiobarbituric acids (TBARS)¹³ are still pending. These markers were chosen due to their use in exercise context analyzing immune activation, metabolic demands, or oxidative stress¹⁴. Besides, regarding a comprehensive and serious assessment of athletes' load state, the use of combinations of suitable parameters including functional testing, subjective testing and biochemical analyses should be considered^{15,16}. In this regard, suitability is defined by a certain exercise sensitivity and correlation to muscle force parameters, such as maximum voluntary contraction (MVC)¹⁷. Some studies proved the suitability of muscle force and subjective parameters such as the rating of perceived exertion (RPE) or the multidimensional mood state as subjective tools for physical performance assessments^{18–20}. Accordingly, the discovery of additional markers might contribute to creating a panel of parameters which might offer the possibility of analyzing multiple aspects of human performance and health status.

The aim of the current study was to examine the different exercise response, changes during recovery, and the test–retest reliability of various subjective parameters, muscle force values and blood biomarkers after strenuous bouts of endurance exercise; thereby evaluating their suitability for monitoring exercise load and recovery. We hypothesized that some of the analyzed parameters are suitable and reliable as markers which reflect the physiological exercise response and recovery processes and can be used for sports practice.

Results

Blood biomarkers. Results indicated that TBARS ($F_3 = 79.43$; $p < 0.001$), LDH ($F_3 = 208.72$; $p < 0.001$), CK ($F_{1,44} = 153.09$; $p < 0.001$) and cortisol ($F_{2,33} = 99.89$; $p < 0.001$) showed significant main effects over the measuring time points (MTPs). Both exercise trials induced an increase of TBARS (Fig. 1a), LDH (Fig. 1b) and CK (Fig. 1d) immediately after the tests ($p < 0.001$), whereas no changes were found for cortisol (Fig. 1c). While the concentrations of TBARS, LDH and cortisol decreased three hours after the running field tests (RFTs) ($p < 0.001$), CK further increased ($p < 0.001$). Nevertheless, all four biomarkers showed significant differences 3 h (3 h) after the exercise tests compared to pre-exercise levels ($p < 0.001$). 24 h (24 h) after, levels of TBARS decreased back to

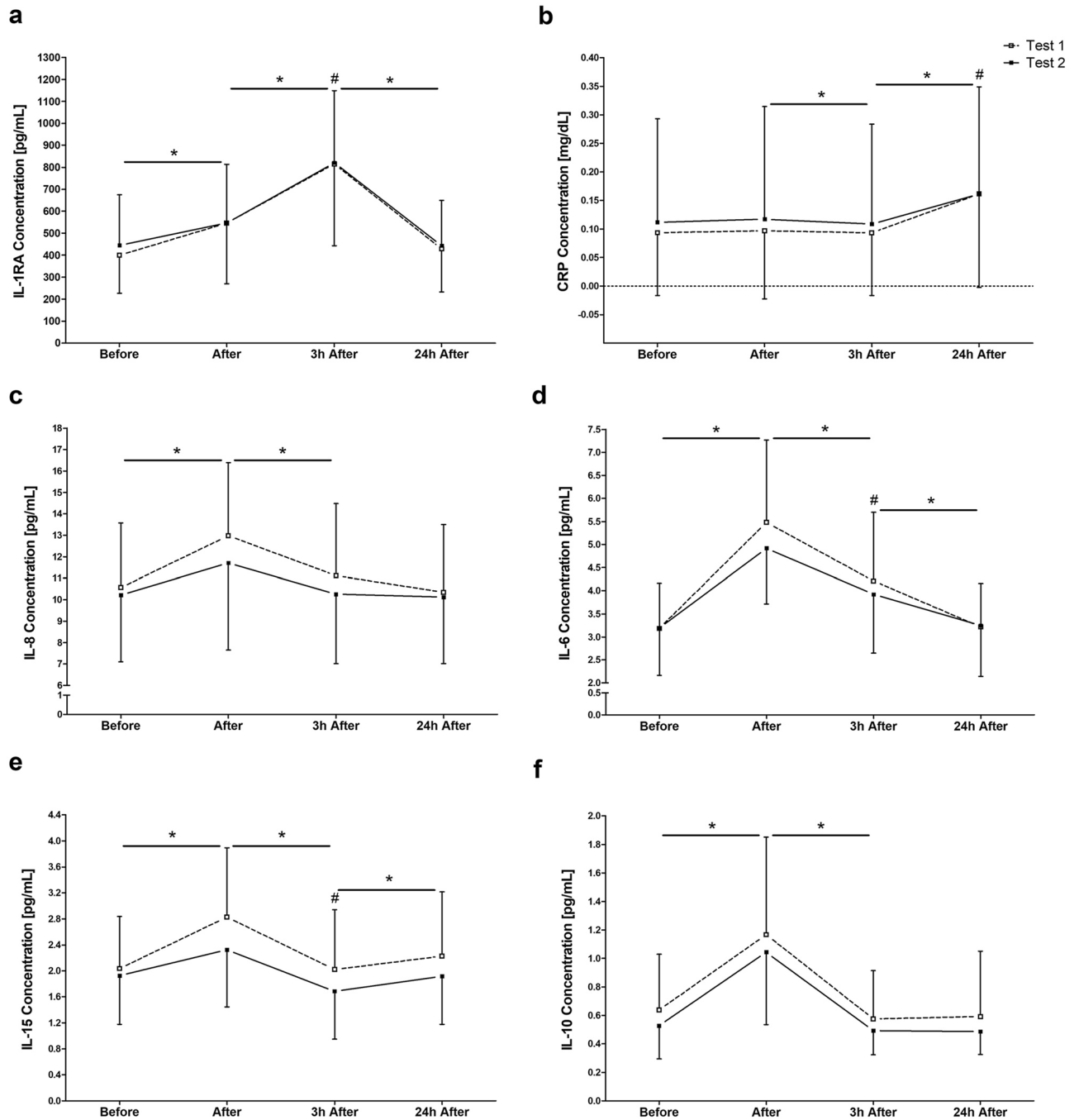


Figure 2. Concentrations of various cytokines (a, c, d, e, f) and plasma proteins (b) before, after, 3 h after and 24 h after two identical endurance running field tests (Test 1 and Test 2). Data are presented as mean \pm standard deviation. *Significantly different from previous measuring time point of both tests. #Difference against pre-exercise (before) in both tests ($p < 0.05$).

baseline (3–24 h, $p = 0.018$). In contrast, concentrations of CK further increased (3–24 h, $p < 0.001$), while cortisol concentration turned again into a rise (3–24 h, $p < 0.001$). LDH, CK and cortisol were still increased after 24 h compared with pre-exercise levels ($p < 0.001$). Analysis of reliability exhibited good to moderate intraclass correlation coefficients (ICCs) for TBARS (ICC = 0.79), LDH (ICC = 0.73), cortisol (ICC = 0.7) and CK (ICC = 0.64).

Significant main effects were found for the cytokines IL-1RA ($F_{2,36} = 210.85$; $p < 0.001$), IL-8 ($F_3 = 30.09$; $p < 0.001$) and C-reactive protein (CRP) ($F_{1,39} = 63.52$; $p < 0.001$) over the measuring time points. The RFTs induced an increase in IL-1RA, IL-6, IL-8, IL-10, and IL-15 immediately after exercise ($p < 0.0001$). In contrast, no immediate changes of CRP levels (Fig. 2b) were found. Peaking immediately after, concentrations of IL-8 (Fig. 2c), IL-6 (Fig. 2d), IL-15 (Fig. 2e), and IL-10 (Fig. 2f) decreased 3 h after the RFTs ($p < 0.001$), while IL-6 and IL-15 were still increased compared to pre-exercise values (IL-6: $p < 0.001$; IL-15: $p = 0.004$). Similarly, IL-1RA (Fig. 2a) peaked 3 h after the RFTs ($p < 0.001$). Levels of both, IL-6 and IL-1RA, returned to baseline at 24 h after

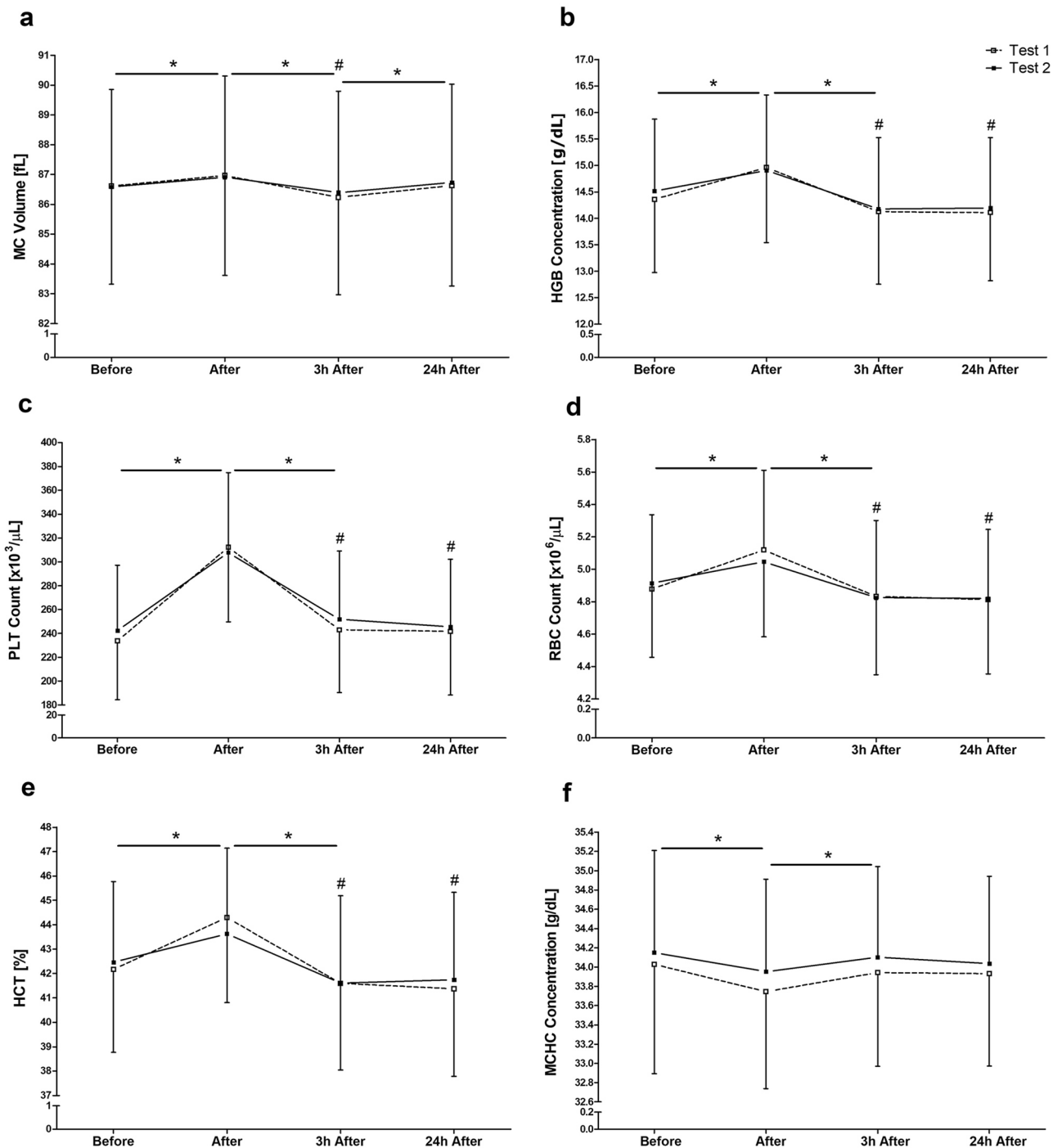


Figure 3. Effects of both running field tests (Test 1 and Test 2) on various haematological markers after, 3 h after and 24 h after. Data are presented as mean \pm standard deviation. *Significantly different from previous measuring time point of both tests. #Difference against pre-exercise (before) in both tests ($p < 0.05$).

the running trials ($p < 0.001$). CRP showed a delayed peak at 24 h after the RFTs. For IL-15 a further increase was found between 3 and 24 h after the RFTs ($p < 0.0001$). The best test-retest reliability was measured for IL-1RA (ICC = 0.72). Moderate ICC values were calculated for CRP (ICC = 0.71), IL-8 (ICC = 0.67), IL-6 (ICC = 0.64) and IL-15 (ICC = 0.55), while the ICC of IL-10 was below 0.5 (ICC = 0.24).

For all blood cell related markers, the two-way ANOVA revealed significant differences over the MTPs, such as mean corpuscular volume (MCV) ($F_3 = 56.15$; $p < 0.001$) and platelets (PLT) ($F_{3,48} = 342.75$; $p < 0.001$). Post hoc analysis of blood cell related markers showed an increase in MCV, haemoglobin (HGB), PLT, erythrocytes (RBC) and haematocrit (HCT) (Fig. 3a–e) immediately after exercise ($p < 0.001$). In contrast, exercise trials were followed by a decrease of mean corpuscular haemoglobin concentration (MCHC) (Fig. 3f) immediately after the RFTs ($p = 0.005$). While MCV, PLT, HGB, RBC and HCT decreased 3 h after ($p < 0.001$), the MCHC values

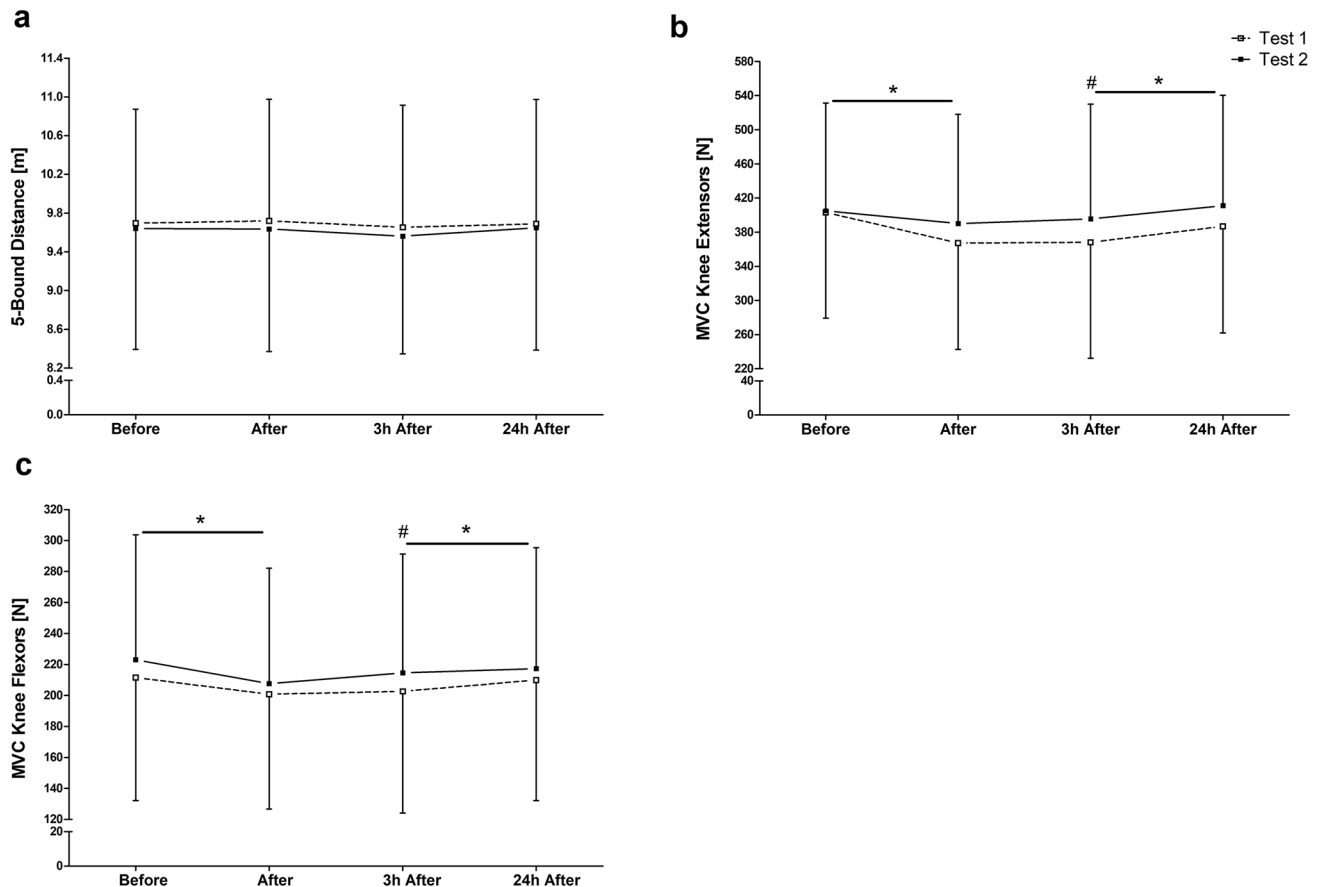


Figure 4. Five-bound test for jump distance (a), MVC in knee extensors (b), and knee flexors (c) for muscle force before, after, 3 h after and 24 h after two identical endurance running field tests (Test 1 and Test 2). Data are presented as mean \pm standard deviation. *Significantly different from previous measuring time point of both tests. #Difference against pre-exercise (before) in both tests ($p < 0.05$).

turned into a significant increase ($p < 0.001$). The concentration of MCV increased ($p < 0.001$) 24 h after both RFTs, again. For HGB, PLT, RBC, and HCT significant differences between pre-exercise and 3 h ($p < 0.001$) and 24 h (HGB: $p < 0.001$; HCT: $p < 0.002$; PLT: $p < 0.046$; RBC: $p < 0.001$) were shown. With regard to the test–retest reliability, excellent to good ICC levels were found for MCV (ICC = 0.96), HGB (ICC = 0.86), PLT (ICC = 0.86), RBC (ICC = 0.84), HCT (ICC = 0.78) and MCHC (ICC = 0.75). However, for other blood markers such as mean corpuscular haemoglobin (MCH), lymphocytes (LYM), platelets-lymphocyte ratio (PLR), neutrophils (NEU), neutrophils-lymphocytes ratio (NLR), systemic immune-inflammation index (SII) and leukocytes (WBC), no significant changes over the MTPs or only moderate ICC values between 0.51 – 0.74 were found (data not shown).

Muscle force parameters. No changes over time were found for the 5-bound distance (Fig. 4a). However, for this test an excellent ICC of 0.96 was calculated. The two-way ANOVA revealed significant differences in both MVCs (knee flexion: $F_{2,61} = 14.18$, $p < 0.001$; knee extension: $F_{2,49} = 25.01$, $p < 0.001$) parameters over the MTPs. MVCs of the knee extensors (Fig. 4b) and the knee flexors (Fig. 4c) decreased immediately after the RFTs ($p < 0.001$). Both parameters returned to pre-exercise values at 3 h after exercise. Excellent ICC values for the MVC of knee extensors (ICC = 0.93), as well as knee flexors (ICC = 0.92) were calculated.

Subjective parameters. The two-way ANOVA revealed significant changes over time for RPE values (Fig. 5a) ($F_3 = 345.19$; $p < 0.001$). For the test–retest reliability, a poor ICC of 0.49 was found. Data from the acute multidimensional mood state showed lower scores immediately after the RFTs as well as three hours after exercise. We compared this to pre-exercise levels ($F_{2,62} = 13.94$; $p < 0.001$) (Fig. 5b). Values increased back to baseline between three hours and 24 h after ($p = 0.001$). In view of the results between both MTPs, an ICC of 0.70 was found.

Correlation analysis. A correlation was found between MVC in knee extension and TBARS immediately after ($r = 0.26$, $p = 0.044$), 3 h after ($r = 0.34$, $p = 0.009$) and 24 h after ($r = 0.30$, $p = 0.020$) the RFT at testing day 1 (TD1). Interestingly, there were also correlations in the changes between the pre-exercise value and 3 h after ($r = -0.30$, $p = 0.021$). In addition, the MVC in knee flexion correlated with the TBARS three hours after ($r = 0.31$, $p = 0.031$) and 24 h after ($r = 0.28$, $p = 0.030$). In confirmation with these results, the differences in measuring

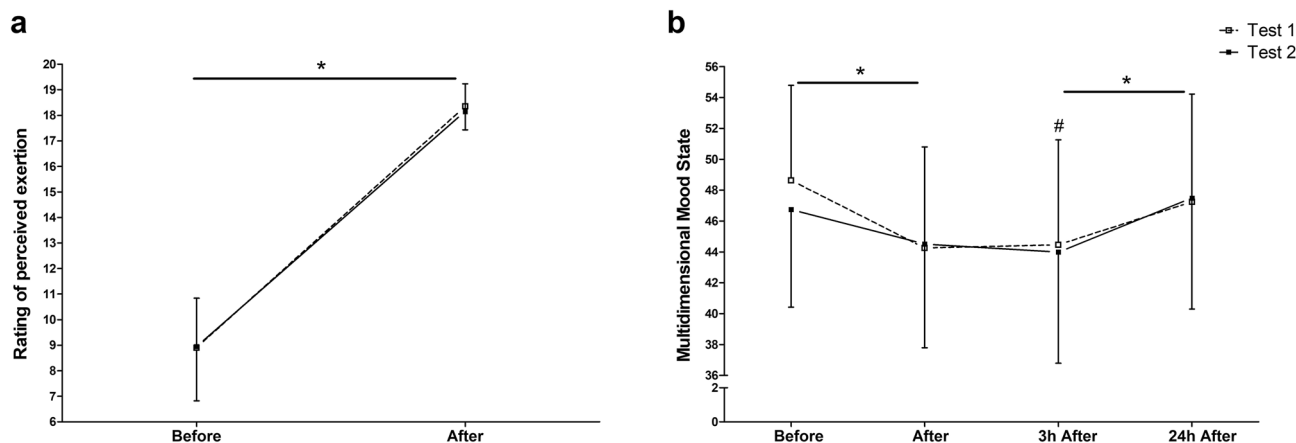


Figure 5. Rating of perceived exertion (a) requested using BS and multidimensional mood state (b) scaling by using the MDMQ before, after, 3 h after and 24 h after two identical endurance running field tests (Test 1 and Test 2). Data are presented as mean \pm standard deviation. *Significantly different from previous measuring time point of both tests. #Difference against pre-exercise (before) in both tests ($p < 0.05$).

times pre-exercise to 24 h after could also correlate between knee flexion and TBARS ($r = -0.26$, $p = 0.048$). An association between CK and MVC knee extension over all MTPs ($r = 0.40$, $p = 0.002$; $r = 0.38$, $p = 0.004$; $r = 0.28$, $p = 0.034$; $r = 0.36$, $p = 0.006$) was detected. Furthermore, correlations between the MVC values in knee flexion and CK was determined based on the calculations between the changes from pre- to post-exercise ($r = 0.27$, $p = 0.039$) as well as to 3 h after ($r = -0.36$, $p = 0.005$). Interestingly, correlation analysis revealed an association between both MVC parameters and IL-1RA immediately after exercise at TD1 (MVC knee flexors—IL-1RA: $r = 0.31$, $p = 0.017$; MVC knee extensors—IL-1RA: $r = 0.31$, $p = 0.019$). Finally, a significant correlation of the changes between IL-1RA and MVCs pre- and post-exercise was found ($r = 0.27$, $p < 0.044$). The trend of the MVC values was similar to the trend of all correlated biomarkers.

Effects of training status. No differences between trained and untrained participants were found for the changes of any parameter over time. With regard to the reliability, CK revealed a poor reliability in the subgroup of trained individuals ($ICC = 0.49$), while reliability was categorized as good ($ICC = 0.84$) for the untrained group. The opposite was true for CRP. In the subgroup of trained participants a good reliability was found ($ICC = 0.80$), while the reliability in the untrained subgroup was calculated as poor ($ICC = 0.48$).

Discussion

The novel findings of the present study are the high reliability of TBARS, LDH, IL-1RA, MCV, HGB, PLT, RBC, HCT, and MCHC after two identical controlled bouts of endurance exercise, suggesting their suitability as blood-based biomarkers for monitoring physiological exercise response and recovery status in endurance athletes. Based on the high associations to MVC, CK seems to be a suitable biomarker. However, the reliability of CK was only moderate, questions its use as a marker in sports practice. MVCs and the MDMQ seem to represent appropriate complementary monitoring tools to the blood markers.

Regarding blood-based biomarkers, the highest reliability was found for TBARS, followed by LDH and IL-1RA values. A similar physiological exercise response-recovery curve for the TBARS concentrations was shown in a recent study by Krüger et al. (2016) after a 30 min continuous bicycle test²¹. Other findings confirm a high responsiveness of TBARS after exercise, which physiologically reflects an increased oxidative stress and subsequently an enhanced lipid peroxidation after acute exercise²². The observed correlations between TBARS and MVCs after the endurance exercise support an association between levels of oxidative stress and muscle force, and also proved the potential suitability of TBARS as a diagnostic parameter in endurance sports^{2,10}. Despite the observed high reliability of TBARS as a parameter for evaluating physiological exercise response and recovery processes, the method of TBARS analysis has been generally considered critically in the literature due to several limitations. As discussed by Cobley et al. (2017), a major flaw of TBARS measurement is the low specificity of TBARS which react with various substrates to form malondialdehyde (MDA) such that most MDA is generated by the assay itself²³. In addition, the heating step during TBARS analysis causes partial lipid decomposition leading to the formation of extraneous MDA. However, current data proved that standardized procedures might compensate for some methodological flaws. LDH values showed similar kinetics like TBARS over time. With regard to high reliability of blood LDH values and results of previous studies, this marker might represent another suitable biomarker for exercise load and recovery²⁴. Within the cytokines, IL-1RA showed the highest reliability and, in parallel, seems to be associated with physiological exercise response and progressive recovery. IL-1RA is secreted by various types including immune cells, and inhibits pro-inflammatory activities of various cytokines. The observed changes in IL-1RA concentration correspond with earlier observations which showed a peak at one and a half to two hours after exercise and a decrease back to baseline levels 24 h after treadmill running²⁵. However, the reliability of IL-1RA has not been established so far. Interestingly, we found an association to MVC,

suggesting a link to muscular fatigue. Thus, the anti-inflammatory cytokine, IL-1RA, seems to be a reliable and suitable marker which reflect the physiological exercise response and recovery processes in athletes' during endurance exercises. IL-10 is primarily expressed by monocytes and represents an anti-inflammatory cytokine, while IL-15 is a regulator of the activity of T cells and natural killer cells²⁶. Limitations in the methodological analysis of IL-10 and IL-15 are suggested to be the reason for the weak reliabilities within these cytokines. The results of both markers are below the limit of detection of all commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. Thus, IL-10 and IL-15 are not seriously quantifiable by this method.

CK is a frequently used diagnostic marker for detecting exercise-induced muscle disruption or increased cell permeability. With regard to the assessment of suitability, CK is exercise sensitive and CK blood concentrations highly correlated to MVC values at different time points. Contrary to our expectations, for CK, only a moderate reliability was found. Due to the high interindividual variability in serum CK, the assignment of reliable reference values for athletes is complicated¹⁰. In accordance with these results, a study of Roe et al. (2016) found only a low reliability with a high coefficient of variation and a poor sensitivity measured in rugby players²⁷. It is suggested that variabilities in CK release after exercise is caused by the existence of high and low responders due to the availability of different gene polymorphisms. However, other factors, such as training status or gender, might affect the reliability of CK⁹. In addition, the peak of CK values was somewhat delayed at 24 h after the RFTs, making it difficult to associate this parameter to muscular fatigue and to represent possible muscular recovery processes. This finding is consistent with other data that proved a poor correlation of CK values with other objective physiological markers²⁵. However, it should be evaluated if CK is a more eligible marker for determination of muscular damage after eccentric or unaccustomed exercise over days.

For the majority of the haematological markers, a high reliability was found. These parameters include MCV, HGB, PLT, RBC, HCT, and MCHC. Excellent reliability was calculated for MCV. MCV is a predictive indicator for haematological diseases and according to findings of the resulting data, also a suitable marker to represent the physiological exercise response and recovery processes. A review of seasonal variations of haematological parameters in athletes summarizes concordant characteristics within the same sport discipline²⁸. It could conceivably be hypothesized that the methodological analyses of haematological markers have a higher stability compared to the cytokine or enzyme measurements. It is assumed that the immediate processing and the lack of any centrifugation or freezing procedures result in a higher reliability. However, a previous study has proven a potential negative impact on the stability of cytokine measurements in plasma²⁹. While haematological markers might be affected by an increased mechanotransduction and plasma volume contraction during strenuous endurance exercise bouts³⁰, most cytokines are released by different cell types and are involved in multiple physiological processes. However, data about the reliability of haematological markers are rare, although many studies have called for follow-up studies to review the quality criteria³¹.

Interestingly, MVCs can be classified as highly reliable. In line with previous studies, a decreased MVC of knee extension, as well as a reduction in MVC of knee flexion, were found after endurance exercise trials¹⁸. Similarly, an excellent reliability of MVC was previously confirmed³². Previous studies which quantify the load condition after endurance exercise use the MVCs of the lower limbs to examine muscular fatigue directly by functional testing¹⁸. Thus, MVC analysis of knee flexion and knee extension might be useful functional tests to analyze exercise load and recovery in endurance exercise.

It is somewhat surprising that the MDMQ data quoted higher reliabilities compared to Borg scale (BS) values. RPE is regularly used in sports science research and a valid parameter of internal training load³³. However, not much is known about its reliability in the context of endurance exercise. In contrast, the score of multidimensional mood state is rarely used in sports science. Nevertheless, a reliability of ICC = 0.70 was found, indicating that the questionnaire might be a suitable complementary diagnostic tool for the assessment of exercise load and recovery processes in endurance sports.

Interestingly, the training status had negligible effects on the physiological exercise response. Accordingly, the suitability of the exercise response and recovery markers was not significantly different between the subgroups of trained and untrained individuals. However, the reason might be that we did not recruit highly trained endurance athletes for this study. Surprisingly, we found a difference in the reliability of CK and CRP. Here, CK showed a lower reliability for trained compared to untrained subjects, while for CRP higher reliability was found in the trained subgroup.

Finally, a number of important limitations need to be considered. The preliminary testing, as well as further exercise trials in the study, were performed in the field rather than under laboratory conditions. In addition, we did not use the maximum oxygen consumption (VO_{2max}) as a gold standard to control exercise intensities³⁴. Therein, we see greater benefits from our method, particularly regarding the transferability in sports practice. Due to the limited space, we could not analyze the differences between gender, menstruation cycle and training status. This study focused exclusively on research of suitable and reliable physiological exercise response and recovery markers with a high number of random participants.

In conclusion, the best reliability and suitability were found for TBARS and IL-1RA suggesting their eligibility as markers for the monitoring of exercise response and recovery processes in endurance sports. Also, a good reliability was found for LDH, while CK showed good suitability but only moderate reliability. Accordingly, data indicate to expand the panel of blood biomarkers to monitor the athletes' load-recovery status in a reliable way. Perhaps, the use of a combination of selected blood markers, MVC measurements, and subjective assessment tools such as MDMQ, should be discussed. Further research in this field is needed to evaluate the suitability of marker combinations, which comprehensively assess physiological exercise response and recovery processes in athletes. These findings should be combined with the development of innovative analyzing tools, that can be applied by athletes and trainers.

| Variables | Overall | Trained (T) | Untrained (UT) |
|---------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|
| Age (years) | 25.3 ± 4.6 (19–43) | 25.62 ± 5.3 (19–43) | 24.8 ± 3.4 (19–35) |
| Height (cm) | 175.8 ± 10.1 (155–201) | 172.2 ± 8.8 (155–191.5) | 181.2 ± 9.5 (158–201) |
| Weight (kg) | 72.9 ± 13.8 (50–109) | 67.8 ± 10.7 (50–99) | 80.6 ± 14.6 (52.5–109) |
| BMI* (kg/m ²) | 23.4 ± 2.8 (18.8–30.2) | 22.8 ± 2.5 (18.8–28.8) | 24.4 ± 3.1 (19.9–30.2) |

Table 1. Subject characteristics and anthropometric data (n = 62). Data are presented as Mean ± SD (Min.–Max.). *BMI body mass index.

Methods

Subjects. For a test–retest study design, 106 trained and untrained male and female subjects, aged 19–43 years, were recruited randomly and voluntarily to participate. 62 (31 male and 31 female) of them completed all examinations and were included in statistical analysis. According to the American College of Sports Medicine guidelines for exercise testing and prescription, the participants were differentiated based on their endurance capacity in subgroups of trained (T) (N = 37) and untrained (UT) (N = 25) individuals³⁵. The T group consisted mainly of runners, strength athletes, and semi-professional team sports players such as soccer, handball, and volleyball players. All other subjects were defined as either recreational active or inactive individuals. Their personal characteristics and anthropometric data are collectively shown in Table 1. All subjects were informed about the nature, purpose, and potential risks of the study and signed an informed consent statement prior to study participation. The local Ethical Committee of the Justus-Liebig-University Giessen (Germany) reviewed the study and approved ethical clearance, which was obtained according to the Declaration of Helsinki. In order to ensure that all subjects were physically healthy and fit enough to participate in sporting activities, they were medically screened. Exclusion criteria consisted of smoking, pregnancy, mothers in the lactation period, cardiovascular diseases, acute infections, musculoskeletal injuries, acute symptomatic respiratory deficits, and chronic diseases.

Experimental approach: preliminary testing. The first step of the experimental approach contains testing of endurance capacity parameters to monitor the kinetics of various markers during further two identical strenuous exercise trials under controlled conditions. Subjects were tested for their endurance capacity during a continuous progressive exercise field test using lactate diagnostic, as previously described³⁶. Briefly, subjects started on a 200 m running track at 6 km/h and increased their running speed by 2 km/h every three minutes until subjective exhaustion. Prior to the field test, between the three-minute stages with a break of 30 s and immediately after exhaustion, 20 µL of capillary blood was taken from the earlobe with an end-to-end glass capillary. Heart rate (HR) was continuously tracked using HR monitors (Polar FT1, Polar Electro Oy, Finland). Blood lactate values were analyzed using enzymatic-amperometrical detection (Bosen S-Line Plus, EKF-Diagnostics Sales GmbH, Magdeburg, Germany). HR and blood lactate values were used to evaluate the individual anaerobic threshold (IAT) using the Ergonizer Software for medical application (Ergonizer Software 4.9.4, Freiburg, Germany). The IAT was used to determine the individual running intensity during the following strenuous exercise trials. Calculation of IAT was performed by adding the constant value of 1.5 mmol/L to lactate concentration at the individual's lactate threshold³⁷.

Experimental approach: testing days of strenuous exercise trials. Approximately one week after the preliminary test, first testing day TD1 of strenuous exercise trial took place. Both testing days (TDs) started between 8:00 and 9:00 am for each subject. Prior to the TDs, subjects were instructed on several standardized conditions to which they had to comply. From four days before the particular TDs, subjects were not allowed to take part in any exhausting physical activity, only regenerative training was acceptable. Furthermore, it was forbidden to consume alcohol the day before. A nutrition protocol had to be drawn up, which included all consumed drinks and meals one day prior TD1 as well as breakfast on the testing day. The protocol served as a guideline for the food intake prior to the second testing day (TD2) to ensure standardized conditions. At the respective testing day, subjects had to fill out a questionnaire concerning their regular physical activity and their usual nutrition. All participants did not change their regularities in nutrition as well as in physical activity in between the exercise trials. In female subjects, the menstrual cycle was documented as well. These questionnaires were issued to document large deviations in these habits and to exclude possible changes in physical performance between TD1 and TD2.

The testing procedure contains two identical 60-min continuous endurance running field tests RFTs, intermitted by a recovery period of approximately four weeks. In order to examine the test–retest reliability of measured parameters, the previously described standardized conditions during both TDs were given high significance. The exercise protocol consisted of 40 min running at an intensity corresponding to 95% of HR at IAT, followed by 20 min at 110% in order to ensure exhaustion. The participants completed both RFTs at the same duration at the respective HR. Specific duration and intensity were chosen after the evaluation of a pilot study as well as in previous studies³⁸. The outcome measures were collected before, immediately after, 3 and 24 h after each exercise test by double analysis. MTPs were chosen to make data comparable to previous studies^{11,21}.

Blood biomarkers. Venous blood samples were collected in vacutainers. Plasma vacutainers were anti-coagulated with EDTA. It was centrifuged at $2,500 \times g$ for 10 min at 4°C immediately after sampling, while serum samples had clotted for 30 min before centrifugation. Samples were separated into aliquots and stored in Eppendorf tubes at -80°C until analysis. IL-1RA, IL-8, IL-15 and IL-10 were determined by high-sensitivity ELISA (Quantikine ELISA Kits: R&D Systems, analytical sensitivity: IL-1RA: 18.3 pg/mL, IL-8: 0.4 pg/mL, IL-10: 0.17 pg/mL, IL-15: 2 pg/mL; MVZ, Koblenz, Germany). Enzymes, CK and LDH, as well as the plasma protein CRP were analyzed by ELISA using a Cobas 8,000 Immunoassay System (Roche Diagnostics, analytical sensitivity: CK: 7 U/L, LDH: 10 U/L, CRP: 0.3 mg/L; MVZ, Koblenz, Germany). Levels of cortisol and IL-6 were measured by Advia Centaur XPT immunoassay system (Siemens, analytical sensitivity: cortisol: 3 ng/mL, IL-6: 2.7 pg/mL; MVZ, Koblenz, Germany). Plasma concentration of TBARS, a metabolite of lipid peroxidation, was determined spectrofluorimetrically. Briefly, plasma samples were heated with thiobarbituric acid reagent at 100°C for 60 min. After cooling, it was neutralized with alkaline methanol. Finally, samples were centrifuged at $3,000 \times g$ and TBARS levels were measured by fluorescence signals (excitation wavelength 532 nm; emission wavelength 553 nm; Fluorescence Spectrometer LS55, PerkinElmer, Rodgau, Germany). Numbers of WBC, RBC, LYM, PLT, and NEU were determined using an automated haematology analyzer (Sysmex KX-21 N Auto-analyzer, TOA Electronics, Japan). Furthermore, levels of HGB, HCT, MCH, MCV and MCHC were evaluated. SII, PLR as well as NLR were calculated as previously described³⁹.

Muscle force parameters. To investigate the muscle force performance of the lower limbs, a 5-bound test (5BT) for measuring jump distance and an isometric strength test for measuring maximum voluntary contraction of knee flexion and extension were used. The 5BT was carried out as previously described⁴⁰. Briefly, subjects were required to stand with their preferred foot forward at a marked starting point and bound five consecutive bounds with alternating left and right foot. Three trials were performed and the jump with the largest horizontal distance (m) was documented. The jump distance was measured from the marked starting position to the heel of the rear foot after the fifth jump. MVC of knee extensors and knee flexors were analyzed using isometric strength dynamometer m3diagnos (Schnell, Peutenhausen, Germany). First, subjects were seated and fixed in a standardized position with a defined device angle of 60° to measure the MVC of the knee extensors. An abdomen belt and crossed arms in front of the chest limited any extraneous movements of the upper body. Secondly, the MVC of knee flexors was examined in a lying position with a defined device angle of 150° . For each test, the best value of two trials was recorded. MVCs were calculated by analysis software (Diagnos Professional V1.0, Schnell).

Subjective parameters. The subjective RPE were requested using the BS⁴¹. Furthermore, each subject had to complete a German version of the MDMQ⁴². It contains twelve items rated on a five-point Likert scale and measures three subscales (good-bad mood, alertness-tiredness and calmness-restlessness). These subscales are summed up, yielding a score between four and 20, with higher scores indicating better mood, higher alertness and calmness. From all three subscales, an index between twelve and 60 was calculated, which reflects the acute multidimensional mood state.

Statistics. Data of all subjects are presented as means \pm standard deviation of the mean and the minimum and maximum values. In cases of normal or log-normal distribution (Kolmogorov–Smirnov test), data were analyzed using the two-way ANOVA to observe mean differences between the MTPs depending on the TDs. If analysis revealed any significant main effects between the MTPs ($p < 0.05$), post hoc analysis was conducted by using the Bonferroni test. To consider training status, we separated the participants into subgroups of trained and untrained individuals and added these as between-subjects factor into the ANOVA analysis. Furthermore, analysis of the test–retest reliability between the MTPs of TD1 and TD2 was carried out with the ICC (model: two-way mixed effects; type: single measurement; definition: absolute agreement). In all cases, $\text{ICC} > 0.5$ was accepted as a minimal test–retest reliability. Values between 0.5 and 0.75, 0.75 and 0.9, and greater than 0.9 are indicative of moderate, good, and excellent reliability⁴³. Pearson's correlation analysis was used to analyze the suitability of the parameters. In all cases, $p < 0.05$ was accepted as being significant. Statistical power analysis was performed according Cohen et al. (1988)⁴⁴. All statistical analyses were carried out using SPSS version 25 (IBM SPSS Statistics 25, IBM GmbH, Munich, Germany). Figures were created with GraphPad Prism 5.01.

Data availability

The datasets generated during and/or analysed during the current study are available from the corresponding author (Karsten Krüger; Karsten.Krueger@sportwiss.uni-giessen.de) on reasonable request and with permission from all involved institutions.

Received: 19 February 2020; Accepted: 16 June 2020

Published online: 17 July 2020

References

- Halson, S. L. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sports Med. (Auckland, N. Z.)* **44**(Suppl 2), 139–147. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0253-z> (2014).
- Kellmann, M. et al. Recovery and performance in sport: consensus statement. *Int. J. Sports Physiol. Perf.* **13**, 240–245. <https://doi.org/10.1123/ijspp.2017-0759> (2018).
- Thorpe, R. T., Atkinson, G., Drust, B. & Gregson, W. Monitoring fatigue status in elite team-sport athletes: implications for practice. *Int. J. Sports Physiol. Perf.* **12**, S227–s234. <https://doi.org/10.1123/ijspp.2016-0434> (2017).
- Strimbu, K. & Tavel, J. A. What are biomarkers?. *Curr. Opin. HIV AIDS* **5**, 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177> (2010).

5. Finsterer, J. & Drory, V. E. Wet, volatile, and dry biomarkers of exercise-induced muscle fatigue. *BMC Musculoskelet. Disord.* **17**, 40. <https://doi.org/10.1186/s12891-016-0869-2> (2016).
6. Cristalli, D. O., Arnal, N., Marra, F. A., de Alaniz, M. J. & Marra, C. A. Peripheral markers in neurodegenerative patients and their first-degree relatives. *J. Neurol. Sci.* **314**, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.11.001> (2012).
7. Lee, E. C. *et al.* Biomarkers in sports and exercise: tracking health, performance, and recovery in athletes. *J. Strength Conditioning Res.* **31**, 2920–2937. <https://doi.org/10.1519/jsc.0000000000002122> (2017).
8. Smith, L. L. Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress?. *Med. Sci. Sports Exerc.* **32**, 317–331 (2000).
9. Brancaccio, P., Maffulli, N. & Limongelli, F. M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* **81–82**, 209–230. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldm014> (2007).
10. Meyer, T., Kellmann, M., Ferrauti, A., Pfeiffer, M. & Faude, O. The measurement of recovery and regeneration requirements in football. *Ger. J. Sports Med.* **64**, 28–34 (2013).
11. Schild, M. *et al.* Effects of acute endurance exercise on plasma protein profiles of endurance-trained and untrained individuals over time. *Mediators Inflamm.* **2016**, 4851935. <https://doi.org/10.1155/2016/4851935> (2016).
12. Romagnoli, M. *et al.* Influence of training and a maximal exercise test in analytical variability of muscular, hepatic, and cardiovascular biochemical variables. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **74**, 192–198. <https://doi.org/10.3109/00365513.2013.873948> (2014).
13. Theofilidis, G., Bogdanis, G. C., Koutedakis, Y. & Karatzaferi, C. Monitoring exercise-induced muscle fatigue and adaptations: making sense of popular or emerging indices and biomarkers. *Sports (Basel, Switzerland)* **6**, 153. <https://doi.org/10.3390/sport6040153> (2018).
14. Proschinger, S. & Freese, J. Neuroimmunological and neuroenergetic aspects in exercise-induced fatigue. *Exerc. Immunol. Rev.* **25**, 8–19 (2019).
15. Hecksteden, A. *et al.* Blood-borne markers of fatigue in competitive athletes: results from simulated training camps. *PLoS ONE* **11**, e0148810. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148810> (2016).
16. Stenholm, S. *et al.* Anabolic and catabolic biomarkers as predictors of muscle strength decline: the InCHIANTI study. *Rejuven.* **13**, 3–11. <https://doi.org/10.1089/rej.2009.0891> (2010).
17. Pedlar, C. R., Newell, J. & Lewis, N. A. Blood biomarker profiling and monitoring for high-performance physiology and nutrition: current perspectives, limitations and recommendations. *Sports Med. (Auckland, N. Z.)* **49**, 185–198. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01158-x> (2019).
18. Presland, J. D., Dowson, M. N. & Cairns, S. P. Changes of motor drive, cortical arousal and perceived exertion following prolonged cycling to exhaustion. *Eur. J. Appl. Physiol.* **95**, 42–51. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-1395-3> (2005).
19. Lattier, G., Millet, G. Y., Martin, A. & Martin, V. Fatigue and recovery after high-intensity exercise part I: neuromuscular fatigue. *Int. J. Sports Med.* **25**, 450–456. <https://doi.org/10.1055/s-2004-820939> (2004).
20. Ament, W. & Verkerke, G. J. Exercise and fatigue. *Sports Med. (Auckland, N. Z.)* **39**, 389–422. <https://doi.org/10.2165/00007256-200939050-00005> (2009).
21. Kruger, K. *et al.* Apoptosis of T-cell subsets after acute high-intensity interval exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* **48**, 2021–2029. <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000000979> (2016).
22. Mohr, M. *et al.* Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. *Eur. J. Appl. Physiol.* **116**, 179–193. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3245-2> (2016).
23. Cobley, J. N., Close, G. L., Bailey, D. M. & Davison, G. W. Exercise redox biochemistry: conceptual, methodological and technical recommendations. *Redox Biol* **12**, 540–548. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.03.022> (2017).
24. Del Coso, J. *et al.* Running pace decrease during a marathon is positively related to blood markers of muscle damage. *PLoS ONE* **8**, e57602. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057602> (2013).
25. Scott, J. P. *et al.* Cytokine response to acute running in recreationally-active and endurance-trained men. *Eur. J. Appl. Physiol.* **113**, 1871–1882. <https://doi.org/10.1007/s00421-013-2615-x> (2013).
26. Clark, S. E., Burrack, K. S., Jameson, S. C., Hamilton, S. E. & Lenz, L. L. NK cell IL-10 production requires IL-15 and IL-10 driven STAT3 activation. *Front Immunol* **10**, 2087. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02087> (2019).
27. Roe, G. *et al.* Between-days reliability and sensitivity of common fatigue measures in rugby players. *Int. J. Sports Physiol. Perf.* **11**, 581–586. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2015-0413> (2016).
28. Banfi, G., Lundby, C., Robach, P. & Lippi, G. Seasonal variations of haematological parameters in athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.* **111**, 9–16. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1641-1> (2011).
29. Huang, W. Y. *et al.* Impact of freeze-thaw cycles on circulating inflammation marker measurements. *Cytokine* **95**, 113–117. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.02.016> (2017).
30. Wang, J. S. Intense exercise increases shear-induced platelet aggregation in men through enhancement of von Willbrand factor binding, glycoprotein IIb/IIIa activation, and P-selectin expression on platelets. *Eur. J. Appl. Physiol.* **91**, 741–747. <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1050-4> (2004).
31. Alis, R., Sanchis-Gomar, F., Risso-Ballester, J., Blesa, J. R. & Romagnoli, M. Effect of training status on the changes in platelet parameters induced by short-duration exhaustive exercise. *Platelets* **27**, 117–122. <https://doi.org/10.3109/09537104.2015.1047334> (2016).
32. De Ruiter, C. J., Hamacher, P. & Wolfs, B. G. A short submaximal test to determine the fatigue threshold of knee extensors in young men. *Med. Sci. Sports Exerc.* **48**, 913–919. <https://doi.org/10.1249/mss.0000000000000832> (2016).
33. Mann, R. H., Williams, C. A., Clift, B. C. & Barker, A. R. The validation of session rating of perceived exertion for quantifying internal training load in adolescent distance runners. *Int. J. Sports Physiol. Perf.* **14**, 354–359. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2018-0120> (2019).
34. Carlson, D. J. VO2max: the gold standard?. *Chest* **108**, 602–603. <https://doi.org/10.1378/chest.108.3.602> (1995).
35. Riebe, D. *et al.* *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription* (Wolters Kluwer, Philadelphia, 2018).
36. Kruger, K., Pilat, C., Uckert, K., Frech, T. & Mooren, F. C. Physical performance profile of handball players is related to playing position and playing class. *J. Strength Cond. Res.* **28**, 117–125. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e318291b713> (2014).
37. Kindermann, W., Simon, G. & Keul, J. The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *Eur. J. Appl. Physiol.* **42**, 25–34 (1979).
38. Haller, N., Tug, S., Breitbach, S., Jorgensen, A. & Simon, P. Increases in circulating cell-free DNA during aerobic running depend on intensity and duration. *Int. J. Sports Physiol. Perf.* **12**, 455–462. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2015-0540> (2017).
39. Fest, J. *et al.* Reference values for white blood-cell-based inflammatory markers in the Rotterdam Study: a population-based prospective cohort study. *Sci. Reports* **8**, 10566. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28646-w> (2018).
40. Coutts, A. J., Slattery, K. M. & Wallace, L. K. Practical tests for monitoring performance, fatigue and recovery in triathletes. *J. Sci. Med. Sport* **10**, 372–381. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2007.02.007> (2007).
41. Borg, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med. Sci. Sports Exerc.* **14**, 377–381 (1982).
42. Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P. & Eid, M. *Multidimensional mood state questionnaire (MDBF)* 1st edn. (Hogrefe, Toronto, 1997).
43. Koo, T. K. & Li, M. Y. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *J. Chiropract. Med.* **15**, 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.02.012> (2016).
44. Cohen, J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences* 2nd edn. (Lawrence Erlbaum Associates, New York, 1988).

Acknowledgements

We are grateful to P.D. Dr. Gerd Schmitz for helpful statistical suggestions as well as to Philipp Stöhr, Samuel Preuss, Carolin Aberle, Marianne Klopsch, Anja Schilken, Johanna Sickel, Claudia Lenz, Lisa Steinkemper, Hongcheng Qui, Gianluca Cali, Jasmin Czernitzky and Stefanie John for their support in the study execution. The authors would like to thank all volunteers participating in the study.

Author contributions

T.R. and K.K.: conducted the study. T.R., K.K. and F.C.M. conceived the presented idea. T.R. and K.K.: create the study design. T.R., K.K., F.C.M., T.F., M.P. carried out the experiments. T.R., K.E., R.R., R.W., E.B. and S.S. analyzed samples. T.R., K.K., T.K.B., J.P. contributed to the interpretation of the results. T.R. and K.K. analyzed data statistically. T.R. wrote the manuscript with support from K.K. All authors read and approved the final manuscript and gave their consent for publication.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Correspondence and requests for materials should be addressed to K.K.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2020

8.2 Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports

Reichel T, Hacker S, Palmowski J, Boßlau TK, Frech T, Tirekoglou P, Weyh C, Bothur E, Samel S, Walscheid R, Krüger K (2022). Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports. *Journal of Sports Science and Medicine*, 21 (3), 446-457.

DOI: [10.52082/jssm.2022.446](https://doi.org/10.52082/jssm.2022.446)

URL: <https://www.jssm.org/jssm-21-446.xml%3EFulltext>

Research article

Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports

Thomas Reichel ¹✉, Sebastian Hacker ¹, Jana Palmowski ¹, Tim Konstantin Boßlau ¹, Torsten Frech ¹, Paulos Tirekoglou ¹, Christopher Weyh ¹, Evita Bothur ², Stefan Samel ², Rüdiger Walscheid ² and Karsten Krüger ¹

¹Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany; ²Medical Center for Laboratory Medicine and Microbiology, Koblenz-Mittelrhein, Germany

Abstract

The current study analyzes the suitability and reliability of selected neurophysiological and vegetative nervous system markers as biomarkers for exercise and recovery in endurance sport. Sixty-two healthy men and women, endurance trained and moderately trained, performed two identical acute endurance tests (running trial 1 and running trial 2) followed by a washout period of four weeks. Exercise protocol consisted of an acute running trial lasting 60 minutes. An intensity corresponding to 95% of the heart rate at individual anaerobic threshold for 40 minutes was followed by 20 minutes at 110%. At pre-exercise, post-exercise, three hours post-exercise and 24 hours post-exercise, experimental diagnostics on Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), heart rate variability (HRV), Stroop Color and Word Test (SCWT), and Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ) were performed. Significant changes over time were found for all parameters ($p < .05$). Furthermore, there was an approached statistical significance in the interaction between gender and training status in BDNF regulation ($F_{(3)} = 2.43$; $p = 0.06$), while gender differences were found only for LF/HF-ratio (3hPoEx, $F_{(3)} = 3.40$; $p = 0.002$). Regarding the reliability, poor ICC-values (< 0.5) were found for BDNF, Stroop sensitivity and pNN50, while all other parameters showed moderate ICC-values (0.5 - 0.75). Plasma-BDNF, SCWT performance, pain perception and all HRV parameters are suitable exercise-sensitive markers after an acute endurance exercise. Moreover, pain perception, SCWT reaction time and all HRV parameters show a moderate reliability, others rather poor. In summary, a selected neurophysiological and vegetative marker panel can be used to determine exercise load and recovery in endurance sports, but its repeatability is limited due to its vaguely reliability.

Key words: Nervous system, monitoring training, biomarkers, reliability, executive function, heart rate variability.

Introduction

The controlled monitoring of exercise and recovery cycles is fundamental in elite sports. A more precise diagnosis of how much exercise stress the athlete experiences and the recovery status using reliable parameters would help to better coordinate training loads. Moreover, individualized exercise loads, and the differentiated recovery management could be prescribed more precisely (Lee et al., 2017).

Currently, coaches, trainers, and athletes use many different diagnostic tools (Costache et al., 2021). Several blood-based markers, functional tests, and questionnaires are used despite having weaknesses and inaccuracies. Many of these tests are inaccurate, highly subjective, based

on limited or non-validated markers. Some diagnostic tools are simply too complex or expensive. Therefore, there is a great need for subsidiary methods that have satisfactory reliability in addition to valid exercise sensitivity. Furthermore, diagnostics that can be combined and reflect a part of the whole physiological system quantitatively, are needed (Hacker et al., 2021; Reichel et al., 2020). While it is known that there are subjective and objective parameters that can be combined in response to an exercise stimulus, it is not known whether the parameters respond in a same way at different times under standardized conditions. For this purpose, reliability testing is of particular importance. To find new tools or markers that allow a more accurate diagnosis of exercise and recovery cycles, it is certainly advisable to look at the physiological systems that show a sensitive response. Exercise is accompanied by changes in neurophysiological and vegetative function, such as brain health, improved cognition, and increased resistance to brain injury (Griesbach et al., 2004; Martínez-Díaz and Carrasco, 2021). An acute bout of exercise induces numerous neurophysiological processes depending on intensity and duration, local and central fatigue processes (Proschinger and Freese, 2019). A blood-based marker that has been studied repeatedly in the context of acute or chronic exercise tests is brain-derived neurotrophic factor (BDNF). BDNF is a neurotrophin, that is released into the blood by both the central nervous system (CNS) and musculature in response to exercise stress (Pedersen et al., 2009). Accordingly, there is an intensity-dependent increase during exercise, which is gradually regulated back to the baseline during the recovery phase (Reed et al., 2021; Winter et al., 2007).

Another method to analyse vegetative and recovery states represents the analysis of heart rate variability (HRV) (Du et al., 2005; Figueira et al., 2021). HRV is the fluctuation of beat-to-beat intervals, also known as R-R intervals in a defined period of time. During acute exercise and the subsequent recovery states, the duration of the R-R intervals changes due to an altered interplay between the sympathetic and parasympathetic nervous systems. Thereby, HRV initially decreases during physical exertion and gradually increases during the recovery period after an initial reduction (Gifford et al., 2018; Parekh and Lee, 2005). It is assumed that the vegetative state of exhaustion is reflected by HRV. A qualitative analysis of HRV is performed via the temporal representation of the R-R intervals in the form of tachograms. Thereby, numerous parameters

of HRV can be derived. HRV is also a suitable physiological marker because measurement is non-invasive and available measurement devices are appropriate (Perini and Veicsteinas, 2003).

To include the executive functions into a test battery, the Stroop Color and Word Test (SCWT) is often used. Effects of acute exercise and training have already been shown for this test of selective attention (Alves et al., 2012). The Stroop effect can also be carried out relatively quickly and effortlessly, so that it is a potential tool for monitoring exercise and recovery cycles (Harveson et al., 2016). Finally, neurophysiological analyses often take place in connection with a subjective perception of pain. From a set of instruments, the Short-Form McGill Pain Questionnaire (SF-MPQ) is suitable for this purpose. Previous studies showed that the SF-MPQ reflects neurophysiological and muscular limitations during exercise, e.g. muscular pain and muscle damage (Krüger et al., 2015).

The present study used an innovative and explorative design to investigate the suitability and especially the reliability of selective parameters to analyze exercise and recovery cycles in endurance sports. Changes in neurophysiological, vegetative, or executive functions were examined, and differences between the sexes as well as the influence of training status was investigated. Briefly, the suitability of the markers are defined by exercise-sensitivity and reliability as a variable for an agreement of two repetitive measurements under standardized conditions (Pedlar et al., 2019; Reichel et al., 2020). For this purpose, moderately trained and trained participants of both sexes performed two almost identical endurance tests under highly controlled, almost identical conditions, four weeks apart. All markers were recorded at different times before and after the tests.

Methods

Participants

The study population is the same as published in a previous study and is therefore described briefly (Reichel et al., 2020). 62 participants (31 women and 31 men, age 19 - 43 years) were classified as either endurance trained (T) ($n = 37$) or moderately trained (MT) ($n = 25$) participants according to American College of Sports Medicine (ACSM) guidelines (Riebe et al., 2018). There were 25 trained and 6 moderately trained women and 12 trained and 19 moderately trained men. The T-group consisted mainly of runners, strength athletes and semi-professional team athletes such as soccer, handball, and volleyball players. All other subjects were defined as either recreationally active or rather athletically inactive. Anthropometric data were published previously (Reichel et al., 2020). Briefly, inclusion criteria were non-smoking, free of cardiovascular, metabolic or musculoskeletal diseases as well as free of acute infections, musculoskeletal injuries, and symptomatic respiratory deficits. The good health status was confirmed by a medical history questionnaire, a pulmonary function test (spirometry), an orthopedic and internal medical examination, an electrocardiogram (ECG), and blood pressure measurement. All participants signed a declaration of consent before participation. The research protocol complied

with the principles of the Declaration of Helsinki, was approved by the local ethic committee of the Justus Liebig University Giessen (Germany) (Application number: 2017-0010), and fulfilled the international ethical standards (Harriss and Atkinson, 2015).

Study design

After recruitment, participants were tested for their endurance capacity via a continuous progressive exercise field test accompanied by lactate diagnostics and heart rate measurement.

The heart rate at the individual anaerobic threshold (IAT) was used to calculate the running speed at the two identical running trials (RTs). Thereby, the running pace was designed to implicate an individual physiological, vegetative and executive fatigue. Details of the test-retest design can be found at Reichel et al. (2020). Briefly, both RTs consisted of a 60-minute running field test: 40-minutes at an intensity corresponding to 95% of the heart rate at IAT, followed by a maximum of 20-minutes at 110% of the IAT. The RTs were interrupted by a four-week washout period.

The RTs took place one week after the lactate field test, specific requirement had to be met to guarantee a high controlled standardization that would ensure identical conditions:

- (1) Documentation of nutrition three days before the first RT. The protocol was replicated as a guideline for the food intake prior to the second RT.
- (2) It was not permitted to consume alcohol the day prior to the RT.
- (3) The participants were not allowed to carry out high-intensity exercise four days prior the RTs.
- (4) The participants were instructed not to change their lifestyle with regard to physical activity and dietary behavior during the study period. In order to detect deviations of their lifestyle between the testing days, participants had to fill out a questionnaire on lifestyle behaviour before each RT. Women completed a questionnaire on menstrual cycle.

Experimental diagnostics

Pre-exercise (PrEx), post-exercise (PoEx), three hours post-exercise (3hPoEx) and 24 hours post-exercise (24hPoEx) a test battery of experimental diagnostics was applied.

Blood analysis

For determination of BDNF, venous blood samples were collected from the arm vein with anticoagulated EDTA vacutainers. Subsequently samples were centrifuged at $2,500 \times g$ for 10 min at 4°C to separate the blood into plasma and cellular fractions. The plasma samples were aliquoted and stored at -80°C . Finally, BDNF was analyzed by high-sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Quantikine ELISA Kits: R&D Systems, analytical sensitivity: 20 pg/mL, detection range: 62.5-4,000 pg/mL; CV (%): 7,6; MVZ, Koblenz, Germany). The methodological analysis of other blood-based markers such as IL-1ra, IL-6 and IL-8, which were used for association purposes in this study, can be found in the study by Reichel et al. (2020).

Pain questionnaire

The McGill Pain Questionnaire (MPQ) is a widely used international questionnaire for assessing the quality and intensity of pain, originally developed by Melzack (1975) (Melzack, 1975). The German short form (SF) of this questionnaire, based on Radvila et al. (1987), focuses on the sensory (11 descriptors) and affective (4 descriptors) dimensions of pain perception (Radvila et al., 1987). A 3-value Likert-scale (0 = no pain is felt; 3 = strongly pain is felt) was used as a rating scheme. Furthermore, a rating of 0-100 millimeters on a visual analog scale (VAS) for momentary pain intensity, as well as a 5-value Likert scale (0 = no pain; 5 = excruciating) for overall pain experience, were used to quantify perceived pain. Achieving higher scores of all assessment parts represented a higher total score of pain.

Assessment of executive function

The SCWT is the most common neuropsychological procedure for assessing response inhibition (Chu et al., 2015; Scarpina and Tagini, 2017). The test involves the interference of words and colors. Participants had to determine the colors of words that appear on a computer screen whilst measuring their reaction time to a mouse clicks. It seems to be an automated task to determine the color of the word, but at the same time to prevent the judgement about right/wrong from changing by reading the word of the color seems to be more automated. The difficulty in inhibiting the more automated process is described by the Stroop effect (Scarpina and Tagini, 2017; Stroop, 1935). Here, the colored font is either congruent („matched correct“) or incongruent („nonmatched correct“) with the word. As proposed by Scarpina and Tagini (2017) the scoring method takes into consideration the speed (milliseconds) and accuracy (sensitivity index, d'), according to Stanislaw and Todorov (1999) of the participant's response (Stanislaw and Todorov, 1999). Regarding the interpretation of d' , a value of $d' = 0$ indicates that the participant was not able to inhibit cognitive interference (0%-hit-rate / 100%-false-alarm-rate). A value of $d' = 1$ corresponds to perfect performance regarding the distinction of the stimuli between match and non-match (100%-hit-rate / 0%-false-alarm-rate) (Stanislaw and Todorov, 1999). When evaluating the speed of the subject's response, the average of the reaction time for the conditions „matched correct“, and „nonmatched correct“ was considered.

Assessment of vegetative function

HRV was measured within a 12-minutes orthostatic stress test with spontaneous breathing in a quiet environment. To create standardized conditions and avoid influences of background sounds, each subject additionally got a pair of earplugs. Furthermore, participants should sit in an upright relaxed position and were asked to avoid any kind of movement. Each subject was provided with a wrist heart rate monitor (Polar RS800CX) and a compatible chest strap with a heart rate sensor (H3). The analysis was performed using the Polar Pro Trainer 5™ 5.40.170 software. R-R interval data were collected and converted to a computer for further analysis.

The selection of HRV parameters was based on scientific evidence-based exercise studies (Bellenger et al.,

2016; da Silva et al., 2014). The outcomes were presented in a time domain plotting the R-R intervals in milliseconds (ms) against time (Borresen and Lambert, 2008). Time-domain parameters in this study were: Average R-R interval (ARR), square root of the mean of the sum of the squares of differences between adjacent normal R-R intervals (RMSSD), percentage of adjacent R-R intervals that differ from each other by more than 50 milliseconds (pNN50), standard deviation of instantaneous beat-to-beat R-R interval variability measured from Poincaré plots (SD1), and standard deviation of long-term beat-to-beat R-R interval variability measured from Poincaré plots (SD2) (Buchheit, 2014). The results of HRV measures were also presented in the frequency domain, namely the frequency of R-R interval changes. Frequencies in the range of 0.00 to 0.40 Hz were categorized into three groups: High frequency oscillations (HF) (0.15 to 0.40 Hz), low frequency oscillations (LF) (0.04-0.15), very low frequency oscillations (VLF) (0.003-0.04), and the ratio of HF and LF (HF/LF-ratio) (Buchheit, 2014).

Statistical analyses

Statistical analyses were conducted using SPSS version 25 (IBM® SPSS Statistics 25, IBM GmbH, Munich, Germany) and JASP (Version 0.14.1, JASP Team, Amsterdam, The Netherlands). Descriptive data represents mean \pm standard deviation (SD) for the study population. First, the data was cleaned up and outliers were removed using z-transformation (z -score > 3 standard deviations) (Stocker and Steinke, 2016). Normal, or log-normal distributed data, determined by Kolmogorov-Smirnov-Test (KS-Test), were analyzed by a multi-factorial analysis of variance with repeated measures (ANOVA). Heterogeneous data were examined for effects concerning RT, time of measurement, training status, and the interactions of these variables. Taking into account sex, we separated the participants into same-sex subgroups and evaluated these with ANOVA analysis. For significant effects ($p < .05$), a Bonferroni post-hoc test was added. Test-retest reliability between the times of measurements of both RTs was estimated by intraclass correlation coefficient (ICC), based on a two-way mixed-effects model, single measurement, and absolute agreement. ICC values were classified as excellent ($ICC > 0.9$), good ($ICC = 0.75-0.9$), moderate ($ICC = 0.5-0.75$), or poor ($ICC < 0.5$) (Koo and Li, 2016). Finally, correlation analyses according to Pearson (parametric data) and Spearman rank (non-parametric data) were carried out for the heterogeneous total group as well as depending on training status and sex. For this purpose, difference values between the measurement time points (MTPs) were used. A p -value of $\leq .05$ was accepted as statistically significant. Due to the explorative approach of the study, there was no multiple test adjustment of α -error. The Line Graphs with raw data were created using Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

Brain-derived neurotrophic factor

Plasma BDNF concentrations show a significant difference between the multiple time points (MTPs) overall ($F(3)$

=103.23; $p < 0.001$). As shown in Figure 1 (A), a significant increase in concentration at PrEx compared to PoEx was observed in post hoc analysis ($p < 0.001$). After the peak at PoEx, a significant decrease to 3hPoEx ($p < .001$) and 24hPoEx ($p < 0.001$) was determined. Also, a continuous reduction of the BDNF concentration was found from 3hPoEx to 24hPoEx ($p = 0.009$) at both RTs. The variance analysis revealed an influence of the variables gender and training status on the MTPs with ($F(3) = 2.44$; $p = 0.067$). Analysis of reliability shows a poor ICC of 0.33.

Short-form McGill Pain Questionnaire

Significant effects were found for the SF-MPQ total score between the MTPs ($F(2,51) = 21.14$; $p < 0.001$) (Figure 1B). The total score of the pain perception increased PoEx ($p < 0.001$) and was significantly higher compared to the baseline value at all MTPs except at 24hPoEx (PrEx - 3hPoEx, $p < 0.001$; PrEx - 24hPoEx, $p < 0.001$). After the peak PoEx, the total score significantly decreased back to

baseline level up to 24hPoEx ($p < 0.001$). Moderate ICC-values of 0.54 were found for this parameter.

Stroop Color and Word Test

Differences for d' across all MTPs in both RTs ($F(2,56) = 23.92$; $p < 0.001$) were found. The d' increased significantly from MTP to MTP (PrEx - PoEx, $p < 0.001$; PoEx - 3hPoEx, $p = 0.007$; PoEx - 24hPoEx, $p = 0.003$), whereby no difference was detected between 3hPoEx and 24hPoEx. As shown in Figure 1 (C), all PoEx MTPs differed from the PrEx value (PrEx - PoEx/ 3hPoEx /24hPoEx, for all $p < 0.001$). A poor ICC of 0.30 was determined over the MTPs. For the reaction time of the Matched Correct (MC) values, differences could be found over all MTPs in both RTs ($F(2,22) = 108.84$; $p < 0.001$). Figure 1 (D) shows that the reaction time at PrEx is higher compared to PoEx MTPs (PrEx - PoEx/ 3hPoEx /24hPoEx, for all $p < 0.001$). The 24hPoEx reaction time represents the lowest value and differs significantly from the PoEx

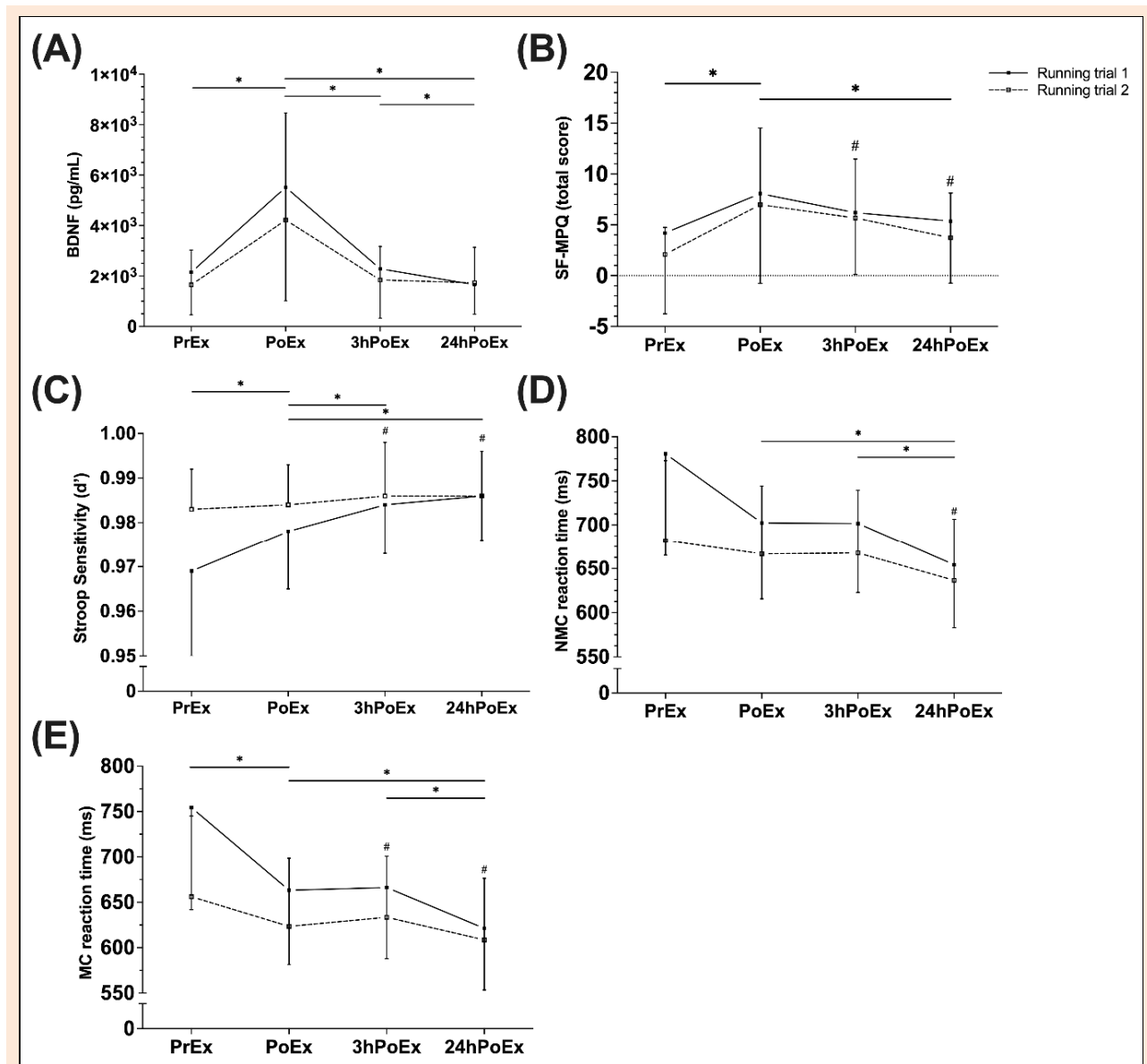


Figure 1. Plasma BDNF concentration (A), total score of SF-MPQ (B), and Stroop Test parameters (C–E) PrEx, PoEx, 3hPoEx and 24hPoEx for both RTs. Significant differences * ($p < 0.05$) to the previous MTP as well as significant differences # ($p < 0.05$) to the PrEx value. Values are means (\pm SD).

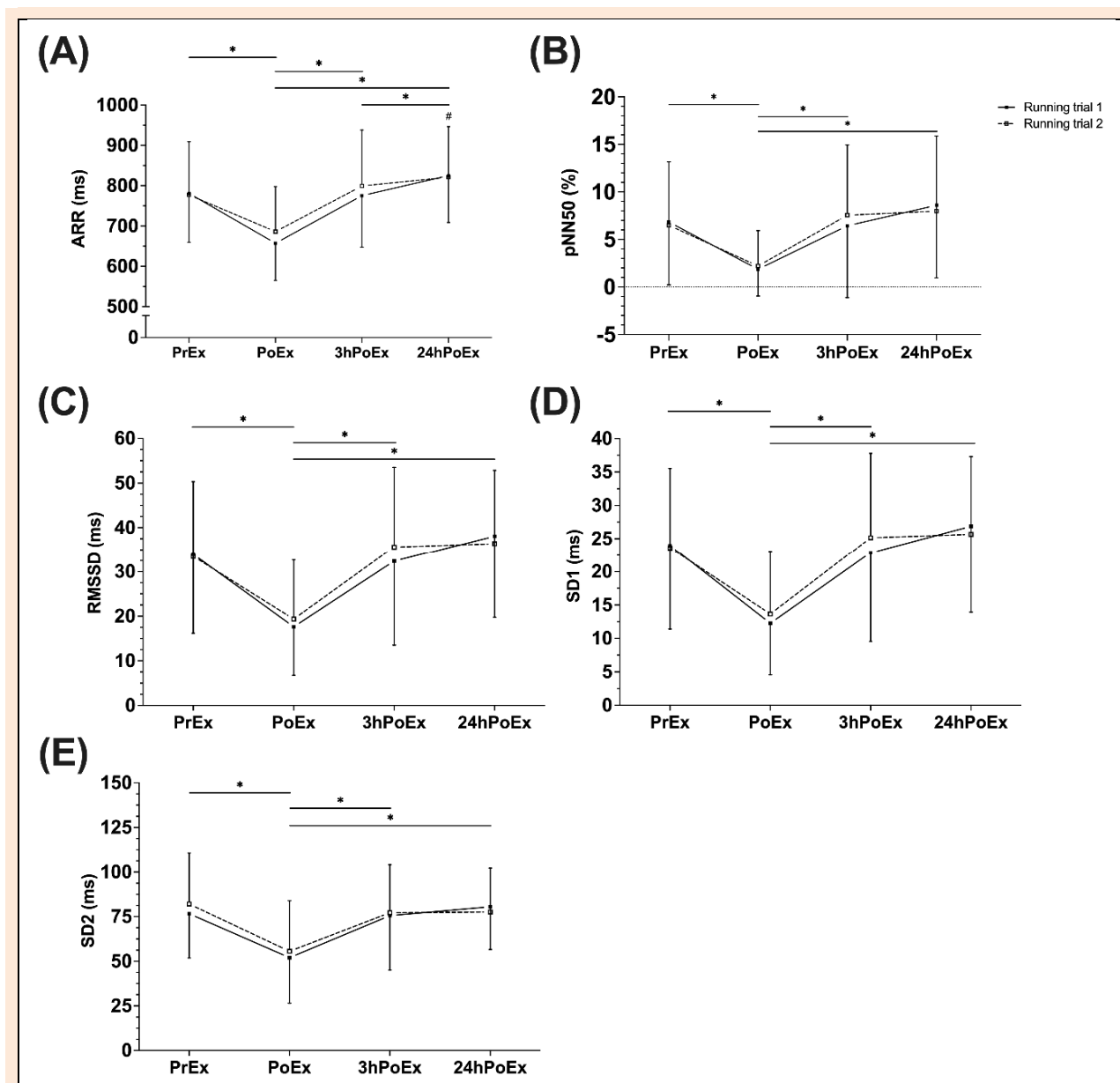


Figure 2. Changes in time domain HRV parameters PoEx, 3hPoEx, and 24hPoEx at both RTs. * ($p < 0.05$) to the previous MTP as well as significant differences # ($p < 0.05$) to the PrEx value. Values are means (\pm SD).

and 3hPoEx value (PoEx - 24hPoEx, $p = 0.003$; 3hPoEx - 24hPoEx, $p < 0.001$). Moderate ICC-values were found for the participant's reaction time (ICC = 0.62). Concerning the speed of the participant's responds for the non-matched condition, statistical analysis yield a significant effect over all MTPs ($F(1) = 5205.97$; $p < 0.001$). Post hoc analysis revealed the lowest reaction time of the non-matched correct (NMC) values to the 24hPoEx MTP. Significant differences were found between the 24hPoEx value and all other MTPs (PrEx/ PoEx/ 3hPoEx - 24hPoEx, for all $p < 0.001$) (Figure 1E). The ICC value (0.58) was classified as moderate.

Heart rate variability

All results of the HRV time domain parameters showed a significant main effect between the MTPs on both RTs (ARR: $F(3) = 104.65$, $p < 0.001$; RMSSD: $F(2,527) = 87.53$, $p < 0.001$; pNN50: $F(2,189) = 54.27$, $p < 0.001$;

SD1: $F(2,43) = 89.79$, $p < 0.001$; SD2: $F(3) = 58.09$, $p < 0.001$). Post hoc analysis of all HRV time domain parameters demonstrated a decrease after the RTs ($p < 0.001$) (Figure 2A - E). Afterwards, the values increased continuously up to 3hPoEx and remained unchanged 24hPoEx, except for ARR (PoEx - 3hPoEx, $p < 0.001$; PoEx - 24hPoEx, $p < 0.001$). For ARR, another significant increase was found between 3hPoEx and 24hPoEx ($p < 0.001$). ICCs were classified as moderate for all parameters (ARR: 0.71, RMSSD: 0.58, pNN50: 0.49, SD1: 0.59, SD2: 0.61). For all HRV frequency domain parameters, significant differences were found over the MTPs (HF: $F(3) = 89.65$, $p < 0.001$; LF: $F(2,556) = 30.33$, $p < 0.001$; LF/HF: $F(3) = 46.88$, $p < 0.001$; VLF: $F(3) = 81.68$, $p < 0.001$) (Figure 3). A decrease was found at PoEx ($p < 0.001$), while at 3hPoEx, all parameters increased ($p < 0.001$) and still increased at 24hPoEx compared to PoEx ($p < 0.001$). Results of the variance analysis for LF/HF-ratio showed a signifi-

cant main effect between the MTPs ($F(3) = 46.88, p < 0.001$) (Figure 3C). The values initially increased PoEx ($p < 0.001$) and continuously decreased to the baseline level until 24hPoEx (PoEx - 3hPoEx/ 24hPoEx, $p < 0.001$; 3hPoEx - 24hPoEx, $p < 0.001$). Regarding sex effects, a significant difference was found in the post hoc analysis of the 3hPoEx values ($p = 0.002$). The LF/HF ratio was almost twice as high for men as for women. The ICC values of the HRV frequency parameters over the MTPs were: HF = 0.52, LF = 0.64, for VLF = 0.57, and LF/HF-ratio = 0.63.

Associations between inflammatory markers and neurophysiological parameters

In order to identify associations between neurophysiologi-

cal markers and other blood markers, analyses were carried out on markers that have already been published in the same study (Reichel et al., 2020). Only correlations that have shown a significance at both RTs or that correlated for one RT over time were considered. Correlation coefficients of $r = -0.487, p = 0.018$ (RT1) and $r = -0.461, p = 0.027$ (RT2) were found for IL-8 and VLF in men on both RTs in the recovery response after the RTs (Figure 4). We further found associations between IL-1ra and SF-MPQ total score ($r = .622, p = .018 / r = .508, p = .031, RT1$) (Figure 5 A1/2), IL-6 and SD2 ($r = -0.542, p = .3 / r = -0.625, p = 0.006, RT2$) (Figure 5 B1/2), and IL-8 and pNN50 ($r = -0.586, p = 0.022 / r = -0.557, p = .016, RT2$) (Figure 5 C1/2) in MT over time at one RT.

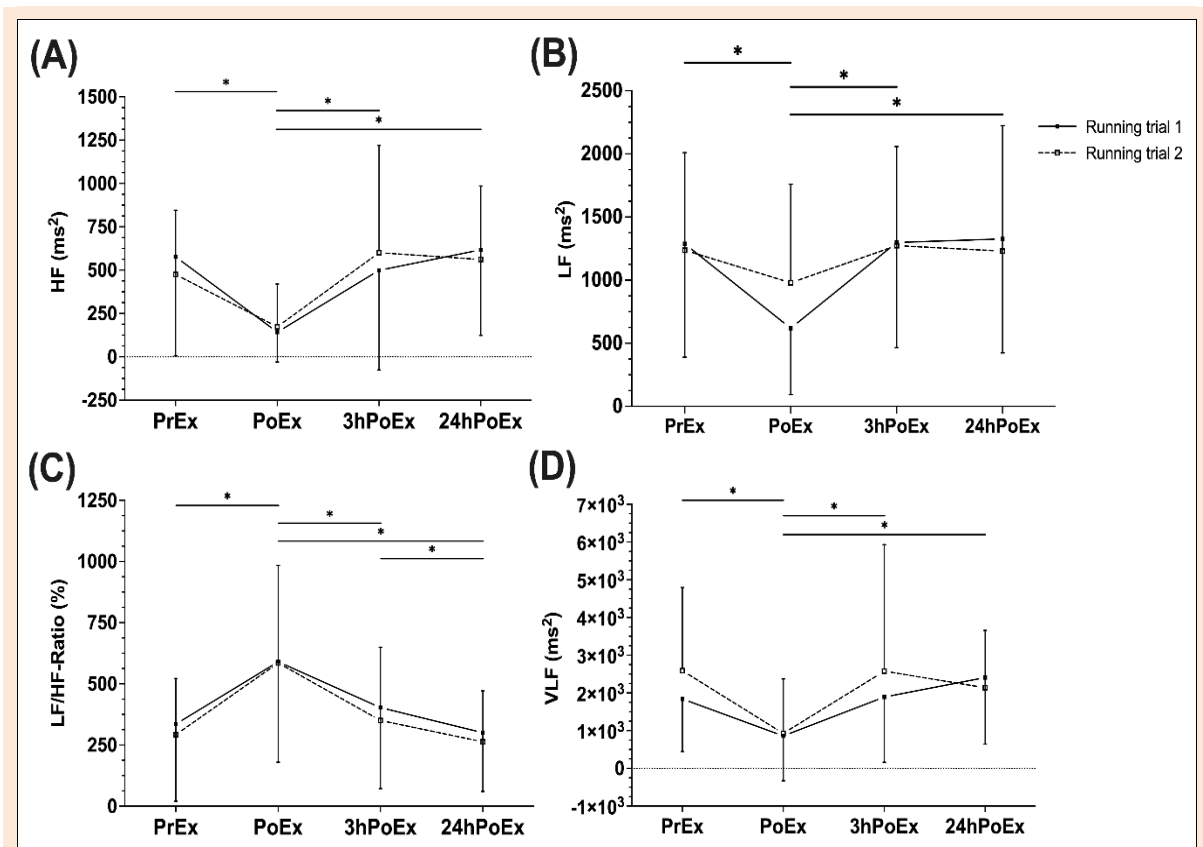


Figure 3. Changes in frequency domain HRV parameters PoEx, 3hPoEx, and 24hPoEx at both RTs. *($p < 0.05$) to the previous MTP as well as significant differences #($p < 0.05$) to the PrEx value. Values are means (\pm SD).

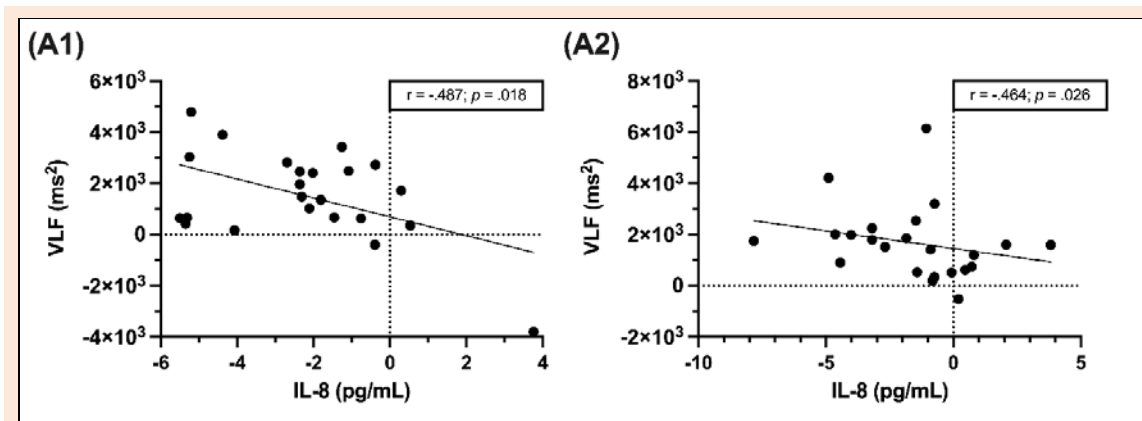


Figure 4. Correlations between IL-8 and VLF in men at both RTs in recovery phase after RTs. (A1) shows the recovery response of RT1, (A2) of RT2. Differences between the MTPs were used for the analyses. Significant correlations are presented with $p < 0.05, n = 23$.

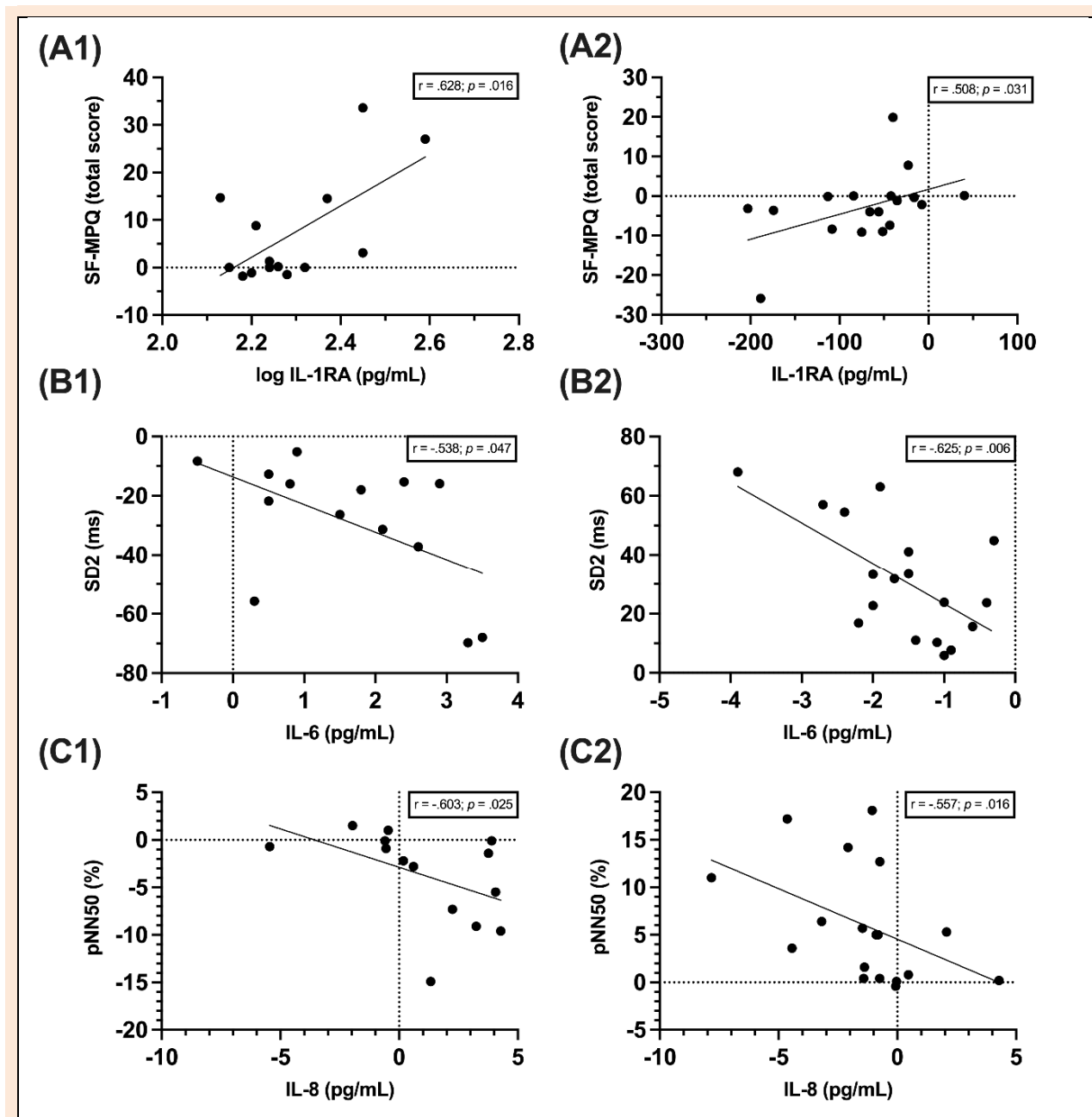


Figure 5. Correlations in moderately trained individuals ($n = 14/18$) (B1/2: IL-1ra and SF-MPQ total score, RT1; C1/2: IL-6 and SD2, RT2; D1/2: IL-8 and pNN50, RT2) at the exercise and recovery response on one RT. Number one of the graphs show the results of the exercise response, number two those of the recovery response. Differences between the MTPs were used for the analyses. Significant correlations are presented with $p < 0.05$.

Discussion

The current study found a significant immediate increase of BDNF, pain perception, and a significant decrease of most HRV parameters after both RTs, indicating their sensitivity to acute exercise. During 24h recovery, most parameters, except pain of perception, HR and mean of RR interval, returned to baseline levels. In contrast, for the Stroop sensitivity as well as the reaction time at the SCWT, a continuous increase over all MTPs was shown. Regarding their reliability, most parameters showed ICCs classified as moderate, while ICC of plasma BDNF, Stroop sensitivity, and pNN50 were classified as poor. Some neurophysiological markers showed a sex-specific regulation or

a relation to training status. Only a few associations were found between neurophysiological parameters and blood-based inflammation markers.

At both RTs, plasma BDNF levels increased at PoEx (by 157% at the RT1 and 156% at the RT2). These results are consistent with the observation of Fonseca et al. (2021), who reported a significant increase in plasma BDNF following a single bout of progressive endurance exercise to fatigue. Accordingly, BDNF response to exercise depends on the volume of physical activity, identified by intensity and frequency as the determining predictors of biochemical upregulation (De Assis et al., 2018).

However, poor reliability was found for this neurophysiological parameter due to the large inter- and

intrapersonal variation in plasma BDNF. Moreover, it has a complex genomic structure making it an ideal target for multiple and complex transcriptional regulations (Martiniowich and Lu, 2008). Furthermore, the different occurrence of BDNF, as platelet-bound or free BDNF, can lead to variable and non-reproducible results (Walsh and Tschakovsky, 2018). Considering the effect of gender, it has been observed that both testosterone and oestrogen affect BDNF upregulation (Pluchino et al., 2013). However, no effect of the menstrual cycle on peripheral BDNF levels was found (Lommatzsch et al., 2005). The menstrual cycle was one of the reasons why we did the tests four weeks apart.

Despite all, BDNF appears to express a certain exercise sensitivity indicating that it could be worthwhile to keep searching for other reliable and robust parameters associated with BDNF upregulation to detect further innovative biomarkers for diagnostics in exercise and recovery.

For pain perception based on the SF-MPQ, similar results over MTPs were shown in a previous study (Krüger et al., 2015). Accordingly, the questionnaire can be classified as exercise sensitive. Recently, an association between pain perception and markers of inflammation was found (Krüger et al., 2015). Interestingly, we were able to show a comparable association with IL-1ra levels in MT. Such parallels are rooted in the nociceptive system and have already been established in medical studies (Slade et al., 2011). Mechanical or chemical stimuli are transferred into the central nervous system by afferent signals. This triggers inflammatory pathways with multiple signaling cascades resulting in the release of inflammatory cytokines (Ronchetti et al., 2017). Nevertheless, only moderate reliability can be shown for the SF-MPQ. Despite standardized test conditions, there are many factors affecting pain perception. Accordingly, consideration should be given to combining it with other tools in the context of exercise and training.

A closer look at the results of the SCWT revealed an exercise-sensitive increase. However, due to the steady increase across all MTPs, we suspect a learning effect in this test. After all, the increase of the subject's performance on SCWT at RT2 did not enhance to the same extent as at RT1. This may indicate that participants' improvement on SCWT weakens within the number of applications. Baseline average of Stroop sensitivity index or rather participant's reaction time varies widely comparing both RTs. Indeed, the baseline average of d' at RT2 approximately corresponds with the average 3hPoEx at RT1. Correspondingly, poor reliability was found for d' . Although reaction times are not identical on both RTs, the progression of reaction times within the MTPs between were largely consistent. Thus, participants' reaction times do not differ to the same amount as d' . Accordingly, moderate reliability was found for both conditions of reaction time.

Regarding the load sensitivity of the participant's reaction times, an improvement at PoEx was initially found. Furthermore, no significant change was observed between PoEx and 3hPoEx. Since this consistency of stagnation on the subject's performance can be observed at both RTs under both conditions (MC and NMC), it is speculated that there is a neurophysiological recovery status or a delayed mental impact due to the high level of physical

exertion - inhibiting the participant's enhancement on SCWT performance. This hypothesis should be analyzed in future investigations since there are previous findings that aerobic exercise has a positive impact on executive functions up to two hours after exercise (Alves et al., 2012; Chang et al., 2012).

The results of the various HRV parameters show relatively homogeneous exercise-sensitive characteristics that reflect the sympathetic and parasympathetic activity of the autonomic nervous system (ANS). A decrease can be recognized in the frequency- and time-domain parameters PoEx which is supported by previous studies (Saboul et al., 2016). Further, several studies proved reduced indices of parameters that reflect parasympathetic tonus (RMSSD, HF and pNN50) during exercise, because of the predominance of sympathetic tone (Makivić et al., 2013; Seiler et al., 2007). Due to the high intensity and its effect on the autonomic efferent activity, all values of the mentioned parameters present low values PoEx. Nevertheless, contradictory results can also be found in the literature for the frequency-based HRV parameters. For example, Vanderlei et al. (2008) found an increase in the parasympathetic HRV parameter (HF level) during 20 minutes of submaximal cycling at 60% of maximal heart rate (Vanderlei et al., 2008). It can be speculated that the type of exercise sensitivity may have different effects on HRV. Cottin et al., 2004 demonstrated higher values in LF and HF after moderate compared with high-intensity exercise in triathletes (Cottin et al., 2004).

As in previous studies, LF/HF ratio identified a sympathetic predominance after exercise at both RTs, which was indicated by an increased LF/HF ratio as well as a parasympathetic predominance 3hPoEx and 24hPoEx (Dong, 2016; Makivić et al., 2013). Especially in exercises requiring effort and stronger ANS activity, the LF/HF ratio indicates higher sympathetic activation (Shaffer et al., 2014). These results present a reduced HRV and therefore reduced adaptability to exogenous and endogenous physical stressors. In the sex-specific analysis, a difference in the frequency-based LF/HF-ratio 3hPoEx was found. The value was approximately twice as high for men as for women. These findings might reflect the increased cardiac sympathetic activity and increased sympathovagal balance after exercise in men compared to women (Boos et al., 2017; Koenig and Thayer, 2016).

The characteristics of parasympathetic parameters (HF, RMSSD, pNN50, SD1) as well as sympathetic parameters (LF, LF/HF, SD2) change similarly by a gradual increase back to baseline from PoEx to 3hPoEx and finally to 24hPoEx measurement at both RTs. This suggests that HRV parameters are valid markers representing the exercise-recovery cycle. Interestingly, the ARR showed an adaptation during recovery to 24hPoEx. The increase in R-R interval length between baseline and 24hPoEx may be due to short-term adaptive effects of exercise on the ANS. However, these may be only moderate related to other endogenous or exogenous factors, such as sleep quality (Busek et al., 2005), type of exercise (Kiviniemi et al., 2015), and outdoor temperature (Shaffer et al., 2014), which may compromise correct interpretation of R-R interval fluctuations.

Looking at the reliability analyses, ICCs of HRV parameters were classified as moderate. This initially shows that the vegetative parameters of HRV are relatively robust to standardized approaches and can be used as markers to monitor exercise and recovery. However, a misbehavior of the participants during the HRV measurement can be the reason for no higher ICC values. There are distinct guidelines for HRV measurement. However, restless behavior of the participants and irregular breathing, for example, cannot always be avoided (Saboul et al., 2016).

Interestingly, associations between HRV parameters and inflammatory markers were found on both RTs and in the exercise and recovery cycle. Previous studies have already demonstrated that the vagus nerve plays an important role in the regulation of inflammation (Tracey, 2007). For example, increased vagal activity led to a reduction in the production of pro-inflammatory cytokines such as TNF (Bernik et al., 2002). Furthermore, associations with IL-6 and CRP have been found specifically in reduced LF-HRV and HF-HRV (Cooper et al., 2015). This confirms not only a connection between the parasympathetic system but also the sympathetic system. However, it is controversially discussed that the sympathetic nervous system has both pro-inflammatory and anti-inflammatory properties (Koopman et al., 2011).

Finally, the study has limitations. Analysis of exercise capacity was performed by a lactate field test and not under laboratory conditions. This may be a reason for increased confounding variables on the results. However, this does not have to be a disadvantage, because we intend a quick transfer of our monitoring strategies into the application in sports practice.

Conclusion

In conclusion, plasma BDNF, SCWT performance, pain perception and HRV parameters are suitable exercise-sensitive markers after acute RTs. Some markers, such as pain perception, the reaction time of the SCWT, and all HRV parameters show moderate reliability, others rather poor. In addition, there were associations with other inflammatory markers, such as IL-1ra, IL-6, and IL-8, as well as classifications between sex and training status. However, these results are still very preliminary and need to be investigated in more detail in future studies. The extent to which the markers can then be used individually or as part of a test battery for practical monitoring of athletes should be shown in a consecutive step by individual time-series analyses. This involves repeated blood sampling at standardized times at rest and post-exercise – in combination with established monitoring tools – to record exercise load and the corresponding marker responses while establishing individualized reference values (Sperlich et al., 2016). The more individually a marker is regulated, the more important it is to perform serial measurements on an athlete over multiple load-recovery cycles to determine the individual ranges of its regulation (Becker et al., 2020). This is the task of scientists to evaluate such individual reference values of biomarker concentrations. It is recommended that athletes and coaches use a combination of blood markers, questionnaires, and cardiological parameters for monitor-

ing exercise. The additional benefit of this combination of different diagnostics is that athletes and coaches can access subjective as well as objective parameters and thus draw conclusions about the current neurophysiological and vegetative state of the athletes from the perspective of several measurement parameters.

Acknowledgements

The experiments complied with the current laws of the country in which they were performed. The authors have no conflicts of interest to declare. The datasets generated and analyzed during the current study are not publicly available, but are available from the corresponding author who was an organizer of the study.

References

- Alves, C.R., Gualano, B., Takao, P.P., Avakian, P., Fernandes, R.M., Morine, D. and Takito, M.Y. (2012) Effects of acute physical exercise on executive functions: a comparison between aerobic and strength exercise. *Journal of Sport and Exercise Psychology* **34**, 539-549. <https://doi.org/10.1123/jsep.34.4.539>
- Becker, M., Sperlich, B., Zinner, C. and Achtzehn, S. (2020) Intra-Individual and Seasonal Variation of Selected Biomarkers for Internal Load Monitoring in U-19 Soccer Players. *Frontiers in Physiology* **11**, 838. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00838>
- Bellenger, C.R., Fuller, J.T., Thomson, R.L., Davison, K., Robertson, E.Y. and Buckley, J.D. (2016) Monitoring Athletic Training Status Through Autonomic Heart Rate Regulation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine* **46**, 1461-1486. <https://doi.org/10.1007/s40279-016-0484-2>
- Bernik, T.R., Friedman, S.G., Ochani, M., DiRaimo, R., Susarla, S., Czura, C.J. and Tracey, K.J. (2002) Cholinergic antiinflammatory pathway inhibition of tumor necrosis factor during ischemia reperfusion. *Journal of Vascular Surgery* **36**, 1231-1236. <https://doi.org/10.1067/mva.2002.129643>
- Boos, C.J., Vincent, E., Mellor, A., O'Hara, J., Newman, C., Cruttenden, R., Scott, P., Cooke, M., Matu, J. and Woods, D.R. (2017) The Effect of Sex on Heart Rate Variability at High Altitude. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **49**, 2562-2569. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001384>
- Borresen, J. and Lambert, M.I. (2008) Autonomic control of heart rate during and after exercise : measurements and implications for monitoring training status. *Sports Medicine* **38**, 633-646. <https://doi.org/10.2165/00007256-200838080-00002>
- Buchheit, M. (2014) Monitoring training status with HR measures: do all roads lead to Rome? *Frontiers in Physiology* **5**, 73. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00073>
- Busek, P., Vanková, J., Opavský, J., Salinger, J. and Nevsímalová, S. (2005) Spectral analysis of the heart rate variability in sleep. *Physiological Research* **54**, 369-376. <https://doi.org/10.33549/physiolres.930645>
- Chang, Y.K., Labban, J.D., Gapin, J.I. and Etnier, J.L. (2012) The effects of acute exercise on cognitive performance: a meta-analysis. *Brain Research* **1453**, 87-101. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.02.068>
- Chu, C.H., Chen, A.G., Hung, T.M., Wang, C.C. and Chang, Y.K. (2015) Exercise and fitness modulate cognitive function in older adults. *Psychology and Aging* **30**, 842-848. <https://doi.org/10.1037/pag0000047>
- Cooper, T.M., McKinley, P.S., Seeman, T.E., Choo, T.H., Lee, S. and Sloan, R.P. (2015) Heart rate variability predicts levels of inflammatory markers: Evidence for the vagal anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior, and Immunity* **49**, 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.12.017>
- Costache, A.D., Costache, II, Miftode, R., Stafie, C.S., Leon-Constantin, M.M., Roca, M., Drugescu, A., Popa, D.M., Mitu, O., Mitu, I., Miftode, L.I., Iliescu, D., Honceriu, C. and Mitu, F. (2021) Beyond the Finish Line: The Impact and Dynamics of Biomarkers in Physical Exercise-A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine* **10**, 4478. <https://doi.org/10.3390/jcm10214978>
- Cottin, F., Médigue, C., Leprêtre, P.M., Papelier, Y., Koralsztein, J.P. and Billat, V. (2004) Heart rate variability during exercise performed below and above ventilatory threshold. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **36**, 594-600.

- <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000121982.14718.2A>
- da Silva, C.C., Pereira, L.M., Cardoso, J.R., Moore, J.P. and Nakamura, F.Y. (2014) The effect of physical training on heart rate variability in healthy children: a systematic review with meta-analysis. *Pediatric Exercise Science* **26**, 147-158. <https://doi.org/10.1123/pes.2013-0063>
- De Assis, G.G., Gasanov, E.V., de Sousa, M.B.C., Kozacz, A. and Murawska-Cialowicz, E. (2018) Brain derived neurotrophic factor, a link of aerobic metabolism to neuroplasticity. *Journal of Physiology and Pharmacology* **69**, 351-358. <https://doi.org/10.26402/jpp.2018.3.12>
- Dong, J.G. (2016) The role of heart rate variability in sports physiology. *Experimental and Therapeutic Medicine* **11**, 1531-1536. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3104>
- Du, N., Bai, S., Oguri, K., Kato, Y., Matsumoto, I., Kawase, H. and Matsuoka, T. (2005) Heart rate recovery after exercise and neural regulation of heart rate variability in 30-40 year old female marathon runners. *Journal of Sports Science and Medicine* **4**, 9-17. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24431956/>
- Figueira, B., Gonçalves, B., Abade, E., Paulauskas, R., Masiulis, N., Kamaraskas, P. and Sampaio, J. (2021) Repeated Sprint Ability in Elite Basketball Players: The Effects of 10 × 30 m Vs. 20 × 15 m Exercise Protocols on Physiological Variables and Sprint Performance. *Journal of Human Kinetics* **77**, 181-189. <https://doi.org/10.2478/hukin-2020-0048>
- Fonseca, T.R., Mendes, T.T., Ramos, G.P., Cabido, C.E.T., Morandi, R.F., Ferraz, F.O., Miranda, A.S., Mendonca, V.A., Teixeira, A.L., Silami-Garcia, E., Nunes-Silva, A., Teixeira, M.M. (2021) Aerobic training modulates the increase in plasma concentrations of cytokines in response to a session of exercise. *Journal of Environmental and Public Health* **6**, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2021/1304139>
- Gifford, R.M., Boos, C.J., Reynolds, R.M. and Woods, D.R. (2018) Recovery time and heart rate variability following extreme endurance exercise in healthy women. *Physiological Reports* **6**, e13905. <https://doi.org/10.14814/phy2.13905>
- Griesbach, G.S., Hovda, D.A., Molteni, R., Wu, A. and Gomez-Pinilla, F. (2004) Voluntary exercise following traumatic brain injury: brain-derived neurotrophic factor upregulation and recovery of function. *Neuroscience* **125**, 129-139. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.01.030>
- Hacker, S., Reichel, T., Hecksteden, A., Weyh, C., Gebhardt, K., Pfeiffer, M., Ferrauti, A., Kellmann, M., Meyer, T. and Krüger, K. (2021) Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **18**, 5776. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115776>
- Harriss, D.J. and Atkinson, G. (2015) Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2016 Update. *International Journal of Sports Medicine* **36**, 1121-1124. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1565186>
- Harveson, A.T., Hannon, J.C., Brusseau, T.A., Podlog, L., Papadopoulos, C., Durrant, L.H., Hall, M.S. and Kang, K.D. (2016) Acute Effects of 30 Minutes Resistance and Aerobic Exercise on Cognition in a High School Sample. *Research Quarterly for Exercise and Sport* **87**, 214-220. <https://doi.org/10.1080/02701367.2016.1146943>
- Kiviniemi, A.M., Tulppo, M.P., Eskelinen, J.J., Savolainen, A.M., Kapanen, J., Heinonen, I.H., Hautala, A.J., Hannukainen, J.C. and Kalliokoski, K.K. (2015) Autonomic Function Predicts Fitness Response to Short-Term High-Intensity Interval Training. *International Journal of Sports Medicine* **36**, 915-921. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1549854>
- Koenig, J. and Thayer, J.F. (2016) Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **64**, 288-310. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.03.007>
- Koo, T.K. and Li, M.Y. (2016) A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *Journal of Chiropractic Medicine* **15**, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.02.012>
- Koopman, F.A., Stoof, S.P., Straub, R.H., Van Maanen, M.A., Vervoordeldonk, M.J. and Tak, P.P. (2011) Restoring the balance of the autonomic nervous system as an innovative approach to the treatment of rheumatoid arthritis. *Molecular Medicine* **17**, 937-948. <https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00065>
- Krüger, K., Pilat, C., Schild, M., Lindner, N., Frech, T., Muders, K. and Mooren, F.C. (2015) Progenitor cell mobilization after exercise is related to systemic levels of G-CSF and muscle damage. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* **25**, 283-291. <https://doi.org/10.1111/sms.12320>
- Lee, E.C., Fragala, M.S., Kavouras, S.A., Queen, R.M., Pryor, J.L. and Casa, D.J. (2017) Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. *Journal of Strength & Conditioning Research* **31**, 2920-2937. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002122>
- Lommatzsch, M., Zingler, D., Schuhbaeck, K., Schloetcke, K., Zingler, C., Schuff-Werner, P. and Virchow, J.C. (2005) The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiology of Aging* **26**, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2004.03.002>
- Makivić, B., Nikić Djordjević, M. and Willis, M.S. (2013) Heart Rate Variability (HRV) as a tool for diagnostic and monitoring performance in sport and physical activities. *Journal of Exercise Physiology Online* **16**, 103-131.
- Martínez-Díaz, I.C. and Carrasco, L. (2021) Neurophysiological Stress Response and Mood Changes Induced by High-Intensity Interval Training: A Pilot Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **18**, 7320. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147320>
- Martinowich, K. and Lu, B. (2008) Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders. *Neuropsychopharmacology* **33**, 73-83. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301571>
- Melzack, R. (1975) The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* **1**, 277-299. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(75\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90044-5)
- Parekh, A. and Lee, C.M. (2005) Heart rate variability after isocaloric exercise bouts of different intensities. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **37**, 599-605. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000159139.29220.9A>
- Pedersen, B.K., Pedersen, M., Krabbe, K.S., Bruunsgaard, H., Matthews, V.B. and Febbraio, M.A. (2009) Role of exercise-induced brain-derived neurotrophic factor production in the regulation of energy homeostasis in mammals. *Experimental Physiology* **94**, 1153-1160. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.048561>
- Pedlar, C.R., Newell, J. and Lewis, N.A. (2019) Blood Biomarker Profiling and Monitoring for High-Performance Physiology and Nutrition: Current Perspectives, Limitations and Recommendations. *Sports Medicine* **49**, 185-198. <https://doi.org/10.1007/s40279-019-01158-x>
- Perini, R. and Veicsteinas, A. (2003) Heart rate variability and autonomic activity at rest and during exercise in various physiological conditions. *European Journal of Applied Physiology* **90**, 317-325. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-0953-9>
- Pluchino, N., Russo, M., Santoro, A.N., Litta, P., Cela, V. and Genazzani, A.R. (2013) Steroid hormones and BDNF. *Neuroscience* **239**, 271-279. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.01.025>
- Proschinger, S. and Freese, J. (2019) Neuroimmunological and neuroenergetic aspects in exercise-induced fatigue. *Exercise Immunology Review* **25**, 8-19.
- Radvila, A., Adler, R.H., Galeazzi, R.L. and Vorkauf, H. (1987) The development of a German language (Berne) pain questionnaire and its application in a situation causing acute pain. *Pain* **28**, 185-195. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90115-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90115-1)
- Reed, J.L., Terada, T., Cotie, L.M., Tulloch, H.E., Leenen, F.H., Mistura, M., Hans, H., Wang, H.W., Vidal-Almela, S., Reid, R.D. and Pipe, A.L. (2021) The effects of high-intensity interval training, Nordic walking and moderate-to-vigorous intensity continuous training on functional capacity, depression and quality of life in patients with coronary artery disease enrolled in cardiac rehabilitation: A randomized controlled trial (CRX study). *Progress in Cardiovascular Diseases* **70**, 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2021.07.002>
- Reichel, T., Bößlau, T.K., Palmowski, J., Eder, K., Ringseis, R., Mooren, F.C., Walscheid, R., Bothur, E., Samel, S., Frech, T., Philippe, M. and Krüger, K. (2020) Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Scientific Reports* **10**, 11924. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69280-9>
- Riebe, D., Ehrman, J.K., Liguori, G., Magal, M. and Medicine, A.C.o.S. (2018) ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. Wolters Kluwer.
- Ronchetti, S., Migliorati, G. and Delfino, D.V. (2017) Association of

inflammatory mediators with pain perception. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **96**, 1445-1452.

<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.12.001>

Saboul, D., Balducci, P., Millet, G., Pialoux, V. and Hautier, C. (2016) A pilot study on quantification of training load: The use of HRV in training practice. *European Journal of Sport Science* **16**, 172-181. <https://doi.org/10.1080/17461391.2015.1004373>

Scarpina, F. and Tagini, S. (2017) The Stroop Color and Word Test. *Frontiers Physiology* **8**, 557.

<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00557>

Seiler, S., Haugen, O. and Kuffel, E. (2007) Autonomic recovery after exercise in trained athletes: intensity and duration effects. *Medicine & Science in Sports & Exercise* **39**, 1366-1373. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e318060f17d>

Shaffer, F., McCraty, R. and Zerr, C.L. (2014) A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Frontiers Physiology* **5**, 1040. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.01040>

Slade, G.D., Conrad, M.S., Diatchenko, L., Rashid, N.U., Zhong, S., Smith, S., Rhodes, J., Medvedev, A., Makarov, S., Maixner, W. and Nackley, A.G. (2011) Cytokine biomarkers and chronic pain: association of genes, transcription, and circulating proteins with temporomandibular disorders and widespread palpation tenderness. *Pain* **152**, 2802-2812. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.09.005>

Sperlich, B., Achtzehn, S., de Marées, M., von Papen, H. and Mester, J. (2016) Load management in elite German distance runners during 3-weeks of high-altitude training. *Physiological Reports* **4**, pp?. <https://doi.org/10.14814/phy2.12845>

Stanislaw, H. and Todorov, N. (1999) Calculation of signal detection theory measures. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers* **31**, 137-149. <https://doi.org/10.3758/BF03207704>

Stocker, T.C. and Steinke, I. (2016) Statistik: Grundlagen und Methodik. De Gruyter. <https://doi.org/10.1515/9783110353891>

Stroop, J.R. (1935) Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of Experimental Psychology* **18**, 643. <https://doi.org/10.1037/h0054651>

Tracey, K.J. (2007) Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. *Journal of Clinical Investigation* **117**, 289-296. <https://doi.org/10.1172/JCI30555>

Vanderlei, L.C., Silva, R.A., Pastre, C.M., Azevedo, F.M. and Godoy, M.F. (2008) Comparison of the Polar S810i monitor and the ECG for the analysis of heart rate variability in the time and frequency domains. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **41**, 854-859. <https://doi.org/10.1590/S0100-879X2008005000039>

Walsh, J.J. and Tschakovsky, M.E. (2018) Exercise and circulating BDNF: Mechanisms of release and implications for the design of exercise interventions. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* **43**, 1095-1104. <https://doi.org/10.1139/apnm-2018-0192>

Winter, B., Breitenstein, C., Mooren, F.C., Voelker, K., Fobker, M., Lechtermann, A., Krueger, K., Fromme, A., Korsukewitz, C., Floel, A. and Knecht, S. (2007) High impact running improves learning. *Neurobiology of Learning and Memory* **87**, 597-609. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.11.003>

Key points

- Pain perception and the Stroop test have moderate reliability in the use of exercise and recovery markers after two identical exercise loads in endurance sports
- Markers of heart rate variability also show moderate reliability as biomarkers after intense endurance exercise under identical conditions.
- There are associations between neurophysiological markers and inflammatory blood markers after endurance exercise that are partially associated with gender and training status

AUTHOR BIOGRAPHY



Thomas REICHEL

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

MSc

Research interests

Identification of molecular biomarkers in sport; Evaluation of load-sensitive markers after acute exercise and adaptive responses to exercise training; Neurophysiological and psychometric parameters as markers for exercise and recovery

E-mail:

Thomas.Reichel@sport.uni-giessen.de



Sebastian HACKER

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

MSc

Research interests

Identification of molecular biomarkers in sport; Individualised performance development of athletes using blood-based biomarkers

E-mail:

Sebastian.Hacker@sport.uni-giessen.de

Jana PALMOWSKI

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

MSc

Research interests

Exercise physiology; Impact of exercise on Immunometabolism; low energy availability in female and male athletes

E-mail:

Jana.Palmowski@sport.uni-giessen.de



Tim Konstantin BOßLAU

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

MSc

Research interests

Exercise physiology; Effects of exercise combined with healthy diet on body composition and blood-based markers

E-mail:

Tim.K.Bossrau@med.uni-giessen.de

Torsten FRECH

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

PhD

Research interests

Exercise physiology; Endurance training status and molecular genetic adaptations; Exercise Intervention and Diabetes Mellitus

E-mail: Torsten.Frech@sport.uni-giessen.de



Paulos TIREKOGLOU

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

MSc

Research interests

Exercise immunology; Heat shock protein in exercise physiology

E-mail:

Paulos.Tirekoglou@sport.uni-giessen.de



Christopher WEYH

Employment

Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sports Science, Justus-Liebig-University Giessen, Germany

Degree

PhD

Research interests

Investigation of the relationship between immune ageing, ageing of the vascular system and physical performance and the role of inflammation; Identification of molecular biomarkers in health and performance

E-mail:

Christopher.Weyh@sport.uni-giessen.de

Evita BOTHUR

Employment

Medical Center for Laboratory Medicine and Microbiology, Koblenz-Mittelrhein, Germany

Degree

PhD

Research interests

Haemato-oncology - Cytomorphology - Quantification of shifts in cellular composition and disease-typical aberrations

E-mail: E.Bothur@labor-koblenz.com

Stefan SAMEL

Employment

Medical Center for Laboratory Medicine and Microbiology, Koblenz-Mittelrhein, Germany

Degree

PhD

Research interests

Analytics of clinical blood-based parameters; Therapeutic Drug Monitoring; Liquor protein diagnostics; Urine protein diagnostics

E-mail: S.Samel@labor-koblenz.com

Rüdiger WALSCHEID

Employment

Medical Center for Laboratory Medicine and Microbiology, Koblenz-Mittelrhein, Germany

Degree

PhD

Research interests

Laboratory medicine, microbiology, transfusion medicine, special diagnostics (molecular biology/human genetics, haemato-oncology)

E-mail: Walscheid@labor-koblenz.com



Karsten KRÜGER

Employment

Liebig-University Giessen, Germany

Degree

Prof. PhD. Research interests

Research interests

Applied human physiology with emphasis on the molecular and integrative mechanisms underlying acute exercise and adaptive responses to exercise training and their health-related implications; Exercise immunology focussed on the adaptation of the innate and adaptive immune system and the role of inflammation in adaptation processes; Mechanisms of anti-inflammatory effects of exercise training; Identification of molecular biomarkers in health and disease

E-mail:

Karsten.Krueger@sport.uni-giessen.de

✉ **Thomas Reichel**

Justus-Liebig-University Giessen, Institute of Sport Science, Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Kugelberg 62, 35394 Giessen, Germany

8.3 Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers

Hacker S*, Reichel T*, Hecksteden A, Weyh C, Gebhardt K, Pfeiffer M, Ferrauti A, Kellmann M, Meyer T, Krüger K (2021). Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18 (11), 5776.

DOI: [10.3390/ijerph18115776](https://doi.org/10.3390/ijerph18115776)

URL: <https://www.mdpi.com/1660-4601/18/11/5776>

*Geteilte Erstautorenschaft



Article

Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers

Sebastian Hacker ^{1,†} , Thomas Reichel ^{1,†}, Anne Hecksteden ², Christopher Weyh ¹ , Kristina Gebhardt ¹, Mark Pfeiffer ³, Alexander Ferrauti ⁴, Michael Kellmann ^{5,6}, Tim Meyer ² and Karsten Krüger ^{1,*}

¹ Department of Exercise Physiology and Sports Therapy, Institute of Sport Science, Justus-Liebig-University Gießen, 35394 Gießen, Germany; sebastian.hacker@sport.uni-giessen.de (S.H.); Thomas.Reichel@sport.uni-giessen.de (T.R.); Christopher.Weyh@sport.uni-giessen.de (C.W.); kristina.gebhardt@sport.uni-giessen.de (K.G.)

² Institute of Sports and Preventive Medicine, Saarland University, 66123 Saarbrücken, Germany; a.hecksteden@mx.uni-saarland.de (A.H.); tim.meyer@mx.uni-saarland.de (T.M.)

³ Institute of Sport Science, Johannes Gutenberg University Mainz, 55128 Mainz, Germany; Mark.Pfeiffer@uni-mainz.de

⁴ Department of Training & Exercise Science, Faculty of Sport Science, Ruhr University Bochum, 44801 Bochum, Germany; alexander.ferrauti@ruhr-uni-bochum.de

⁵ Unit of Sport Psychology, Faculty of Sport Science, Ruhr University Bochum, 44801 Bochum, Germany; michael.kellmann@rub.de

⁶ School of Human Movement and Nutrition Sciences, The University of Queensland, St. Lucia 4072, Australia

* Correspondence: karsten.krueger@sport.uni-giessen.de; Tel.: +49-(0)-641-9925-211

† Both authors similarly contributed to the study.



Citation: Hacker, S.; Reichel, T.; Hecksteden, A.; Weyh, C.; Gebhardt, K.; Pfeiffer, M.; Ferrauti, A.; Kellmann, M.; Meyer, T.; Krüger, K. Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 5776. <https://doi.org/10.3390/ijerph18115776>

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 3 May 2021

Accepted: 26 May 2021

Published: 27 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: The purpose of this study was to investigate blood-based biomarkers and their regulation with regard to different recovery-stress states. A total of 35 male elite athletes (13 badminton, 22 soccer players) were recruited, and two venous blood samples were taken: one in a ‘recovered’ state (REC) after a minimum of one-day rest from exercise and another one in a ‘non-recovered’ state (NOR) after a habitual loading microcycle. Overall, 23 blood-based biomarkers of different physiologic domains, which address inflammation, muscle damage, and tissue repair, were analyzed by Luminex assays. Across all athletes, only creatine kinase (CK), interleukin (IL-) 6, and IL-17A showed higher concentrations at NOR compared to REC time points. In badminton players, higher levels of CK and IL-17A at NOR were found. In contrast, a higher value for S100 calcium-binding protein A8 (S100A8) at REC was found in badminton players. Similar differences were found for BDNF in soccer players. Soccer players also showed increased levels of CK, and IL-6 at NOR compared to REC state. Several molecular markers were shown to be responsive to differing recovery-stress states, but their suitability as biomarkers in training must be further validated.

Keywords: cytokines; muscle damage; chemokines; badminton; soccer; monitoring

1. Introduction

For many years the relationship between exercise response and recovery, as well as the concomitant impact on performance has attracted the interest of sport science [1]. Since elite athletes’ training loads and competition demands are increasing, an elaborate plus feasible exercise and recovery management, and a development of qualitative training parameters, is necessary to ensure high levels of performance [2]. Thus, it is of utmost importance that appropriate exercise stimuli are prescribed and (short- and long-term) physiological adaptation is achieved [3,4]. Improperly managed training loads may lead to accumulated fatigue and result in illness, injury, non-functional overreaching, and the overtraining syndrome [3,5]. Nonetheless, intensified training with subsequent exercise-induced fatigue is necessary to stimulate adaptation and enhance performance, indicating the necessity of systematic load and regeneration monitoring [3,6].

Exercise response, as well as recovery, are multi-faceted phenomena, which can be evident in several physiologic domains, such as hormonal, immunological, neuromuscular,

or psychological [1,7]. For the purpose of our work, we chose blood-based biomarker regulations in the recovery-stress cycle and discipline-specific training performance as the most pertinent and objective exercise stimulus for elite athletes. However, as earlier studies stated, testing training or competition performance by the use of maximal strength tests can be seen as non-feasible due to the additionally induced fatigue [1]. Consequently, a wide variety of surrogate exercise response and recovery indicators have been investigated to detect the internal training load [8–10]. In particular, blood-based biomarkers may be favorable because of their high objectivity, precise measurement, reproducibility, and minimal training interference [11–13]. A problem with the use of biomarker analyses in the context of competitive sport is the lack of reference data and interindividual differences between athletes [14]. For this reason, currently available biomarkers are only partially suitable for training and regeneration management. This study represents a first step towards finding sensitive recovery and stress markers and drawing initial conclusions with regard to two different sport disciplines.

There is insufficient evidence to demonstrate to what extent a single biomarker can reliably quantify the exercise response and recovery [8,15]. It is assumed that a panel of selected biomarkers may allow a more comprehensive, and sport specific analysis of athletic performance and recovery status [15,16]. Hence, regarding a thorough and serious assessment of athletes' internal load state, the evaluation of physiological markers, which have already been shown in studies to be load-sensitive, seems promising. Thus, we compiled a panel of blood-based biomarkers reflecting several physiologic domains for further analysis. Because intensive exercise training represents a pro-inflammatory stimulus [17], the regulation of various interleukins and other pro- and anti-inflammatory proteins were analyzed. The specific selection of blood markers included here was based on preliminary data, in which some cytokines could be identified as exercise sensitive and reliable [15]. To gain insight into exercise-induced muscle damage we included enzymes like creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), myeloperoxidase (MPO), and various chemokines, which have already shown a certain sensitivity under athletic stress in previous studies [18]. Moreover, to measure potential variations in growth factors, we chose markers such as human growth hormone (GH), brain-derived neurotrophic factor (BDNF), or glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) [7].

Thus, this study aimed to analyze the regulation of several physiologic domains including various chemokines, inflammatory cytokines, enzymes, hormones, proteinases and growth factors in athlete's recovery-stress training cycles, as well as in clarifying their regulation within groups of badminton and soccer players.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design and Participants

In total, 13 male badminton players, who prepared for the world championships and 22 semi-professional male soccer players, who played in the fourth German division ('Regionalliga') were recruited. Subjects of the badminton group were the same ones as included into the studies by Barth et al. and Schneider et al. [12,19]. Participants' characteristics are presented in Table 1. Of each player two blood samples, one representing a REC state after a minimum of one-day rest from exercise and one representing a NOR state after a sport-dependent habitual loading microcycle. Thus, the athletes trained freely according to their current training schedules. The research team only joined the athletes at defined stages of training to collect the blood samples. For badminton players, this microcycle comprised four consecutive days with up to two sessions per day, including badminton specific, as well as endurance, strength and speed training. Daily training load consisted of 50- to 310-min of moderate to intensive exercise. Exemplary training plans can be found in a previously published study [19]. In case of the soccer players, training microcycle consisted of high-intensity sessions with strenuous small-sided games which could be quantified using a completed recovery-stress questionnaire [20]. At least two training sessions were completed within 48 h. Based on these monitoring controls, the

training was characterized as an intensive soccer-specific training. With the exception of one participant, who was excluded from the analyses of IL-6 and S100A8 due to severe outlier data (Z score; IL-6: 5.75, S100A8: 5.74), all participants were included in the final analysis. All participants were informed about the experimental procedures and provided their written informed consent. The study was approved by the local Human Research Ethics Committee (Ärztchamber des Saarlandes, approval no. 228/13 and amendments) and conducted in accordance with the Declaration of Helsinki.

Table 1. Participants' characteristics.

| | Badminton (<i>n</i> = 13) | Soccer (<i>n</i> = 22) |
|-------------|----------------------------|-------------------------|
| Age, years | 25.6 ± 2.4 | 28.4 ± 3.4 |
| Height, cm | 183 ± 7 | 180 ± 7 |
| Weight, kg | 78 ± 10 | 79 ± 6 |
| Body fat, % | 11.9 ± 3.0 | 12.4 ± 1.8 |

Note: Data are presented as mean ± SD.

2.2. Outcome Measures

To be considered for the panel, biomarkers had to fulfill certain criteria: markers (1) are proteins, which are measurable in blood plasma and serum, (2) are detectable through sensitive measuring techniques, preferably enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and (3) are potentially exercise sensitive. Included blood-based biomarkers comprise renowned parameters like CK [8,21], as well as less frequent investigated or newly suggested markers for the recovery-stress response, e.g., S100A8 and S100A12 [22]. A summary of all physiologic categories and associated biomarkers analyzed in this study is given in Table 2. Those markers were chosen to reflect exercise sensitive processes related to inflammation, muscle damage, tissue repair and growth, and matrix remodeling.

Table 2. Blood-based biomarker panel and associated categories.

| Category | Biomarker |
|--|---|
| Chemokines | CC-chemokine ligand (CCL)2, CCL4 |
| Cytokines | Interferon-gamma (IFN- γ), interleukin (IL-)10, IL-12p40, IL-17A, IL-1 β , IL-1RA, IL-6, IL-8 |
| Enzymes | Creatine kinase (CK), lactate dehydrogenase (LDH), myeloperoxidase (MPO) |
| Growth factors | Brain-derived neurotrophic factor (BDNF), glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) |
| Hormones | Growth hormone (GH), sex hormone-binding globulin (SHBG) |
| Other inflammatory signaling molecules | Cluster of differentiation 163 (CD163), S100 calcium-binding protein (S100)A8, S100A12 |
| Proteinases | Matrix metalloproteinases (MMP-)2, MMP-3, MMP-9 |

2.3. Blood Sampling and Analyses

Venous blood samples were collected and consisted of 2.7-mL, as well as 2 × 9-mL anticoagulated EDTA plasma vacutainers. Centrifugation was conducted within 20 min after sampling. For blood sampling and concomitant analysis standard methods were used in accordance with previously published studies [11,12]. In detail, CK was analyzed by automated routine techniques (UniCell DxC 600 Synchron, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Germany). Blood sampling was scheduled on Monday and Friday between 7:45 and 8:30 A.M. As mentioned above athletes had a minimum of one day of rest before the REC sample was taken. Regarding NOR blood samples athletes had their last session before blood sampling in the afternoon/evening of Thursday. Thus, the range of duration between the last session and NOR blood sampling varied between 12 and 16 h. BDNF, CCL2, CCL4, CD163, GDNF, GH, IFN- γ , IL-10, IL-12p40, IL-17A, IL-1 β , IL-1RA, IL-6, IL-8, LDH, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MPO, S100A8, S100A12, and SHBG were analyzed according to manufacturer's instructions via a commercially available human magnetic

Luminex assay (Bio-Techne Ltd., Abingdon, Oxon, UK) using the Luminex MAGPIX system (Luminex Corporation, Austin, TX, USA).

2.4. Statistical Analyses

Statistical analyses were carried out using JASP (Version 0.14.1, JASP Team, Amsterdam, The Netherlands). Normal or log-normal distribution of the mean differences was tested via the Kolmogorov-Smirnov test. For explorative analysis of marker regulation in all athletes at both status time points, as well as within sport disciplines Student's paired *t* test and, in case of non-normal distributed data, the Wilcoxon signed-rank test were used. The level of significance was set at $\alpha = 0.05$. Due to the explorative nature of our investigation, no adjustment of the alpha error for multiple testing has been carried out. Descriptive data are presented as raw data with mean \pm SD. Additionally, mean differences or the Hodges-Lehman estimate, depending on the underlying test, as well as 95% confidence intervals (CI) are given. Tukey boxplots with raw data were created using Prism 9 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3. Results

3.1. Analyses of Blood-Based Biomarkers across Disciplines

CK showed higher enzyme activity at 'non-recovered' (NOR) time points compared to 'recovered' (REC) time points ($p < 0.001$; REC 152.6 ± 102.4 U/L; NOR 693.1 ± 435.5 U/L; mean difference 540.6 U/L; 95% CI [399.2, 681.9]) (Figure 1a). Similarly, IL-6 levels were higher at NOR state ($p = 0.024$; REC 12.5 ± 3.8 pg/mL; NOR 13.7 ± 3.7 pg/mL; mean difference 1.3 pg/mL; 95% CI [0.2, 2.4]) (Figure 1b). Concentrations of IL-17A were elevated at NOR compared to REC ($p = 0.033$; REC 38.8 ± 17.7 pg/mL; NOR 42.8 ± 19.6 pg/mL; Hodges-Lehman Estimate (HLE) 4.7 pg/mL; 95% CI [-1.2, 9.2]) (Figure 1c). CD163 increased at NOR; however, this marker did not reach statistical significance ($p = 0.069$; REC $1.0 \times 10^6 \pm 650,929.7$ pg/mL; NOR $1.2 \times 10^6 \pm 794,388.1$ pg/mL; mean difference 174,283.6 pg/mL; 95% CI [11,188, 337,379.3]) (Figure 1d). No differences were found for LDH, MPO, IFN- γ , IL-1 β , IL-1RA, IL-8, IL-10, IL-12p40, S100A8, S100A12, CCL2, CCL4, BDNF, GDNF, GH, SHBG, MMP-2, MMP-3, MMP-9 (Table 3).

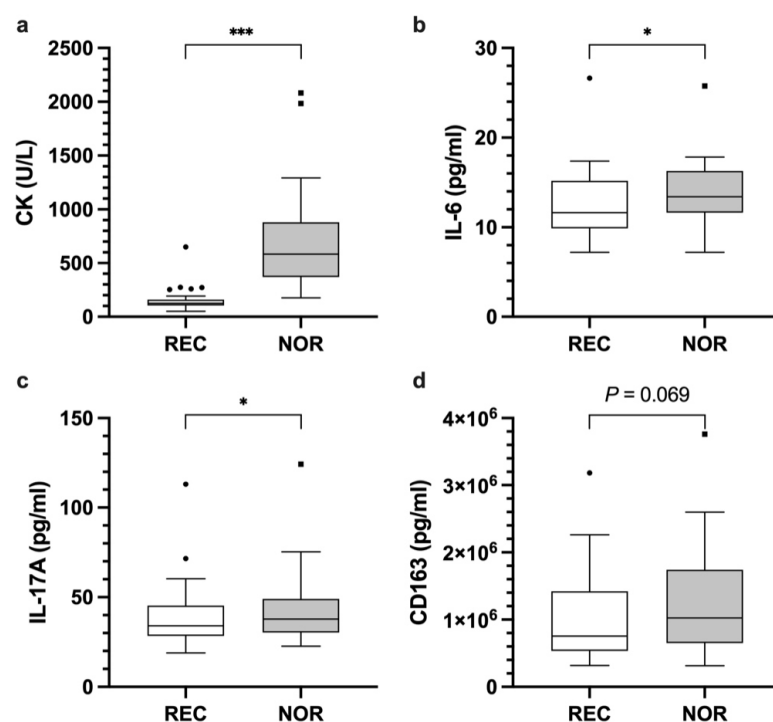


Figure 1. Concentration of CK (a), IL-6 (b), IL-17A (c), and CD163 (d) in athletes at REC and NOR time points across disciplines. (*) indicates $p < 0.05$ and (***) indicates $p < 0.001$. Raw data are shown.

Table 3. Concentration of blood-based biomarkers at REC and NOR time points across disciplines (in pg/mL and U/L for CK).

| | Recovered | | Non-Recovered | | Mean Difference, 95% CI | p Value |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------------------------|----------|
| | Mean | SD | Mean | SD | | |
| Chemokines | | | | | | |
| CCL2 | 737.7 | 229.8 | 744.3 | 211.9 | 6.6 [−47.3, 60.5] | 0.804 |
| CCL4 | 1329.3 | 163.2 | 1345.4 | 157.4 | 30.1 [−32.3, 77.9] ^W | 0.377 |
| Cytokines | | | | | | |
| IFN- γ | 173.2 | 123.6 | 190.7 | 151.2 | 17.4 [−23.5, 58.4] | 0.464 |
| IL-10 | 12.4 | 5.2 | 12.9 | 4.1 | 0.5 [−0.8, 1.7] | 0.444 |
| IL-12p40 | 2792.8 | 714.1 | 2796.5 | 851.7 | 18.9 [−371.8, 441.1] ^W | 0.896 |
| IL-17A | 38.8 | 17.7 | 42.8 | 19.6 | 4.7 [0.9, 8.5] ^W | 0.033 * |
| IL-1 β | 56.7 | 14.3 | 63.7 | 25.5 | 1.7 [−4.5, 11.7] ^W | 0.561 |
| IL-1RA | 1130.9 | 374.7 | 1196.1 | 606.5 | 65.2 [−151.3, 281.7] | 0.663 |
| IL-6 | 12.5 | 3.8 | 13.7 | 3.7 | 1.3 [0.2, 2.4] | 0.024 * |
| IL-8 | 42.7 | 14.5 | 47.5 | 17.3 | 4.7 [−1.7, 11.2] | 0.145 |
| Enzymes | | | | | | |
| CK | 152.6 | 102.4 | 693.1 | 435.5 | 540.6 [399.2, 681.9] | <0.001 * |
| LDH | 435 | 387.1 | 434.6 | 376.5 | −0.4 [−31.4, 30.5] | 0.701 |
| MPO | 109,757.2 | 44,962.7 | 118,082.6 | 40,440.4 | 8325.5 [−8074.9, 24,725.8] | 0.268 |
| Growth factors | | | | | | |
| BDNF | 31,282.7 | 6456.2 | 30,294.2 | 6565.3 | −988.5 [−2298.5, 321.4] | 0.134 |
| GDNF | 29.5 | 8 | 30.4 | 9.7 | 0.9 [−1.8, 3.6] | 0.645 |
| Hormones | | | | | | |
| GH | 2504.4 | 4223.1 | 1891 | 2502 | 120 [−207, 367.1] ^W | 0.199 |
| SHBG | 1.5×10^7 | 3.2×10^6 | 1.5×10^7 | 3.4×10^6 | −434,178.6 [−994,313.3, 125,956.1] | 0.124 |
| Other inflammatory signaling molecules | | | | | | |
| CD163 | 1.0×10^6 | 650,929.7 | 1.2×10^6 | 794,388.1 | 174,283.6 [11,188, 337,379.3] | 0.069 |
| S100A8 | 213.4 | 66.7 | 204.3 | 58.7 | −5.7 [−27.3, 16] | 0.600 |
| S100A12 | 47,342.8 | 17,408.7 | 46,630.2 | 16,819 | −712.6 [−6942.6, 5517.3] | 0.818 |
| Proteinases | | | | | | |
| MMP-2 | 292,144.4 | 37,363.4 | 297,876 | 36,001.2 | 5731.6 [−3788.8, 15,252] | 0.230 |
| MMP-3 | 50,011.2 | 20,945.4 | 50,960.5 | 16,505.7 | 949.3 [−4812.8, 6711.4] | 0.422 |
| MMP-9 | 114,122.4 | 84,183.6 | 115,426.2 | 89,562.2 | 1303.8 [−22,467.9, 25,075.6] | 0.912 |

Note: Raw data are shown. SD, standard deviation; ^W results of the Wilcoxon signed-rank test; * significant difference between REC and NOR time points ($p < 0.05$).

3.2. Analyses of Blood-Based Biomarkers within Disciplines

3.2.1. Cytokines

Badminton players had higher IL-17A concentrations at NOR compared to REC ($p = 0.018$; REC 38.7 ± 11.4 pg/mL; NOR 48.5 ± 25.2 pg/mL; HLE 6.6 pg/mL; 95% CI [1.9, 30.1]) (Figure 2b). In contrast, IL-6 levels of soccer players were higher at NOR compared to REC ($p = 0.017$; REC 12 ± 2.5 pg/mL; NOR 14 ± 2.9 pg/mL; mean difference 1.9 pg/mL; 95% CI [0.4, 3.5]) (Figure 3b). A similar trend between the time points was shown for IL-1 β concentration ($p = 0.060$; REC 54.7 ± 13.4 pg/mL; NOR 66.5 ± 27.6 pg/mL; mean difference 11.9 pg/mL; 95% CI [−0.5, 24.2]) (Figure 3c). No significant differences were found for IFN- γ , IL-1RA, IL-8, IL-10, and IL-12p40 (data not shown).

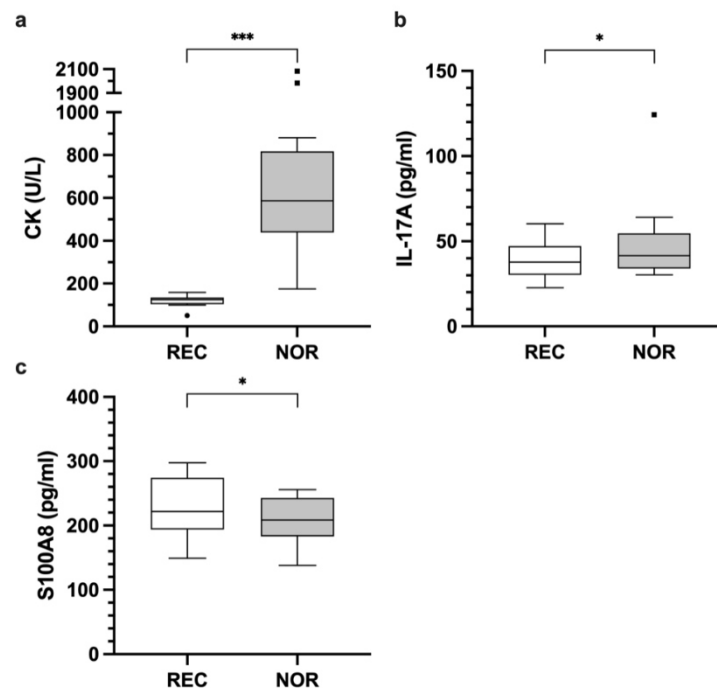


Figure 2. Enzyme activity of CK (a), concentration of IL-17A (b), and S100A8 (c) in badminton players at REC and NOR time points. (*) indicates $p < 0.05$ and (***) indicates $p < 0.001$. Raw data are shown.

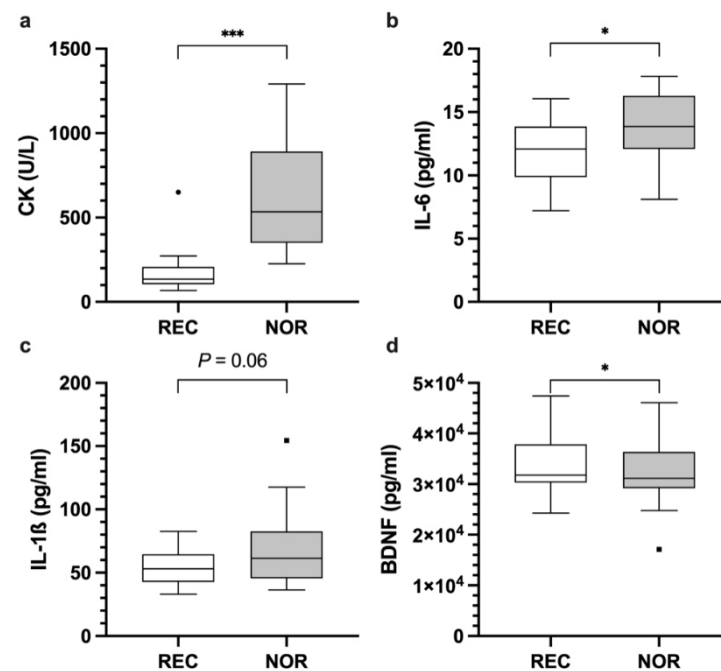


Figure 3. Enzyme activity of CK (a), concentration of IL-6 (b), IL-1 β (c), and BDNF (d) in soccer players at REC and NOR time points. (*) indicates $p < 0.05$ and (***) indicates $p < 0.001$. Raw data are shown.

3.2.2. Enzymes

For CK, significant differences between REC and NOR were found for badminton ($p < 0.001$; REC 117.4 ± 26.4 U/L; NOR 776.9 ± 585.4 U/L; HLE 495.5 U/L; 95% CI [359.5, 1131.5]) (Figure 2a), as well as soccer players ($p < 0.001$; REC 173.4 ± 124 U/L; NOR 643.6 ± 323.1 U/L; mean difference 470.3 U/L; 95% CI [351, 589.5]) (Figure 3a). No significant differences between both time points were found for MPO and LDH (data not shown).

3.2.3. Chemokines, Growth Factors, Hormones, Other Inflammatory Signaling Molecules, and Proteinases

For S100A8 lower levels were found in the NOR state compared to REC state in badminton players ($p = 0.047$; REC 237.8 ± 52.5 pg/mL; NOR 206.4 ± 38.8 pg/mL; mean difference -23.8 pg/mL; 95% CI $[-47.3, -0.3]$) (Figure 2c). BDNF levels of soccer players showed a similar decrease in concentration at NOR compared to REC time-points ($p = 0.043$; REC $33,907.4 \pm 5795.7$ pg/mL; NOR $32,199.5 \pm 6058.8$ pg/mL; mean difference -1707.9 pg/mL; 95% CI $[-3354.1, -61.7]$) (Figure 3d). No significant differences were found for all other addressed chemokines, growth factors, hormones, proteinases, and further inflammatory signaling molecules (data not shown).

4. Discussion

The present study investigated the expression of numerous molecular markers in the blood in a specific exercise recovery cycle across sport disciplines and within sport disciplines. This distinguishes the work from other researchers, which mostly analyzed short-term responses after acute bouts of exercise [23–25]. It is relevant to consider this aspect when interpreting the data. This may be the reason why no differences were found for many markers that have been shown to be sensitive to stress in other settings. We selected the sports according to the fact that they are game sports, one of which contains more endurance aspects (soccer), the other contains shorter fast-paced actions.

Our results suggest that CK, IL-6, and IL-17A can differentiate between REC and NOR time points in athletic populations. Moreover, a statistical trend was found for CD163 ($p = 0.069$). Within disciplines, analysis revealed additional parameters displaying sport specific biomarker alterations. In detail, badminton players showed significantly decreased levels of S100A8 after a habitual loading microcycle, whereas soccer players showed decreased BDNF levels. Another trend for IL-1 β ($p = 0.060$) was found, which may enable the characterization of REC or NOR states in soccer players, but this needs to be confirmed in future studies. However, a comparison between the sports is only possible to a limited extent because, within a microcycle, training is carried out using many different methods. This content was not subject to any specification and controlled in this study which is later discussed. Therefore, we cannot define the exact training content, but as an advantage, we are closer to the training reality.

Cytokine responses to exercise stimuli are known to be induced by muscle damage, but also independently of this through acute intense exercise loads, which instigate an inflammatory immune response and subsequently induce an elevation of various cytokines [26]. Many of these cytokines only increase for a short time and are then very quickly degraded [8,15]. This may be the reason why we found few significantly regulated markers in this setting. Only IL-17A and IL-6 unveiled significant differences between both conditions. This is, nevertheless, interesting because studies analyzing the exercise response of IL-17A in healthy or athletic populations are scarce. Our data prove a certain exercise sensitivity and, therefore, a potential suitability in athletic monitoring [27–29]. IL-17A is produced by a subset of CD4+ T cells, Th17 cells, which are part of the adaptive immune system and take a critical part in defense against extracellular bacterial and fungal infections [30]. Further, IL-17A induces various pro-inflammatory mediators, such as IL-1 β and IL-6, and might reflect muscle damage [27,30]. There is only little firm evidence on the effects of exercise on the production of IL-17. Sugama et al. [27] recruited 14 male triathletes, who participated in a duathlon race and analyzed urinary and plasma levels of IL-17. Urinary and plasma IL-17 concentrations decreased significantly immediately after exercise cessation. However, following a 3 h recovery phase, plasma IL-17 showed a significant increase in concentration compared to immediately post-exercise [27], which possibly indicates a delayed immunological response [28]. Kostrzewa-Nowak and Nowak saw a significant decrease in plasma IL-17A after participants had completed a 20 m shuttle run test, but not after completion of the Yo-Yo intermittent recovery test level 1 [29].

There are several studies which proved a certain exercise sensitivity of IL-6 [15,26,31]. IL-6 has pleiotropic characteristics and can induce pro- as well as anti-inflammatory responses. In response to tissue damage, both T-lymphocytes and macrophages start to secrete IL-6 to initiate an immune response. In contrast, the rhythmic release of IL-6 from contracting muscles in response to glycogen depletion induces a systemic anti-inflammatory response [16]. IL-6 is described as a central signal molecule of the acute-phase response [32]. It is the initial cytokine released in the cytokine cascade in response to exercise, and through the stimulation of anti-inflammatory IL-10 and IL-1RA it has inhibitory effects on the pro-inflammatory cytokines TNF- α and IL-1 [26]. According to the characteristics of this cytokine, the increase in IL-6 at NOR state might reflect both the high metabolic demands, as well as the structural tissue damage after training [31,33]. The increase in IL-6 in competitive team sports or after periods of intense training was previously demonstrated. Souglis and colleagues found a prolonged elevation in plasma IL-6 levels lasting up to two days post-match [31,33]. With regard to the use as a biomarker, increased IL-6 levels might reflect the necessity to replenish glycogen stores and, if necessary, restore muscular integrity.

The specific physiological processes, that stimulate the release of IL-17A and IL-6, might be also relevant for the discipline specific release of these cytokines. Although, in badminton players, differences of IL-17A were found between REC and NOR, in soccer players concentrations of IL-6 were different. Although the detailed training contents were not controlled, we assume that the badminton players performed more short-term stop-and-go movements, with a more anaerobic metabolism [34], which cause an inflammatory response. Conversely, the soccer players' training content indicate a more aerobic metabolism. Comparisons of internal and external load structures of the sport disciplines can prove this in the literature [35,36]. Furthermore, a study investigated the concentration of IL-6 in trained athletes on the arm crank and on the bicycle ergometer after a 90-min interval training. Hoekstra et al. concluded that IL-6 was elevated after both training sessions, but significantly higher on the bicycle ergometer [37]. These results are consistent with those of the present study.

Our results confirm that a habitual loading microcycle affects muscular integrity, indicated by the increase in plasma CK at NOR. CK is a common biomarker also used in sports practice to assess the recovery of muscular performance in athletes of different disciplines [11,19,38]. It is assumed that any type of physical activity is accompanied by a loss of muscular integrity, and the subsequent flooding of intramuscular enzymes into the blood. Specifically, high amounts of accelerations and decelerations, typically found in badminton as well as soccer, are effective here. These movements lead to a high mechanical stress and eccentric force production, which specifically force muscle fiber damage [9,21]. The lack of an increase in LDH may be due to the fact that this enzyme rises quickly after acute bouts of exercise and then falls again, whereas CK is detected in the blood only after a delay and then also over a longer period of time [15].

For CD163 a statistical trend across the disciplines was found ($p = 0.069$). CD163 is expressed on macrophages and monocytes, and may take part in preventing hemoglobin-induced toxicity during physiological and pathological hemolysis [39]. Moreover, CD163 has anti-inflammatory properties, and has been shown to provide protective mechanisms against oxidative stress and myocardial damage [39]. Niemelä and colleagues provide the first evidence that prolonged running increases serum levels of CD163 [39]. They investigated 8 healthy male recreational runners before and after completing a marathon ($n = 4$) or half-marathon ($n = 4$). CD163 increased significantly 3 h after the marathon as well as after the half-marathon. Subjects completing the full marathon distance showed a more pronounced increase in CD163 concentration. After 48 h, a decrease to baseline levels could be observed in 7 out of 8 athletes [39]. It would be interesting to know when the peak of CD163 is reached after load in order to draw conclusions. Despite not being significant, we can confirm the tendency of increased CD163 levels the day after strenuous exercise loads.

A discipline-specific difference was also found for S100A8. S100A8 is a pro-inflammatory molecule of the S100 protein family and is mainly expressed by myeloid cells [32]. It is known for its role in innate immunity and among other functions organizes cell adhesion and chemotaxis [32]. Together with S100A9 it forms a heterodimer (Calprotectin) and is considered a danger-associated molecular pattern, especially in cardiovascular diseases [22]. Mooren and colleagues conducted an extensive analysis of the exercise response of S100A8/A9 in regard to training status, intensity and type of exercise [32]. A 7-fold increase immediately after the marathon was found, which returned to baseline after 24 h of recovery. We also found a decline the day after the last training session for badminton players. However, these differed significantly from the REC values. It is speculated that these alterations specifically reflect the regulation after a complete training microcycle, and not after an acute exercise response. Other studies found a more or less increase in this inflammatory signaling molecule in response to acute exercise [40,41]. These studies suggest a relation of this cytokine to exercise-induced muscle damage, since eccentric exercise bouts induced a longer-lasting increase in S100A8 [32]. The protein S100A8 is additionally a sensitive marker that is exposed to training-dependent influences [32] and, thus, possible unknown interactions have taken place. In general, the underlying kinetic mechanisms of the training induced S100A8 increase still need to be clarified.

Additionally, we observed a discipline specific BDNF decrease in plasma concentration at the day after the last training session in soccer players. BDNF is a growth factor, which regulates development, maintenance, and plasticity of neuronal networks [42]. Additionally, BDNF is a key component of the hypothalamic pathway and it is assumed that aerobic exercise has a favorable influence on BDNF-mediated processes [43]. Most studies indicate a transient BDNF increase in response to acute exercise that returns to baseline levels during recovery period of no more than one hour [44,45]. However, our results contradict those of Zoladz et al. [46] and Nofuji et al. [44] Furthermore, the evidence suggests elevation of resting in BDNF concentrations provoked by aerobic exercise [47]. Similar results to ours were found by Wagner et al. after 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults [48]. Further, studies have shown lower basal BDNF concentrations in endurance-trained athletes compared to untrained athletes [49]. Thus, it is conceivable that BDNF mediates the described positive effects of regular physical activity on central nerve system structure [50] and function through repeated transient increases in BDNF concentration as a result of each acute soccer training combined with an increase in BDNF utilization capacity. Such a mechanism of action is also known from the IL-6-mediated anti-inflammatory effect of regular physical activity [51].

A trend across all athletes was also found for IL-1 β ($p = 0.06$). IL-1 β is secreted as part of a pro-inflammatory immune response and is involved in the induction of acute phase proteins, and in cell proliferation as well as cell differentiation. IL-1 β has been shown to increase not immediately after exercise but after a short delay [52]. In detail, plasma IL-1 β values increased 16-fold after a duathlon race and remained elevated 5-fold at 3 h post exercise cessation [52]. Nonetheless, it may be possible that IL-1 β failed to reach statistical significance due to the presence of IL-10 and IL-1RA, which antagonize the secretion of IL-1 β [52,53].

5. Conclusions

The results of the study show that some blood-based biomarkers reflect the recovery and stress status of athletes while many other molecular markers, which have been previously found to be responsive to acute exercise, do not respond to such cycles. CK, IL-6, and IL-17A, showed contrasting regulations across disciplines, while S100A8 seems to be more specific to the badminton players, BDNF may be more suitable for soccer players. Thus, these markers may enable the monitoring of exercise response and recovery cycles in their specific discipline, and subsequently might help coaches and athletes to avoid time lost to overtraining or injury, improve exercise as well as recovery prescription, and to ensure readiness for competition.

Nonetheless, certain limitations have to be considered. One aspect already mentioned is the implementation of microcycles of the training, which were not controlled concerning the detailed training contents. Another aspect is the definition of biomarkers in sports. We only analyzed two time points reflecting ‘extreme values’ on the recovery-fatigue continuum. Future studies should pursue a longitudinal approach with regular biomarker assessment to gain an overall view of individual and seasonal variability [8]. Since we only conducted a group-based analysis, which may be compromised due to responders and non-responders, we are not able to deduce individual reference ranges. Recent research tries to solve this problem with individualized reference ranges using a Bayesian approach and sport specific prior distributions [11]. Furthermore, it should always be considered that recovery-stress responses are multi-faceted phenomena and it may be favorable to utilize a multivariate approach combining physiological and psychological measurements to illuminate recovery and fatigue in a more comprehensive way [1].

Author Contributions: Conceptualization, T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., and K.K.; methodology, T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., and K.K.; validation, S.H., T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., C.W., and K.K.; formal analysis, S.H., T.R., and C.W.; investigation, A.H., M.P., A.F., M.K., K.G., and T.M.; resources, A.H., M.P., A.F., M.K., and T.M.; data curation, S.H., T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., C.W., and K.K.; writing—original draft preparation, S.H., T.R., and K.K.; writing—review and editing, S.H., T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., K.G., C.W., and K.K.; visualization, S.H.; supervision, K.K.; project administration, T.R., A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., and K.K.; funding acquisition, A.H., M.P., A.F., M.K., T.M., and K.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was funded by the German Federal Institute of Sport Science and realized within ‘REGman—Optimization of Training and Competition: Management of Regeneration in Elite Sports’ (grant number IIA1-081901/12-20) and the project ‘Definition of valid and reliable biomarkers including innovative measurement methods for training control in long-distance running’ (grant number 070503/20-21).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the local Human Research Ethics Committee (Ärztchamber des Saarlandes, approval no. 228/13 and amendments).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The datasets generated during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgments: We like to thank the involved coaching staff and all subjects for their participation in this study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Kellmann, M.; Bertollo, M.; Bosquet, L.; Brink, M.; Coutts, A.J.; Duffield, R.; Erlacher, D.; Halson, S.L.; Hecksteden, A.; Heidari, J.; et al. Recovery and Performance in Sport: Consensus Statement. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2018**, *13*, 240–245. [[CrossRef](#)]
2. Eckard, T.G.; Padua, D.A.; Hearn, D.W.; Pexa, B.S.; Frank, B.S. The Relationship Between Training Load and Injury in Athletes: A Systematic Review. *Sports Med.* **2018**, *48*, 1929–1961. [[CrossRef](#)]
3. Greenham, G.; Buckley, J.D.; Garrett, J.; Eston, R.; Norton, K. Biomarkers of Physiological Responses to Periods of Intensified, Non-Resistance-Based Exercise Training in Well-Trained Male Athletes: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med.* **2018**, *48*, 2517–2548. [[CrossRef](#)]
4. Thorpe, R.T.; Atkinson, G.; Drust, B.; Gregson, W. Monitoring Fatigue Status in Elite Team-Sport Athletes: Implications for Practice. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2017**, *12*, S227–S234. [[CrossRef](#)]
5. Halson, S.L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. *Sports Med.* **2014**, *44*, 139–147. [[CrossRef](#)]
6. Kellmann, M. Preventing overtraining in athletes in high-intensity sports and stress/recovery monitoring: Preventing overtraining. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **2010**, *20*, 95–102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Proschinger, S.; Freese, J. Neuroimmunological and neuroenergetic aspects in exercise-induced fatigue. *Exerc. Immunol. Rev.* **2019**, *25*, 8–19. [[PubMed](#)]
8. 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*, 2920–2937. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

9. Hecksteden, A.; Skorski, S.; Schwindling, S.; Hammes, D.; Pfeiffer, M.; Kellmann, M.; Ferrauti, A.; Meyer, T. Blood-Borne Markers of Fatigue in Competitive Athletes—Results from Simulated Training Camps. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0148810. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Jones, C.M.; Griffiths, P.C.; Mellalieu, S.D. Training Load and Fatigue Marker Associations with Injury and Illness: A Systematic Review of Longitudinal Studies. *Sports Med. Auckl. NZ* **2017**, *47*, 943–974. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Hecksteden, A.; Pitsch, W.; Julian, R.; Pfeiffer, M.; Kellmann, M.; Ferrauti, A.; Meyer, T. A New Method to Individualize Monitoring of Muscle Recovery in Athletes. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2017**, *12*, 1137–1142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Barth, V.; Käsbaauer, H.; Ferrauti, A.; Kellmann, M.; Pfeiffer, M.; Hecksteden, A.; Meyer, T. Individualized Monitoring of Muscle Recovery in Elite Badminton. *Front. Physiol.* **2019**, *10*, 778. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Krüger, K.; Reichel, T.; Zeilinger, C. Role of heat shock proteins 70/90 in exercise physiology and exercise immunology and their diagnostic potential in sports. *J. Appl. Physiol. Bethesda Md 1985* **2019**, *126*, 916–927. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Pedlar, C.R.; Newell, J.; Lewis, N.A. Blood Biomarker Profiling and Monitoring for High-Performance Physiology and Nutrition: Current Perspectives, Limitations and Recommendations. *Sports Med.* **2019**, *49*, 185–198. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Reichel, T.; Boßlau, T.K.; Palmowski, J.; Eder, K.; Ringseis, R.; Mooren, F.C.; Walscheid, R.; Bothur, E.; Samel, S.; Frech, T.; et al. Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Sci. Rep.* **2020**, *10*, 11924. [[CrossRef](#)]
16. Finsterer, J.; Drory, V.E. Wet, volatile, and dry biomarkers of exercise-induced muscle fatigue. *BMC Musculoskelet. Disord.* **2016**, *17*, 40. [[CrossRef](#)]
17. Peake, J.M.; Della Gatta, P.; Suzuki, K.; Nieman, D.C. Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: Regulatory mechanisms and exercise effects. *Exerc. Immunol. Rev.* **2015**, *21*, 8–25.
18. Schild, M.; Eichner, G.; Beiter, T.; Zügel, M.; Krumholz-Wagner, I.; Hudemann, J.; Pilat, C.; Krüger, K.; Niess, A.M.; Steinacker, J.M.; et al. Effects of Acute Endurance Exercise on Plasma Protein Profiles of Endurance-Trained and Untrained Individuals over Time. *Mediat. Inflamm.* **2016**, *2016*, 1–11. [[CrossRef](#)]
19. Schneiden, C.; Wiewelhove, T.; McLaren, S.J.; Röleke, L.; Käsbaauer, H.; Hecksteden, A.; Kellmann, M.; Pfeiffer, M.; Ferrauti, A. Monitoring training and recovery responses with heart rate measures during standardized warm-up in elite badminton players. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0244412. [[CrossRef](#)]
20. Kellmann, M.; Kölling, S.; Hitzschke, B. *Das Akutmaß und die Kurzskala zur Erfassung von Erholung und Beanspruchung im Sport: Manual. 1*; Sportverlag Strauß: Hellenthal, Germany, 2016; ISBN 978-3-86884-538-9.
21. Brancaccio, P.; Maffulli, N.; Limongelli, F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* **2007**, *81–82*, 209–230. [[CrossRef](#)]
22. Nieman, D.; Groen, A.; Pugachev, A.; Vacca, G. Detection of Functional Overreaching in Endurance Athletes Using Proteomics. *Proteomes* **2018**, *6*, 33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Ferris, L.T.; Williams, J.S.; Shen, C.-L. The effect of acute exercise on serum brain-derived neurotrophic factor levels and cognitive function. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2007**, *39*, 728–734. [[CrossRef](#)]
24. Deminice, R.; Sicchieri, T.; Payão, P.O.; Jordão, A.A. Blood and Salivary Oxidative Stress Biomarkers Following an Acute Session of Resistance Exercise in Humans. *Int. J. Sports Med.* **2010**, *31*, 599–603. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Kabasakalis, A.; Nikolaidis, S.; Tsalis, G.; Mougios, V. Response of Blood Biomarkers to Sprint Interval Swimming. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2020**, *15*, 1442–1447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Petersen, A.M.W.; Pedersen, B.K. The anti-inflammatory effect of exercise. *J. Appl. Physiol.* **2005**, *98*, 1154–1162. [[CrossRef](#)]
27. Sugama, K.; Suzuki, K.; Yoshitani, K.; Shiraishi, K.; Kometani, T. IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. *Exerc. Immunol. Rev.* **2012**, *18*, 116–127.
28. Kakani, M.W.; Peake, J.; Brenu, E.W.; Simmonds, M.; Gray, B.; Marshall-Gradisnik, S.M. T helper cell cytokine profiles after endurance exercise. *J. Interferon Cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interferon Cytokine Res.* **2014**, *34*, 699–706. [[CrossRef](#)]
29. Kostrzewa-Nowak, D.; Nowak, R. T helper cell-related changes in peripheral blood induced by progressive effort among soccer players. *PLoS ONE* **2020**, *15*, e0227993. [[CrossRef](#)]
30. Maddur, M.S.; Miossec, P.; Kaveri, S.V.; Bayry, J. Th17 cells: Biology, pathogenesis of autoimmune and inflammatory diseases, and therapeutic strategies. *Am. J. Pathol.* **2012**, *181*, 8–18. [[CrossRef](#)]
31. Ispirlidis, I.; Fatouros, I.G.; Jamurtas, A.Z.; Nikolaidis, M.G.; Michailidis, I.; Douroudos, I.; Margonis, K.; Chatzinikolaou, A.; Kalistratos, E.; Katrabasas, I.; et al. Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. *Clin. J. Sport Med. Off. J. Can. Acad. Sport Med.* **2008**, *18*, 423–431. [[CrossRef](#)]
32. Mooren, F.C.; Lechtermann, A.; Fobker, M.; Brandt, B.; Sorg, C.; Völker, K.; Nacken, W. The response of the novel pro-inflammatory molecules S100A8/A9 to exercise. *Int. J. Sports Med.* **2006**, *27*, 751–758. [[CrossRef](#)]
33. Souglis, A.; Bogdanis, G.C.; Giannopoulou, I.; Papadopoulos, C.; Apostolidis, N. Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Res. Sports Med. Print* **2015**, *23*, 59–72. [[CrossRef](#)]
34. Faude, O.; Meyer, T.; Rosenberger, F.; Fries, M.; Huber, G.; Kindermann, W. Physiological characteristics of badminton match play. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2007**, *100*, 479–485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Abdullahi, Y.; Coetzee, B.; van den Berg, L. Relationships Between Results of an Internal and External Match Load Determining Method in Male, Singles Badminton Players. *J. Strength Cond. Res.* **2019**, *33*, 1111–1118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Meyer, T.F.; Faude, O.; aus der Fünften, K. *Sportmedizin im Fußball: Erkenntnisse aus dem Profifußball für alle Leistungsklassen*; Meyer & Meyer: Aachen, Germany, 2014; ISBN 978-3-89899-791-1.

37. Hoekstra, S.P.; Westerman, M.N.; Beke, F.; Bishop, N.C.; Leicht, C.A. Modality-specific training adaptations—Do they lead to a dampened acute inflammatory response to exercise? *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* **2019**, *44*, 965–972. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Wiewelhoeve, 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*, e0139801. [[CrossRef](#)]
39. Niemelä, M.; Kangastupa, P.; Niemelä, O.; Bloigu, R.; Juvonen, T. Acute Changes in Inflammatory Biomarker Levels in Recreational Runners Participating in a Marathon or Half-Marathon. *Sports Med. Open* **2016**, *2*, 21. [[CrossRef](#)]
40. Peake, J.; Peiffer, J.J.; Abbiss, C.R.; Nosaka, K.; Okutsu, M.; Laursen, P.B.; Suzuki, K. Body temperature and its effect on leukocyte mobilization, cytokines and markers of neutrophil activation during and after exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2008**, *102*, 391–401. [[CrossRef](#)]
41. Peake, J.; Peiffer, J.J.; Abbiss, C.R.; Nosaka, K.; Laursen, P.B.; Suzuki, K. Carbohydrate gel ingestion and immunoendocrine responses to cycling in temperate and hot conditions. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2008**, *18*, 229–246. [[CrossRef](#)]
42. Pedersen, B.K.; Pedersen, M.; Krabbe, K.S.; Bruunsgaard, H.; Matthews, V.B.; Febbraio, M.A. Role of exercise-induced brain-derived neurotrophic factor production in the regulation of energy homeostasis in mammals: Brain-derived neurotrophic factor in metabolism. *Exp. Physiol.* **2009**, *94*, 1153–1160. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Gomez-Pinilla, F.; Vaynman, S.; Ying, Z. Brain-derived neurotrophic factor functions as a metabotrophin to mediate the effects of exercise on cognition. *Eur. J. Neurosci.* **2008**, *28*, 2278–2287. [[CrossRef](#)]
44. Nofuji, Y.; Suwa, M.; Sasaki, H.; Ichimiya, A.; Nishichi, R.; Kumagai, S. Different circulating brain-derived neurotrophic factor responses to acute exercise between physically active and sedentary subjects. *J. Sports Sci. Med.* **2012**, *11*, 83–88.
45. Tonoli, C.; Heyman, E.; Buyse, L.; Roelands, B.; Piacentini, M.F.; Bailey, S.; Pattyn, N.; Berthoin, S.; Meeusen, R. Neurotrophins and cognitive functions in T1D compared with healthy controls: Effects of a high-intensity exercise. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* **2015**, *40*, 20–27. [[CrossRef](#)]
46. Zoladz, J.A.; Pilc, A.; Majerczak, J.; Grandys, M.; Zapart-Bukowska, J.; Duda, K. Endurance training increases plasma brain-derived neurotrophic factor concentration in young healthy men. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* **2008**, *59* (Suppl. 7), 119–132.
47. Dinoff, A.; Herrmann, N.; Swardfager, W.; Liu, C.S.; Sherman, C.; Chan, S.; Lanctôt, K.L. The Effect of Exercise Training on Resting Concentrations of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): A Meta-Analysis. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0163037. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Wagner, G.; Herbsleb, M.; de la Cruz, F.; Schumann, A.; Brünner, F.; Schachtzabel, C.; Gussew, A.; Puta, C.; Smesny, S.; Gabriel, H.W.; et al. Hippocampal structure, metabolism, and inflammatory response after a 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults: A controlled trial. *J. Cereb. Blood Flow Metab. Off. J. Int. Soc. Cereb. Blood Flow Metab.* **2015**, *35*, 1570–1578. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Currie, J.; Ramsbottom, R.; Ludlow, H.; Nevill, A.; Gilder, M. Cardio-respiratory fitness, habitual physical activity and serum brain derived neurotrophic factor (BDNF) in men and women. *Neurosci. Lett.* **2009**, *451*, 152–155. [[CrossRef](#)]
50. Beier, M.; Bombardier, C.H.; Hartoonian, N.; Motl, R.W.; Kraft, G.H. Improved physical fitness correlates with improved cognition in multiple sclerosis. *Arch. Phys. Med. Rehabil.* **2014**, *95*, 1328–1334. [[CrossRef](#)]
51. Petersen, A.M.W.; Pedersen, B.K. The role of IL-6 in mediating the anti-inflammatory effects of exercise. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* **2006**, *57* (Suppl. 10), 43–51.
52. Sugama, K.; Suzuki, K.; Yoshitani, K.; Shiraishi, K.; Kometani, T. Urinary excretion of cytokines versus their plasma levels after endurance exercise. *Exerc. Immunol. Rev.* **2013**, *19*, 29–48.
53. Barros, E.S.; Nascimento, D.C.; Prestes, J.; Nóbrega, O.T.; Córdova, C.; Sousa, F.; Boullosa, D.A. Acute and Chronic Effects of Endurance Running on Inflammatory Markers: A Systematic Review. *Front. Physiol.* **2017**, *8*, 779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

9 Gesamtdiskussion

Um dem Konzept der Dissertation ein Fundament zu geben, und die Wissenschaftslücke der Evaluation sowie der Identifikation von etablierten, als auch innovativen (psycho-)physiologischen Parametern für ein Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport mit fundierten Aussagen von begutachteten Veröffentlichungen zu schließen, werden aus den Ergebnissen die relevantesten Wissenschaftserkenntnisse diskutiert. Dabei ist es in den Publikationen der Dissertation gelungen, belastungssensitive sowie reliable (psycho-)physiologische Parameter als Marker für akute und chronische Belastungen sowie Erholungsprozesse zu analysieren. Des Weiteren konnten Zusammenhänge zwischen blutbasierten Markern und funktionellen Parametern sowie vegetativen Funktionen aufgedeckt werden. Zudem zeigten sich unter anderem bei den neurophysiologischen Markern geschlechtsspezifische Regulationen sowie eine Beziehung zum Trainingszustand der Probanden/-innen. Weitere innovative belastungssensitive Biomarker konnten in einem Mikrozyklus im Trainingsbetrieb bei Probanden zweier Spielsportarten aufgezeigt werden.

9.1 Evaluation (psycho-)physiologischer Parameter nach akuten Trainingsbelastungen

Um (psycho-)physiologische Parameter für diagnostische Zwecke im Belastungs- und Erholungsmanagement im Sport nutzbar zu machen, müssen diese zunächst auf ihre Reliabilität und Belastungssensitivität nach sportlichen Belastungen geprüft werden. Aus den ersten beiden Publikationen konnte für den Biomarker TBARS die höchste Reliabilität, gefolgt von LDH und IL-1RA, mit jeweils entsprechender Belastungssensitivität festgestellt werden (Reichel et al., 2020; Reichel et al., 2022). Eine ähnliche Belastungs-Erholungskurve, die physiologisch einen erhöhten oxidativen Stress mit folglich gesteigerter Lipidperoxidation nach akuten Ausdauerbelastungen widerspiegelt, wurde in einer Studie von Krüger et al. (2016) sowie Mohr et al. (2016) gezeigt (Krüger et al., 2016; Mohr et al., 2016). Die beobachteten Korrelationen zwischen TBARS und der isometrischen Maximalkraft (Knieflexion und Knieextension) beweisen einen Zusammenhang zwischen dem Niveau des oxidativen Stresses und den Ermüdungserscheinungen der Muskelkraft (Meyer et al., 2013; Kellmann et al., 2018). Weiterhin zeigen beide Parameter die höchsten Reliabilitäten, zum einen als blutbasierter Marker, zum anderen als sportmotorische Messgröße und schließen auf eine gegenseitige Robustheit als quantitative diagnostische Parameter, die einen Belastungs- und Erholungsverlauf in Ausdauersportarten widerspiegeln. Eine Studie von Steinberg & Yves Jammes (2006) bestätigt die Robustheit der TBARS gegen Fehlerindikatoren nach akuten Belastungen unterschiedlicher methodischer Settings (Steinberg et al., 2006). Neben der Nutzung der TBARS als Biomarker in Ausdauersportarten zeigte auch eine Studie einen Konzentrationsanstieg nach Trainingseinheiten der Spielsportart Handball (Marin et al., 2013). Demnach kann davon ausgegangen werden, dass TBARS neben einer guten Reliabilität, unabhängig der Belastungsart, belastungssensitive

Konzentrationsanpassungen darstellt und als konstant stabiler Biomarker im Belastungs- und Erholungsmanagement nutzbar ist. LDH und IL-1RA ergänzen mit einer ebenfalls guten Reliabilität sowie belastungssensitiven Konzentrationsanpassungen das Biomarkerpanel (Reichel et al., 2020). LDH stellt mit einem Konzentrationspeak im Blut unmittelbar nach der Akutbelastung eine ähnliche Kinetik wie bei den TBARS im Zeitverlauf dar. Eine solch ähnliche Kinetik im Belastungs-/ Erholungsverlauf beider Biomarker konnte auch in einer Studie nach einem hochintensiven Laufbandtraining (Pal et al., 2018) sowie einer 60-minütigen submaximalen Ausdauerbelastung festgestellt werden (Hong et al., 2008). LDH spielt eine wichtige Rolle im anaeroben Energiestoffwechsel und ist in ihrer Expression stark abhängig von Umfang und Intensität der Belastung (Banfi et al., 2011). Aufgrund der gleichbleibenden Belastungssteuerung (Umfang und Intensität) der Ausdauerbelastung zu beiden Testtagen der Studie von Reichel et al. (2020), kann die vielversprechende Reliabilität von LDH höchstwahrscheinlich darauf zurückzuführen sein (Reichel et al., 2020). Unter den Zytokinen zeigte IL-1RA die höchste Reliabilität und stimmt in ihrer Belastungssensitivität, die einen Spitzenwert im Blut eineinhalb bis drei Stunden nach der Akutbelastung und einen Rückgang auf den Ausgangswert 24 Stunden nach dem Laufbandtraining, mit anderen Studien überein (Scott et al., 2013). Interessanterweise konnte auch für diesen Marker ein Zusammenhang zur isometrischen Maximalkraft in den Absolutwerten der Nachbelastungskonzentrationen sowie zu den Konzentrationsanstiegen zwischen Vor- und Nachbelastung nachgewiesen werden (Reichel et al., 2020). Dieses innovative Ergebnis schließt, wie auch bei dem Biomarker TBARS, auf einen Zusammenhang zur muskulären Ermüdung. Ein weiterer Zusammenhang konnte zwischen IL-1RA und der subjektiven Schmerzwahrnehmung festgestellt werden (Reichel et al., 2022). Solche Parallelen sind im nozizeptiven System verwurzelt und können auf die Auslösung von Entzündungspfaden mehrerer Signalkaskaden, die zur Freisetzung von entzündlichen Zytokinen führen, durch mechanische oder chemische Reize, zurückzuführen sein (Ronchetti et al., 2017). Dennoch kann für alle gemessenen subjektiven Parameter der Studie nur eine moderate Reliabilität evaluiert werden (Reichel et al., 2020; Reichel et al., 2022). Solch eine Erkenntnis wird auch bei Fragebögen im Kontext zur körperlichen Aktivität bestätigt (Gao et al., 2022). Es ist wichtig, subjektive Parameter zu erheben, um die empfundene Belastung und Erholung aus der Sicht des Sportlers zu betrachten. Des Weiteren ist es, besonders für Trainer leichter, damit den (psycho-)physiologischen Zustand in Zeiten intensiven Trainings oder unzureichender Leistungen des Sportlers parallel zu anderen (psycho-)physiologischen Parametern zu überwachen (Twist and Highton, 2013). Ein von Trainern/-innen geäußertes Problem ist jedoch die Subjektivität und damit die Möglichkeit, dass Sportler/-innen ihre Antworten manipulieren, um ein günstiges Ergebnis zu erzielen (Nédélec et al., 2012). Ein alternativ kürzerer Fragebogen wäre zwar zeitsparender und wenig anfällig für subjektive Manipulationen (McLean et al., 2010), jedoch sollte man sich dann über die geringere

Sensitivität bei der Quantifizierung der ermüdenden Belastung im Klaren sein (Robson-Ansley et al., 2009). Schlussfolgernd ist es empfehlenswert, subjektive Messgrößen, wie auch der MDMQ oder den Well-being questionnaire (Roe et al., 2016), nur in Kombination mit weiteren (psycho-)physiologischen Parametern im Kontext der quantitativen Messung von akuter Belastung und Erholung im Sport zu nutzen.

Weitere blutbasierte Marker, die in den vorgestellten Publikationen durch ihre Belastungssensitivität nach akuten Belastungen auf sich aufmerksam machten, jedoch in ihrer Reliabilität als moderat einzustufen sind, sind IL-6, IL-8 sowie CK (Reichel et al., 2020). Bereits aus vergangenen Studien ist klar, dass diese Marker auf eine sportliche Belastung mit einem Konzentrationsanstieg im Blut reagieren (Catoire and Kersten, 2015; Lee et al., 2017). Hervorzuheben ist bei diesen Markern der Zusammenhang zu anderen reliablen (psycho-)physiologischen Parametern. Zwar wurde bei CK nur eine moderat - gute Reliabilität festgestellt, wie es auch eine andere Studie in einem anderen Setting bestätigt (Roe et al., 2016), jedoch konnte ein Zusammenhang zur isometrischen Maximalkraft im gesamten Belastungs-/ Erholungsverlauf, sprich über alle Messzeitpunkte, gezeigt werden (Reichel et al., 2020). CK wird in der Sportwissenschaft häufig als indirekter Muskelschadenmarker verwendet (Mougios, 2007). Es wird angenommen, dass die mechanische Belastung des Muskels zu einer Schädigung der Membran führt, wodurch das CK-Molekül die Zelle verlässt und in den Blutkreislauf gelangen kann (Lieber and Fridén, 1999). Dies veranlasst uns, die These zu setzen, dass die Freisetzung von CK eine Vorhersage des Ausmaßes der durch die Muskelschädigung verursachten Beeinträchtigung der Muskelfunktion bedeutet. Eine Studie von Easthope et al. (2010) bestätigt anhand des gleichen Belastungs- und Erholungsverlaufs beider Parameter diese These (Easthope et al., 2010). Weiterhin spiegeln die Ergebnisse der ersten beiden Publikationen zwar nur eine moderate Reliabilität für IL-6, wie es auch eine Belastungsstudie von Guy et al. (2017) mit einem 19%-igen Variationskoeffizient bestätigt, jedoch konnte ein Zusammenhang zu einem HRV-Parameter (Standardabweichung der Punktabstände zum Längsdurchmesser im Pointcare-Plot der aufeinanderfolgenden RR-Differenzen = SD2), gefunden werden (Guy et al., 2017; Reichel et al., 2022). SD2 wird charakterisiert als Parameter der die Aktivität des sympathischen Nervensystems widerspiegelt (Albarado-Ibañez et al., 2019). Wissenschaftlich konnte jedoch noch kein Zusammenhang zu inflammatorischen Markern gefunden werden. Jedoch können wir aufgrund der Parallelen zu einem weiteren sympathogenen Parameter, Low-Frequency (LF) (Shaffer and Ginsberg, 2017), der als solcher bereits forschungsbasiert einen negativen Zusammenhang zu IL-6 schließt, eine indirekte Vermutung aufstellen, dass der IL-6-Plasmaspiegel unter tonisch vagaler Kontrolle stehen könnte (von Känel et al., 2008; Cooper et al., 2015). Ein weiterer interessanter Zusammenhang, speziell bei Männern, zwischen den moderat reliablen HRV-Parametern, PNN50 (Anteil der aufeinanderfolgenden Herzschlag-Intervalle, die um mehr als 50 Millisekunden voneinander abweichen) sowie Very Low Frequency (VLF), zum

inflammatorischen Marker, IL-8, stützt dieses Netzwerk (Badke et al., 2022; Reichel et al., 2022). Jetzt stellt sich allerdings die Frage, warum genau nur bei Männern ein Zusammenhang festgestellt wurde. In einer weiteren HRV-Analyse zeigte sich ein geschlechtsspezifischer Unterschied im frequenzbasierten Low-Frequency/High-Frequency-Verhältnis (LF-/HF-ratio) drei Stunden nach der Belastung. Diese Ergebnisse könnten die erhöhte kardiale Sympathikusaktivität und das erhöhte sympathovagale Gleichgewicht nach dem Training bei Männern im Vergleich zu Frauen widerspiegeln (Koenig and Thayer, 2016; Boos et al., 2017). Die Vermutung liegt nahe, dass dies auch der Grund für den Zusammenhang von IL-8 und VLF sowie PNN50 alleinig bei Männern ist. Während für den HRV-Parameter, durchschnittliche RR-Differenzen (ARR), eine gute Reliabilität gefunden wurde, konnten alle weiteren HRV-Parameter lediglich mit einer moderaten Reliabilität, im Setting der ersten beiden Studien, erfasst werden. Somit kommt man bei den HRV-Parametern zu dem Fazit, dass diese als belastungssensitive (psycho-)physiologische Parameter für die autonome Funktion bei körperlicher Anstrengung, besonders bei der individuellen Bewertung, nutzbar sind, jedoch eine vollständige Forschung der Evidenz noch aussteht (Harper et al., 2022).

Die breite Auswahl der bereits vorgestellten (psycho-)physiologischen Parameter wird durch eine Mehrzahl an guten sowie exzellenten reliablen labormedizinischen Messgrößen, den etablierten hämatologischen Parametern, ergänzt. Alle hämatologischen Parameter reagieren unmittelbar nach einer akuten Ausdauerbelastung mit einem Konzentrationspeak im Blut (Reichel et al., 2020). Dies ist wissenschaftlich bereits bekannt und in einigen Belastungsstudien nachgewiesen (Wardyn et al., 2008; Alhowikan and Al-Hazzaa, 2022). Erste Hinweise auf Reliabilitäten der Parameter wurden bereits anhand eines hämatologischen Passes im Ausdauersport evaluiert (Malcovati et al., 2003). Hierbei wurde versucht, individuelle Referenzbereiche zu definieren, die zwischen physiologischen und anormalen Konzentrationswerten unterscheiden können. Primär dient solch ein hämatologisches Modul eines biologischen Athletenpasses jedoch als Instrument zur Dopingbekämpfung und weniger als diagnostisches Tool zur Quantifizierung von Belastung und Erholung (Krumm and Faiss, 2021). In der Studie von Reichel et al. (2020) zeigten dagegen das mittlere korpuskuläre Volumen (MCV) eine exzellente, die Blutplättchen (PLT), das Hämoglobin (HGB), die Erythrozyten (RBC), das Hämatokrit (HCT) sowie die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC) eine gute Reliabilität im Belastungs- und Erholungsverlauf nach akuten Ausdauerbelastungen (Reichel et al., 2020). Somit stellen diese Ergebnisse erstmalig die Robustheit einer Vielzahl an hämatologischen Parametern unter praxisnahen Bedingungen dar. Es ist denkbar, dass die methodischen Analysen dieser Parameter gegenüber anderen biochemischen Markern eine höhere Stabilität aufweisen. Es wird angenommen, dass die unmittelbare Verarbeitung nach der Blutentnahme und das Auslassen von Zentrifugations- oder Einfrierverfahren eine Wirkung auf die höhere Zuverlässigkeit hat (Huang et al., 2017).

Die hämatologischen Parameter des Blutbildes tragen neben den biochemischen Markern und nicht-invasiven HRV-Parametern, in der modernen Konzeption des Leistungssportes mit neuesten Technologien immer mehr zur Überwachung der analytischen Prozesse auf Bewegung bei (Düking et al., 2016; Menaspà and Abbiss, 2017). Es wird deutlich, dass der Einsatz vegetativer, psychometrischer, subjektiver, biochemischer und hämatologischer Screening-Tests zur (psycho-)physiologischen Bewertung bei Sporttreibenden auf Amateur-, Leistungs- und Eliteniveau von Bedeutung und wachsendem Interesse ist (Donohue et al., 2004; Lippi et al., 2012; Lombardo et al., 2019). Eine solche kombinierte Nutzung von einer breiten Auswahl an subjektiven und objektiven (psycho-)physiologischen Parametern zur Quantifizierung eines Belastungs- und Erholungsverlaufes nach akuten Ausdauerbelastungen bildet nun die Möglichkeit, auf verlässliche Art und Weise ein ganzheitliches Bild zum Zustand von Sportlern/-innen zu erhalten. Dabei besteht vor allem nun die Möglichkeit, im sportpraktischen Sinne mit präventiven Maßnahmen gegen ein Übertraining, Verletzungsrisiko oder ein Auslassen von physiologischen Adaptionen vorzugehen. Weiterhin können auch aufgrund der breiten Parameterauswahl Einflussfaktoren, wie Trainingsstatus oder Geschlecht, berücksichtigt werden, was teils für die Beurteilung der diagnostischen Ergebnisse von hoher Relevanz ist (Palacios et al., 2015; Lee et al., 2017). Insbesondere lässt sich nun aber festhalten, dass die zukünftige Nutzung einer Vielzahl der vorliegenden (psycho-)physiologischen Parameter in sportwissenschaftlichen Interventions- oder weiteren Forschungsstudien sowie sportpraktischen Belastungs- und Erholungsdiagnostiken auf Grundlage der hier festgestellten Erkenntnisse gewährleistet ist. In der folgenden Tabelle sind die reliabelsten und belastungssensitivsten (psycho-)physiologischen Parameter und deren Zusammenhänge zusammenfassend gelistet:

Tabelle 1. Zusammenfassende Darstellung der reliabelsten und belastungssensitivsten (psycho-)physiologischen Parameter sowie deren Zusammenhänge aus Reichel et al. (2020) sowie Reichel et al. (2022).

| (Psycho-)physiologische Parameter | Belastungssensitivität nach Akutbelastung | Reliabilität im Belastungs-/Erholungsverlauf | Zusammenhänge zu Einflussfaktoren/anderen Parametern | |
|---|---|--|--|------|
| <i>Biochemische Parameter</i> | | | | |
| TBARS | Direkt nach | gut | MVC Knieflexion/-extension | |
| LDH | Direkt nach | moderat - gut | MVC Knieflexion/-extension/ SF-MPQ | |
| IL-1RA | 3 Std. nach | moderat - gut | | |
| CK | 24 Std. nach | moderat - gut | MVC Knieflexion/-extension | |
| IL-8 | Direkt nach | moderat | HRV (VLF) - Männer | |
| IL-6 | Direkt nach | moderat | HRV (SD2) | |
| <i>Muskelkraftparameter</i> | | | | |
| MVC Knieflexion | Direkt nach | exzellent | TBARS/ CK | |
| MVC Knieextension | Direkt nach | exzellent | TBARS/ CK | |
| <i>Subjektive Fragebögen</i> | | | | |
| MDMQ | Direkt nach | moderat - gut | IL-1RA | |
| SF-MPQ | Direkt nach | moderat | | |
| <i>Parameter vegetativer Funktionen</i> | | | | |
| HRV (ARR) | Direkt nach | moderat - gut | Geschlechtsspezifisch | |
| HRV (LF) | Direkt nach | moderat | | |
| HRV (LF/HF) | Direkt nach | moderat | | |
| HRV (VLF) | Direkt nach | moderat | | IL-8 |
| HRV (SD2) | Direkt nach | moderat | | IL-6 |
| <i>Hämatologische Parameter</i> | | | | |
| MCV | Direkt nach | exzellent | | |
| HGB | Direkt nach | gut | | |
| PLT | Direkt nach | gut | | |
| RBC | Direkt nach | gut | | |
| HCT | Direkt nach | gut | | |
| MCHC | Direkt nach | gut | | |

Hinweis: Bewertung der Reliabilität nach (Koo and Li, 2016).

9.2 Methodendiskussion von Reichel et al. (2020) und Reichel et al. (2022) – Potenziale und Limitationen

Methodisch gesehen, lassen sich einige elementare Aspekte der Publikationen diskutieren. In den Voruntersuchungen sowie zur Belastungssteuerung der Probanden an beiden Testtagen wurden Laktatergebnisse, die in einem Feldtest gemessen wurden, hinzugezogen. Ebenfalls wurden die Probanden gemäß den Richtlinien des American College of Sports für Belastungstests und -verordnungen anhand ihrer Ausdauerleistungsfähigkeit nach dem Laktatleistungstest in Untergruppen

von Trainierten sowie Untrainierten unterteilt (Riebe et al., 2018). Dies entspricht zwar nicht dem Goldstandard, nämlich der Nutzung der maximalen Sauerstoffaufnahme ($VO_2\max$) zur Kontrolle der Trainingsintensität, dennoch kann darin ein größerer Nutzen für die Übertragbarkeit in der Sportpraxis gesehen werden. Zur Gewährleistung eines robusten Test-Retest-Studiendesigns mit dem Ziel der Reliabilitätsprüfung von (psycho-)physiologischen Parametern wurden standardisierte Bedingungen an beiden Testtagen geschaffen. Solche Bedingungen können mögliche Fehlerquellen sowie externe Einflussfaktoren eliminieren und das Wesentliche einer solchen Reliabilitätsstudie in den Fokus stellen. Harper et al. (2016) nutzten ebenfalls standardisierte Bedingungen, um physiologische- und Leistungsdeterminanten nach einem Fußballspiel auf Reliabilität zu prüfen (Harper et al., 2016). Die standardisierten Bedingungen der hier vorgestellten Studien sind der folgenden Tabelle 2 zu entnehmen:

Tabelle 2. Veranlasste standardisierte Bedingungen zur Evaluation der Test-Retest-Reliabilität (psycho-)physiologischer Parameter

| Standardisierte Bedingungen zu beiden Testtagen |
|--|
| Kein Alkohol 24 Stunden vor einem Testtag |
| 4 Tage vor einem Testtag keine/regenerative Trainingseinheiten (Sport- und Bewegungsanamnese) |
| Abfrage des Menstruationszyklus bei Frauen (beide Testtage in der gleichen Menstruationsphase) |
| Gleiche Laufzeit mit identischer Herzfrequenz zu beiden Laufbelastungen |
| Beginn der Untersuchungen bzw. der Laufbelastung zur gleichen Tageszeit |
| Identische Reihenfolge der Testbatterie zu beiden Testtagen |
| Gleiche Untersucher zur Begleitung der Testbatterie |
| Ernährungsanamnese/ -protokoll zur Gewährleistung identischer Stoffwechselforaussetzungen |
| Identische Trinkmenge bei allen Probanden im Zeitraum von 3 Stunden nach der Belastung |

Insbesondere ist die Abfrage des Menstruationszyklus bei Frauen von hoher Relevanz, da bereits Studien einen unterschiedlichen Einfluss der entsprechenden Menstruationsphasen auf die Leistungsfähigkeit bei Laufleistungen nachweisen konnten (Bandyopadhyay and Dalui, 2012; Pereira et al., 2020). Aber auch Alkohol oder das Ernährungs- und Trinkverhalten sind nachgewiesene physiologische Einflussfaktoren im Sport (Nédélec et al., 2015; Palmowski et al., 2019).

Schließlich müssen einige wichtige Limitationen berücksichtigt werden. So ist es grundsätzlich eine Herausforderung bei der Analyse von Blutproben, dass Ergebnisse aufgrund ihrer äußerst komplexen Analysen meist nur retrospektiv zu beurteilen sind (Pedlar et al., 2019). Ergänzend dazu wirken sich mehrmalige Einfrier- und Auftauvorgänge von Blutproben für entsprechende Messanalysen von biochemischen Parameter negativ auf die Konstanz der Messgenauigkeit aus (Huang et al., 2017). Dies kann auch nicht durch eine sensible Beachtung ausgewählter analytischer Sensitivitäten der genutzten

ELISA Kits verhindert werden. Solche Einfrier- und Auftauvorgänge lagen bei vereinzelt Biomarkeranalysen dieser Studie vor und sollten in zukünftigen Reliabilitätsstudien vermieden werden.

Statistisch gesehen, wurden die Reliabilitäten der (psycho-)physiologischen Parameter im Belastungs- und Erholungsverlauf gemessen. Dies bedeutet aufgrund der vier vorliegenden Messzeitpunkte (vor, direkt nach, 3 Stunden nach und 24 Stunden nach der Belastung) eine zusammenführende Reliabilität (Mittelwert) aus vier einzeln zu betrachtenden Reliabilitäten. Jedoch kann dieser statistische Vorgang kontrovers diskutiert werden. Rein hypothetisch, kann dies ein Grund dafür sein, dass Reliabilitäten mancher Parameter, die möglicherweise zu bestimmten Absolutwerten wesentlich höher wären, im gesamten Belastungs-/ Erholungsverlauf einen geringeren ICC aufweisen. Grund für solche Abweichungen in den Reliabilitäten zu den unterschiedlichen Messzeitpunkten sind bereits individuelle Variabilitäten im Vorbelastungswert oder unterschiedliche „Responder-Typen“ in den Nachbelastungswerten (Hecksteden et al., 2015; Mattioni Maturana et al., 2021). Dies sollte in zukünftigen Studien beachtet und individuell bzw. anhand einer Cluster-Analyse ausgewertet werden.

9.3 Evaluation von Biomarkern nach chronischen Trainingsbelastungen

Intensive und kontinuierliche Trainingsbelastungen können Veränderungen in Biomarkerkonzentrationen hervorrufen. Solche chronischen Belastungen, die über mehrere Tage oder Wochen andauern (Dhabhar and McEwen, 1997), können ein erhöhtes Risiko einer Überbelastung und in der Folge zu einer Verminderung von Anpassungsprozessen führen (Soligard et al., 2016). Es besteht daher ein hoher Bedarf, die internalen Trainingsbelastungen solcher Belastungszyklen zu überwachen, um weitere Trainingsprozesse besser quantifizierbar zu machen und ein ausgewogenes Belastungs- und Erholungsmanagement in habituellen Trainingszyklen abzustimmen. In einer praxisnahen Studie von Hacker et al. (2021), die als weiterführende Publikation der zwei vorherig diskutierten Publikationen gilt, wurden solche Belastungszyklen bei Sportlern zweier unterschiedlicher Sportarten (Badminton, Fußball) mit Hilfe von etablierten sowie innovativen Biomarkern analysiert (Hacker et al., 2021). Grundsätzlich muss erwähnt werden, dass es bisher zahlreiche Studien gibt, die molekulare Biomarkerexpressionen nach akuten Belastungen auswerten (Deminice et al., 2010; Kabasakalis et al., 2020; Reichel et al., 2020). Dies sollte bei der Interpretation der Daten berücksichtigt werden und könnte ein Grund dafür sein, dass die Belastungsantwort anders als nach Akutbelastungen ausfällt. Somit wurden zum Teil Biomarker der Studie von Reichel et al. (2020) gewählt, aber auch weitere innovative Blutmarker aus Vorstudien (Schild et al., 2016; Nieman et al., 2018; Reichel et al., 2020).

Die Ergebnisse von Hacker et al. (2021) belegen, dass bei den Blutkonzentrationen von IL-17A, IL-6 und CK bei Sportlern Unterschiede zwischen einem erholteten Ruhezustand und nach chronischen Trainingszyklen zu erkennen sind (Hacker et al., 2021). Interessant ist die Belastungsreaktion von IL-

IL-17A, die als innovatives Erkenntnis anzunehmen ist. IL-17A wird von den Th17-Zellen produziert und durch entzündungsfördernde Mediatoren, wie das IL-1 β und IL-6 induziert (Sugama et al., 2012). Es gibt bisher nur wenige, bzw. sehr kontroverse Erkenntnisse im Zusammenhang mit Sport. Die Studie von Reichel et al. (2020) konnte nach einer akuten Belastung keine Erkenntnisse über eine Belastungssensitivität (direkt nach, drei Stunden nach und 24 Stunden nach Belastung) feststellen (Reichel et al., 2020). Eine andere Studie belegt einen Konzentrationsanstieg acht Stunden nach einer ausdauerorientierten Akutbelastung und einem wiederkehrenden Abfall der Blutkonzentration nach 24 Stunden (Kakanis et al., 2014). Es ist somit zu vermuten, dass IL-17A ein spezifisches Expressionsmuster mit einer verzögerten immunologischen Reaktion aufweist und dies womöglich in der Studie von Reichel et al. (2020) aufgrund der anders gewählten Blutentnahmezeitpunkte nicht nachzuweisen war. Dieser verzögerte Konzentrationsanstieg konnte auch für IL-17 nachgewiesen werden, wo nach einem Duathlon nur ein aufsteigender Konzentrationstrend zu erkennen war (Sugama et al., 2012). Beide Biomarker werden von den Th17-Zellen produziert, die nach einer Belastung erst verzögert in der Signalkaskade von IL-6 induziert werden. Weiterhin konnte in der sportartspezifischen Analyse insbesondere für Badmintonspieler ein Konzentrationsanstieg von IL-17A nach einem habituellen Trainingszyklus festgestellt werden (Hacker et al., 2021). Dabei scheint eine erhöhte IL-17A-Freisetzung das physiologische Resultat einer intermittierenden Schnellkraftbelastung von Badmintonspielern zu sein. Kostrzewa-Nowak et al. (2021) widerlegen jedoch diese Vermutung mit keinerlei Belastungssensitivitäten nach anaeroben Belastungen. Somit lässt sich schlussfolgern, dass noch weitere Studien notwendig sind, um die Hintergründe der IL-17A-Belastungssensitivität nachzuvollziehen.

Wie auch in der Publikation von Reichel et al. (2020), konnte auch in dieser Studie eine Belastungssensitivität von IL-6 nach einem Trainingszyklus festgestellt werden (Hacker et al., 2021). IL-6 wird als zentrales Signalmolekül der Akutphasereaktion beschrieben (Mooren et al., 2006). Es ist das erste Zytokin, das in der Zytokinkaskade als Reaktion auf körperliche Anstrengung freigesetzt wird (Petersen and Pedersen, 2005). Verwunderlich ist jedoch, dass IL-6 trotz der Tatsache, dass in diesem Studiendesign keine Akutbelastung gemessen wurde, am Tag nach der letzten Belastung noch erhöhte Konzentrationswerte aufweist. Dies lässt sich vermutlich mit der Belastungsart der rekrutierten Fußballer sowie Badmintonspieler begründen. Speziell bei Fußballern konnte eine Studie von Souglis et al. (2015), noch 13 Stunden nach einem Fußballspiel erhöhte IL-6 Werte nachweisen (Souglis et al., 2015). Eine solche Belastungsreaktion zeigen auch die Ergebnisse der vorgestellten Studie, die sowohl in der Gesamtheit aller Sportler, sowie speziell bei Fußballern noch am Folgetag der letzten Belastung nach einem habituellen Belastungszyklus, erhöhte Konzentrationen im Blut aufwies. IL-6 ist sehr stark abhängig von der Belastungsintensität (Pedersen et al., 2001) und noch vielmehr bei Fußballern von der hohen Belastungsintensität bei umfangreich zurückgelegter Distanz (Bradley et al., 2011). Da

die rekrutierten Fußballer dieser Studie nicht nur eine einzige Trainingsbelastung in ihrem habituellen Belastungszyklus absolvierten, sondern einer viertägigen Anhäufung von Belastungen unterworfen waren, kann IL-6 auch als Biomarker chronischer Trainingsbelastungen genutzt werden.

Für CK konnten sowohl sportartübergreifend als auch sportartspezifisch, erhöhte Konzentrationen im Blut nach einem Belastungszyklus festgestellt werden (Hacker et al., 2021). Auch andere Studien belegen erhöhte Konzentrationen nach Belastungszyklen, bspw. in Trainingslagern (Hecksteden et al., 2016; Radzimiński et al., 2020; Wahl et al., 2021). Dieser Biomarker gilt bereits als etablierter belastungssensitiver Marker nach akuten als auch chronischen Belastungen. Es wird davon ausgegangen, dass jede Belastungsart mit einem Verlust der muskulären Integrität und der anschließenden Überschwemmung von intramuskulären Enzymen im Blut einhergeht. Hohe Beschleunigungen und Abbremsungen, wie sie typischerweise beim Badminton und Fußball vorkommen, sind hier wirksam (Schneider et al., 2020). Diese Bewegungen führen zu einer hohen mechanischen Belastung und einer exzentrischen Kraftentfaltung, die mit einer Muskelfaserschädigung einhergeht (Brancaccio et al., 2007; Ispirlidis et al., 2008). Es muss berücksichtigt werden, dass CK auch als Biomarker im Belastungs- und Erholungsmanagement kontrovers betrachtet wird. Grund dafür sind die intra- und interindividuellen Variabilitäten mit der Kategorisierung „High- und Low-Responder“ (Brancaccio et al., 2007). Des Weiteren kann es bei mehreren Trainingseinheiten vorkommen, dass die Konzentration von CK über mehrere Tage nicht auf den Ausgangswert zurückgeht (Becker et al., 2020), und damit aufgrund der CK-Ansammlungen für Sportpraktiker nur Werte von chronischen Belastungen vorliegen. Totsuka et al. (2002) konnte einen CK-Konzentrationsrückgang auf den Ausgangswert, nach drei aufeinanderfolgenden Belastungen an drei Tagen, erst nach sieben Tagen feststellen (Totsuka et al., 2002). Dies macht es für Sportler/-innen sowie für Trainer/-innen im Belastungs- und Erholungsmanagement kompliziert, einen CK-Wert zu interpretieren. Dennoch lässt sich schlussfolgern, dass CK ein belastungssensitiver Biomarker ist und chronische Trainingsbelastungen widerspiegeln kann.

Weiterhin konnte sowohl für S100A8 als auch für BDNF ein sportartspezifischer Unterschied festgestellt werden (Hacker et al., 2021). Für S100A8, wurde bei Badmintonspielern ein Konzentrationsrückgang nach einem habituellen Belastungszyklus gezeigt. Dieser unterschied sich jedoch deutlich gegenüber dem Konzentrationswert im erholten Zustand. S100A8 ist ein innovativer Marker, der im Zusammenhang mit sportlichen Belastungen in dieser Form noch nicht gemessen wurde. Bisher wurde S100A8 nur im Zusammenhang mit S100A9 als Calprotectin gemessen. Dabei wurden widersprüchliche Ergebnisse festgestellt, die einen trainingsinduzierten Muskelschaden mit einem langanhaltenden Anstieg von S100A8/A9 evaluierten (Mooren et al., 2006). Es ist zu vermuten, dass unbekannte Wechselwirkungen stattgefunden haben, die die zugrundeliegenden kinetischen

Mechanismen des trainingsinduzierten S100A8-Rückganges unterhalb des Erholungswertes begründen, die noch zu klären sind. Darüber hinaus konnte ein sportartspezifischer BDNF-Konzentrationsrückgang unterhalb des Ausgangswertes bei Fußballern beobachtet werden (Hacker et al., 2021). Bekannt ist, dass die BDNF-Konzentration unmittelbar nach einer sportlichen Akutbelastung ansteigt und spätestens drei Stunden danach wieder auf den Basalwert sinkt (Figueiredo et al., 2019; Nicolini et al., 2020; Reichel et al., 2022). Die Ergebnisse dieser Studie zeigen allerdings BDNF-Konzentrationen nach einer chronischen Anhäufung von Belastungen, nämlich nach einem Belastungszyklus mit einer Blutentnahme am nächsten Tag der letzten Belastung. Dies ist vergleichbar mit interventionellen Forschungsvorhaben. Demnach zeigte eine Studie von Wagner et al. (2015) einen Konzentrationsrückgang unterhalb des Basalwertes von BDNF nach einem 6-wöchigen aeroben Interventionsprogramm (Wagner et al., 2015). Weitere Studien belegen dies ebenfalls nach chronischen Belastungszyklen und stellen die ambivalente Belastungsreaktion von BDNF infrage. (Currie et al., 2009; Babaei et al., 2014; Damirchi et al., 2014; Figueiredo et al., 2019; Voss et al., 2019; Gaitán et al., 2021). Dies lässt darauf schließen, dass sowohl BDNF als auch S100A8 aufgrund ihrer unklaren Forschungserkenntnisse in Bezug auf die Quantifizierung von chronischen Trainingsbelastungen als Biomarker in dieser Hinsicht ungeeignet sind und weiterer Forschung bedürfen.

9.4 Methodendiskussion von Hacker et al. (2021) – Potenziale und Limitationen

Das ausgewählte Studiendesign der Studie stellte vier Blutentnahmezeitpunkte dar, bei denen sich die Probanden unter praxisnahen Bedingungen jeweils zwei Mal in einem erholten sowie belasteten Zustand befanden. Die Blutentnahmezeitpunkte wurden bewusst so gewählt, um einen sportartspezifischen habituellen Mikrozyklus darzustellen und somit eine Belastungsanhäufung zum Wochenende anhand von objektiven Biomarkern zu erheben. Eine diskutabile Limitation dieser Studie sind die nur grob im Trainingsumfang und Trainingsintensität berücksichtigten Trainingsinhalte, die nicht als Einflussfaktoren in die statistischen Analysen aufgenommen wurden. Jedoch war es auch nicht das Ziel dieser Studie, auf Einflussfaktoren bzw. Trainingsparameter einzugehen, sondern zu prüfen, ob Biomarker belastungssensitive Reaktionen in einem gewohnheitsbedingten Trainingszyklus darstellen. Damit kann auch sichergestellt werden, ob Biomarker robust gegenüber Belastungsart, -intensität sowie -umfang sind. Im Hinblick auf das Studiendesign der Studie sollten in zukünftigen praxisnahen Forschungsvorhaben Blutentnahmen über mehrere Mikrozyklen erhoben werden, um die Belastungssensitivität oder auch die Reliabilität von Biomarkern nach chronischen Trainingsbelastungen zu evaluieren (Sperlich et al., 2016). Dies wurde bisher noch vernachlässigt und könnte Aufschluss über die zukünftige Nutzung von Biomarkern zur Quantifizierung von chronischen Belastungsanhäufungen liefern. Außerdem lassen sich auch durch Mehrfachmessungen sportartspezifische oder sogar individuelle Referenzbereiche der Biomarkerkonzentrationen bilden,

was prädiktiven Wert für präventive Maßnahmen im Belastungs- und Erholungsmanagement hätte, um auch ungewöhnliche pathologische Zustände aufzudecken (Becker et al., 2020).

Für die Belastungsreaktionen der Biomarker nach chronischen Belastungszyklen, generell bei Sportler/-innen, muss berücksichtigt werden, dass in der hier vorgestellten Studie (männliche) Probanden von nur zwei spezifischen Sportarten vorgestellt wurden und die Ergebnisse somit keine Rückschlüsse auf die Grundgesamtheit aller Sportler/-innen zulässt. Zu dieser Erkenntnis gelangten bereits andere Autoren, die sportartspezifische physiologische Reaktionsmuster nach einer Belastung feststellten (Banfi et al., 2008; Hadžović-Džuvo et al., 2014). Des Weiteren ist es diskutabel, wann der richtige Blutentnahmezeitpunkt nach einer Belastung ist, um einen internal chronisch belasteten Zustand eines/r Sportlers/-in nach einem Trainingszyklus zu ermitteln. In der vorliegenden Studie wurden die Blutentnahmen jeweils am Morgen nach dem letzten Belastungstag (ca. 16 Stunden nach der letzten Belastungseinheit) evaluiert. Bei Hecksteden et al. (2016) wurden die Blutproben ebenfalls am nächsten Morgen entnommen (Hecksteden et al., 2016). Das Design der beiden Studien basiert auf disziplinspezifischen, standardisierten Trainingsinterventionen, die auf die Induktion eines ebenso standardisierten Ermüdungsgrades abzielen. Dieser experimentelle Ansatz ist für die Charakterisierung der durch Ermüdung verursachten Veränderungen der Biomarker im Blut angedacht. Es ist jedoch zu bedenken, dass ein standardisiertes Training nicht notwendigerweise eine standardisierte Ermüdung impliziert. Andernfalls wäre die Bewertung der Ermüdung überflüssig, wenn die Trainingsbelastung bekannt ist.

10 Fazit

Nachdem in der Vergangenheit bereits verschiedene (psycho-)physiologische Parameter für studienbasierte Interventionseffekte in der sportwissenschaftlichen Forschung genutzt wurden, ohne jedoch die Gewährleistung zu haben, dass deren Gütekriterien für nachhaltige Forschung erfüllt sind, beschäftigte sich diese Dissertation damit, diese Unzulänglichkeiten zu beheben. Die Dissertation liefert Erkenntnisse auf belastungssensitive sowie reliable (psycho-)physiologische Parameter, die als diagnostische Marker für akute Belastungs- sowie Erholungsprozesse und sportartspezifische Trainingszyklen kumulativer Belastungen genutzt werden können. Demnach konnten als Biomarker TBARS, LDH und IL-1RA als belastungssensitive und reliable Marker im Belastungs-/Erholungsverlauf für den Ausdauersport detektiert werden. Auch für die hämatologischen Marker wurde eine gute bis exzellente Reliabilität festgestellt, während etablierte Marker, wie die CK und BDNF, nur eine geringe bis moderate Reliabilität aufwiesen. Dennoch leisten aufgrund von Korrelationen zu anderen gut reliablen (psycho-)physiologischen Parametern sowie Zusammenhängen zu Trainingsstatus und Geschlecht auch die Biomarker IL-6, IL-8 und CK eine ergänzende Rolle als diagnostische Parameter. Neben den Biomarkern stellten sich Parameter der isometrischen Maximalkraft, der MDMQ sowie Parameter der HRV als reliable und belastungssensitive Marker nach Ausdauerbelastungen raus. Somit konnte ein Multi-Marker Panel von (psycho-)physiologischen Parametern evaluiert werden, welches vor allem in der Gesamtheit im Kontext von sportlichen Belastungen für ein optimiertes Belastungs- und Erholungsmanagement genutzt werden kann. Darüber hinaus konnte in der Dissertation beobachtet werden, dass etablierte Biomarker, wie das CK, aber auch innovative Biomarker, wie IL-6 und IL-17A, nach einem sportartspezifischen Trainingsmikrozyklus belastungssensitive Reaktionen aufwiesen. Im Konkreten zeigten sich für CK und IL-6 Konzentrationsanstiege im Blut bei Fußballern, während bei Badmintonspielern erhöhte CK- und IL-17A-Werte nach einem gewohnten sportartspezifischen Trainingszyklus beobachtet wurden. Dabei scheint hier ein sportartspezifisches Expressionsmuster der Biomarker vorzuliegen, welches auf eine unterschiedliche, sportartabhängige inflammatorische und metabolische Beanspruchung schließen lässt. Besonders bei IL-17A jedoch, ist die zeitliche physiologische Expression nach Belastungen noch unklar. Studienübergreifend zeigen sowohl IL-6 als auch CK belastungssensitive Reaktionsmuster auf akute und chronische Trainingseinheiten. Dagegen bildet BDNF ein kontroverses Muster zwischen akuter und chronischer Belastungsreaktion. Dies belegt, dass Biomarker auf unterschiedliche Weise auf akute bzw. chronische Belastung reagieren. Größtenteils konnte jedoch dargestellt werden, dass eine größere Anzahl an (psycho-)physiologischen Parametern unmittelbar nach sportlichen Akutbelastungen ein physiologisches Expressionsmuster im Körper aufweisen und nur wenige Biomarker eine chronische Ermüdung darstellen. Schlussfolgernd bilden die Resultate dieser Dissertation eine erweiterte

FAZIT

Erkenntnis in der Biomarkerforschung und deren Nutzbarkeit im Belastungs- und Erholungsmanagement in der Translation zur Sportpraxis.

11 Forschungsperspektive

Die Erkenntnisse dieser Dissertation weisen darauf hin, dass weitere bereits etablierte, aber auch innovative (psycho-)physiologische Parameter auf ihre Reliabilität getestet werden sollten, um zukünftig ein noch größeres Panel an (psycho-)physiologischen Parametern unter Feldbedingungen für diagnostische Zwecke und zu Gunsten von Trainern/-innen und Sportlern/-innen zur Überwachung der Trainingssteuerung sowie Verletzungsprävention, nutzen zu können. Möglicherweise sollte die Verwendung einer Kombination aus gewählten reliablen Biomarkern, neurophysiologischen Parametern, funktionellen Testungen sowie subjektiven Bewertungsinstrumenten, die Zusammenhänge im Belastungs-/Erholungsverlauf aufweisen, erprobt werden. Solche Kombinationen von subjektiven und objektiven Markern würden Unzulänglichkeiten reduzieren oder sogar verhindern. Dies erfordert ein interdisziplinäres Team und bindet Ressourcen. Ferner sollten weitere Marker auf geschlechtsspezifische Unterschiede, den Einfluss des Trainingsstatus als auch auf die Belastungsart, -intensität und -umfang untersucht werden. Die Ergebnisse der Dissertation zeigen nur erste Ansätze einer solchen Herangehensweise, weisen dennoch darauf hin, dass es elementar wichtig ist solche Einflussfaktoren zu berücksichtigen. Ein großer Vorteil wäre die Analyse von individuellen Referenzwerten belastungssensitiver und reliabler (psycho-)physiologischer Parameter. Dabei könnten longitudinale Serienmessungen bei einzelnen Sportlern/-innen über mehrere Belastungs-Erholungs-Zyklen auch eine Möglichkeit sein, individuelle und saisonale Variabilitäten zu interpretieren (Lee et al., 2017). Die gesammelten Daten könnten in Kombination mit Athletenmerkmalen und Trainingsdaten ein Athletenprofil oder zumindest ein Athletencluster erstellen, um individualisierte Belastungs- und Erholungsmanagementansätze zu generieren. Algorithmen könnten daraus Trainingsempfehlungen bilden, die als eine solide Grundlage bei Entscheidungsfindungen dienen. Erste methodische Ansätze zeigen erste Studien von Sperlich et al. (2016) und Hecksteden et al. (2017) (Sperlich et al., 2016; Hecksteden et al., 2017). Jedoch sind dabei die Erkenntnisse der Gütekriterien der verwendeten diagnostischen Marker noch sehr gering.

Ein wichtiger Punkt ist die Translation der Erkenntnisse sowie der Nutzbarkeiten von (psycho-)physiologischen Parametern aus der sportwissenschaftlichen Forschung auf die Sportpraxis. Aktuell schränken dennoch, speziell bei Biomarkern, ein oft unbekannter physiologischer Hintergrund, die Unsicherheit bei der Interpretation der Konzentrationen oder auch eine begrenzte analytische und/oder klinische Validität die Verwendung von solchen diagnostischen Markern in der Sportpraxis ein. Sportpraktiker müssen sich aktuell noch dieser Fallstricke bewusst sein, um Fehlinterpretationen von Parameterveränderungen zu vermeiden. Demnach sind tiefgehende Untersuchungen der (psycho-)physiologischen Parameter in Verbindung mit Grundlagenforschern von Nöten. Des Weiteren ist es elementar wichtig, neue innovative Analyseinstrumente für die Sportpraxis zu entwickeln und

zunächst anhand von bereits evaluierten Biomarkern zu validieren. Im Idealfall sind bspw. Biomarkerkonzentrationen, mit einer minimal-invasiven Blutentnahmemethode (Kapillarblutentnahmen) und einem miniaturisierten Point-of-Care-Gerät in kürzester Zeit zugänglich. Das maßgebliche Ziel ist es, zukünftig Algorithmen des maschinellen Lernens in automatisierten Point-of-Care-Klassifizierungssystemen mit dem Fachwissen von Praktikern zu kombinieren, um das Belastungs-/Erholungsmanagement im Sport auf eine neue Ebene zu heben (Jaspers et al., 2018).

12 Literaturverzeichnis

- Akenhead, R., and Nassis, G.P. (2016). Training Load and Player Monitoring in High-Level Football: Current Practice and Perceptions. *Int J Sports Physiol Perform* 11(5), 587-593. doi: 10.1123/ijsp.2015-0331.
- Albarado-Ibañez, A., Arroyo-Carmona, R.E., Sánchez-Hernández, R., Ramos-Ortiz, G., Frank, A., García-Gudiño, D., et al. (2019). The Role of the Autonomic Nervous System on Cardiac Rhythm during the Evolution of Diabetes Mellitus Using Heart Rate Variability as a Biomarker. *J Diabetes Res* 2019, 5157024. doi: 10.1155/2019/5157024.
- Alhowikan, A.M., and Al-Hazzaa, H.M. (2022). Impact of running race in warm weather on hematological and biochemical parameters. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 26(7), 2288-2291. doi: 10.26355/eurrev_202204_28458.
- Amur, S., LaVange, L., Zineh, I., Buckman-Garner, S., and Woodcock, J. (2015). Biomarker Qualification: Toward a Multiple Stakeholder Framework for Biomarker Development, Regulatory Acceptance, and Utilization. *Clin Pharmacol Ther* 98(1), 34-46. doi: 10.1002/cpt.136.
- Babaei, P., Damirchi, A., Mehdipoor, M., and Tehrani, B.S. (2014). Long term habitual exercise is associated with lower resting level of serum BDNF. *Neurosci Lett* 566, 304-308. doi: 10.1016/j.neulet.2014.02.011.
- Badke, C.M., Carroll, M.S., Weese-Mayer, D.E., and Sanchez-Pinto, L.N. (2022). Association Between Heart Rate Variability and Inflammatory Biomarkers in Critically Ill Children. *Pediatr Crit Care Med* 23(6), e289-e294. doi: 10.1097/pcc.0000000000002936.
- Bandyopadhyay, A., and Dalui, R. (2012). Endurance capacity and cardiorespiratory responses in sedentary females during different phases of menstrual cycle. *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)* 10(40), 25-29. doi: 10.3126/kumj.v10i4.10990.
- Banfi, G., Del Fabbro, M., and Lippi, G. (2008). Creatinine values during a competitive season in elite athletes involved in different sport disciplines. *J Sports Med Phys Fitness* 48(4), 479-482.
- Banfi, G., Lundby, C., Robach, P., and Lippi, G. (2011). Seasonal variations of haematological parameters in athletes. *Eur J Appl Physiol* 111(1), 9-16. doi: 10.1007/s00421-010-1641-1.

- Barnes, C., Archer, D.T., Hogg, B., Bush, M., and Bradley, P.S. (2014). The evolution of physical and technical performance parameters in the English Premier League. *Int J Sports Med* 35(13), 1095-1100. doi: 10.1055/s-0034-1375695.
- Becker, M., Sperlich, B., Zinner, C., and Achtzehn, S. (2020). Intra-Individual and Seasonal Variation of Selected Biomarkers for Internal Load Monitoring in U-19 Soccer Players. *Front Physiol* 11, 838. doi: 10.3389/fphys.2020.00838.
- Bellenger, C.R., Fuller, J.T., Thomson, R.L., Davison, K., Robertson, E.Y., and Buckley, J.D. (2016). Monitoring Athletic Training Status Through Autonomic Heart Rate Regulation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med* 46(10), 1461-1486. doi: 10.1007/s40279-016-0484-2.
- Boos, C.J., Vincent, E., Mellor, A., O'Hara, J., Newman, C., Cruttenden, R., et al. (2017). The Effect of Sex on Heart Rate Variability at High Altitude. *Med Sci Sports Exerc* 49(12), 2562-2569. doi: 10.1249/mss.0000000000001384.
- Bourdon, P.C., Cardinale, M., Murray, A., Gastin, P., Kellmann, M., Varley, M.C., et al. (2017). Monitoring Athlete Training Loads: Consensus Statement. *Int J Sports Physiol Perform* 12(Suppl 2), S2161-s2170. doi: 10.1123/ijsp.2017-0208.
- Box, G.E., Jenkins, G.M., Reinsel, G.C., and Ljung, G.M. (2015). *Time series analysis: forecasting and control*. John Wiley & Sons.
- Bradley, P.S., Carling, C., Archer, D., Roberts, J., Dodds, A., Di Mascio, M., et al. (2011). The effect of playing formation on high-intensity running and technical profiles in English FA Premier League soccer matches. *J Sports Sci* 29(8), 821-830. doi: 10.1080/02640414.2011.561868.
- Brancaccio, P., Maffulli, N., and Limongelli, F.M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br Med Bull* 81-82, 209-230. doi: 10.1093/bmb/ldm014.
- Brink, M.S., Frencken, W.G., Jordet, G., and Lemmink, K.A. (2014). Coaches' and players' perceptions of training dose: not a perfect match. *Int J Sports Physiol Perform* 9(3), 497-502. doi: 10.1123/ijsp.2013-0009.
- Buchheit, M., Racinais, S., Bilsborough, J.C., Bourdon, P.C., Voss, S.C., Hocking, J., et al. (2013). Monitoring fitness, fatigue and running performance during a pre-season training camp in elite football players. *J Sci Med Sport* 16(6), 550-555. doi: 10.1016/j.jsams.2012.12.003.

- Califf, R.M. (2018). Biomarker definitions and their applications. *Exp Biol Med (Maywood)* 243(3), 213-221. doi: 10.1177/1535370217750088.
- Catoire, M., and Kersten, S. (2015). The search for exercise factors in humans. *Faseb j* 29(5), 1615-1628. doi: 10.1096/fj.14-263699.
- Chu, C.H., Chen, A.G., Hung, T.M., Wang, C.C., and Chang, Y.K. (2015). Exercise and fitness modulate cognitive function in older adults. *Psychol Aging* 30(4), 842-848. doi: 10.1037/pag0000047.
- Cooper, T.M., McKinley, P.S., Seeman, T.E., Choo, T.H., Lee, S., and Sloan, R.P. (2015). Heart rate variability predicts levels of inflammatory markers: Evidence for the vagal anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun* 49, 94-100. doi: 10.1016/j.bbi.2014.12.017.
- Coutts, A.J., Slattery, K.M., and Wallace, L.K. (2007). Practical tests for monitoring performance, fatigue and recovery in triathletes. *J Sci Med Sport* 10(6), 372-381. doi: 10.1016/j.jsams.2007.02.007.
- Currie, J., Ramsbottom, R., Ludlow, H., Nevill, A., and Gilder, M. (2009). Cardio-respiratory fitness, habitual physical activity and serum brain derived neurotrophic factor (BDNF) in men and women. *Neurosci Lett* 451(2), 152-155. doi: 10.1016/j.neulet.2008.12.043.
- da Silva, C.C., Pereira, L.M., Cardoso, J.R., Moore, J.P., and Nakamura, F.Y. (2014). The effect of physical training on heart rate variability in healthy children: a systematic review with meta-analysis. *Pediatr Exerc Sci* 26(2), 147-158. doi: 10.1123/pes.2013-0063.
- Damirchi, A., Tehrani, B.S., Alamdari, K.A., and Babaei, P. (2014). Influence of aerobic training and detraining on serum BDNF, insulin resistance, and metabolic risk factors in middle-aged men diagnosed with metabolic syndrome. *Clin J Sport Med* 24(6), 513-518. doi: 10.1097/jsm.0000000000000082.
- Deminice, R., Sicchieri, T., Payão, P.O., and Jordão, A.A. (2010). Blood and salivary oxidative stress biomarkers following an acute session of resistance exercise in humans. *Int J Sports Med* 31(9), 599-603. doi: 10.1055/s-0030-1255107.
- Dhabhar, F.S., and McEwen, B.S. (1997). Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. *Brain Behav Immun* 11(4), 286-306. doi: 10.1006/brbi.1997.0508.

- Dinoff, A., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, C.S., Sherman, C., Chan, S., et al. (2016). The Effect of Exercise Training on Resting Concentrations of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): A Meta-Analysis. *PLoS One* 11(9), e0163037. doi: 10.1371/journal.pone.0163037.
- Donohue, B., Dickens, Y., Lancer, K., Covassin, T., Hash, A., Miller, A., et al. (2004). Improving athletes' perspectives of sport psychology consultation: a controlled evaluation of two interview methods. *Behav Modif* 28(2), 182-193. doi: 10.1177/0145445503259399.
- Drew, M.K., and Finch, C.F. (2016). The Relationship Between Training Load and Injury, Illness and Soreness: A Systematic and Literature Review. *Sports Med* 46(6), 861-883. doi: 10.1007/s40279-015-0459-8.
- Düking, P., Hotho, A., Holmberg, H.C., Fuss, F.K., and Sperlich, B. (2016). Comparison of Non-Invasive Individual Monitoring of the Training and Health of Athletes with Commercially Available Wearable Technologies. *Front Physiol* 7, 71. doi: 10.3389/fphys.2016.00071.
- Easthope, C.S., Hausswirth, C., Louis, J., Lepers, R., Vercruyssen, F., and Brisswalter, J. (2010). Effects of a trail running competition on muscular performance and efficiency in well-trained young and master athletes. *Eur J Appl Physiol* 110(6), 1107-1116. doi: 10.1007/s00421-010-1597-1.
- Figueiredo, C., Antunes, B.M., Giacon, T.R., Vanderlei, L.C.M., Campos, E.Z., Peres, F.P., et al. (2019). Influence of Acute and Chronic High-Intensity Intermittent Aerobic Plus Strength Exercise on BDNF, Lipid and Autonomic Parameters. *J Sports Sci Med* 18(2), 359-368.
- Finsterer, J., and Drory, V.E. (2016). Wet, volatile, and dry biomarkers of exercise-induced muscle fatigue. *BMC Musculoskelet Disord* 17, 40. doi: 10.1186/s12891-016-0869-2.
- Frank, B.S., Hackney, A.C., Battaglini, C.L., Blackburn, T., Marshall, S.W., Clark, M., et al. (2019). Movement profile influences systemic stress and biomechanical resilience to high training load exposure. *J Sci Med Sport* 22(1), 35-41. doi: 10.1016/j.jsams.2018.05.017.
- Gabbett, T. (2018). Infographic: The training-injury prevention paradox: should athletes be training smarter and harder? *Br J Sports Med* 52(3), 203. doi: 10.1136/bjsports-2016-097249.
- Gaitán, J.M., Moon, H.Y., Stremlau, M., Dubal, D.B., Cook, D.B., Okonkwo, O.C., et al. (2021). Effects of Aerobic Exercise Training on Systemic Biomarkers and Cognition in Late Middle-Aged Adults at Risk for Alzheimer's Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12, 660181. doi: 10.3389/fendo.2021.660181.

- Gao, H., Li, X., Zi, Y., Mu, X., Fu, M., Mo, T., et al. (2022). Reliability and Validity of Common Subjective Instruments in Assessing Physical Activity and Sedentary Behaviour in Chinese College Students. *Int J Environ Res Public Health* 19(14). doi: 10.3390/ijerph19148379.
- Gifford, R.M., Boos, C.J., Reynolds, R.M., and Woods, D.R. (2018). Recovery time and heart rate variability following extreme endurance exercise in healthy women. *Physiol Rep* 6(21), e13905. doi: 10.14814/phy2.13905.
- Giles, K.B. (2011). Injury resilience - let's control what can be controlled! *Br J Sports Med* 45(9), 684-685. doi: 10.1136/bjsports-2011-090243.
- Gill, S.K., Teixeira, A., Rama, L., Prestes, J., Rosado, F., Hankey, J., et al. (2015). Circulatory endotoxin concentration and cytokine profile in response to exertional-heat stress during a multi-stage ultra-marathon competition. *Exerc Immunol Rev* 21, 114-128.
- Guy, J.H., Edwards, A.M., Miller, C.M., Deakin, G.B., and Pyne, D.B. (2017). Short-term reliability of inflammatory mediators and response to exercise in the heat. *J Sports Sci* 35(16), 1622-1628. doi: 10.1080/02640414.2016.1227464.
- Gyorkos, A.M., McCullough, M.J., and Spitsbergen, J.M. (2014). Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) expression and NMJ plasticity in skeletal muscle following endurance exercise. *Neuroscience* 257, 111-118. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.10.068.
- Hacker, S., Reichel, T., Hecksteden, A., Weyh, C., Gebhardt, K., Pfeiffer, M., et al. (2021). Recovery-Stress Response of Blood-Based Biomarkers. *Int J Environ Res Public Health* 18(11). doi: 10.3390/ijerph18115776.
- Hadžović-Džuvo, A., Valjevac, A., Lepara, O., Pjanić, S., Hadžimuratović, A., and Mekić, A. (2014). Oxidative stress status in elite athletes engaged in different sport disciplines. *Bosn J Basic Med Sci* 14(2), 56-62. doi: 10.17305/bjbms.2014.2262.
- Halson, S.L. (2014). Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sports Med* 44 Suppl 2, S139-147. doi: 10.1007/s40279-014-0253-z.
- Harper, B.A., Miner, D.G., Parcetic, K., and Price, J. (2022). Heart Rate Variability as a Reliable Biomarker Following Concussion: A Critically Appraised Topic. *J Sport Rehabil* 31(7), 954-961. doi: 10.1123/jsr.2021-0422.

- Harper, L.D., Hunter, R., Parker, P., Goodall, S., Thomas, K., Howatson, G., et al. (2016). Test-Retest Reliability of Physiological and Performance Responses to 120 Minutes of Simulated Soccer Match Play. *J Strength Cond Res* 30(11), 3178-3186. doi: 10.1519/jsc.0000000000001400.
- Hecksteden, A., Kraushaar, J., Scharhag-Rosenberger, F., Theisen, D., Senn, S., and Meyer, T. (2015). Individual response to exercise training - a statistical perspective. *J Appl Physiol (1985)* 118(12), 1450-1459. doi: 10.1152/jappphysiol.00714.2014.
- Hecksteden, A., Pitsch, W., Julian, R., Pfeiffer, M., Kellmann, M., Ferrauti, A., et al. (2017). A New Method to Individualize Monitoring of Muscle Recovery in Athletes. *Int J Sports Physiol Perform* 12(9), 1137-1142. doi: 10.1123/ijsp.2016-0120.
- Hecksteden, A., Skorski, S., Schwindling, S., Hammes, D., Pfeiffer, M., Kellmann, M., et al. (2016). Blood-Borne Markers of Fatigue in Competitive Athletes - Results from Simulated Training Camps. *PLoS One* 11(2), e0148810. doi: 10.1371/journal.pone.0148810.
- Heisterberg, M.F., Fahrenkrug, J., Krstrup, P., Storskov, A., Kjær, M., and Andersen, J.L. (2013). Extensive monitoring through multiple blood samples in professional soccer players. *J Strength Cond Res* 27(5), 1260-1271. doi: 10.1519/JSC.0b013e3182653d17.
- Heled, Y., Bloom, M.S., Wu, T.J., Stephens, Q., and Deuster, P.A. (2007). CK-MM and ACE genotypes and physiological prediction of the creatine kinase response to exercise. *J Appl Physiol (1985)* 103(2), 504-510. doi: 10.1152/jappphysiol.00081.2007.
- Hong, J.H., Kim, K.J., Suzuki, K., and Lee, I.S. (2008). Effect of cold acclimation on antioxidant status in cold acclimated skaters. *J Physiol Anthropol* 27(5), 255-262. doi: 10.2114/jpa2.27.255.
- Hopkins, W.G. (2015). Individual responses made easy. *J Appl Physiol (1985)* 118(12), 1444-1446. doi: 10.1152/jappphysiol.00098.2015.
- Huang, W.Y., Kemp, T.J., Pfeiffer, R.M., Pinto, L.A., Hildesheim, A., and Purdue, M.P. (2017). Impact of freeze-thaw cycles on circulating inflammation marker measurements. *Cytokine* 95, 113-117. doi: 10.1016/j.cyto.2017.02.016.
- Hunkin, S.L., Fahrner, B., and Gastin, P.B. (2014). Creatine kinase and its relationship with match performance in elite Australian Rules football. *J Sci Med Sport* 17(3), 332-336. doi: 10.1016/j.jsams.2013.05.005.

- Hunter, D.J., Nevitt, M., Losina, E., and Kraus, V. (2014). Biomarkers for osteoarthritis: current position and steps towards further validation. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 28(1), 61-71. doi: 10.1016/j.berh.2014.01.007.
- Impellizzeri, F.M., Marcora, S.M., and Coutts, A.J. (2019). Internal and External Training Load: 15 Years On. *Int J Sports Physiol Perform* 14(2), 270-273. doi: 10.1123/ijsp.2018-0935.
- Ispirlidis, I., Fatouros, I.G., Jamurtas, A.Z., Nikolaidis, M.G., Michailidis, I., Douroudos, I., et al. (2008). Time-course of changes in inflammatory and performance responses following a soccer game. *Clin J Sport Med* 18(5), 423-431. doi: 10.1097/JSM.0b013e318181818e0b.
- Jaspers, A., De Beéck, T.O., Brink, M.S., Frencken, W.G.P., Staes, F., Davis, J.J., et al. (2018). Relationships Between the External and Internal Training Load in Professional Soccer: What Can We Learn From Machine Learning? *Int J Sports Physiol Perform* 13(5), 625-630. doi: 10.1123/ijsp.2017-0299.
- Kabasakalis, A., Nikolaidis, S., Tsalis, G., and Mougios, V. (2020). Response of Blood Biomarkers to Sprint Interval Swimming. *Int J Sports Physiol Perform* 15(10), 1442-1447. doi: 10.1123/ijsp.2019-0747.
- Kakanis, M.W., Peake, J., Brenu, E.W., Simmonds, M., Gray, B., and Marshall-Gradisnik, S.M. (2014). T helper cell cytokine profiles after endurance exercise. *J Interferon Cytokine Res* 34(9), 699-706. doi: 10.1089/jir.2013.0031.
- Kellmann, M., Bertollo, M., Bosquet, L., Brink, M., Coutts, A.J., Duffield, R., et al. (2018). Recovery and Performance in Sport: Consensus Statement. *Int J Sports Physiol Perform* 13(2), 240-245. doi: 10.1123/ijsp.2017-0759.
- Knab, A.M., Nieman, D.C., Zingaretti, L.M., Groen, A.J., and Pugachev, A. (2020). Proteomic Profiling and Monitoring of Training Distress and Illness in University Swimmers During a 25-Week Competitive Season. *Front Physiol* 11, 373. doi: 10.3389/fphys.2020.00373.
- Koenig, J., and Thayer, J.F. (2016). Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev* 64, 288-310. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.007.
- Koo, T.K., and Li, M.Y. (2016). A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *J Chiropr Med* 15(2), 155-163. doi: 10.1016/j.jcm.2016.02.012.

- Kruger, K., Alack, K., Ringseis, R., Mink, L., Pfeifer, E., Schinle, M., et al. (2016). Apoptosis of T-Cell Subsets after Acute High-Intensity Interval Exercise. *Med Sci Sports Exerc* 48(10), 2021-2029. doi: 10.1249/mss.0000000000000979.
- Krüger, K., Alack, K., Ringseis, R., Mink, L., Pfeifer, E., Schinle, M., et al. (2016). Apoptosis of T-Cell Subsets after Acute High-Intensity Interval Exercise. *Med Sci Sports Exerc* 48(10), 2021-2029. doi: 10.1249/mss.0000000000000979.
- Kruger, K., Pilat, C., Uckert, K., Frech, T., and Mooren, F.C. (2014). Physical performance profile of handball players is related to playing position and playing class. *J Strength Cond Res* 28(1), 117-125. doi: 10.1519/JSC.0b013e318291b713.
- Krumm, B., and Faiss, R. (2021). Factors Confounding the Athlete Biological Passport: A Systematic Narrative Review. *Sports Med Open* 7(1), 65. doi: 10.1186/s40798-021-00356-0.
- Lee, E.C., Fragala, M.S., Kavouras, S.A., Queen, R.M., Pryor, J.L., and Casa, D.J. (2017). Biomarkers in Sports and Exercise: Tracking Health, Performance, and Recovery in Athletes. *J Strength Cond Res* 31(10), 2920-2937. doi: 10.1519/jsc.0000000000002122.
- Lieber, R.L., and Fridén, J. (1999). Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *J Sci Med Sport* 2(3), 253-265. doi: 10.1016/s1440-2440(99)80177-7.
- Lippi, G., Banfi, G., Botrè, F., de la Torre, X., De Vita, F., Gomez-Cabrera, M.C., et al. (2012). Laboratory medicine and sports: between Scylla and Charybdis. *Clin Chem Lab Med* 50(8), 1309-1316. doi: 10.1515/cclm-2012-0062.
- Lombardo, B., Izzo, V., Terracciano, D., Ranieri, A., Mazzaccara, C., Fimiani, F., et al. (2019). Laboratory medicine: health evaluation in elite athletes. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 57(10), 1450-1473. doi: 10.1515/cclm-2018-1107.
- Lu, F.J.H., Lee, W.P., Chang, Y.-K., Chou, C.-C., Hsu, Y.-W., Lin, J.-H., et al. (2016). Interaction of athletes' resilience and coaches' social support on the stress-burnout relationship: A conjunctive moderation perspective. *Psychology of Sport and Exercise* 22, 202-209.
- Malcovati, L., Pascutto, C., and Cazzola, M. (2003). Hematologic passport for athletes competing in endurance sports: a feasibility study. *Haematologica* 88(5), 570-581.

- Mann, R.H., Williams, C.A., Clift, B.C., and Barker, A.R. (2019). The Validation of Session Rating of Perceived Exertion for Quantifying Internal Training Load in Adolescent Distance Runners. *Int J Sports Physiol Perform* 14(3), 354-359. doi: 10.1123/ijsp.2018-0120.
- Marin, D.P., Bolin, A.P., Campoio, T.R., Guerra, B.A., and Otton, R. (2013). Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *Int Immunopharmacol* 17(2), 462-470. doi: 10.1016/j.intimp.2013.07.009.
- Masucci, G.V., Cesano, A., Hawtin, R., Janetzki, S., Zhang, J., Kirsch, I., et al. (2016). Validation of biomarkers to predict response to immunotherapy in cancer: Volume I - pre-analytical and analytical validation. *J Immunother Cancer* 4, 76. doi: 10.1186/s40425-016-0178-1.
- Matheson, G.J. (2019). We need to talk about reliability: making better use of test-retest studies for study design and interpretation. *PeerJ* 7, e6918.
- Mattioni Maturana, F., Soares, R.N., Murias, J.M., Schellhorn, P., Erz, G., Burgstahler, C., et al. (2021). Responders and non-responders to aerobic exercise training: beyond the evaluation of $\dot{V}O_2\text{max}$. *Physiol Rep* 9(16), e14951. doi: 10.14814/phy2.14951.
- McGuigan, H., Hassmen, P., Rosic, N., and Stevens, C.J. (2020). Training monitoring methods used in the field by coaches and practitioners: A systematic review. *International Journal of Sports Science & Coaching* 15(3), 439-451.
- McLean, B.D., Coutts, A.J., Kelly, V., McGuigan, M.R., and Cormack, S.J. (2010). Neuromuscular, endocrine, and perceptual fatigue responses during different length between-match microcycles in professional rugby league players. *Int J Sports Physiol Perform* 5(3), 367-383. doi: 10.1123/ijsp.5.3.367.
- Meeusen, R., Duclos, M., Foster, C., Fry, A., Gleeson, M., Nieman, D., et al. (2013). Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc* 45(1), 186-205. doi: 10.1249/MSS.0b013e318279a10a.
- Melzack, R. (1975). The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain* 1(3), 277-299. doi: 10.1016/0304-3959(75)90044-5.
- Menaspà, P., and Abbiss, C.R. (2017). Considerations on the Assessment and Use of Cycling Performance Metrics and their Integration in the Athlete's Biological Passport. *Front Physiol* 8, 912. doi: 10.3389/fphys.2017.00912.

- Merritt, E.K., Nieman, D.C., Toone, B.R., Groen, A., and Pugachev, A. (2019). Proteomic Markers of Non-functional Overreaching During the Race Across America (RAAM): A Case Study. *Front Physiol* 10, 1410. doi: 10.3389/fphys.2019.01410.
- Meyer, T., Kellmann, M., Ferrauti, A., Pfeiffer, M., and Faude, O. (2013). The Measurement of Recovery and Regeneration Requirements in Football. *Ger J Sports Med* 64(1), 28-34.
- Mohr, M., Draganidis, D., Chatzinikolaou, A., Barbero-Alvarez, J.C., Castagna, C., Douroudos, I., et al. (2016). Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. *Eur J Appl Physiol* 116(1), 179-193. doi: 10.1007/s00421-015-3245-2.
- Mooren, F.C., Lechtermann, A., Fobker, M., Brandt, B., Sorg, C., Völker, K., et al. (2006). The response of the novel pro-inflammatory molecules S100A8/A9 to exercise. *Int J Sports Med* 27(9), 751-758. doi: 10.1055/s-2005-872909.
- Mougios, V. (2007). Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med* 41(10), 674-678. doi: 10.1136/bjsm.2006.034041.
- Nakayasu, E.S., Gritsenko, M., Piehowski, P.D., Gao, Y., Orton, D.J., Schepmoes, A.A., et al. (2021). Tutorial: best practices and considerations for mass-spectrometry-based protein biomarker discovery and validation. *Nat Protoc* 16(8), 3737-3760. doi: 10.1038/s41596-021-00566-6.
- Nascimento Dda, C., Durigan Rde, C., Tibana, R.A., Durigan, J.L., Navalta, J.W., and Prestes, J. (2015). The response of matrix metalloproteinase-9 and -2 to exercise. *Sports Med* 45(2), 269-278. doi: 10.1007/s40279-014-0265-8.
- Nédélec, M., Halson, S., Abaidia, A.E., Ahmaidi, S., and Dupont, G. (2015). Stress, Sleep and Recovery in Elite Soccer: A Critical Review of the Literature. *Sports Med* 45(10), 1387-1400. doi: 10.1007/s40279-015-0358-z.
- Nédélec, M., McCall, A., Carling, C., Legall, F., Berthoin, S., and Dupont, G. (2012). Recovery in soccer: part I - post-match fatigue and time course of recovery. *Sports Med* 42(12), 997-1015. doi: 10.2165/11635270-000000000-00000.
- Nicolini, C., Michalski, B., Toepp, S.L., Turco, C.V., D'Hoine, T., Harasym, D., et al. (2020). A Single Bout of High-intensity Interval Exercise Increases Corticospinal Excitability, Brain-derived Neurotrophic Factor, and Uncarboxylated Osteocalcin in Sedentary, Healthy Males. *Neuroscience* 437, 242-255. doi: 10.1016/j.neuroscience.2020.03.042.

- Nieman, D.C., Groen, A.J., Pugachev, A., and Vacca, G. (2018). Detection of functional overreaching in endurance athletes using proteomics. *Proteomes* 6(3), 33.
- Niemelä, M., Kangastupa, P., Niemelä, O., Bloigu, R., and Juvonen, T. (2016). Acute Changes in Inflammatory Biomarker Levels in Recreational Runners Participating in a Marathon or Half-Marathon. *Sports Med Open* 2(1), 21. doi: 10.1186/s40798-016-0045-0.
- Pal, S., Chaki, B., Chattopadhyay, S., and Bandyopadhyay, A. (2018). High-Intensity Exercise Induced Oxidative Stress and Skeletal Muscle Damage in Postpubertal Boys and Girls: A Comparative Study. *J Strength Cond Res* 32(4), 1045-1052. doi: 10.1519/jsc.0000000000002167.
- Palacios, G., Pedrero-Chamizo, R., Palacios, N., Maroto-Sanchez, B., Aznar, S., and Gonzalez-Gross, M. (2015). Biomarkers of physical activity and exercise. *Nutr Hosp* 31 Suppl 3, 237-244. doi: 10.3305/nh.2015.31.sup3.8771.
- Palmowski, J., Boßlau, T., Ryl, L., Krüger, K., and Reichel, T. (2019). Managing immune health in sports—A practical guide for athletes and coaches [Infektprävention im Leistungssport—Ein praktischer Leitfaden für Trainer und Sportler]. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 70 (2019), Nr. 10 70(10), 219-226.
- Peake, J.M., Della Gatta, P., Suzuki, K., and Nieman, D.C. (2015). Cytokine expression and secretion by skeletal muscle cells: regulatory mechanisms and exercise effects. *Exerc Immunol Rev* 21, 8-25.
- Pedersen, B.K. (2011). Muscles and their myokines. *J Exp Biol* 214(Pt 2), 337-346. doi: 10.1242/jeb.048074.
- Pedersen, B.K., Steensberg, A., and Schjerling, P. (2001). Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *J Physiol* 536(Pt 2), 329-337. doi: 10.1111/j.1469-7793.2001.0329c.xd.
- Pedlar, C.R., Newell, J., and Lewis, N.A. (2019). Blood Biomarker Profiling and Monitoring for High-Performance Physiology and Nutrition: Current Perspectives, Limitations and Recommendations. *Sports Med* 49(Suppl 2), 185-198. doi: 10.1007/s40279-019-01158-x.
- Pereira, H.M., Larson, R.D., and Bembem, D.A. (2020). Menstrual Cycle Effects on Exercise-Induced Fatigability. *Front Physiol* 11, 517. doi: 10.3389/fphys.2020.00517.
- Petersen, A.M., and Pedersen, B.K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985) 98(4), 1154-1162. doi: 10.1152/jappphysiol.00164.2004.

- Quarrie, K.L., Raftery, M., Blackie, J., Cook, C.J., Fuller, C.W., Gabbett, T.J., et al. (2017). Managing player load in professional rugby union: a review of current knowledge and practices. *Br J Sports Med* 51(5), 421-427. doi: 10.1136/bjsports-2016-096191.
- Radzimiński, Ł., Jastrzębski, Z., López-Sánchez, G.F., Szwarc, A., Duda, H., Stuła, A., et al. (2020). Relationships between Training Loads and Selected Blood Parameters in Professional Soccer Players during a 12-Day Sports Camp. *Int J Environ Res Public Health* 17(22). doi: 10.3390/ijerph17228580.
- Reichel, T., Boßlau, T.K., Palmowski, J., Eder, K., Ringseis, R., Mooren, F.C., et al. (2020). Reliability and suitability of physiological exercise response and recovery markers. *Sci Rep* 10(1), 11924. doi: 10.1038/s41598-020-69280-9.
- Reichel, T., Hacker, S., Palmowski, J., Boßlau, T.K., Frech, T., Tirekoglu, P., et al. (2022). Neurophysiological Markers for Monitoring Exercise and Recovery Cycles in Endurance Sports. *J Sports Sci Med* 21(3), 446-457. doi: 10.52082/jssm.2022.446.
- Riebe, D., Ehrman, J.K., Liguori, G., Magal, M., and Medicine, A.C.o.S. (2018). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. Wolters Kluwer.
- Robson-Ansley, P.J., Gleeson, M., and Ansley, L. (2009). Fatigue management in the preparation of Olympic athletes. *J Sports Sci* 27(13), 1409-1420. doi: 10.1080/02640410802702186.
- Roe, G., Darrall-Jones, J., Till, K., Phibbs, P., Read, D., Weakley, J., et al. (2016). Between-Days Reliability and Sensitivity of Common Fatigue Measures in Rugby Players. *Int J Sports Physiol Perform* 11(5), 581-586. doi: 10.1123/ijsp.2015-0413.
- Romagnoli, M., Alis, R., Aloe, R., Salvagno, G.L., Basterra, J., Pareja-Galeano, H., et al. (2014). Influence of training and a maximal exercise test in analytical variability of muscular, hepatic, and cardiovascular biochemical variables. *Scand J Clin Lab Invest* 74(3), 192-198. doi: 10.3109/00365513.2013.873948.
- Ronchetti, S., Migliorati, G., and Delfino, D.V. (2017). Association of inflammatory mediators with pain perception. *Biomed Pharmacother* 96, 1445-1452. doi: 10.1016/j.biopha.2017.12.001.
- Saw, A.E., Main, L.C., and Gatin, P.B. (2016). Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *Br J Sports Med* 50(5), 281-291. doi: 10.1136/bjsports-2015-094758.

- Scarpina, F., and Tagini, S. (2017). The Stroop Color and Word Test. *Front Psychol* 8, 557. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00557.
- Schild, M., Eichner, G., Beiter, T., Zugel, M., Krumholz-Wagner, I., Hudemann, J., et al. (2016). Effects of Acute Endurance Exercise on Plasma Protein Profiles of Endurance-Trained and Untrained Individuals over Time. *Mediators Inflamm* 2016, 4851935. doi: 10.1155/2016/4851935.
- Schneider, C., Hanakam, F., Wiewelhove, T., Döweling, A., Kellmann, M., Meyer, T., et al. (2018). Heart Rate Monitoring in Team Sports-A Conceptual Framework for Contextualizing Heart Rate Measures for Training and Recovery Prescription. *Front Physiol* 9, 639. doi: 10.3389/fphys.2018.00639.
- Schneider, C., Wiewelhove, T., McLaren, S.J., Röleke, L., Käsbauer, H., Hecksteden, A., et al. (2020). Monitoring training and recovery responses with heart rate measures during standardized warm-up in elite badminton players. *PLoS One* 15(12), e0244412. doi: 10.1371/journal.pone.0244412.
- Scott, J.P., Sale, C., Greeves, J.P., Casey, A., Dutton, J., and Fraser, W.D. (2013). Cytokine response to acute running in recreationally-active and endurance-trained men. *Eur J Appl Physiol* 113(7), 1871-1882. doi: 10.1007/s00421-013-2615-x.
- Shaffer, F., and Ginsberg, J.P. (2017). An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front Public Health* 5, 258. doi: 10.3389/fpubh.2017.00258.
- Skurvydas, A., Streckis, V., Mickeviciene, D., Kamandulis, S., Stanislovaitis, A., and Mamkus, G. (2006). Effect of age on metabolic fatigue and on indirect symptoms of skeletal muscle damage after stretch-shortening exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 46(3), 431-441.
- Soligard, T., Schwellnus, M., Alonso, J.M., Bahr, R., Clarsen, B., Dijkstra, H.P., et al. (2016). How much is too much? (Part 1) International Olympic Committee consensus statement on load in sport and risk of injury. *Br J Sports Med* 50(17), 1030-1041. doi: 10.1136/bjsports-2016-096581.
- Souglis, A., Bogdanis, G.C., Giannopoulou, I., Papadopoulos, C., and Apostolidis, N. (2015). Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an elite competitive level. *Res Sports Med* 23(1), 59-72. doi: 10.1080/15438627.2014.975814.

- Sperlich, B., Achtzehn, S., de Marées, M., von Pape, H., and Mester, J. (2016). Load management in elite German distance runners during 3-weeks of high-altitude training. *Physiol Rep* 4(12). doi: 10.14814/phy2.12845.
- Steinberg, J.G., Delliaux, S., and Jammes, Y. (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clin Physiol Funct Imaging* 26(2), 106-112. doi: 10.1111/j.1475-097X.2006.00658.x.
- Steyer, R., Schwenkmezger, P., Notz, P., and Eid, M. (1997). *Multidimensional Mood State Questionnaire (MDBF)*. Göttingen, Germany: Hogrefe.
- Stocchero, C.M., Oses, J.P., Cunha, G.S., Martins, J.B., Brum, L.M., Zimmer, E.R., et al. (2014). Serum S100B level increases after running but not cycling exercise. *Appl Physiol Nutr Metab* 39(3), 340-344. doi: 10.1139/apnm-2013-0308.
- Stroop, J.R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of experimental psychology* 18(6), 643.
- Sugama, K., Suzuki, K., Yoshitani, K., Shiraishi, K., and Kometani, T. (2012). IL-17, neutrophil activation and muscle damage following endurance exercise. *Exerc Immunol Rev* 18, 116-127.
- Taipale, R.S., and Häkkinen, K. (2013). Acute hormonal and force responses to combined strength and endurance loadings in men and women: the "order effect". *PLoS One* 8(2), e55051. doi: 10.1371/journal.pone.0055051.
- Tamura, Y., Watanabe, K., Kantani, T., Hayashi, J., Ishida, N., and Kaneki, M. (2011). Upregulation of circulating IL-15 by treadmill running in healthy individuals: is IL-15 an endocrine mediator of the beneficial effects of endurance exercise? *Endocr J* 58(3), 211-215. doi: 10.1507/endocrj.k10e-400.
- Thorpe, R.T., Atkinson, G., Drust, B., and Gregson, W. (2017). Monitoring Fatigue Status in Elite Team-Sport Athletes: Implications for Practice. *Int J Sports Physiol Perform* 12(Suppl 2), S227-s234. doi: 10.1123/ijsp.2016-0434.
- Totsuka, M., Nakaji, S., Suzuki, K., Sugawara, K., and Sato, K. (2002). Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *J Appl Physiol (1985)* 93(4), 1280-1286. doi: 10.1152/jappphysiol.01270.2001.

- Twist, C., and Highton, J. (2013). Monitoring fatigue and recovery in rugby league players. *Int J Sports Physiol Perform* 8(5), 467-474. doi: 10.1123/ijsp.8.5.467.
- von Känel, R., Nelesen, R.A., Mills, P.J., Ziegler, M.G., and Dimsdale, J.E. (2008). Relationship between heart rate variability, interleukin-6, and soluble tissue factor in healthy subjects. *Brain Behav Immun* 22(4), 461-468. doi: 10.1016/j.bbi.2007.09.009.
- Voss, M.W., Soto, C., Yoo, S., Sodoma, M., Vivar, C., and van Praag, H. (2019). Exercise and Hippocampal Memory Systems. *Trends Cogn Sci* 23(4), 318-333. doi: 10.1016/j.tics.2019.01.006.
- Wagner, G., Herbsleb, M., de la Cruz, F., Schumann, A., Brünner, F., Schachtzabel, C., et al. (2015). Hippocampal structure, metabolism, and inflammatory response after a 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults: a controlled trial. *J Cereb Blood Flow Metab* 35(10), 1570-1578. doi: 10.1038/jcbfm.2015.125.
- Wahl, Y., Achtzehn, S., Schäfer Olstad, D., Mester, J., and Wahl, P. (2021). Training Load Measures and Biomarker Responses during a 7-Day Training Camp in Young Cyclists-A Pilot Study. *Medicina (Kaunas)* 57(7). doi: 10.3390/medicina57070673.
- Walsh, N.P., Gleeson, M., Pyne, D.B., Nieman, D.C., Dhabhar, F.S., Shephard, R.J., et al. (2011). Position statement. Part two: Maintaining immune health. *Exerc Immunol Rev* 17, 64-103.
- Wardyn, G.G., Rennard, S.I., Brusnahan, S.K., McGuire, T.R., Carlson, M.L., Smith, L.M., et al. (2008). Effects of exercise on hematological parameters, circulating side population cells, and cytokines. *Exp Hematol* 36(2), 216-223. doi: 10.1016/j.exphem.2007.10.003.
- Wiewelhove, T., Raeder, C., Meyer, T., Kellmann, M., Pfeiffer, M., and Ferrauti, A. (2015). Markers for Routine Assessment of Fatigue and Recovery in Male and Female Team Sport Athletes during High-Intensity Interval Training. *PLoS One* 10(10), e0139801. doi: 10.1371/journal.pone.0139801.
- Wragg, C.B., Maxwell, N.S., and Doust, J.H. (2000). Evaluation of the reliability and validity of a soccer-specific field test of repeated sprint ability. *Eur J Appl Physiol* 83(1), 77-83. doi: 10.1007/s004210000246.

Eidesstattliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, und dass die vorgelegte Arbeit weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt wurde. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Giessen, den 31. Mai 2023

Thomas Reichel

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und auch Wegweiser auf all meinen bisherigen beruflichen Wegen, Prof. Dr. Karsten Krüger. Herzlichen Dank für die freundschaftliche und professionelle Begleitung, die stets äußerst wertvoll und zielführend für mich war.

Darüber hinaus möchte ich mich bei allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des Arbeitsbereiches der Leistungsphysiologie und Sporttherapie für die freundliche und hilfsbereite Zusammenarbeit während meiner gesamten Promotionszeit bedanken. Es wurden mir stets sehr gute Rahmenbedingungen und eine tolle Arbeitsatmosphäre für eine reibungslose Umsetzung meines Promotionsvorhabens geboten.

Ich bedanke mich besonders bei PD Dr. Carsten Zeilinger, der neben der wertvollen Unterstützung meiner Promotion auch als hilfreicher Kooperationspartner und Partner eines gemeinsamen Patentes stetig bei innovativen Angelegenheiten unterstützte.

Außerdem danke ich Prof. Dr. Dr. Philipp Zimmer für die leider nur kurzweilige Zusammenarbeit in Hannover, dennoch sehr hilfreiche Unterstützung bei jeglichen Fragen meiner Promotion.

Ein großer Dank gilt dem gesamten Biomarker-Team, sowohl den Studierenden als auch den Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen, die mich inhaltlich und organisatorisch in der Umsetzung meines Promotionsvorhabens tatkräftig unterstützt haben.

Ich möchte mich auch bei unseren Kooperationspartnern, die an den wissenschaftlichen Teilprojekten jeweils beteiligt waren, bedanken. Ihre einzelnen Namen und Zugehörigkeiten sind den jeweiligen Publikationen zu entnehmen.

Zu guter Letzt gilt mein größter Dank an meine Eltern, Heinrich und Arlena Reichel, meine Schwester, Nicole Reichel, und meine Freundin, Alica Schäfer, die mich während meines gesamten Promotionsvorhabens, egal ob von nah oder fern, in jeglicher Hinsicht unterstützt und mir in schwierigsten Zeit Kraft und das nötige Durchhaltevermögen gegeben haben. Danke für alles!

Ich möchte diese Doktorarbeit aber in besonderer Weise meiner Schwester, Nicole Reichel, widmen, die die letzten 18 Jahre bis zum Sommer 2020 immer für mich da war, mich für den Beginn einer Promotion motivierte und mir als Ratgeber und Entscheidungsfreund immer zur Seite stand. Leider kann Sie den Abschluss meiner Promotion unter uns nicht mehr miterleben.